

cobas[®] Respiratory flex

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

Para diagnóstico *in vitro*

cobas[®] Respiratory flex

P/N: 09623701190

Para uso en el sistema cobas[®] 5800

cobas[®] Respiratory flex Control Kit

P/N: 09623728190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 09051953190

Para uso en los sistemas cobas[®] 6800/8800

cobas[®] Respiratory flex Control Kit

P/N: 09623728190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 09051953190 o

P/N: 07002238190

Tabla de contenido

Uso previsto	4
Resumen y explicación de la prueba.....	4
Reactivos y materiales.....	8
Reactivos y controles de cobas® Respiratory flex	8
Reactivos cobas® omni para la preparación de muestras.....	10
Requisitos de almacenamiento de los reactivos	11
Requisitos para la manipulación de reactivos en el sistema cobas® 5800 y los sistemas cobas® 6800/8800.....	11
Material adicional necesario para el sistema cobas® 5800/6800/8800.....	12
Materiales adicionales necesarios para el flujo de trabajo preanalítico.....	13
Instrumentos y software necesarios.....	13
Precauciones y requisitos de manipulación.....	14
Advertencias y precauciones.....	14
Manipulación de reactivos	15
Buenas prácticas de laboratorio.....	15
Extracción, transporte y almacenamiento de las muestras	16
Extracción de muestras.....	16
Transporte y almacenamiento	16
Instrucciones de uso	17
Notas sobre el procedimiento.....	17
Procesamiento de muestras nasofaríngeas.....	17
Ejecución de la prueba cobas® Respiratory flex en los sistemas cobas® 5800/6800/8800.....	18
Resultados	21
Control de calidad y validez de los resultados en el sistema cobas® 5800 y los sistemas cobas® 6800/8800 con la versión del software 2.0 o posterior	21
Interpretación de los resultados en el sistema cobas® 5800 y los sistemas cobas® 6800/8800 con la versión del software 2.0 o posterior	22

Control de calidad y validez de los resultados en los sistemas cobas ® 6800/8800 con versión del software 1.4	23
Interpretación de resultados en los sistemas cobas ® 6800/8800 con versión del software 1.4.....	23
Interpretación de los resultados en los sistemas cobas ® 5800/6800/8800	24
Limitaciones del procedimiento.....	25
Evaluación no clínica del rendimiento	26
Características clave de rendimiento	26
Sensibilidad analítica (límite de detección).....	26
Precisión (intralaboratorio).....	27
Inclusividad	29
Equivalencia de matrices	33
Especificidad analítica (reactividad cruzada e interferencia microbiana).....	33
Especificidad analítica: sustancias interferentes	35
Coinfección (interferencia competitiva).....	36
Fallo de todo el sistema	37
Contaminación por arrastre.....	37
Evaluación clínica del rendimiento	38
Información adicional	42
Características principales de la prueba	42
Símbolos	43
Asistencia técnica	44
Fabricante e importador.....	44
Marcas registradas y patentes	44
Derechos de autor	44
Bibliografía	45
Revisión del documento	47

Uso previsto

cobas® Respiratory flex para uso en los sistemas **cobas® 5800/6800/8800 (cobas® Respiratory flex)** es una prueba de ácidos nucleicos multiplex automatizada que utiliza la tecnología de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real para la detección cualitativa *in vitro* y la diferenciación simultáneas de adenovirus (especies B, C y E), coronavirus humanos comunes (229E, HKU1, NL63, OC43), metapneumovirus humanos, rinovirus/enterovirus humanos, el virus de la influenza A, el virus de la influenza B, los virus de la parainfluenza 1, 2, 3 y 4, el virus respiratorio sincitial (VRS) y el SARS-CoV-2 en muestras de frotis nasofaríngeo obtenidas de sujetos con signos y síntomas de infecciones del tracto respiratorio además de con factores de riesgo clínicos y epidemiológicos.

La detección e identificación de ácidos nucleicos víricos específicos en sujetos que presentan signos y síntomas de una infección respiratoria constituye una ayuda para el diagnóstico de una infección respiratoria si se utiliza como complemento de otra información clínica y epidemiológica. Los resultados negativos no excluyen la infección respiratoria y no deberían utilizarse como fundamento único para el tratamiento o la adopción de otras decisiones relativas al tratamiento de los pacientes. Por otra parte, los resultados positivos no descartan una coinfección con otros organismos, y existe la posibilidad de que el agente detectado no sea la causa de la enfermedad.

Debido a la similitud genética entre los rinovirus y los enterovirus humanos, la prueba **cobas® Respiratory flex** no es capaz de diferenciarlos de manera fiable.

Resumen y explicación de la prueba

Información de referencia

Las infecciones agudas del tracto respiratorio son causas significativas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo.¹⁻⁵ Las infecciones agudas del tracto respiratorio superior (ITRS), aunque son menos graves que las infecciones del tracto respiratorio inferior (ITRI), son más habituales y una de las causas principales de consulta al médico y absentismo.⁶ Las ITRS se manifiestan frecuentemente como un “resfriado común”, una infección autolimitada caracterizada por síntomas habituales como secreción nasal, congestión nasal, estornudos, tos, cansancio, dolor de garganta o fiebre. Los resfriados comunes raramente son bacterianos y la mayoría de las veces están provocados por virus como los rinovirus, metapneumovirus, coronavirus, parainfluenza, adenovirus, VRS e influenza.^{6,7}

En poblaciones de mayor riesgo, como bebés, niños pequeños, ancianos o personas con problemas de inmunidad, trasplantes o enfermedades crónicas, las ITRS muchas veces evolucionan y acaban convirtiéndose en ITRI graves tales como neumonía, bronquitis o bronquiolitis.^{8,9} Sin embargo, los signos y síntomas infecciosos de las ITRS no son suficientes, especialmente en la fase temprana de infección, para diagnosticar de forma definitiva el patógeno causante o para diferenciarlos clínicamente de las ITRI que pueden estar provocadas por un rango aún más amplio de patógenos entre los que se encuentran virus, bacterias y hongos.¹⁰ Gracias a la tecnología de las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT), las ITRS pueden detectarse de forma fiable a partir de muestras de frotis nasofaríngeos en entornos ambulatorios, donde acuden la mayoría de los pacientes y donde son más habituales las infecciones respiratorias víricas.^{11,12} La detección de las ITRI suele requerir una técnica de muestreo más invasiva (como el aspirado traqueal, el esputo inducido o el lavado broncoalveolar) que acostumbran a realizarse en entornos hospitalarios o intervencionistas. La ventaja de poder diagnosticar con mayor facilidad las causas víricas más comunes de las ITRS radica en que se trata de una evaluación más informada, incluida la necesidad de un tratamiento antibiótico empírico, las medidas de control de las infecciones, las pruebas adicionales o la hospitalización.¹³

La influenza, el VRS y el coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave 2 (SARS-CoV-2) provocan ITRS y con frecuencia desembocan en ITRI, que precisan especial atención debido a sus tasas más altas (con relación a otras ITRS) de incidencia, morbilidad y mortalidad.^{1,3,14} El diagnóstico y la diferenciación efectivos de la infección por influenza, SARS-CoV-2 y VRS respecto a otros patógenos respiratorios en pacientes seleccionados constituye una información de diagnóstico muy valiosa. La estacionalidad global y las manifestaciones clínicas de influenza y VRS se solapan, produciéndose picos de actividad infecciosa en los meses de invierno de los climas cálidos de los hemisferios Norte y Sur.¹⁵ Una detección fiable y precisa de las infecciones por influenza y VRS puede ayudar a gestionar el uso de antivirales e implementar medidas de control de la infección, evitar el uso inadecuado de antibióticos, reducir el número de pruebas auxiliares y hospitalizaciones e identificar con mayor rapidez epidemias locales de la enfermedad.

Los primeros casos de COVID-19 aparecieron a finales de 2019 y conforme se propagaba mundialmente la epidemia de este virus nuevo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) se vio obligada a declarar una emergencia de salud pública de interés internacional a principios de 2020.^{16,17} A nivel global, desde enero de 2023, se han registrado más de 750 millones de casos confirmados de COVID-19, incluidas 6,8 millones de muertes notificadas a la OMS, aunque se estima que el número de casos real es superior.¹⁸ El patógeno implicado, SARS-CoV-2, es un virus encapsulado con ácido ribonucleico de origen zoonótico.¹⁹ Los coronavirus (CoV) son una amplia familia de virus comunes entre muchas especies distintas de animales, incluidos algunos que son comunes en humanos (p. ej., 229E, NL63, OC43 y HKU1).^{19,20}

Se estima que el virus de la influenza provoca más de mil millones de infecciones y 500.000 muertes cada año, especialmente en bebés y niños, personas mayores y personas con condiciones médicas existentes como una enfermedad crónica de los pulmones.²¹ El virus de la influenza tipo A y B puede provocar epidemias humanas; no obstante, en el caso de la mayoría de las epidemias humanas, la aparición de nuevas cepas y la mayor carga de morbilidad de la enfermedad se atribuye al tipo A.^{2,22} El VRS es una de las principales causas de las ITRI y de hospitalizaciones de bebés y niños, la mayoría de los cuales ha padecido una infección por VRS antes de los dos años.^{4,23} En niños de cinco años o menos se registran más de tres millones de hospitalizaciones y más de 100.000 muertes estimadas en todo el mundo a causa de infecciones del tracto respiratorio inferior por el VRS.⁴ Más recientemente, debido en parte a las mejoras en el diagnóstico, el VRS también se ha relacionado con una significativa carga de morbilidad e impacto económico sanitario en personas adultas.¹⁴

Explicación de la prueba

La prueba cobas® Respiratory flex es una prueba de ácidos nucleicos cualitativa para uso en el sistema cobas® 5800, el sistema cobas® 6800 o el sistema cobas® 8800 para la detección y diferenciación del ARN de adenovirus (especies B, C y E), coronavirus humanos comunes (229E, HKU1, NL63, OC43), metapneumovirus humanos, rinovirus/enterovirus humanos, virus de la influenza A, virus de la influenza B, virus de la parainfluenza 1, 2, 3, y 4, VRS y SARS-CoV-2 en muestras de frotis nasofaríngeo recogidas en el sistema de medio de transporte universal (Universal Transport Medium, UTM-RT®) de Copan, en el sistema universal de transporte de virus (Universal Viral Transport, UVT) de BD™ o equivalente. El IC de ARN, utilizado para monitorizar el proceso completo de preparación de muestras y amplificación de la PCR, se introduce en cada muestra durante el procesamiento. Además, la prueba utiliza controles externos (control positivo de título bajo y un control negativo).

Principios del procedimiento

La prueba cobas® Respiratory flex se basa en la preparación de muestras totalmente automática (extracción y purificación de ácidos nucleicos) seguida de un proceso de amplificación y detección mediante PCR. El sistema cobas® 5800 se ha diseñado como un único instrumento integrado. Los sistemas cobas® 6800/8800 constan del módulo de suministro de muestras, el módulo de transferencia, el módulo de procesamiento y el módulo analítico. La gestión de datos automática se realiza mediante el software del sistema cobas® 5800 o de los sistemas cobas® 6800/8800, que asigna los resultados para todas las pruebas.

Los resultados pueden revisarse directamente en la pantalla del sistema y luego imprimirse como informe.

La extracción de ácidos nucleicos de las muestras de paciente y de las moléculas de ARN del control interno añadido (RNA IC) se realiza simultáneamente. Los ácidos nucleicos se liberan al añadir proteinasa y reactivo de lisis a la muestra. Los ácidos nucleicos liberados se unen a la superficie de sílice de las partículas de vidrio magnéticas añadidas. Las sustancias sin unir y las impurezas, como las proteínas desnaturalizadas, los restos celulares y los posibles inhibidores de la PCR se eliminan en los siguientes pasos de lavado, mientras que los ácidos nucleicos purificados se eluyen de las partículas de vidrio magnéticas mediante el buffer de elución a temperatura elevada. Los controles externos (positivo y negativo) se procesan del mismo modo.

La amplificación selectiva de los ácidos nucleicos de la diana de la muestra se lleva a cabo mediante cebadores que van en un sentido y en sentido contrario específicos de la diana que detectan regiones del genoma vírico conservadas como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1 Regiones diana de cobas® Respiratory flex

Organismo diana	Gen diana (símbolo)
Influenza A	Proteína matriz 1 (M1)
Influenza B	Proteína no estructural NS-1/2 (NS1/NEP)
Virus respiratorio sincitial	Proteína matriz (M)
SARS-CoV-2	Poliproteína ORF 1ab (ORF1ab) y Poliproteína ORF 1a (ORF1a)
Adenovirus B/E	Precursor de proteína terminal (E2B)
Adenovirus C	Precursor de proteína de la cápside (L3)
Metapneumovirus humano	Proteína matriz (M)
Enterovirus/rinovirus	Región no traducida 5' (5'UTR)
Coronavirus OC43	Poliproteína de replicasa 1 a/b (ORF1ab)
Coronavirus HKU1	Poliproteína de replicasa 1 a/b (ORF1ab)
Coronavirus 229E	Poliproteína de replicasa 1 a/b (ORF1ab)
Coronavirus NL63	Poliproteína de replicasa 1 a/b (ORF1ab)
Virus de la parainfluenza humana 1	Proteína de polimerasa L (L)
Virus de la parainfluenza humana 2	Proteína grande (L)
Virus de la parainfluenza humana 3	Proteína de la nucleocápside (N)
Virus de la parainfluenza humana 4	Proteína grande (L)

La amplificación selectiva del RNA IC se consigue mediante el uso de cebadores que van en un sentido y en sentido contrario específicos para una secuencia no competitiva y que no tienen homología con los genomas específicos de la diana vírica. La diana amplificada se detecta mediante la escisión de las sondas oligonucleótidas marcadas con fluorescencia. La tecnología de generación de señal activada por la temperatura de Roche, tecnología TAGS, se utiliza para diferenciar hasta tres dianas por canal de fluorescencia, lo que permite la detección de 12 dianas, y el control interno, en cada pocillo. Para el proceso de amplificación se utiliza una enzima ADN polimerasa termoestable.

La Master Mix de cobas® Respiratory flex contiene sondas de detección específicas para ácidos nucleicos de adenovirus (especies B, C y E), coronavirus humanos comunes (229E, HKU1, NL63, OC43), metapneumovirus humanos, rinovirus/enterovirus humanos, virus de la influenza A, virus de la influenza B, virus de la parainfluenza 1, 2, 3 y 4, VRS y SARS-CoV-2, además del control interno de ARN. La posibilidad de detectar múltiples dianas es posible gracias al enmascaramiento (*quenching*) dependiente de la temperatura de sondas específicas de la diana escindidas mediante fluorescencia. Esto se consigue separando las señales de las sondas en canales térmicos introducidos, donde la fluorescencia se adquiere a dos temperaturas fijas adicionales para cada ciclo de amplificación.

Durante el paso de amplificación mediante PCR, la hibridación de las sondas con la plantilla específica de ADN monocatenario provoca la escisión de la sonda por la actividad de la exonucleasa 5' a 3' de la ADN polimerasa, lo que produce la separación de los marcadores emisor y silenciador y la emisión de una señal fluorescente. Las sondas convencionales liberan la señal de fluorescencia inmediatamente después de la separación del emisor y el silenciador. Las sondas TAGS se basan en la activación de la fluorescencia dependiente de la temperatura, lo que requiere tanto la escisión de la nucleasa durante la fase de extensión como el aumento de la temperatura de reacción para activar el fluoróforo que de otro modo permanecería inactivo. Por este motivo, durante cada ciclo de PCR, la prueba captura la fluorescencia en cinco canales de fluorescencia disponibles en combinación con tres canales térmicos (detección de fluorescencia a tres temperaturas definidas: T1, T2 y T3), lo que permite la detección y diferenciación simultáneas de las dianas víricas amplificadas de los adenovirus (especies B, C y E), coronavirus humanos comunes (229E, HKU1, NL63, OC43), metapneumovirus humanos, rinovirus/enterovirus humanos, virus de la influenza A, virus de la influenza B, virus de la parainfluenza 1, 2, 3 y 4, VRS y SARS-CoV-2, además del IC de ARN.

El reactivo de Master Mix incluye trifosfato de deoxiuridina (dUTP), en lugar de trifosfato desoxitimidina (dTTP), que se incorpora al ADN recién sintetizado (amplicón). La enzima AmpErase (uracilo-N-glicosilasa), que se incluye en la Master Mix para PCR cuando se calienta durante el primer paso del termociclado, destruye los amplicones contaminados de las series de PCR anteriores. Sin embargo, los amplicones nuevos no se destruyen porque la enzima AmpErase se inactiva cuando se expone a temperaturas superiores a los 55 °C.

Reactivos y materiales

Los materiales suministrados para el ensayo cobas® Respiratory flex se detallan en la Tabla 2. Los materiales necesarios no proporcionados se indican de la Tabla 3 a la Tabla 5 y de la Tabla 10 a la Tabla 13.

Reactivos y controles de cobas® Respiratory flex

Todos los reactivos y controles sin abrir deben almacenarse como se recomienda desde la Tabla 2 hasta la Tabla 6.

Tabla 2 cobas® Respiratory flex

(RESP FLEX)

Almacenar a 2-8 °C

Casete para 192 pruebas (P/N 09623701190)

Componentes del kit	Composición del reactivo	Cantidad por kit 192 pruebas
Solución de proteinasa (PASE)	Buffer Tris, < 0,05 % de EDTA, cloruro de calcio, acetato de calcio, 8 % de proteinasa, glicerol EUH210: Puede solicitarse la ficha de datos de seguridad. EUH208: Contiene subtilisina de <i>Bacillus subtilis</i> . Puede provocar una reacción alérgica.	22,3 ml
Control interno de ARN (RNA IC)	Buffer Tris, < 0,05 % de EDTA, < 0,001 % de constructo de Armored RNA diferente de la diana que contiene regiones de secuencia específicas del cebador y la sonda (ARN no infeccioso encapsulado en bacteriófago MS2), < 0,1 % de azida sódica	21,2 ml
Buffer de elución (EB)	Buffer Tris, 0,2 % de metil-4-hidroxibenzoato	21,2 ml
Reactivo 1 de Master Mix (MMX-R1)	Acetato de manganeso, hidróxido potásico, < 0,1 % de azida sódica	7,5 ml
Reactivo 2 de Master Mix para Respiratory flex (RESP FLEX MMX-R2)	Buffer Tricina, acetato de potasio, < 18 % de dimetilsulfóxido, glicerol, < 0,1 % de Tween 20, EDTA, < 0,12 % de dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,01 % de cebadores que van en un sentido y en sentido contrario, < 0,01 % de cebadores que van en un sentido y en sentido contrario para el control interno, < 0,01 % de sondas oligonucleótidas marcadas con fluorescente y el control interno de ARN, < 0,01 % de aptámero oligonucleótido, < 0,1 % de ADN polimerasa Z05D, < 0,10 % de enzima AmpErase (uracilo-N-glicosilasa) (microbiana), < 0,1 % de azida sódica	9,7 ml

Tabla 3 cobas® Respiratory flex Control Kit**(RESP FLEX CTL)**

Almacenar a 2-8 °C

(P/N: 09623728190)

Componentes del kit	Composición del reactivo	Cantidad por kit
Control positivo para Respiratory flex (RESP FLEX CTL)	Buffer Tris, < 0,05 % de azida sódica, < 0,005 % de EDTA, 0,003 % de Poli rA, < 0,01 % de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano) con secuencia de adenovirus, < 0,01 % de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano) con secuencia de coronavirus (229E), < 0,01 % de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano) con secuencia de metapneumovirus humano, < 0,01 % de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano) con secuencia de rinovirus, < 0,01 % de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano) con secuencia de influenza A, < 0,01 % de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano) con secuencia de influenza B, < 0,01 % de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano) con secuencia de virus de parainfluenza humana 1, < 0,01 % de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano) con secuencia de virus de parainfluenza humana 2, < 0,01 % de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano) con secuencia de virus de parainfluenza humana 3, < 0,01 % de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano) con secuencia de virus de parainfluenza humana 4, < 0,01 % de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano) con secuencia de virus respiratorio sincitial, < 0,01 % de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano) con secuencia de SARS-CoV-2	6,4 ml (16 × 0,4 ml)

Tabla 4 cobas® Buffer Negative Control Kit**(BUF (-) C)**

Almacenar a 2-8 °C

Para uso en el sistema cobas® 5800 y los sistemas cobas® 6800/8800 con la versión del software 2.0 o posterior (P/N 09051953190)

Para uso en los sistemas cobas® 6800/8800 con versión del software 1.4 (P/N 07002238190 o P/N 09051953190)

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

Reactivos cobas® omni para la preparación de muestras

Tabla 5 Reactivos cobas® omni para la preparación de las muestras

Reactivos	Composición del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia*
cobas® omni MGP Reagent (MGP) Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997546190)	Partículas de vidrio magnéticas, buffer Tris, 0,1 % de metil-4 hidroxibenzoato, < 0,1 % de azida sódica	480 pruebas	No aplicable
cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997511190)	Buffer Tris, 0,1 % de metil-4 hidroxibenzoato, < 0,1 % de azida sódica	4 × 875 ml	No aplicable
cobas® omni Lysis Reagent (LYS) Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997538190)	43 % (p/p) de tiocianato de guanidina**, 5 % (p/v) de polidocanol**, 2 % (p/v) de ditiotreitol**, citrato de sodio dihidratado	4 × 875 ml	 <p>PELIGRO</p> <p>H302: Nocivo por ingestión. H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. EUH032: En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos. EUH071: Corrosivo para las vías respiratorias. P273: Evítese su liberación al medio ambiente. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección/protección para los oídos. P301 + P330 + P331: EN CASO DE INGESTIÓN: enjuagarse la boca. NO provocar el vómito. P303 + P361 + P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua. P304 + P340 + P310: EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P305 + P351 + P338 + P310: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico.</p> <p>593-84-0 Tiocianato de guanidina 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol</p>
cobas® omni Wash Reagent (WASH) Almacenar a 15-30 °C (P/N: 06997503190)	Citrato de sodio dihidratado, 0,1 % de metil-4 hidroxibenzoato	4,2 l	No aplicable

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

** Sustancia peligrosa.

Requisitos de almacenamiento de los reactivos

Los reactivos deben almacenarse y manipularse según las indicaciones de la Tabla 6 y hasta la Tabla 9.

Cuando los reactivos no están cargados en el sistema cobas® 5800 o los sistemas cobas® 6800/8800, almacénelos a la temperatura correspondiente especificada en la Tabla 6.

Tabla 6 Almacenamiento de reactivos (cuando el reactivo no está cargado en el sistema)

Reactivo	Temperatura de almacenamiento
cobas® Respiratory flex	2-8 °C
cobas® Respiratory flex Control Kit	2-8 °C
cobas® Buffer Negative Control Kit	2-8 °C
cobas® omni Lysis Reagent	2-8 °C
cobas® omni MGP Reagent	2-8 °C
cobas® omni Specimen Diluent	2-8 °C
cobas® omni Wash Reagent	15-30 °C

Requisitos para la manipulación de reactivos en el sistema cobas® 5800 y los sistemas cobas® 6800/8800

Los reactivos cargados en el sistema cobas® 5800 o en los sistemas cobas® 6800/8800 se almacenan a la temperatura correspondiente adecuada y el sistema controla y aplica su fecha de caducidad. El sistema solamente permite utilizar los reactivos cuando se cumplen todas las condiciones indicadas en la Tabla 7, la Tabla 8 y la Tabla 9. El sistema evita automáticamente el uso de reactivos caducados. La información sobre la estabilidad restante del kit abierto y el número de usos del kit para los reactivos específicos del ensayo está disponible a través de la interfaz de usuario del sistema.

Tabla 7 Condiciones de caducidad de los reactivos monitorizadas y aplicadas por el sistema cobas® 5800

Reactivo	Estabilidad del kit abierto	Número de usos del kit	Periodo de estabilidad
cobas® Respiratory flex	180 días desde el primer uso	80	36 días desde la carga
cobas® Respiratory flex Control Kit	Vial de un solo uso	16	36 días desde la carga
cobas® Buffer Negative Control Kit	Vial de un solo uso	16	36 días desde la carga

Tabla 8 Condiciones de caducidad de los reactivos controladas y aplicadas por los sistemas cobas® 6800/8800

Reactivo	Estabilidad del kit abierto	Número de usos del kit	Periodo de estabilidad (fuera del refrigerador a bordo)
cobas® Respiratory flex	180 días desde el primer uso	40	40 horas
cobas® Respiratory flex Control Kit	Vial de un solo uso	16	10 horas
cobas® Buffer Negative Control Kit	Vial de un solo uso	16	10 horas

La Tabla 9 muestra la estabilidad del kit abierto de los reactivos **cobas® omni**. Antes de cada serie, el sistema verifica la estabilidad del kit abierto y procura un volumen de llenado suficiente. Por lo tanto, estos reactivos no tienen asignado un número de usos del kit o un periodo de estabilidad.

Tabla 9 Condiciones de caducidad de los reactivos de los sistemas **cobas® omni** aplicadas por los sistemas **cobas® 5800/6800/8800**

Reactivo	Estabilidad del kit abierto
cobas® omni MGP Reagent	30 días desde el primer uso
cobas® omni Lysis Reagent	30 días desde la carga
cobas® omni Specimen Diluent	30 días desde la carga
cobas® omni Wash Reagent	30 días desde la carga

Material adicional necesario para el sistema **cobas® 5800/6800/8800**

Tabla 10 Materiales para el uso en los sistemas **cobas® 5800/6800/8800**

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

Tabla 11 Material fungible para el uso en el sistema **cobas® 5800***

Material
cobas® omni Processing Plate 24
cobas® omni Amplification Plate 24
cobas® omni Liquid Waste Plate 24
Puntas de pipeta CORE TIPS con filtro, 1 ml
Puntas de pipeta CORE TIPS con filtro, 300 µl
cobas® omni Liquid Waste Container
Bolsa para residuos sólidos o bolsa para residuos sólidos con inserto
Tubos secundarios cobas® omni 13 × 75 (opcional)
MPA RACK 13 o 16 MM
RD5 RACK – RD Standard rack
Transportador de tubos de 16 posiciones
Transportador de racks de 5 posiciones

*Para conocer los números de referencia, consulte la Asistencia al usuario del sistema **cobas® 5800**.

Tabla 12 Material fungible para el uso en los sistemas **cobas®** 6800/8800*

Material
cobas® omni Processing Plate
cobas® omni Amplification Plate
cobas® omni Pipette Tips
cobas® omni Liquid Waste Container
Bolsa para residuos sólidos y recipiente de residuos sólidos o Bolsa para residuos sólidos con inserto y kit del cajón
Tubos secundarios cobas® omni 13 × 75 (opcional)
MPA RACK 13 o 16 MM
RD5 RACK – RD Standard rack

*Para conocer los números de referencia, consulte la Asistencia al usuario de los sistemas **cobas®** 6800/8800.

Materiales adicionales necesarios para el flujo de trabajo preanalítico

Tabla 13 Otros materiales necesarios únicamente para el flujo de trabajo preanalítico

Material	P/N
cobas® Microbial Inactivation Solution	08185476001

Instrumentos y software necesarios

Es necesario instalar el software **cobas®** 5800, el software de los sistemas **cobas®** 6800/8800 y los paquetes de análisis (ASAP) **cobas®** Respiratory flex para los sistemas **cobas®** 5800/6800/8800 en los instrumentos.

Para el sistema **cobas®** 5800 y los sistemas **cobas®** 6800/8800 con versión del software 2.0 o posterior, el software Data Manager y el PC (o servidor) se suministran con el sistema.

Para los sistemas **cobas®** 6800/8800 con versión del software 1.4, el servidor IG (Instrument Gateway) se suministra con los sistemas.

Tabla 14 Instrumentos

Equipo	P/N
Sistema cobas® 5800	08707464001
Sistema cobas® 6800	05524245001 y 09575154001
Sistema cobas® 8800	05412722001 y 09575146001
Módulo de suministro de muestras para los sistemas cobas® 6800/8800	06301037001 y 09936882001

Consulte la Asistencia al usuario del sistema **cobas®** 5800 o de los sistemas **cobas®** 6800/8800 para obtener información adicional.

Precauciones y requisitos de manipulación

Advertencias y precauciones

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

- Para diagnóstico *in vitro*.
- Todas las muestras de paciente deben tratarse como si fueran infecciosas, utilizando los procedimientos de laboratorio recomendados tal como se describe en la publicación Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories y en el documento M29-A4 del CLSI y de conformidad con los estándares y reglamentaciones locales.^{24,25} Solamente el personal competente en la manipulación de material infeccioso y en el uso de la prueba cobas® Respiratory flex y los sistemas cobas® 5800/6800/8800 deberían llevar a cabo este procedimiento.
- Todos los materiales de origen humano deben considerarse potencialmente infecciosos y manipularse teniendo en cuenta las precauciones generales. En caso de que se produzca algún derrame, lleve a cabo una desinfección inmediata siguiendo los procedimientos apropiados del laboratorio.
- Si se produce un derrame de las muestras en el MIS (que contiene tiocianato de guanidina), no permita que entre en contacto con soluciones de hipoclorito de sodio o de potasio que contienen desinfectantes. Tales mezclas pueden producir gases de alta toxicidad.
- Si se derraman muestras en el reactivo MIS, limpie PRIMERO con detergente apto para laboratorio y agua, y luego con etanol al 70 %.
- El reactivo MIS es sensible a la luz y se suministra en botellas con protección lumínica. El MIS debe almacenarse en posición vertical.
- Se recomienda la utilización de pipetas estériles desechables y puntas de pipetas sin nucleasa. Utilice solo el material fungible suministrado o que se requiera expresamente para garantizar el óptimo rendimiento de la prueba.
- Puede solicitar ficha de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) al representante local de Roche.
- Siga al pie de la letra los procedimientos y las directrices que se suministran para garantizar la correcta realización de la prueba. Cualquier variación de dichos procedimientos y directrices podría afectar al rendimiento óptimo de la prueba.
- Podrían producirse resultados falsos positivos si no se evita la contaminación por arrastre de las muestras durante la manipulación y el procesamiento de las mismas.
- Informe a la autoridad competente local y al fabricante de cualquier incidente grave que pueda tener lugar durante la realización del ensayo.

Manipulación de reactivos

- Manipule todos los reactivos, controles y muestras de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio recomendadas para evitar la contaminación por arrastre de las muestras o los controles.
- Antes de utilizarlos, revise cada casete de reactivo, diluyente, reactivo de lisis y reactivo de lavado para asegurarse de que no hay signos de fugas. No utilice el material si hay alguna evidencia de fuga.
- El **cobas® omni** Lysis Reagent y el reactivo MIS contienen tiocianato de guanidina, una sustancia química potencialmente peligrosa. Evite el contacto de reactivos con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua para evitar quemaduras.
- El kit de la prueba **cobas®** Respiratory flex, el **cobas®** Respiratory flex Control Kit, el **cobas®** Buffer Negative Control Kit, el **cobas® omni** MGP Reagent y el **cobas® omni** Specimen Diluent contienen azida sódica como conservante. Evite el contacto de reactivos con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua para evitar quemaduras. Si se producen salpicaduras de reactivos, diluya las manchas con agua antes de secarlas con un paño.
- No permita que el **cobas® omni** Lysis Reagent o MIS, que contiene tiocianato de guanidina, entre en contacto con la solución de hipoclorito de potasio o sodio. Tales mezclas pueden producir gases de alta toxicidad.
- Elimine todos los materiales que hayan estado en contacto con las muestras y los reactivos de acuerdo con la reglamentación nacional, estatal y local.

Buenas prácticas de laboratorio

- No pipetee con la boca.
- No se debe comer, beber ni fumar en las áreas de trabajo.
- Utilice guantes de laboratorio, bata de laboratorio y protección ocular cuando manipule las muestras y los reactivos. Es necesario cambiarse los guantes entre la manipulación de las muestras y el kit **cobas®** Respiratory flex, el **cobas®** Respiratory flex Control Kit, el **cobas®** Buffer Negative Control Kit y los reactivos **cobas® omni** para evitar la contaminación. Evite la contaminación de los guantes durante la manipulación de las muestras y de los controles.
- Lávese bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos del kit, y cuando se saque los guantes.
- Limpie y desinfecte minuciosamente todas las superficies de trabajo del laboratorio usando una solución recién preparada de hipoclorito de sodio o potasio al 0,5 % en agua destilada o desionizada. A continuación, límpielas con un trapo impregnado en etanol al 70 %.
- Si el derrame se produce sobre un instrumento **cobas®** 5800 o **cobas®** 6800/8800, siga las instrucciones descritas en la Asistencia al usuario o de los sistemas **cobas®** 5800 o **cobas®** 6800/8800 para limpiar y descontaminar correctamente la superficie de los instrumentos.

Extracción, transporte y almacenamiento de las muestras

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

Almacene todas las muestras a las temperaturas especificadas.

La estabilidad de las muestras se ve afectada por las temperaturas elevadas.

extreme siempre la precaución al transferir las muestras de los tubos de recogida primarios a los tubos secundarios.

Utilice pipetas con puntas con filtro para aerosol o desplazamiento positivo para manipular las muestras.

Utilice siempre una punta de pipeta nueva para cada muestra.

Asegúrese de que las muestras alcancen la temperatura ambiental antes de transferirlas a un tubo secundario

cobas® omni.

Extracción de muestras

- Recoja las muestras nasofaríngeas de acuerdo con la técnica de recogida estándar mediante hisopos afelpados o con punta de poliéster y colóquelos inmediatamente en 3 ml de UTM-RT®, UVT o equivalente.
- Consulte las instrucciones de uso de los dispositivos de recogida para conocer la información sobre peligros.

Transporte y almacenamiento

- El transporte de las muestras recogidas debe cumplir todas las normativas aplicables para el transporte de agentes etiológicos.
- Muestras recogidas en UTM-RT®, UVT o equivalente:
- Después de la recogida, las muestras pueden almacenarse durante un máximo de 12 horas a una temperatura de 2-25 °C, seguidas de hasta 3 días a 2-8 °C y hasta 30 días a ≤ -18 °C.
- Las muestras se mantienen estables hasta un máximo de tres ciclos de congelación/descongelación si se congelan a ≤ -18 °C.

Instrucciones de uso

Notas sobre el procedimiento

- No utilice la prueba cobas® Respiratory flex, el cobas® Respiratory flex Control Kit, el cobas® Buffer Negative Control Kit ni ningún reactivo cobas® **omni** después de la fecha de caducidad.
- No reutilice el material fungible. Son de un solo uso.
- La prueba cobas® Respiratory flex puede realizarse con un volumen de muestra de 1,2 ml (0,4 ml de muestra y 0,8 ml de MIS), del que se procesan 850 µl. Es necesario seleccionar el tipo de muestra “Diluida en cobas® MIS” para realizar la prueba cobas® Respiratory flex.

Procesamiento de muestras nasofaríngeas

Antes de realizar la prueba cobas® Respiratory flex en los sistemas cobas® 5800/6800/8800, es necesario procesar las muestras con un tubo secundario y un volumen muerto máximo de 350 µl. El tubo secundario cobas® **omni** es la opción preferida. Hay disponibles tubos secundarios adicionales para el análisis con la prueba cobas® Respiratory flex. Póngase en contacto con su representante de Roche local para obtener instrucciones detalladas para el análisis y una lista de pedido de tubos secundarios compatibles con los instrumentos.

Nota: extreme siempre la precaución al transferir las muestras de los tubos de recogida primarios a los tubos secundarios.

Utilice pipetas con puntas con filtro para aerosol o desplazamiento positivo para manipular las muestras.

Utilice siempre una punta de pipeta nueva para cada muestra.

Asegúrese de que las muestras alcancen la temperatura ambiental antes de transferirlas a un tubo secundario cobas® **omni**.

Siga los pasos que se indican a continuación para transferir la muestra de paciente de un tubo de recogida primario a un tubo secundario cobas® **omni** y diluirla:

- Confirme que el tubo de muestra nasofaríngea está correctamente etiquetado y contiene un mínimo de 0,4 ml de muestra. Si se ha almacenado congelada, descongele y equilibre la muestra a temperatura ambiente.
- Invierta las botellas de MIS de dos a cuatro veces antes de su uso.
- Transfiera 0,8 ml de MIS al tubo secundario preparado con código de barras. Los tubos secundarios preparados con 0,8 ml de MIS pueden almacenarse cerrados un máximo de 7 días a 2-8 °C.
- Desenrosque el tapón del tubo de muestra primaria.
- Levante el tapón y los hisopos que haya a fin de poder introducir una pipeta en el tubo de la muestra.
- Transfiera 0,4 ml al tubo secundario preparado con código de barras que contiene la solución MIS. No se requiere ninguna otra mezcla.
- Transfiera el tubo secundario a un rack.
- Cierre el tapón del tubo de muestra primaria.

Nota: las muestras nasofaríngeas diluidas en MIS pueden almacenarse hasta 8 horas a 37 °C o hasta 20 horas a 25 °C.

Ejecución de la prueba cobas® Respiratory flex en los sistemas cobas® 5800/6800/8800

- El funcionamiento de los instrumentos se describe con detalle en la Asistencia al usuario del sistema cobas® 5800 o los sistemas cobas® 6800/8800.
- Asegúrese de que las etiquetas de código de barras de los tubos de muestras puedan verse a través de las aberturas laterales de los racks de muestras. Consulte la Asistencia al usuario del sistema cobas® 5800 o los sistemas cobas® 6800/8800 para conocer las especificaciones de códigos de barras adecuadas e información adicional sobre la carga de tubos de muestras.
- Consulte la Asistencia al usuario del sistema cobas® 5800 o los sistemas cobas® 6800/8800 para obtener información sobre el correcto mantenimiento de los instrumentos.
- En la Ilustración 1 y la Ilustración 2 se resume el procedimiento de la prueba en el sistema cobas® 5800 o los sistemas cobas® 6800/8800, respectivamente.
- La ejecución de cobas® Respiratory flex en el sistema cobas® 5800 o los sistemas cobas® 6800/8800 con la versión del software 2.0 o posterior permite opciones de petición flexibles:
 - Configuración de los grupos diana: Cada muestra se puede analizar para cualquier combinación de dianas víricas (adenovirus, pancoronavirus (229E, HKU1, NL63, OC43), metapneumovirus humanos, rinovirus/enterovirus humanos, virus de la influenza A, virus de la influenza B, virus de parainfluenza 1, 2, 3 y 4, VRS y SARS-CoV-2).
 - Cálculo de dianas adicionales (reflejo digital): a partir de los resultados de la prueba iniciales se pueden realizar peticiones de dianas adicionales del panel de prueba multiplex durante el periodo de tiempo predefinido. El cálculo de las dianas adicionales solicitadas se realizará a partir de los datos brutos medidos con anterioridad. No es necesario volver a procesar la muestra para obtener los resultados de la prueba adicionales.
- Si la prueba cobas® Respiratory flex se ejecuta en los sistemas cobas® 6800/8800 con la versión del software 1.4:
 - Cada muestra puede analizarse con uno de los cuatros paquetes de análisis específicos del ensayo (ASAP) disponibles, que permiten analizar el panel completo, subgrupos predefinidos o recurrir a un enfoque de reflejo digital automatizado.
 - El ASAP de reflejo digital automatizado primero calcula y muestra un conjunto predefinido de dianas (p. ej., FluA, FluB, VRS, SARS-CoV-2).
 - Si una muestra es negativa para estas dianas, entonces la prueba calcula y muestra automáticamente los resultados de las dianas restantes del panel (reflejo digital automatizado).
 - Si una muestra es positiva o no válida para una de las dianas iniciales, no se calcularán las dianas adicionales. Cada muestra se gestiona independientemente del resto de las muestras. Esto significa que algunas muestras solo tendrán resultados para las dianas más comunes mientras que otras muestras presentarán resultados para un mayor número de dianas.

Ilustración 1 Procedimiento de la prueba cobas® Respiratory flex en el sistema cobas® 5800

1	Inicie una sesión en el sistema.
2	Cargue las muestras en el sistema: <ul style="list-style-type: none">• Cargue los racks de muestras en el sistema.• El sistema se prepara automáticamente.• Solicite las pruebas.
3	Cargue los reactivos y el material fungible según las indicaciones del sistema: <ul style="list-style-type: none">• Cargue el casete de reactivo específico de la prueba.• Cargue los miniracks de control.• Cargue las puntas de procesamiento.• Cargue las puntas de elución.• Cargue las placas de procesamiento.• Cargue las placas de residuos líquidos.• Cargue las placas de amplificación.• Cargue el casete con MGP.• Cargue el diluyente de muestras.• Cargue el reactivo de lisis.• Cargue el reactivo de lavado.
4	Seleccione el botón de inicio de procesamiento en la interfaz de usuario para iniciar la serie analítica. Las series siguientes se iniciarán de forma automática si no se posponen manualmente.
5	Revise y exporte los resultados.
6	Retire y tape todos los tubos de muestra que cumplan los requisitos de volumen mínimo para utilizarlos en el futuro, en caso necesario. Limpieza del instrumento: <ul style="list-style-type: none">• Descargue los casetes de control vacíos.• Vacíe el cajón de placas de amplificación.• Vacíe los residuos líquidos.• Vacíe los residuos sólidos.

Ilustración 2 Procedimiento de la prueba cobas® Respiratory flex en los sistemas cobas® 6800/8800

- 1** Inicie una sesión en el sistema.
Pulse el botón “Iniciar” para preparar el sistema.
Solicite las pruebas.
- 2** Cargue los reactivos y el material fungible según las indicaciones del sistema:
 - Cargue el casete de reactivo específico de la prueba.
 - Cargue los casetes de control.
 - Cargue las puntas de pipeta.
 - Cargue las placas de procesamiento.
 - Cargue el reactivo MGP.
 - Cargue las placas de amplificación.
 - Cargue el diluyente de muestras.
 - Cargue el reactivo de lisis.
 - Cargue el reactivo de lavado.
- 3** Cargue las muestras en el sistema:
 - Cargue los racks de muestras y los racks para puntas obstruidas en el módulo de suministro de muestras.
 - Confirme que las muestras han sido aceptadas en el módulo de transferencia.
- 4** Inicie la serie analítica mediante el botón “Iniciar manualmente” de la interfaz de usuario o ejecute un inicio automático después de 120 minutos o cuando el lote esté lleno.
- 5** Revise y exporte los resultados.
- 6** Retire y tape todos los tubos de muestra que cumplan los requisitos de volumen mínimo para utilizarlos en el futuro, en caso necesario.

Limpieza del instrumento:
 - Descargue los casetes de control vacíos.
 - Vacíe el cajón de placas de amplificación.
 - Vacíe los residuos líquidos.
 - Vacíe los residuos sólidos.

Resultados

El sistema cobas® 5800 y los sistemas cobas® 6800/8800 detectan automáticamente adenovirus (especies B, C y E), coronavirus humanos comunes (229E, HKU1, NL63, OC43), metapneumovirus humanos, rinovirus/enterovirus humanos, virus de la influenza A, virus de la influenza B, virus de la parainfluenza 1, 2, 3 y 4, VRS y SARS-CoV-2 para cada muestra y control procesados individualmente, y muestran los resultados de cada una de las dianas para las muestras, además de la validez de los controles.

Control de calidad y validez de los resultados en el sistema cobas® 5800 y los sistemas cobas® 6800/8800 con la versión del software 2.0 o posterior

- Se procesan un cobas® Buffer Negative Control [(-) Ctrl] y un control positivo cobas® Respiratory flex [RESP-FLEX (+) C] al menos cada 72 horas o con cada lote de kit nuevo. Los controles positivos y/o negativos pueden programarse con mayor frecuencia en función de los procedimientos de laboratorio y/o la reglamentación local.
- En el software y/o el informe, revise los avisos y los resultados asociados para comprobar la validez de los resultados de la prueba correspondiente (consulte la Asistencia al usuario de x800 Data Manager para obtener una “Lista de códigos de avisos”).

El software del instrumento realiza automáticamente la validación de los resultados en función de los resultados de los controles.

NOTA: el sistema cobas® 5800 y los sistemas cobas® 6800/8800 con versión del software 2.0 o posterior se suministran con la configuración estándar para el análisis de un conjunto de controles (positivo y negativo) con cada serie, pero se puede modificar por un programa menos frecuente de hasta cada 72 horas según los procedimientos de laboratorio y/o la reglamentación local. Póngase en contacto con su ingeniero técnico de Roche y/o con el representante del servicio técnico de Roche para obtener más información.

Interpretación de los resultados en el sistema cobas® 5800 y los sistemas cobas® 6800/8800 con la versión del software 2.0 o posterior

Los resultados de las muestras se muestran en la app “Resultados” del software.

En los lotes de control válidos, compruebe cada muestra para detectar avisos en el software y/o en el informe.

La interpretación de resultados se debe realizar del siguiente modo:

- Las muestras asociadas con los lotes de control válidos se muestran como “Válido” en la columna “Resultados de control” cuando todos los resultados de las dianas del control se han notificado como válidos. Las muestras asociadas con los lotes de control erróneos se muestran como “No válido” en la columna “Resultado del control” si los resultados de control se notifican como no válidos.
- Si los controles asociados al resultado de una muestra no son válidos, se añade un aviso específico al resultado de la muestra de la siguiente manera:
 - Q05D: fallo de validación del resultado por un control positivo no válido.
 - Q06D: fallo de validación del resultado por un control negativo no válido.
- Los valores de la columna “Resultado” y de la vista de detalles para el resultado individual de la diana de la muestra deben interpretarse tal como se muestra en la Tabla 15.

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

Los resultados no válidos para una o varias combinaciones de dianas son posibles y se comunican específicamente para cada diana. Si el resultado de una secuencia diana individual no es válido, no se puede determinar la presencia o la ausencia de esa diana en particular.

Tabla 15 Ejemplo de visualización de resultados de cobas® Respiratory flex en el sistema cobas® 5800 y los sistemas cobas® 6800/8800 con versión del software 2.0 o posterior

ID muestra	Prueba	Resultado del control	Avisos*	Estado	Resultado	Fecha/Hora creación
Sample_01	RESP-FLEX	Valid		Released	Negative (12)	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_C1	RESP-FLEX	Valid		Released	Invalid (12)	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_B1	RESP-FLEX	Valid		Released	Positive (1), Negative (11)	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_B2	RESP-FLEX	Valid		Released	Negative (12)	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_D1	RESP-FLEX	Valid		Released	Positive (2), Negative (10)	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_A6	RESP-FLEX	Valid		Released	Negative (12)	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_A2	RESP-FLEX	Invalid		Released	Invalid (12)	7/7/2021 8:27:39 AM

* El resumen de resultados muestra un símbolo de aviso en caso de resultados no válidos. Encontrará descripciones detalladas de los avisos en los detalles del resultado.

Control de calidad y validez de los resultados en los sistemas cobas® 6800/8800 con versión del software 1.4

- En cada lote se procesa un cobas® Buffer Negative Control [(-) Ctrl] y un control positivo cobas® Respiratory flex [RESP-FLEX (+) C].
- Compruebe los avisos y los resultados asociados tanto en el software como en el informe para garantizar la validez del lote.
- El lote se considera válido cuando no hay avisos para ninguno de los controles. Si el lote no es válido, repita las pruebas para todo el lote.
- Todos los avisos están descritos en la Asistencia al usuario de los sistemas cobas® 6800/8800.

El software del instrumento realiza automáticamente la validación de los resultados en función de los resultados de los controles.

Interpretación de resultados en los sistemas cobas® 6800/8800 con versión del software 1.4

En los lotes válidos, compruebe cada muestra para detectar avisos en el software y/o en el informe. La interpretación de resultados se debe realizar del siguiente modo:

- Un lote válido puede incluir resultados de muestras tanto válidos como no válidos.
- Los resultados no válidos para una o varias combinaciones de dianas son posibles y se comunican específicamente para cada diana. Si el resultado de una secuencia diana individual no es válido, no se puede determinar la presencia o la ausencia de esa diana en particular.
- Otros resultados de diana válidos inicialmente pueden interpretarse tal como se describe en la tabla. Los resultados y sus interpretaciones correspondientes se muestran en la Tabla 15.

En la Tabla 16 se muestran ejemplos de visualización de resultados de la prueba cobas® Respiratory flex.

Tabla 16 Ejemplo de visualización de resultados de la prueba cobas® Respiratory flex en los sistemas cobas® 6800/8800 con versión del software 1.4

ID muestra	Nombre de la prueba*	Positivo	Negativo	No válido	Válido	Estado	Fecha/Hora creación
Sample_01	RESP-FLEX	0	12	0	NA	Released	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_C1	RESP-FLEX	0	0	12	NA	Not Released	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_B1	RESP-FLEX	1	11	0	NA	Released	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_B2	RESP-FLEX	4	8	0	NA	Released	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_D1	RESP-FLEX	0	12	0	NA	Released	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_A6	RESP-FLEX	0	12	0	NA	Released	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_A2	RESP-FLEX	0	0	12	NA	Released	7/7/2021 8:27:39 AM

* El nombre de la prueba puede variar según el ASAP seleccionado para cobas® Respiratory flex

Interpretación de los resultados en los sistemas cobas® 5800/6800/8800

La interpretación de resultados se debe realizar del siguiente modo:

- Un lote válido puede incluir resultados de muestras tanto válidos como no válidos.
- Los resultados no válidos para una o varias combinaciones de dianas son posibles y se comunican específicamente para cada canal.
- Los resultados de esta prueba solo deben interpretarse junto con la información disponible de la evaluación clínica del paciente y de su historial.

En la Tabla 15 y en la Tabla 16 se muestran ejemplos de visualización de resultados de la prueba cobas® Respiratory flex.

A continuación se muestran los resultados y las interpretaciones correspondientes para la detección de adenovirus (especies B, C y E), coronavirus humanos comunes (229E, HKU1, NL63, OC43), metapneumovirus humanos, rinovirus/enterovirus humanos, virus de la influenza A, virus de la influenza B, virus de la parainfluenza 1, 2, 3 y 4, VRS y SARS-CoV-2 (Tabla 17).

Tabla 17 Resultados de la diana para la interpretación de los resultados de cada una de las dianas

Resultado de la secuencia diana*	Interpretación
Negativo	No se ha detectado ninguna señal diana para la diana vírica correspondiente y se ha detectado señal del IC.
Positivo	Se ha detectado señal diana para la diana vírica correspondiente y la señal del IC puede detectarse o no.

* Se muestra individualmente para cada una de las 12 dianas víricas: virus de la influenza A (FluA), virus de la influenza B (FluB), virus respiratorio sincitial (VRS), SARS-CoV-2 (SCoV2), adenovirus (AdV), metapneumovirus humanos (MPV), rinovirus/enterovirus humanos (EVRV), coronavirus humanos comunes (CoV) y virus de la parainfluenza 1 (hPIV1), 2 (hPIV2), 3 (hPIV3) y 4 (hPIV4).

Si el resultado de una secuencia diana individual no es válido, no se puede determinar la presencia o la ausencia de esa diana en particular. Otros resultados de diana válidos inicialmente pueden interpretarse tal como se describe en la Tabla 17.

Limitaciones del procedimiento

- La prueba **cobas**® Respiratory flex se ha evaluado para ser utilizada únicamente en combinación con el **cobas**® Respiratory flex Control Kit, el **cobas**® Buffer Negative Control Kit, el **cobas**® **omni** MGP Reagent, el **cobas**® **omni** Lysis Reagent, el **cobas**® **omni** Specimen Diluent y el **cobas**® **omni** Wash Reagent en los sistemas **cobas**® 5800/6800/8800.
- Las decisiones sobre la gestión de los pacientes no deberían basarse exclusivamente en los resultados de la prueba **cobas**® Respiratory flex, sino que deberían contemplar también las observaciones clínicas, el historial del paciente, las exposiciones recientes, la información epidemiológica y otros datos diagnósticos.
- La obtención de resultados fiables depende de que los procedimientos de extracción, almacenamiento y manipulación de muestras sean adecuados. Los sujetos no deben comer, beber, fumar, vapear o utilizar productos de tabaco rapé 30 minutos antes de la extracción de muestras.
- FluMist® Quadrivalent, una vacuna tetravalente intranasal de virus vivos, puede generar resultados positivos para influenza A e influenza B. No se ha evaluado la administración reciente de FluMist® durante las 6 semanas previas a la recogida para valorar el posible impacto de interferencias con otras dianas sobre el rendimiento clínico del ensayo.
- La prueba ha sido concebida para ser utilizada con muestras de frotis nasofaríngeo recogidas en UTM-RT®, UVT o equivalente. La realización de la prueba **cobas**® Respiratory flex con otros tipos de muestras puede dar lugar a resultados inexactos.
- La detección de virus respiratorios puede verse afectada por los métodos de extracción de muestras, otros factores propios del paciente (p. ej., presencia de síntomas) y/o el estadio de la infección.
- Como sucede con cualquier prueba molecular, las mutaciones en las regiones diana cubiertas por la prueba **cobas**® Respiratory flex pueden afectar a la unión de cebadores y/o sondas e impedir la detección de la presencia del virus.
- Pueden obtenerse resultados falsos negativos o no válidos debido a la interferencia. **cobas**® Respiratory flex incluye un control interno para identificar las muestras que contienen sustancias que pueden interferir en el aislamiento de ácidos nucleicos y la amplificación mediante PCR.
- La incorporación de la enzima AmpErase al reactivo de Master Mix de la prueba **cobas**® Respiratory flex permite realizar una amplificación selectiva del ARN y ADN diana; no obstante, es imprescindible emplear buenas prácticas de laboratorio y cumplir estrictamente los procedimientos especificados en este documento de instrucciones de uso para evitar la contaminación de los reactivos.

Evaluación no clínica del rendimiento

Características clave de rendimiento

Sensibilidad analítica (límite de detección)

El límite de detección (LoD) de la prueba cobas® Respiratory flex se determinó mediante el análisis de diluciones en serie coformuladas para coronavirus humanos comunes, VRS, influenza A, influenza B, SARS-CoV-2, adenovirus, rinovirus, metapneumovirus humanos y virus de parainfluenza humana 1, 2, 3 y 4 diluidos en una matriz clínica simulada negativa estabilizada en UTM™. Se analizaron paneles con al menos cinco niveles de concentración más un blanco con tres lotes de reactivo de la prueba cobas® Respiratory flex, con múltiples series analíticas, días, operadores e instrumentos. Tanto los resultados como los materiales utilizados se muestran en la Tabla 18.

Tabla 18 Límite de detección por tasa de positividad ≥ 95 % y Probit 95 %, incluidos los intervalos de confianza

Diana	Cepa/Aislado	LoD por tasa de aciertos ≥ 95 %	LoD del 95 % mediante PROBIT	Intervalo de confianza del 95 %	Unidad de concentración
Influenza A (H1N1)	Brisbane/02/2018	1,00E+02	8,39E+01	6,59E+01-1,19E+02	cp/ml
Influenza A (H3N2)	A/Darwin/6/2021	5,00E+01	5,36E+01	4,06E+01-8,09E+01	cp/ml
Influenza B (Victoria)	B/Austria/1359417/2021	2,50E+02	2,28E+02	1,82E+02-3,16E+02	cp/ml
Influenza B (Yamagata)	Phuket/3073/13	8,00E+02	6,84E+02	5,57E+02-9,12E+02	cp/ml
VRS A	Virus respiratorio sincitial A2	4,00E+03	3,28E+03	2,60E+03-4,58E+03	cp/ml
SARS-CoV-2	1° estándar internacional de la OMS, código NIBSC 20/146	8,00E+01	7,07E+01	5,45E+01-1,04E+02	UI/ml
Adenovirus B	Tipo 3, aislado 1921/08	5,00E+02	5,00E+02	4,30E+02-6,21E+02	cp/ml
Adenovirus C	1° estándar internacional de la OMS, código NIBSC 16/324	1,20E+02	7,77E+01	5,92E+01-1,14E+02	UI/ml
Metapneumovirus humano	hMPV-27 Tipo A2 IA27-2004	1,70E+03	1,96E+03	1,61E+03-2,55E+03	cp/ml
Rinovirus B	B42 Zeptomatrix 0810286CF	1,80E+03	9,07E+02	7,29E+02-1,21E+03	cp/ml
Coronavirus 229E	229E Zeptomatrix 0810229CF	3,50E+02	3,64E+02	2,83E+02-5,23E+02	cp/ml
Coronavirus NL63	NL63 Zeptomatrix 0810228CF-CL	1,80E+02	1,77E+02	1,34E+02-2,72E+02	cp/ml
Coronavirus OC43	OC43 Zeptomatrix 0810024CF	1,60E+03	8,53E+02	6,50E+02-1,27E+03	cp/ml
Coronavirus HKU1	aRNA	2,40E+02	1,84E+02	1,44E+02-2,58E+02	cp/ml
Parainfluenza humana 1	Tipo 1, Zeptomatrix, 0810014CF-CL	3,00E+03	2,11E+03	1,82E+03-2,61E+03	cp/ml
Parainfluenza humana 2	Tipo 2, Zeptomatrix, 0810015CF-CL	7,00E+02	6,85E+02	5,13E+02-1,06E+03	cp/ml
Parainfluenza humana 3	Tipo 3, Zeptomatrix, 0810016CF-CL	3,80E+03	2,56E+03	2,15E+03-3,26E+03	cp/ml
Parainfluenza humana 4	Tipo 4a, Zeptomatrix, 0810060CF-CL	4,80E+04	3,05E+04	2,49E+04-4,02E+04	cp/ml

Precisión (intralaboratorio)

La precisión de la prueba cobas® Respiratory flex se determinó mediante el análisis de paneles formados por diferentes cepas de cultivos celulares en una matriz clínica simulada negativa estabilizada en UTM™. Se analizaron dos niveles de dilución en 216 réplicas para cada nivel con los tres lotes de reactivo de la prueba cobas® Respiratory flex en seis instrumentos diferentes y con cinco operadores distintos durante doce días. Cada muestra se sometió al procedimiento completo de la prueba cobas® Respiratory flex en los sistemas cobas® 5800/6800/8800 totalmente automatizados. Por lo tanto, la precisión a la que se hace referencia en este documento engloba todas las fases del procedimiento de la prueba. Los resultados se muestran en la Tabla 19 y la Tabla 20. Los resultados del estudio demostraron que la prueba cobas® Respiratory flex para uso en los sistemas cobas® 5800/6800/8800 detecta de manera sistemática la presencia de todas las dianas con unas tasas de acierto ≥ 95 % próximas al LoD ($\sim 1 \times \text{LoD}$) y de ≥ 99 % por encima del LoD ($\sim 3 \times \text{LoD}$).

Tabla 19 Precisión — Resumen de las tasas de acierto y los intervalos de confianza

Diana	Nivel	Resultados positivos	Resultados totales	% de positividad	Límite inferior del IC bilateral al 95 %	Límite superior del IC bilateral al 95 %
Influenza A (H3N2)	$\sim 3 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Influenza A (H3N2)	$\sim 1 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Influenza B (Victoria)	$\sim 3 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Influenza B (Victoria)	$\sim 1 \times \text{LoD}$	215	216	99,54	97,45	99,99
VRS A	$\sim 3 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
VRS A	$\sim 1 \times \text{LoD}$	214	216	99,07	96,70	99,89
SARS-CoV-2	$\sim 3 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
SARS-CoV-2	$\sim 1 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Adenovirus B	$\sim 3 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Adenovirus B	$\sim 1 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Metapneumovirus humano	$\sim 3 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Metapneumovirus humano	$\sim 1 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Rinovirus B	$\sim 3 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Rinovirus B	$\sim 1 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Coronavirus 229E	$\sim 3 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Coronavirus 229E	$\sim 1 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Parainfluenza humana 1	$\sim 3 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Parainfluenza humana 1	$\sim 1 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Parainfluenza humana 2	$\sim 3 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Parainfluenza humana 2	$\sim 1 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Parainfluenza humana 3	$\sim 3 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Parainfluenza humana 3	$\sim 1 \times \text{LoD}$	215	216	99,54	97,45	99,99
Parainfluenza humana 4	$\sim 3 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Parainfluenza humana 4	$\sim 1 \times \text{LoD}$	214	216	99,07	96,70	99,89
n.a.	En blanco	0	216	0	0,00	3,36

Tabla 20 Precisión — Desviaciones estándar y coeficientes de variación de los valores Ct

Diana	Nivel	Tasa de aciertos	Ct medio	Entre instrumentos		Entre lotes		Entre días		Entre series		Intraserie		Total	
				SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%
Influenza A (H3N2)	~3 × LoD	100,00 %	37,33	0,08	0,22	0,08	0,21	0,00	0,00	0,07	0,20	0,48	1,28	0,50	1,33
Influenza A (H3N2)	~1 × LoD	100,00 %	39,06	0,13	0,34	0,14	0,35	0,23	0,59	0,00	0,00	1,02	2,60	1,06	2,71
Influenza B (Victoria)	~3 × LoD	100,00 %	34,61	0,04	0,11	0,09	0,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,22	0,64	0,24	0,69
Influenza B (Victoria)	~1 × LoD	99,54 %	35,34	0,04	0,12	0,08	0,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,24	0,69	0,26	0,73
VRS A	~3 × LoD	100,00 %	33,20	0,06	0,18	0,08	0,25	0,04	0,11	0,00	0,00	0,19	0,58	0,22	0,66
VRS A	~1 × LoD	99,07 %	33,62	0,04	0,11	0,05	0,16	0,02	0,06	0,02	0,06	0,24	0,70	0,25	0,73
SARS-CoV-2	~3 × LoD	100,00 %	35,62	0,03	0,09	0,00	0,00	0,03	0,09	0,00	0,00	0,32	0,89	0,32	0,90
SARS-CoV-2	~1 × LoD	100,00 %	36,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,09	0,00	0,00	0,41	1,13	0,42	1,14
Adenovirus B	~3 × LoD	100,00 %	30,50	0,18	0,58	0,00	0,00	0,06	0,19	0,00	0,00	0,69	2,28	0,72	2,36
Adenovirus B	~1 × LoD	100,00 %	31,22	0,07	0,21	0,06	0,18	0,02	0,07	0,00	0,00	0,16	0,52	0,19	0,59
Metapneumovirus humano	~3 × LoD	100,00 %	34,18	0,08	0,24	0,02	0,06	0,05	0,15	0,00	0,00	0,24	0,70	0,26	0,76
Metapneumovirus humano	~1 × LoD	100,00 %	35,15	0,08	0,23	0,02	0,07	0,04	0,11	0,00	0,00	0,30	0,86	0,32	0,90
Rinovirus B	~3 × LoD	100,00 %	33,68	0,08	0,24	0,25	0,73	0,02	0,07	0,00	0,00	0,27	0,79	0,37	1,10
Rinovirus B	~1 × LoD	100,00 %	34,74	0,03	0,10	0,20	0,56	0,07	0,19	0,00	0,00	0,30	0,87	0,37	1,06
Coronavirus 229E	~3 × LoD	100,00 %	33,11	0,12	0,36	0,05	0,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,45	1,36	0,47	1,41
Coronavirus 229E	~1 × LoD	100,00 %	33,63	0,08	0,23	0,03	0,08	0,00	0,00	0,03	0,09	0,32	0,95	0,33	0,98
Parainfluenza humana 1	~3 × LoD	100,00 %	33,62	0,08	0,23	0,00	0,00	0,08	0,24	0,02	0,05	0,22	0,66	0,25	0,74
Parainfluenza humana 1	~1 × LoD	100,00 %	34,46	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,34	0,99	0,34	0,99
Parainfluenza humana 2	~3 × LoD	100,00 %	34,83	0,14	0,41	0,07	0,21	0,10	0,28	0,05	0,13	0,59	1,70	0,62	1,79
Parainfluenza humana 2	~1 × LoD	100,00 %	36,45	0,11	0,30	0,06	0,17	0,15	0,41	0,00	0,00	0,80	2,21	0,83	2,27
Parainfluenza humana 3	~3 × LoD	100,00 %	34,82	0,06	0,17	0,04	0,12	0,04	0,11	0,00	0,00	0,21	0,59	0,22	0,64
Parainfluenza humana 3	~1 × LoD	99,54 %	35,72	0,09	0,25	0,02	0,06	0,04	0,11	0,00	0,00	0,26	0,72	0,27	0,77
Parainfluenza humana 4	~3 × LoD	100,00 %	35,00	0,09	0,26	0,00	0,00	0,01	0,02	0,04	0,12	0,26	0,75	0,28	0,80
Parainfluenza humana 4	~1 × LoD	99,07 %	35,65	0,07	0,20	0,02	0,05	0,04	0,12	0,00	0,00	0,31	0,88	0,33	0,91

Inclusividad

La inclusividad para la detección de las diferentes cepas de influenza A, influenza B, VRS, SARS-CoV-2, adenovirus, metapneumovirus humanos, enterovirus, rinovirus, coronavirus humanos comunes y virus de parainfluenza humana 1, 2, 3 y 4 se valoró mediante el análisis de las cepas relevantes de cada diana vírica. Se analizó cada cepa con 3 réplicas próximas al LoD, empezando por $\sim 3 \times \text{LoD}$. La concentración con una tasa de aciertos del 100 % se muestra de la Tabla 21 a la Tabla 30.

Tabla 21 Cepas de inclusividad de influenza A

Tipo de virus	Cepa	ID del proveedor	Tasa de aciertos del 100 % a
Influenza A H1N1	New Caledonia/20/99	0810036CF	$\sim 3 \times \text{LoD}$
Influenza A H1N1	Brisbane/59/07	0810244CF	$\sim 3 \times \text{LoD}$
Influenza A H1N1	California/07/09	0810165CF	$\sim 3 \times \text{LoD}$
Influenza A H1N1	NY/03/09	0810249CF	$\sim 3 \times \text{LoD}$
Influenza A H1N1	A/Victoria/2570/2019	SD-VIC219A-7	$\sim 3 \times \text{LoD}$
Influenza A H1N1	A/Wisconsin/588/2019	SD-WA519A-8	$\sim 3 \times \text{LoD}$
Influenza A H1N1	A/Victoria/4897/2022	SD-VIC9722B	$\sim 3 \times \text{LoD}$
Influenza A H1N1	A/Wisconsin/67/2022	SD-WI6722MS1B	$\sim 6 \times \text{LoD}$
Influenza A H1N1	England/73/22	GISAID ID EPI_ISL_15803829	$\sim 3 \times \text{LoD}$
Influenza A H1N1	England/55/22	GISAID ID EPI_ISL_14387941	$\sim 3 \times \text{LoD}$
Influenza A H3N2	A/Port Chalmers/1/73	VR-810	$\sim 3 \times \text{LoD}$
Influenza A H3N2	Texas/50/12	0810238CF	$\sim 3 \times \text{LoD}$
Influenza A H3N2	A/Victoria/3/75	VR-822	$\sim 3 \times \text{LoD}$
Influenza A H3N2	Wisconsin/67/05	0810252CF	$\sim 3 \times \text{LoD}$
Influenza A H3N2	A/Darwin/9/2021	SD-DRW921-6	$\sim 3 \times \text{LoD}$
Influenza A H3N2	Hong Kong/4801/14	0810526CF	$\sim 3 \times \text{LoD}$
Influenza A H3N2	Hong Kong/8/68	0810250CF	$\sim 3 \times \text{LoD}$
Influenza A H3N2	A/Perth/16/09	0810251CF	$\sim 3 \times \text{LoD}$
Influenza A H3N2	Kansas/14/17	0810586CF	$\sim 3 \times \text{LoD}$
Influenza A H3N2	Switzerland/9715293/13	0810511CF	$\sim 3 \times \text{LoD}$
Influenza A H5N1	A/mallard/Wisconsin/2576/2009	NR-31131	$\sim 3 \times \text{LoD}$
Influenza A H5N2	A/ruddy turnstone/New Jersey/828212/2001	NR-44298	$\sim 3 \times \text{LoD}$
Influenza A H5N3	A/duck/Singapore/645/1997	NR-3558	$\sim 3 \times \text{LoD}$
Influenza A H7N2	A/northern pintail/Illinois/10OS3959/2010	NR-35979	$\sim 3 \times \text{LoD}$
Influenza A H7N8	A/mallard/Ohio/11OS2033/2011	NR-36008	$\sim 3 \times \text{LoD}$
Influenza A H7N9	A/northern shoveler/Mississippi/11OS145/2011	NR-36001	$\sim 3 \times \text{LoD}$
Influenza A H9N7	A/shorebird/Delaware Bay/31/1996	NR-45171	$\sim 3 \times \text{LoD}$

Tabla 22 Cepas de inclusividad de influenza B

Tipo de virus	Cepa	ID del proveedor	Tasa de aciertos del 100 % a
Influenza B (Victoria)	Colorado/6/17	0810573CF	~3 × LoD
Influenza B (Victoria)	B/Hong Kong/5/72	VR-823	~3 × LoD
Influenza B (Victoria)	Brisbane/60/08	0810254CF	~3 × LoD
Influenza B (Victoria)	Florida/02/06	0810037CF	~3 × LoD
Influenza B (Yamagata)	B/Massachusetts/2/2012	VR-1813	~3 × LoD
Influenza B (Yamagata)	B/Wisconsin/1/2010	VR-1883	~3 × LoD
Influenza B (Yamagata)	B/Florida/4/2006	VR-1804	~3 × LoD
Influenza B (Yamagata)	Texas/6/11	0810242CF	~3 × LoD
Influenza B (Yamagata)	Florida/07/04	0810256CF	~3 × LoD
Influenza B (Desconocido)	B/Taiwan/2/62	VR-295	~3 × LoD
Influenza B (Desconocido)	B/Allen/45	VR-102	~3 × LoD
Influenza B (Desconocido)	B/Lee/40	VR-101	~3 × LoD

Tabla 23 Cepas de inclusividad del virus respiratorio sincitial

Tipo de virus	Cepa	ID del proveedor	Tasa de aciertos del 100 % a
VRS Tipo A	Aislado 2006	0810040ACF-CL	~3 × LoD
VRS Tipo A	02/2015	0810475CF	~3 × LoD
VRS Tipo A2	A2	VR-1540	~3 × LoD
VRS Tipo B	CH93(18)-18	0810040CF-CL	~3 × LoD
VRS Tipo B	9320	VPL-030	~3 × LoD
VRS Tipo B	B WV/14617/85	VR-1400	~3 × LoD
VRS Tipo B	18537	VR-1580	~3 × LoD

Tabla 24 Cepas de inclusividad de SARS-CoV-2

Tipo de virus	Cepa	ID del proveedor	Tasa de aciertos del 100 % a
SARS-CoV-2, linaje B.1.1.7	England/204820464/2020	0810614CFHI-CL	~3 × LoD
SARS-CoV-2, linaje B.1.351	South Africa/KRISP-K005325/2020	0810613CFHI-CL	~3 × LoD
SARS-CoV-2, linaje P.1	Japan/TY7-503/2021	0810616CFHI-CL	~3 × LoD
SARS-CoV-2 B.1.617.2	USA/PHC658/2021	0810624CFHI-CL	~3 × LoD
SARS-CoV-2, linaje B.1.1.529	USA/MD-HP20874/2021	0810642CFHI-CL	~3 × LoD
SARS-CoV-2	USA-WA1/2020	0810587CFHI	~3 × LoD

Tabla 25 Cepas de inclusividad de adenovirus

Tipo de virus	Subtipo	ID del proveedor	Tasa de aciertos del 100 % a
Mastadenovirus humano B	Tipo 03	0810062CF	~3 × LoD
Mastadenovirus humano B	Tipo 7A	0810021CF	~3 × LoD
Mastadenovirus humano B	Tipo 11	0810112CF	~3 × LoD
Mastadenovirus humano B	Tipo 14	0810108CF	~3 × LoD
Mastadenovirus humano B	Tipo 16	VR-17	~12 × LoD
Mastadenovirus humano B	Tipo 21	0810116CF	~6 × LoD
Mastadenovirus humano B	Tipo 34	VR-716	~3 × LoD
Mastadenovirus humano B	Tipo 35	VR-718	~3 × LoD
Mastadenovirus humano C	Tipo 1	VR-1	~3 × LoD
Mastadenovirus humano C	Tipo 2	VR-846	~3 × LoD
Mastadenovirus humano C	Tipo 5	0810020CF	~3 × LoD
Mastadenovirus humano C	Tipo 6	VR-6	~3 × LoD
Mastadenovirus humano E	Tipo 4	0810070CF	~3 × LoD
Mastadenovirus humano E	Tipo 4	0810326CF	~3 × LoD

Tabla 26 Cepas de inclusividad de metapneumovirus humano

Tipo de virus	Tipo/Cepa	ID del proveedor	Tasa de aciertos del 100 % a
Metapneumovirus humano A1	Tipo 9-Cepa: IA3-2002	0810160CF	~3 × LoD
Metapneumovirus humano A1	Tipo 16-Cepa: IA10-2003	0810161CF-CL	~3 × LoD
Metapneumovirus humano A2	Tipo 27-Cepa: IA27-2004	0810164CF	~3 × LoD
Metapneumovirus humano B1	Tipo 5-Cepa: Peru3-2003	0810158CF-CL	~6 × LoD
Metapneumovirus humano B2	Tipo 8-Cepa: Peru6-2003	0810159CF	~3 × LoD
Metapneumovirus humano B2	Tipo 18-Cepa: IA18-2003	0810162CF	~3 × LoD

Tabla 27 Cepas de inclusividad de enterovirus

Tipo de virus	Subtipo	ID del proveedor	Tasa de aciertos del 100 % a
Enterovirus A	Tipo A10	VR-168	~3 × LoD
Enterovirus A	Tipo 71	VR-1775	~3 × LoD
Enterovirus B	Tipo A9	0810017CF	~3 × LoD
Enterovirus B	Tipo B3	0810074CF	~3 × LoD
Enterovirus B	Tipo B4	0810075CF	~3 × LoD
Enterovirus B	Tipo 6	0810076CF	~3 × LoD
Enterovirus B	Tipo 9	0810077CF	~3 × LoD
Enterovirus B	Tipo 11	0810023CF	~3 × LoD
Enterovirus C	Tipo A21	VR-850	~3 × LoD
Enterovirus C	Tipo A24	VR-1662	~3 × LoD
Enterovirus D	Tipo 68	VR-1823	~3 × LoD

Tabla 28 Cepas de inclusividad de rinovirus

Tipo de virus	Subtipo	ID del proveedor	Tasa de aciertos del 100 % a
Rinovirus humano A	Tipo 1A	0810012CFN	~3 × LoD
Rinovirus humano A	Tipo 2	VR-482	~3 × LoD
Rinovirus humano A	Tipo 7	VR-1601	~35 × LoD*
Rinovirus humano A	Tipo 16	VR-283	~3 × LoD
Rinovirus humano A	Tipo 34	VR-1365	~3 × LoD
Rinovirus humano A	Tipo 57	VR-1600	~3 × LoD
Rinovirus humano A	Tipo 77	VR-1187	~3 × LoD
Rinovirus humano A	Tipo 85	VR-1195	~3 × LoD
Rinovirus humano B	Tipo 3	VR-483	~3 × LoD
Rinovirus humano B	Tipo 14	VR-284	~3 × LoD
Rinovirus humano B	Tipo 17	VR-1663	~3 × LoD
Rinovirus humano B	Tipo 27	VR-502	~3 × LoD
Rinovirus humano B	Tipo 83	VR-1193	~3 × LoD

* El rinovirus humano tipo 7 (ATCC VR-1601) es una cepa derivada *in vitro* del reactivo V-127-001-021 (VR-117) del NIAID mediante pasaje de la ATCC y no es ningún aislado clínico de relevancia clínica. Según el análisis *in silico* que representa una variabilidad genética más amplia de este subtipo, la prueba cobas® Respiratory flex debería detectar las cepas de tipo 7 del rinovirus.

Tabla 29 Cepas de inclusividad de coronavirus humanos

Tipo de virus	Cepa	ID del proveedor	Tasa de aciertos del 100 % a
Coronavirus	229E	0810229CF	~3 × LoD
Coronavirus	229E	VR-740	~3 × LoD
Coronavirus	NL63	NR-470	~3 × LoD
Coronavirus	OC43	VR-1558	~3 × LoD

Tabla 30 Cepas de inclusividad del virus de la parainfluenza humana

Tipo de virus	Cepa	ID del proveedor	Tasa de aciertos del 100 % a
Virus de la parainfluenza humana 1	n.a.	0810014CF	~3 × LoD
Virus de la parainfluenza humana 1	C35	VR-94	~3 × LoD
Virus de la parainfluenza humana 2	n.a.	0810015CF	~3 × LoD
Virus de la parainfluenza humana 2	Greer	VR-92	~3 × LoD
Virus de la parainfluenza humana 3	n.a.	0810016CF	~3 × LoD
Virus de la parainfluenza humana 4A	n.a.	0810060CF	~3 × LoD
Virus de la parainfluenza humana 4B	CH 19503	VR-1377	~3 × LoD
Virus de la parainfluenza humana 4B	n.a.	0810060BCF	~3 × LoD

Equivalencia de matrices

Se evaluó la equivalencia entre las muestras de exudado nasofaríngeo y la matriz clínica simulada estabilizada en UTM-RT®. A los pools de muestras clínicas individuales negativas (nasofaríngeas) y la matriz clínica simulada estabilizada en UTM™ se añadieron tres paneles coformulados con coronavirus humanos comunes, VRS, influenza A y SARS-CoV-2 (panel 1), influenza B, adenovirus, rinovirus y virus de la parainfluenza humana 3 (panel 2) y metapneumovirus humanos, virus de la parainfluenza humana 1, 2 y 4 (panel 3) con un nivel de concentración de $\sim 2 \times \text{LoD}$. Se analizaron cuarenta y dos réplicas por concentración para cada tipo de muestra. Todas las réplicas analizadas con el panel $2 \times \text{LoD}$ resultaron positivas para la diana vírica respectiva en ambas matrices con una tasa de aciertos del 100 %.

Especificidad analítica (reactividad cruzada e interferencia microbiana)

La especificidad analítica de la prueba cobas® Respiratory flex se evaluó mediante el análisis de un panel de microorganismos entre los que figuran los que se encuentran habitualmente en el tracto respiratorio además de en el lavado nasal humano.

Se añadieron los organismos indicados en la Tabla 31 con concentraciones de $1,00\text{E}+06$ unidades/ml para las bacterias y hongos y de $1,00\text{E}+05$ unidades/ml para los virus, salvo que se indique lo contrario. Se realizó un análisis con cada posible organismo interferente en ausencia y presencia de la diana de coronavirus humanos comunes, VRS, influenza A, influenza B, SARS-CoV-2, adenovirus, rinovirus, metapneumovirus humanos y los virus de la parainfluenza humana 1, 2, 3 y 4 añadida a $\sim 3 \times \text{LoD}$.

La prueba cobas® Respiratory flex generó resultados negativos para todas las muestras de microorganismos sin diana vírica y resultados positivos para todas las muestras de microorganismos con diana vírica añadida a una concentración de $\sim 3 \times \text{LoD}$.

Tabla 31 Microorganismos analizados para la especificidad analítica/reactividad cruzada

Microorganismo	Concentración
<i>Aspergillus flavus</i>	1,00E+06 UFC/ml
<i>Bordetella parapertussis</i>	1,00E+06 UFC/ml
<i>Bordetella pertussis</i>	1,00E+06 UFC/ml
<i>Candida albicans</i>	1,00E+06 UFC/ml
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1,00E+06 UFI/ml
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1,00E+06 UFC/ml
Citomegalovirus	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml
Virus Epstein Barr	1,00E+05 cp/ml
<i>Escherichia coli</i>	1,00E+06 UFC/vial
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	1,00E+06 UFC/ml
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,00E+06 UFC/ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1,00E+06 UFC/vial
<i>Legionella pneumophila</i>	1,00E+06 UFC/ml
Virus del sarampión	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml
Coronavirus MERS	1,00E+05 cp/ml
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1,00E+06 UFC/ml
Virus de las paperas	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml
<i>Mycobacterium bovis</i>	1,00E+06 UFC/ml
<i>Mycoplasma genitalium</i>	1,00E+06 UFC/vial
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,00E+06 UCC/ml
<i>Neisseria elongata</i>	1,00E+06 UFC/ml
<i>Neisseria meningitidis</i>	1,00E+06 UFC/ml
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	5,00E+03 organismos/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,00E+06 UFC/ml
SARS-coronavirus (SARS-CoV-1)	1,00E+05 cp/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,00E+06 UFC/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,00E+06 UFC/ml
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,00E+06 UFC/ml
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,00E+06 UFC/ml
<i>Streptococcus salivarius</i>	1,00E+06 UFC/ml

Especificidad analítica: sustancias interferentes

Se analizaron niveles elevados de mucina (0,3-0,5 % p/v) y sangre total (1,5-3,0 % v/v) en una matriz clínica simulada estabilizada en UTM-RT® en ausencia y presencia de diana de coronavirus humanos comunes, VRS, influenza A, influenza B, SARS-CoV-2, adenovirus, rinovirus, metapneumovirus humanos y virus de la parainfluenza humana 1, 2, 3 y 4 añadida a una concentración de $\sim 3 \times \text{LoD}$. El análisis de las sustancias interferentes endógenas demostró que no interferían con el rendimiento de la prueba cobas® Respiratory flex.

También se analizaron como medio de recogida equivalente muestras de frotis nasofaríngeo clínicas negativas recogidas en medio Remel (M4RT, M5 y M6) así como en tubos Greiner (tubo de estabilización de virus VACUETTE® de 3 ml). Los medios de recogida alternativos se analizaron sin adición de diana y con adición de diana a una concentración de $\sim 3 \times \text{LoD}$. Ninguno de los métodos de recogida alternativos presentó interferencias con el rendimiento de la prueba cobas® Respiratory flex.

También se analizaron los compuestos farmacológicos de la Tabla 32 tanto en presencia como en ausencia de todas las dianas víricas.

Se ha demostrado que ninguna de las sustancias interferentes, a excepción de FluMist® y el tabaco rapé, afecta al rendimiento de la prueba. La prueba cobas® Respiratory flex generó resultados negativos para todas las muestras sin diana vírica y resultados positivos para todas las muestras con diana vírica.

Como se esperaba, FluMist® Quadrivalent, una vacuna tetravalente en forma de spray intranasal, compuesta por dos cepas de virus influenza A y dos cepas de virus influenza B para vacuna, generó resultados positivos para influenza A e influenza B y resultados negativos para todas las demás dianas cuando el análisis se realizó exclusivamente con FluMist®.

Además, se identificó el tabaco rapé como posible interferente de la prueba cobas® Respiratory flex, ya que generó resultados inválidos cuando se analizó con tabaco rapé al 0,1 % (p/v) sin diana vírica y se observaron resultados negativos/inválidos cuando se analizaron las muestras con dianas víricas.

Tabla 32 Compuestos farmacológicos analizados para la interferencia mediante la prueba cobas® Respiratory flex

Nombre genérico del fármaco	Ingrediente activo	Concentración
Discos multidosis AXOTIDE 250 mcg	Propionato de fluticasona	0,167 mg/ml
Ungüento nasal BACTROBAN	Mupirocina	0,20 mg/ml
Aerosol nasal BUDESONID Sandoz 64 mcg	Budesónida	0,039 mg/ml
Pastillas extra fuertes para aliviar el dolor de garganta CEPACOL	Benzocaína	5 mg/ml
Chloraseptic Max	Fenol	0,47 mg/ml
FLUMIST® Quadrivalent	Virus de la influenza A y B vivos debilitados	50 000 000 UFF/ml
Spray nasal Luffeel de Heel	<i>Luffa operculata</i>	2,99 mg/ml
	<i>Thryallis glauca</i>	2,99 mg/ml
	Histamina	1,5 mg/ml
	Azufre	1,5 mg/ml
Aerosol NASIVIN Pur al 0,05 %	Oximetazolina	0,011 mg/ml
Solución inyectable OBRACIN 40 mg/ml	Tobramicina	0,018 mg/ml
Disco RELENZA 5 mg	Zanamivir	0,0015 mg/ml
Cápsulas TAMIFLU 75 mg	Oseltamivir	0,0073 mg/ml
Tabaco rapé	Nicotina	0,1 % p/v
Vaselina	Vaselina	1 % p/v
VICKS VapoRub	Aceite de eucalipto y ungüento mentolado	1 % p/v
XYLOCAIN Spray 10 %	Lidocaína	2,68 mg/ml

Coinfección (interferencia competitiva)

Para evaluar la posible interferencia competitiva entre las dianas víricas, se analizó un total de 30 paneles formados por diferentes combinaciones de dianas de la prueba cobas® Respiratory flex. De este modo se incluyen combinaciones de todas las coinfecciones del tracto respiratorio médicamente relevantes, como se indica en la Tabla 33. Se analizaron doce réplicas con una o dos dianas víricas añadidas a una concentración de $\sim 3 \times \text{LoD}$ y que se mezclaron con una diana añadida a una concentración elevada ($1,0\text{E}+06$ unidades/ml). Ninguna de las dianas presentes en concentraciones elevadas interfirió en la detección de otras dianas víricas con niveles de concentración bajos.

Tabla 33 Combinaciones analizadas para la posible inhibición competitiva

Combinación	Diana 1 (elevada) $\geq 1,00\text{E}+06$ unidad/ml	Diana 2 (baja) $\sim 3 \times \text{LoD}$	Diana 3 (baja) $\sim 3 \times \text{LoD}$
1	Influenza A	Adenovirus	SARS-CoV-2
2	Influenza B	Adenovirus	SARS-CoV-2
3	VRS	Adenovirus	SARS-CoV-2
4	Coronavirus humanos comunes	Influenza A	SARS-CoV-2
5	Adenovirus	Influenza A	SARS-CoV-2
6	EV/RV	VRS	SARS-CoV-2
7	hMPV	VRS	SARS-CoV-2
8	SARS-CoV-2	EV/RV	Inf A
9	Influenza B	EV/RV	Inf A
10	VRS	EV/RV	Inf A
11	hPIV-1	Influenza B	Inf A
12	hPIV-2	Influenza B	Inf A
13	hPIV-3	SARS-CoV-2	Inf A
14	hPIV-4	SARS-CoV-2	Inf A
15	Influenza A	Coronavirus humanos comunes	Inf B
16	SARS-CoV-2	Coronavirus humanos comunes	Inf B
17	VRS	Coronavirus humanos comunes	Inf B
18	CoV	VRS	Inf B
19	Adenovirus	VRS	Inf B
20	EV/RV	Influenza A	Inf B
21	hMPV	Influenza A	Inf B
22	Influenza A	EV/RV	VRS
23	Influenza B	CoV	VRS
24	SARS-CoV-2	Adenovirus	VRS
25	hPIV-1	SARS-CoV-2	VRS
26	hPIV-2	SARS-CoV-2	VRS
27	hPIV-3	Influenza B	VRS
28	hPIV-4	Influenza B	VRS
29	Adenovirus	EV/RV	-
30	EV/RV	Adenovirus	-

Fallo de todo el sistema

La tasa de fallo de todo el sistema de la prueba cobas® Respiratory flex se determinó mediante el análisis de 100 réplicas de una matriz clínica simulada negativa a la que se añadió diana vírica. Estas muestras se analizaron con una concentración de $\sim 3 \times \text{LoD}$. Los resultados del estudio indican que todas las réplicas fueron válidas y positivas para las correspondientes dianas víricas, lo que representa una tasa de fallo de todo el sistema del 0 % (intervalo de confianza unilateral superior del 95 % de 2,95 %).

Contaminación por arrastre

La tasa de contaminación cruzada de la prueba cobas® Respiratory flex se determinó mediante el análisis de 480 réplicas de una matriz clínica simulada negativa y de 430 réplicas de un panel de SARS-CoV-2 de título elevado con una concentración aproximada de $6,50\text{E}+08$ partículas/ml. En total, se llevaron a cabo cinco series en los sistemas cobas® 6800/8800 y 25 series en el sistema cobas® 5800 con muestras positivas y negativas con configuración de tablero de ajedrez. Las 480 réplicas de la muestra negativa resultaron negativas, por lo que la tasa de contaminación cruzada fue del 0 % (intervalo de confianza unilateral superior del 95 % de 0,62 %).

Evaluación clínica del rendimiento

El rendimiento clínico de la prueba cobas® Respiratory flex en los sistemas cobas® 5800/6800/8800 con relación al de las pruebas comparativas con notificación 510(k) de la FDA y marcado CE se evaluó con muestras de frotis nasofaríngeo (FNF) de pacientes sintomáticos. El conjunto de muestras estaba formado por una combinación de muestras prospectivas congeladas antes del análisis con la prueba cobas® Respiratory flex (muestras prospectivas) y muestras clínicas retrospectivas y archivadas recogidas en medio UTM-RT® o UVT.

En el estudio se incluyeron un total de 1439 muestras FNF (884 prospectivas y 555 archivadas), de las que se pudieron analizar 1360 (824 prospectivas y 536 archivadas) y de las que finalmente se pudieron evaluar 1306 (792 prospectivas y 514 archivadas). El rendimiento de la prueba cobas® Respiratory flex resultó bueno y los puntos de estimación del porcentaje de concordancia de positivos (PCP) y el porcentaje de concordancia de negativos (PCN) entre la prueba cobas® Respiratory flex y las respectivas pruebas comparativas para los diferentes patógenos diana se muestran en la Tabla 34.

Tabla 34 Resumen del análisis de concordancia entre la prueba cobas® Respiratory flex y las pruebas comparativas

Diana vírica	Categoría de muestra	PCP (a/a+b)	PCP (IC del 95 %)	PCN (c/c+d)	PCN (IC del 95 %)	PCG (a+d/N)	PCG (IC del 95 %)
Influenza A	Prospectiva	100,0 % (8/8)	(67,6 %, 100,0 %)	99,5 % (779/783)	(98,7 %, 99,8 %)	99,5 % (787/791)	(98,7 %, 99,8 %)
Influenza A	Archivada	100,0 % (44/44)	(92,0 %, 100,0 %)	98,2 % (331/337)	(96,2 %, 99,2 %)	98,4 % (375/381)	(96,6 %, 99,3 %)
Influenza A	Global	100,0 % (52/52)	(93,1 %, 100,0 %)	99,1 % (1110/1120)	(98,4 %, 99,5 %)	99,1 % (1162/1172)	(98,4 %, 99,5 %)
Influenza B	Prospectiva	100,0 % (1/1)	(20,7 %, 100,0 %)	100,0 % (791/791)	(99,5 %, 100,0 %)	100,0 % (792/792)	(99,5 %, 100,0 %)
Influenza B	Archivada	100,0 % (8/8)	(67,6 %, 100,0 %)	99,4 % (361/363)	(98,0 %, 99,8 %)	99,5 % (369/371)	(98,1 %, 99,9 %)
Influenza B	Global	100,0 % (9/9)	(70,1 %, 100,0 %)	99,8 % (1152/1154)	(99,4 %, 100,0 %)	99,8 % (1161/1163)	(99,4 %, 100,0 %)
VRS	Prospectiva	33,3 % (1/3)	(6,1 %, 79,2 %)	100,0 % (789/789)	(99,5 %, 100,0 %)	99,7 % (790/792)	(99,1 %, 99,9 %)
VRS	Archivada	100,0 % (47/47)	(92,4 %, 100,0 %)	99,4 % (333/335)	(97,8 %, 99,8 %)	99,5 % (380/382)	(98,1 %, 99,9 %)
VRS	Global	96,0 % (48/50)	(86,5 %, 98,9 %)	99,8 % (1122/1124)	(99,4 %, 100,0 %)	99,7 % (1170/1174)	(99,1 %, 99,9 %)
SARS-CoV-2	Prospectiva	97,4 % (76/78)	(91,1 %, 99,3 %)	98,2 % (701/714)	(96,9 %, 98,9 %)	98,1 % (777/792)	(96,9 %, 98,8 %)
SARS-CoV-2	Archivada	100,0 % (47/47)	(92,4 %, 100,0 %)	0/0	No calculable	100,0 % (47/47)	(92,4 %, 100,0 %)
SARS-CoV-2	Global	98,4 % (123/125)	(94,4 %, 99,6 %)	98,2 % (701/714)	(96,9 %, 98,9 %)	98,2 % (824/839)	(97,1 %, 98,9 %)
Adenovirus	Prospectiva	100,0 % (2/2)	(34,2 %, 100,0 %)	99,6 % (785/788)	(98,9 %, 99,9 %)	99,6 % (787/790)	(98,9 %, 99,9 %)
Adenovirus	Archivada	100,0 % (37/37)	(90,6 %, 100,0 %)	95,6 % (328/343)	(92,9 %, 97,3 %)	96,1 % (365/380)	(93,6 %, 97,6 %)
Adenovirus	Global	100,0 % (39/39)	(91,0 %, 100,0 %)	98,4 % (1113/1131)	(97,5 %, 99,0 %)	98,5 % (1152/1170)	(97,6 %, 99,0 %)

Diana vírica	Categoría de muestra	PCP (a/a+b)	PCP (IC del 95 %)	PCN (c/c+d)	PCN (IC del 95 %)	PCG (a+d/N)	PCG (IC del 95 %)
Metapneumovirus humano	Prospectiva	90,9 % (10/11)	(62,3 %, 98,4 %)	99,9 % (780/781)	(99,3 %, 100,0 %)	99,7 % (790/792)	(99,1 %, 99,9 %)
Metapneumovirus humano	Archivada	97,7 % (42/43)	(87,9 %, 99,6 %)	99,7 % (334/335)	(98,3 %, 99,9 %)	99,5 % (376/378)	(98,1 %, 99,9 %)
Metapneumovirus humano	Global	96,3 % (52/54)	(87,5 %, 99,0 %)	99,8 % (1114/1116)	(99,3 %, 100,0 %)	99,7 % (1166/1170)	(99,1 %, 99,9 %)
Enterovirus y rinovirus	Prospectiva	77,0 % (47/61)	(65,1 %, 85,8 %)	99,2 % (725/731)	(98,2 %, 99,6 %)	97,5 % (772/792)	(96,1 %, 98,4 %)
Enterovirus y rinovirus	Archivada	96,9 % (31/32)	(84,3 %, 99,4 %)	96,8 % (332/343)	(94,3 %, 98,2 %)	96,8 % (363/375)	(94,5 %, 98,2 %)
Enterovirus y rinovirus	Global	83,9 % (78/93)	(75,1 %, 90,0 %)	98,4 % (1057/1074)	(97,5 %, 99,0 %)	97,3 % (1135/1167)	(96,2 %, 98,1 %)
Coronavirus humanos comunes (229E, HKU1, NL63, OC43)	Prospectiva	90,0 % (18/20)	(69,9 %, 97,2 %)	99,9 % (771/772)	(99,3 %, 100,0 %)	99,6 % (789/792)	(98,9 %, 99,9 %)
Coronavirus humanos comunes (229E, HKU1, NL63, OC43)	Archivada	98,4 % (63/64)	(91,7 %, 99,7 %)	91,0 % (283/311)	(87,3 %, 93,7 %)	92,3 % (346/375)	(89,1 %, 94,6 %)
Coronavirus humanos comunes (229E, HKU1, NL63, OC43)	Global	96,4 % (81/84)	(90,0 %, 98,8 %)	97,3 % (1054/1083)	(96,2 %, 98,1 %)	97,3 % (1135/1167)	(96,2 %, 98,1 %)
Virus parainfluenza 1	Prospectiva	0/0	No calculable	100,0 % (792/792)	(99,5 %, 100,0 %)	100,0 % (792/792)	(99,5 %, 100,0 %)
Virus parainfluenza 1	Archivada	100,0 % (40/40)	(91,2 %, 100,0 %)	97,6 % (327/335)	(95,4 %, 98,8 %)	97,9 % (367/375)	(95,8 %, 98,9 %)
Virus parainfluenza 1	Global	100,0 % (40/40)	(91,2 %, 100,0 %)	99,3 % (1119/1127)	(98,6 %, 99,6 %)	99,3 % (1159/1167)	(98,7 %, 99,7 %)
Virus parainfluenza 2	Prospectiva	100,0 % (2/2)	(34,2 %, 100,0 %)	100,0 % (790/790)	(99,5 %, 100,0 %)	100,0 % (792/792)	(99,5 %, 100,0 %)
Virus parainfluenza 2	Archivada	100,0 % (44/44)	(92,0 %, 100,0 %)	98,5 % (330/335)	(96,6 %, 99,4 %)	98,7 % (374/379)	(96,9 %, 99,4 %)
Virus parainfluenza 2	Global	100,0 % (46/46)	(92,3 %, 100,0 %)	99,6 % (1120/1125)	(99,0 %, 99,8 %)	99,6 % (1166/1171)	(99,0 %, 99,8 %)
Virus parainfluenza 3	Prospectiva	100,0 % (5/5)	(56,6 %, 100,0 %)	100,0 % (787/787)	(99,5 %, 100,0 %)	100,0 % (792/792)	(99,5 %, 100,0 %)
Virus parainfluenza 3	Archivada	95,3 % (41/43)	(84,5 %, 98,7 %)	99,7 % (336/337)	(98,3 %, 99,9 %)	99,2 % (377/380)	(97,7 %, 99,7 %)
Virus parainfluenza 3	Global	95,8 % (46/48)	(86,0 %, 98,8 %)	99,9 % (1123/1124)	(99,5 %, 100,0 %)	99,7 % (1169/1172)	(99,3 %, 99,9 %)

Diana vírica	Categoría de muestra	PCP (a/a+b)	PCP (IC del 95 %)	PCN (c/c+d)	PCN (IC del 95 %)	PCG (a+d/N)	PCG (IC del 95 %)
Virus parainfluenza 4	Prospectiva	100,0 % (1/1)	(20,7 %, 100,0 %)	100,0 % (791/791)	(99,5 %, 100,0 %)	100,0 % (792/792)	(99,5 %, 100,0 %)
Virus parainfluenza 4	Archivada	97,3 % (36/37)	(86,2 %, 99,5 %)	98,3 % (337/343)	(96,2 %, 99,2 %)	98,2 % (373/380)	(96,2 %, 99,1 %)
Virus parainfluenza 4	Global	97,4 % (37/38)	(86,5 %, 99,5 %)	99,5 % (1128/1134)	(98,9 %, 99,8 %)	99,4 % (1165/1172)	(98,8 %, 99,7 %)

Nota: a = número de muestras que resultan positivas tanto con la prueba cobas® Respiratory flex como con las pruebas comparativas; b = número de muestras que resultaron negativas para la prueba cobas® Respiratory flex y positivas con la prueba comparativa; c = número de muestras que resultaron positivas para la prueba cobas® Respiratory flex y negativas con las pruebas comparativas; d = número de muestras que resultaron negativas tanto con la prueba cobas® Respiratory flex como con las pruebas comparativas; N = número total de pares de muestras.

PCP: porcentaje de concordancia de positivos. PCN: porcentaje de concordancia de negatividad. PCG: porcentaje de concordancia global.

VRs: virus respiratorio sincitial, SARS-CoV-2: coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave de tipo 2.

Un total de 140 resultados resultaron discordantes entre la prueba cobas® Respiratory flex y la prueba comparativa correspondiente: de estos, 113 fueron resultados positivos con la prueba cobas® Respiratory flex y negativos con la prueba comparativa, mientras que 27 de los resultados fueron negativos con la prueba cobas® Respiratory flex y positivos con la prueba comparativa. El análisis de los resultados discrepantes de las 113 muestras positivas para cobas® Respiratory flex después del análisis adicional de las muestras con un ensayo alternativo con notificación 510(k) y marcado CE y/o secuenciación de ADN de los amplicones confirmó la presencia de los organismos diana en 104 muestras. En las 9 muestras restantes, no se pudo realizar el análisis de discrepancias debido a un volumen de muestra limitado. La gran mayoría (96/113, 85,0 %) de estos resultados discrepantes con la prueba cobas® Respiratory flex fueron supuestamente de muestras de título bajo (Ct > 30) (iguales o cercanas al LoD del candidato y los ensayos comparativos), casos en los que las diferencias entre los LoD de los métodos analíticos suelen generar discrepancias.

De las 27 muestras negativas para cobas® Respiratory flex, no se pudo realizar el análisis de discrepancias de 1 muestra debido a un volumen de muestra limitado. Se realizó el análisis de discordancias de las 26 muestras restantes negativas para cobas® Respiratory flex con un ensayo NAAT alternativo con notificación 510(k) y marcado CE. El análisis de discordancias confirmó el resultado inicial de la prueba cobas® Respiratory flex en 16 muestras, así como los resultados de la prueba comparativa en 10 muestras.

En la Tabla 35 se muestran casos de detección de varios virus con la prueba cobas® Respiratory flex. La combinación identificada con más frecuencia, en nueve muestras, fue la combinación de adenovirus y rinovirus/enterovirus. De estas, seis se detectaron también con la prueba comparativa.

Tabla 35 Detección de varios virus (≥ 3 casos) con la prueba cobas® Respiratory flex

Analito 1	Analito 2	Total de detecciones múltiples	Número de muestras con detecciones de falsos positivos	Analito(s) falsos positivos
Adenovirus	Rinovirus/enterovirus	9	3	Rinovirus/enterovirus (1), adenovirus (2)
Virus respiratorio sincitial	Rinovirus/enterovirus	8	3	Rinovirus/enterovirus (2), virus respiratorio sincitial (1)
Adenovirus	Virus respiratorio sincitial	6	5	Adenovirus (5)
Parainfluenza humana 1	Rinovirus/enterovirus	6	3	Rinovirus/enterovirus (1), parainfluenza humana 1 (2)
Coronavirus	Influenza A	5	3	Influenza A (1), coronavirus (2)
Coronavirus	Virus respiratorio sincitial	5	4	Coronavirus (4), virus respiratorio sincitial (1)
Coronavirus	Rinovirus/enterovirus	5	4	Coronavirus (4), rinovirus/enterovirus (1)
Adenovirus	Coronavirus	4	2	Adenovirus (2)
Adenovirus	Metapneumovirus humano	3	1	Adenovirus (1)
Coronavirus	Metapneumovirus humano	3	1	Coronavirus (1)
Coronavirus	Parainfluenza humana 3	3	2	Coronavirus (2)
Coronavirus	SARS-CoV-2	3	1	Coronavirus (1)
Parainfluenza humana 1	Influenza A	3	2	Parainfluenza humana 1 (2)

Nota: se entiende por falso positivo cuando la detección en la muestra se realiza con la prueba cobas® Respiratory flex pero no con la prueba comparativa.

Información adicional

Características principales de la prueba

Tipo de muestra	Muestras de frotis nasofaríngeo recogidas en el sistema UTM-RT® de Copan, el sistema UVT de BD™ o uno equivalente y diluidas en cobas ® MIS
Cantidad de muestra necesaria	1,2 ml (0,4 ml de muestra de paciente diluida en 0,8 ml de cobas ® MIS)
Volumen de procesamiento de muestras	0,85 ml

Símbolos

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

Tabla 36 Símbolos utilizados en las etiquetas de los productos de PCR para diagnóstico de Roche

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

Asistencia técnica

Para obtener asistencia técnica, póngase en contacto con su afiliada local:

https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Fabricante e importador

Tabla 37 Fabricante e importador



Roche Molecular Systems, Inc.
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876, USA
www.roche.com

Fabricado en los EE. UU.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Marcas registradas y patentes

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

Derechos de autor

©2025 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Bibliografia

1. Ferkol T, Schraufnagel D. The global burden of respiratory disease. *Ann Am Thorac Soc.* 2014;11:404-6.
2. Ghebrehewet S, MacPherson P, Ho A. Influenza. *BMJ.* 2016;355:i6258.
3. World Health Organization. The global burden of disease: 2004 update. Published: 2 Mar 2004; Accessed 29 Jan 2024. https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/43942/9789241563710_eng.pdf?sequence=1.
4. Shi T, McAllister DA, O'Brien KL, et al. Global, regional, and national disease burden estimates of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children in 2015: A systematic review and modelling study. *Lancet.* 2017;390:946-58.
5. Mokdad AH, Marks JS, Stroup DF, Gerberding JL. Actual causes of death in the United States, 2000. *JAMA.* 2004;291:1238-45.
6. Passiotti M, Maggina P, Megremis S, Papadopoulos NG. The common cold: Potential for future prevention or cure. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2014;14:413.
7. Heikkinen T, Jarvinen A. The common cold. *Lancet.* 2003;361:51-9.
8. Florin TA, Plint AC, Zorc JJ. Viral bronchiolitis. *Lancet.* 2017;389:211-24.
9. Prina E, Ranzani OT, Torres A. Community-acquired pneumonia. *Lancet.* 2015;386:1097-108.
10. Dasaraju PV, Liu C. Infections of the respiratory system. In: Baron S, editor. *Medical Microbiology.* 4th Edition. Galveston, TX (USA): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996.
11. Dinnes J, Deeks JJ, Berhane S, et al. Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection. *Cochrane Database Syst Rev.* 2021;3:CD013705.
12. Azar MM, Landry ML. Detection of influenza A and B viruses and respiratory syncytial virus by use of Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988 (CLIA)-waived point-of-care assays: A paradigm shift to molecular tests. *J Clin Microbiol.* 2018;56.
13. Gonzales R, Bartlett JG, Besser RE, et al. Principles of appropriate antibiotic use for treatment of nonspecific upper respiratory tract infections in adults: Background. *Ann Intern Med.* 2001;134:490-4.
14. Thompson WW, Shay DK, Weintraub E, et al. Mortality associated with influenza and respiratory syncytial virus in the United States. *JAMA.* 2003;289:179-86.
15. Bloom-Feshbach K, Alonso WJ, Charu V, et al. Latitudinal variations in seasonal activity of influenza and respiratory syncytial virus (RSV): A global comparative review. *PLoS One.* 2013;8:e54445.
16. Wang C, Horby PW, Hayden FG, Gao GF. A novel coronavirus outbreak of global health concern. *Lancet.* 2020;395:470-3.
17. Wang D, Hu B, Hu C, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA.* 2020;323:1061-9.
18. World Health Organization. WHO COVID-19 dashboard. Accessed: 29 Jan 2024. <https://data.who.int/dashboards/covid19/cases?n=c>.
19. Lu R, Zhao X, Li J, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet.* 2020;395:565-74.

20. American Academy of Pediatrics. Coronaviruses, including SARS and MERS. In: Kimberlin DW, Brady MT, Jackson MA, Long SS, editors. Red Book: 2018. Report of the Committee on Infectious Diseases. 31st Edition. American Academy of Pediatrics; 2018:297-301.
21. World Health Organization. Influenza (seasonal) [Fact sheet]. Published: 3 Oct 2023; Accessed: 29 Jan 2024. [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal)).
22. Uyeki TM. Influenza. *Ann Intern Med.* 2017;167:ITC33-ITC48.
23. Heikkinen T, Ojala E, Waris M. Clinical and socioeconomic burden of respiratory syncytial virus infection in children. *J Infect Dis.* 2017;215:17-23.
24. Chosewood LC, Wilson DE, editors. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 5th Edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. Atlanta, GA (USA): Centers for Disease Control and Prevention; 2009.
25. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections*. 4th Edition. M29-A4. Wayne, PA (USA): Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.

Revisión del documento

Información de revisión del documento	
Doc. Rev. 1.0 08/2024	Primera publicación.
Doc. Rev. 2.0 02/2025	<p>Se han actualizado las instrucciones de uso para incluir información sobre x800.</p> <p>Se ha eliminado el símbolo "Rx Only" en la primera página.</p> <p>Se ha actualizado la página de símbolos armonizados.</p> <p>Se ha adaptado la Tabla 18: Probit e intervalo de confianza para rinovirus B y parainfluenza humana 2.</p> <p>Se ha adaptado la Tabla 28: tasa de aciertos para rinovirus humano tipo 16.</p> <p>Se han corregido errores ortográficos de las instrucciones de uso.</p> <p>Se ha añadido información sobre la versión 2.0 del software del sistema para los sistemas cobas® 6800/8800.</p> <p>Se ha eliminado las referencias P/N del material fungible; la información detallada sobre el material fungible se encuentra en la Asistencia al usuario de los sistemas cobas® 5800 y cobas® 6800/8800.</p> <p>Póngase en contacto con su representante local de Roche para cualquier consulta.</p>

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

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