

cobas[®] 4800 System Sample Preparation Kit	c4800 SMPL PREP	960 Tests 240 Tests	P/N: 05235804190 P/N: 05235782190
cobas[®] 4800 CT/NG Amplification/Detection Kit	c4800 CT/NG AMP/DET	960 Tests 240 Tests	P/N: 05235979190 P/N: 05235952190
cobas[®] 4800 CT/NG Controls Kit	c4800 CT/NG CTLS	10 Sets	P/N: 05235928190
cobas[®] 4800 System Control Diluent Kit	c4800 CDIL	10 Sets	P/N: 05235847190
cobas[®] 4800 System Wash Buffer Kit	c4800 WB	960 Tests 240 Tests	P/N: 05235871190 P/N: 05235863190
cobas[®] 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit	c4800 LIQ CYT	960 Tests 240 Tests	P/N: 05235839190 P/N: 05235812190

AVISO: la compra del producto permite al comprador su uso para la amplificación y detección de secuencias de ácidos nucleicos mediante procesos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y otros procesos relacionados con el diagnóstico *in vitro* de tejidos humanos. La compra no garantiza ninguna patente general ni ninguna otra licencia de ningún tipo a excepción de este derecho específico de uso.

USO PREVISTO

La prueba **cobas[®]** 4800 CT/NG es una prueba de amplificación *in vitro* de los ácidos nucleicos para la detección cualitativa de *Chlamydia trachomatis* (CT) y/o *Neisseria gonorrhoeae* (NG) en muestras de pacientes. La prueba utiliza la amplificación del fragmento de ADN objetivo mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la hibridación de ácidos nucleicos para la detección del ADN de *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* en muestras endocervicales en torunda, muestras vaginales en torunda obtenidas por personal médico, muestras vaginales en torunda recogidas personalmente con ayuda del personal médico y muestras de orina masculinas y femeninas en medio de recogida **cobas[®]** PCR Media (Roche Molecular Systems, Inc.), y muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt[®] (Hologic, Inc.). La prueba se utiliza con fines diagnóstico y como herramienta de detección en poblaciones sintomáticas y asintomáticas.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

Chlamydia es un género de bacterias gramnegativas inmóviles que existen como parásitos intracelulares obligados de las células eucariotas. Existen cuatro especies del género *Chlamydia*: *C. trachomatis*, *C. psittaci*, *C. pecorum* y *C. pneumoniae* (TWAR). No obstante, la especie *C. psittaci* es principalmente un patógeno animal y la función patogénica de la especie *C. pecorum* no está clara¹. El género *C. trachomatis* se compone de quince serotipos básicos que pueden provocar enfermedades en humanos.

La infección por *Chlamydia trachomatis* (CT) es la enfermedad bacteriana de transmisión sexual (ETS) más común los Estados Unidos^{1,2}, así como la segunda causa más importante de enfermedades de transmisión sexual en todo el mundo, con aproximadamente 89,1 millones de casos anuales.² El informe Centers for Disease Control (CDC) Sexually Transmitted Disease Surveillance 2008 Supplement destaca 1.210.523 infecciones por CT en los 50 estados.³ La Encuesta Nacional de Examen de Salud y Nutrición de los EE.UU. alerta que 2.291.000 ciudadanos estadounidenses con edades comprendidas entre los 14 y los 39 años son portadores de CT.⁴

La CT es el agente infeccioso causante de una gran variedad de enfermedades en los hombres: uretritis, conjuntivitis, epididimitis y el síndrome de Reiter. Entre las mujeres, las consecuencias de las infecciones clamidiales son graves si no se someten a tratamiento. Puesto que aproximadamente la mitad de estas infecciones son asintomáticas, no se detectan ni se tratan muchos de los casos, lo que provoca problemas adicionales especialmente en mujeres embarazadas. Además, son frecuentes las infecciones recurrentes si el compañero sexual no es diagnosticado y sometido a tratamiento.⁵ La infección por CT puede provocar uretritis, cervicitis, proctitis, conjuntivitis, endometritis, salpingitis (que provoca infertilidad o embarazos ectópicos) y perihepatitis. Los bebés de madres infectadas pueden desarrollar conjuntivitis, faringitis y neumonía.⁶

La *Neisseria gonorrhoeae* (gonococo) es el agente causal de la gonorrea. La *N. gonorrhoeae* es un diplococo gramnegativo, citocromo oxidasa positivo, inmóvil y que no forma esporas. El CDC registró un total de 336.742 casos de infección por NG en el año 2008⁷ y se estima que más de 700.000 personas se infectan cada año. Después de varios años con tasas de infección estables, se ha producido un descenso del 5,4 % (111,5 casos por cada 100.000 habitantes) en los Estados Unidos desde el año 2007.⁸

Las manifestaciones clínicas de la infección por NG son numerosas. En los hombres, aparece uretritis aguda tras un período de incubación de 1-10 días, con descarga uretral y disuria.⁹ Solamente unos pocos hombres no presentan síntomas ni manifiestan síntomas de uretritis.¹⁰ La epididimitis aguda es la complicación más habitual, especialmente en hombres jóvenes. Entre las mujeres, el punto de infección más habitual es el endocervix. Existe una alta prevalencia de infecciones combinadas con CT, *Trichomonas vaginalis*, así como de vaginosis bacteriana; son muchas las mujeres que no presentan síntomas y que no acuden al médico. Los síntomas predominantes son el aumento de la descarga, la disuria y el sangrado intermenstrual.¹¹ La enfermedad inflamatoria pélvica (EIP) puede producirse en un 10 %-20 % de las mujeres, combinada con endometritis, salpingitis, absceso tuboovárico, peritonitis pélvica y perihepatitis.¹² Otros puntos de infección por gonococo son el recto, la faringe, la conjuntiva y, en menor grado, la enfermedad se manifiesta diseminada en forma de infección gonocócica.¹³ Los bebés de madres infectadas pueden desarrollar conjuntivitis.¹³

El diagnóstico presuntivo de la gonorrea se basa en: (1) observación de diplococos intracelulares gramnegativos en frotis para tinción de gram de descargas uretrales en hombres y de secreciones endocervicales en mujeres; (2) crecimiento de *N. gonorrhoeae* de la uretra (hombres) o del endocervix en medios de cultivo selectivos seguido de la demostración de la morfología de las colonias típicas, con actividad oxidasa positiva y morfología diplocócica gramnegativa; y/o (3) detección de *N. gonorrhoeae* con pruebas de laboratorio sin cultivo. El diagnóstico definitivo de la gonorrea requiere (1) el aislamiento de la *Neisseria gonorrhoeae* de los puntos de exposición por cultivo (cultivos de 48-72 horas en medios selectivos), demostración de la morfología colonial típica, prueba oxidasa positiva, morfología típica gramnegativa y (2) la confirmación de aislados de cultivo de *N. gonorrhoeae* mediante métodos de identificación específicos (producción de ácidos de carbohidratos, pruebas rápidas por enzimas, ensayos serológicos, pruebas de ácidos nucleicos específicos).¹⁴⁻¹⁷ El cultivo es necesario para la determinación de la susceptibilidad antimicrobiana.

Los objetivos de la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG incluyen los quince principales serotipos de *Chlamydia trachomatis*, la mutación sueca de la *C. trachomatis* (nvCT) y las variantes salvaje y de las secuencias de la región DR-9 de la *Neisseria gonorrhoeae*.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

La prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG para la *Chlamydia trachomatis* y la *Neisseria gonorrhoeae* se basa en 2 procesos principales: (1) preparación automatizada de las muestras para obtener ácidos nucleicos, incluido el ADN de la CT y la NG; (2) amplificación mediante PCR de secuencias objetivo de ADN con ayuda de pares de cebadores complementarios específicos para CT y NG y detección a tiempo real simultánea de las sondas de detección de oligonucleótidos escindidas mediante marcadores fluorescentes específicos para CT y NG. El control interno, que contiene ADN de la CT y la NG, se añade a todas las muestras durante la preparación de las muestras y se amplifica y detecta simultáneamente en cada muestra para supervisar el proceso completo.

La preparación de muestras para la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG se realiza de forma automática con el equipo **cobas x 480**. Las muestras se lisan en el dispositivo de obtención o durante la preparación de las muestras con el agente caotrópico del **cobas**[®] PCR Media y el tampón de lisis respectivamente. A continuación se purifican los ácidos nucleicos liberados, junto con el ADN del control interno para CT/NG añadido, mediante la absorción de las partículas magnéticas. Posteriormente se lavan y finalmente se separan de dichas partículas, con lo que quedan listos para la amplificación mediante PCR y la detección.

El reactivo de mezcla maestra contiene cebadores y sondas específicos para el ADN plasmídico críptico de la CT, el ADN genómico del gen *ompA* de la CT, el ADN normal y la variante de ADN para NG en la región DR-9 y el ADN del control interno de la CT y la NG.

Amplificación mediante PCR

Selección del fragmento objetivo

Además del ADN cromosómico, la *C. trachomatis* contiene aproximadamente un plásmido críptico con 7.500 pares de bases que es común a todos los serotipos de la *C. trachomatis*.^{18,19} La prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG utiliza los cebadores para CT CP102 y CP103 para definir una secuencia de aproximadamente 206 nucleótidos dentro del ADN plasmídico críptico de la *C. trachomatis*. Además, la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG utiliza los cebadores CTMP101 y CTMP102 de la CT para definir una secuencia de aproximadamente 182 nucleótidos del ADN cromosómico de la *C. trachomatis*.

El fragmento objetivo de la *N. gonorrhoeae* es una región de repetición directa altamente conservada denominada DR-9. La prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG utiliza los cebadores para NG NG514 y NG519 para definir una secuencia de aproximadamente 190 nucleótidos de esta región. Además, la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG utiliza otro conjunto de cebadores para NG (NG552 y NG579) para definir una segunda secuencia de aproximadamente 215 nucleótidos identificados como una variante de secuencia conservada de esta región.

Amplificación del fragmento objetivo

Las muestras procesadas se añaden a la mezcla de amplificación en una placa de micropocillos donde se produce la amplificación mediante PCR. La mezcla de reacción se calienta para separar el ADN bicatenario aislado y exponer las secuencias objetivo de los cebadores. A medida que la mezcla se enfría, los cebadores se hibridan con el ADN objetivo. La ADN polimerasa Z05, en presencia de Mn^{2+} y un exceso de dNTP, prolonga la fase de hibridación de los cebadores a lo largo de las plantillas objetivo para producir una molécula de ADN bicatenario. Con ello se completa el primer ciclo de la PCR, que da lugar a una copia de ADN bicatenario de las regiones objetivo del ADN de la CT y/o la NC y del ADN del control interno de la CT/NG. La repetición de este proceso permite la amplificación del ADN comprendido entre las secuencias objetivo de los cebadores, con lo que se obtiene una molécula de ADN bicatenario denominada amplicón. El analizador **cobas z 480** repite automáticamente este proceso durante un número de ciclos predeterminado, con el fin de duplicar en cada ciclo la cantidad de ADN amplicón. El número de ciclos requerido se programa previamente en el programa **cobas**[®] 4800. La amplificación tiene lugar únicamente en los fragmentos objetivo específicos de la CT y/o NG comprendidos entre los cebadores respectivos; el plásmido críptico completo de la CT o los genomas de la CT y/o NG no se amplifican.

Amplificación del control interno

El control interno de la CT/NG es una combinación de dos ADN plasmídicos recombinantes no infecciosos, cada uno con regiones de unión para cebadores idénticas a las de las secuencias genómicas objetivo de la *C. trachomatis* o la *N. gonorrhoeae*. Ambos ADN plasmídicos recombinantes presentan secuencias objetivo internas aleatorias idénticas, así como una región de unión para cebadores exclusiva que diferencia el control interno para CT/NG del amplicón objetivo. Estas características se seleccionaron para garantizar una amplificación independiente tanto del control interno de la CT/NG como del ADN objetivo de la *C. trachomatis* y la *N. gonorrhoeae*. El reactivo del control interno de la CT/NG está incluido en la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG y se introduce en cada muestra del equipo **cobas x 480** durante el procesamiento de las muestras.

Amplificación selectiva

La amplificación selectiva de los ácidos nucleicos objetivo de la muestra se logra en la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG mediante el uso de la enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) y el trifosfato de desoxiuridina (dUTP). La enzima AmpErase reconoce y cataliza la destrucción de las cadenas de ADN que contienen desoxiuridina²⁰, pero no del ADN que contiene desoxitimidina. El ADN natural carece de desoxiuridina, que sin embargo está siempre presente en los amplicones debido al empleo de trifosfato de desoxiuridina en lugar de trifosfato de timidina como uno de los dNTP del reactivo de mezcla maestra; por lo tanto, solamente el amplicón contiene desoxiuridina. La desoxiuridina hace al amplicón contaminante susceptible de destrucción por la enzima AmpErase antes de la amplificación del ADN objetivo. La enzima AmpErase, que se incluye en el reactivo de mezcla maestra, cataliza la escisión del ADN que contiene desoxiuridina en la posición de los residuos de desoxiuridina abriendo la cadena de desoxirribosa en la posición C1. Cuando se calienta en el primer paso del ciclo térmico para alcanzar el pH alcalino de la mezcla maestra, la cadena de ADN del amplicón se rompe en la posición de la desoxiuridina, lo que hace que el ADN ya no pueda amplificarse. La enzima AmpErase es inactiva a temperaturas superiores a los 55 °C, es decir, durante los pasos de la ciclación térmica y, por consiguiente, no destruye el amplicón objetivo. La prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG ha demostrado desactivar 10³ copias como mínimo del amplicón de la CT/NG que contiene desoxiuridina por cada PCR.

Detección de productos de PCR en la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG

La prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG utiliza la tecnología de PCR en tiempo real^{21,22}. El uso de sondas con marcadores fluorescentes permite detectar en tiempo real la acumulación de productos de PCR mediante la supervisión de la intensidad de la señal de fluorescencia emitida durante el proceso de la amplificación. Las sondas incluyen plásmido críptico de la CT, el gen *ompA* de la CT, región DR-9 de la NG, variante DR-9 de la NG y oligonucleótidos específicos del control interno de la CT/NG, todos ellos marcados con un emisor (reporter) y un enmascarador (quencher). Si las sondas con marcadores fluorescentes están intactas, la señal de fluorescencia del emisor queda suprimida por la proximidad del enmascarador debido a los efectos de la transferencia de energía de tipo Förster. Durante la PCR, las sondas se hibridan con su respectiva secuencia objetivo y resultan escindidas por la actividad de las nucleasas 5' a 3' de la ADN polimerasa Z05 termoestable. Una vez escindidos el emisor y el enmascarador, cesa el enmascaramiento (quenching) y aumenta la emisión de fluorescencia. La amplificación de los fragmentos objetivos de la CT y la NG y del control interno de la CT/NG se miden de forma independiente a distintas longitudes de onda. Este proceso se repite durante un número de ciclos predeterminado, aumentando en cada ciclo la intensidad de emisión de cada uno de los marcadores emisores.

REACTIVOS

cobas[®] 4800 System Sample Preparation Kit

Kit de preparación de muestras para el sistema **cobas**[®] 4800
(P/N: 05235782190)

c4800 SMPL PREP

240 pruebas

MGP 10 x 4,5 ml
(Micropartículas magnéticas para el sistema **cobas**[®] 4800)

Micropartículas magnéticas
93 % de isopropanol

EB 10 x 18 ml
(Tampón de elución para el sistema **cobas**[®] 4800)

Tampón Tris
0,09 % de azida sódica

cobas[®] 4800 System Sample Preparation Kit

Kit de preparación de muestras para el sistema **cobas**[®] 4800
(P/N: 05235804190)

c4800 SMPL PREP

960 pruebas

MGP 10 x 13,5 ml
(Micropartículas magnéticas para el sistema **cobas**[®] 4800)

Micropartículas magnéticas
93 % de isopropanol

EB 10 x 18 ml
(Tampón de elución para el sistema **cobas**[®] 4800)

Tampón Tris
0,09 % de azida sódica

cobas[®] 4800 System Wash Buffer Kit

Kit de tampón de lavado para el sistema **cobas**[®] 4800
(P/N: 05235863190)

c4800 WB

240 pruebas

WB 10 x 55 ml
(Tampón de lavado para el sistema **cobas**[®] 4800)

Citrato de sodio dihidratado
0,05 % de N-metilisotiazolona-HCl

cobas® 4800 System Wash Buffer Kit

Kit de tampón de lavado para el sistema **cobas® 4800**
(P/N: 05235871190)

c4800 WB**960 pruebas****WB**

(Tampón de lavado para el sistema **cobas® 4800**)

Citrato de sodio dihidratado
0,05 % de N-metilisotiazolona-HCl

10 x 200 ml

cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit

Kit de preparación para citología líquida del sistema **cobas® 4800**
(P/N: 05235812190)

c4800 LIQ CYT**240 pruebas****PK**

(Proteinasa K para **cobas® 4800**)

Tampón Tris
EDTA
Glicerol
Cloruro de calcio
Acetato de calcio
< 2 % de proteinasa K

10 x 0,9 ml

SDS

(Reactivo SDS para el sistema **cobas® 4800**)

Tampón Tris
0,2 % de SDS
0,09 % de azida sódica

10 x 3 ml

LYS

(Tampón de lisis para el sistema **cobas® 4800**)

Tampón Tris
37 % (p/p) de guanidina HCl
< 5 % de polidocanol

10 x 10 ml

cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit

Kit de preparación para citología líquida del sistema **cobas® 4800**
(P/N: 05235839190)

c4800 LIQ CYT**960 pruebas****PK**

(Proteinasa K para **cobas® 4800**)

Tampón Tris
EDTA
Glicerol
Cloruro de calcio
Acetato de calcio
< 2 % de proteinasa K

20 x 1,2 ml

SDS

(Reactivo SDS para el sistema **cobas® 4800**)

Tampón Tris
0,2 % de sulfato de sodio y dodecilo
0,09 % de azida sódica

10 x 9 ml

LYS

(Tampón de lisis para el sistema **cobas® 4800**)

Tampón Tris
37 % (p/p) de HCl de guanidina
< 5 % de polidocanol

10 x 36 ml

cobas® 4800 CT/NG Amplification/Detection Kit

Kit de amplificación/detección **cobas® 4800 CT/NG**
(P/N: 05235952190)

c4800 CT/NG AMP/DET

240 pruebas**CT/NG MMX**

(Mezcla maestra **cobas® 4800 CT/NG**)

Tampón tricina
 Acetato de potasio
 Hidróxido potásico
 Glicerol
 < 0,01 % de dATP, dCTP, dGTP y dUTP
 < 0,01 % de cebadores ascendente y descendente para CT y NG
 < 0,01 % de sondas con marcador fluorescente para CT y NG
 < 0,01 % de sondas con marcadores fluorescentes para el control interno
 < 0,01 % de aptámero oligonucleótido
 < 0,10 % de ADN polimerasa Z05 (microbiana)
 < 0,10 % de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana)
 0,09 % de azida sódica

10 x 0,5 ml

CT/NG Mn

(Solución de manganeso **cobas® 4800 CT/NG**)

< 1,0 % de acetato de manganeso
 < 0,02 % de ácido acético glacial
 0,09 % de azida sódica

10 x 1,5 ml

cobas® 4800 CT/NG Amplification/Detection Kit

Kit de amplificación/detección **cobas® 4800 CT/NG**
(P/N: 05235979190)

c4800 CT/NG AMP/DET

960 pruebas**CT/NG MMX**

(Mezcla maestra **cobas® 4800 CT/NG**)

Tampón tricina
 Acetato de potasio
 Hidróxido potásico
 Glicerol
 < 0,01 % de dATP, dCTP, dGTP y dUTP
 < 0,01 % de cebadores ascendente y descendente para CT y NG
 < 0,01 % de sondas con marcador fluorescente para CT y NG
 < 0,01 % de sondas con marcadores fluorescentes para el control interno
 < 0,01 % de aptámero oligonucleótido
 < 0,10 % de ADN polimerasa Z05 (microbiana)
 < 0,10 % de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana)
 0,09 % de azida sódica

20 x 1,0 ml

CT/NG Mn

(Solución de manganeso **cobas® 4800 CT/NG**)

< 1,0 % de acetato de manganeso
 < 0,02 % de ácido acético glacial
 0,09 % de azida sódica

10 x 1,5 ml

cobas® 4800 System Control Diluent Kit

Kit de diluyentes de control para el sistema **cobas® 4800**
(P/N: 05235847190)

c4800 CDIL

10 juegos**CDIL**

(Diluyente de control para el sistema **cobas® 4800**)

Tampón Tris
 37 % HCl de guanadina

10 x 4,3 ml

cobas® 4800 CT/NG Controls Kit

Kit de controles **cobas® 4800 CT/NG**
(P/N: 05235928190)

c4800 CT/NG CTLS

10 juegos**CT/NG (+) C**

(Control positivo **cobas® 4800 CT/NG**)

Tampón Tris
 EDTA
 0,05 % de azida sódica
 < 0,002 % de ARN poli Ar (sintético)
 < 0,01 % de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano) con secuencias de *C. trachomatis*
 < 0,01 % de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano) con secuencias de *N. gonorrhoeae*

10 x 0,5 ml

(-) C 10 x 0,5 ml
(Control negativo para el sistema **cobas**[®] 4800)
Tampón Tris
EDTA
0,05 % de azida sódica
< 0,002 % de ARN poli Ar (sintético)

CT/NG IC 10 x 0,3 ml
(Control interno **cobas**[®] 4800 CT/NG)
Tampón Tris
EDTA
0,05 % de azida sódica
< 0,002 % de ARN poli Ar (sintético)
< 0,01 % de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano)
con secuencias de unión a cebadores para *C. trachomatis* y una región exclusiva de unión a sonda
< 0,01 % de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano)
con secuencias de unión a cebadores para *N. gonorrhoeae* y una región exclusiva de unión a sonda

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

A. PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

- B. Esta prueba se ha diseñado para el uso con muestras endocervicales y vaginales recogidas en torunda con el **cobas**[®] PCR Media Uni Swab Sample Kit y el **cobas**[®] PCR Media Dual Swab Sample Kit, muestras de orina masculina y femenina obtenidas mediante el **cobas**[®] PCR Urine Sample Kit o el **cobas**[®] PCR Media Kit y muestras cervicales obtenidas en solución PreservCyt[®].
- C. No pipetee con la boca.
- D. No se debe comer, beber ni fumar en las áreas de trabajo del laboratorio. Utilice guantes desechables, batas de laboratorio y protección ocular para manipular las muestras o los reactivos del kit. Lávese muy bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos de las pruebas.
- E. Evite la contaminación microbiana y del ADN de los reactivos.
- F. Deseche los reactivos no utilizados y los residuos según la reglamentación nacional, federal, estatal y local.
- G. No utilice los reactivos después de la fecha de caducidad.
- H. No utilice reactivos ni contenedores que estén visiblemente dañados o muestren signos de fuga.
- I. No haga pools con los reactivos.
- J. Puede solicitar Hojas de Datos de Seguridad (Safety Data Sheets, SDS) en las oficinas locales de Roche.
- K. Es preciso el uso de guantes durante la manipulación de las muestras y los reactivos **cobas**[®] 4800 para evitar la contaminación.
- L. Las muestras deben tratarse como material infeccioso y, como tal, deben aplicarse los procedimientos de seguridad de laboratorio descritos en la publicación *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*²³ y en el documento M29-A3 del CLSI²⁴.
- M. El **cobas**[®] PCR Media (del tubo de muestra primario), **LYS** y **CDIL** contienen hidrocloreuro de guanadina. **Evite el contacto directo entre hidrocloreuro de guanidina y el hipoclorito de sodio (lejía) u otros reactivos altamente reactivos como ácidos o bases. Tales mezclas pueden producir gases nocivos.** Si se derrama líquido que contenga hidrocloreuro de guanidina, límpielo con un detergente apto para laboratorio y agua. Si el líquido vertido contiene agentes potencialmente infecciosos, limpie **PRIMERO** el área afectada con detergente para laboratorio y agua y, a continuación, con una solución de hipoclorito de sodio al 0,5 %.
- N. **MGP** contiene isopropanol y es altamente inflamable. Mantenga el producto lejos de las llamas y lugares donde puedan producirse chispas.
- O. **EB, SDS, CT/NG MMX, CT/NG Mn, (-) C, CT/NG (+) C y CT/NG IC** contienen azida sódica. La azida sódica puede reaccionar con las tuberías de plomo o cobre y formar azidas metálicas muy explosivas. Cuando elimine soluciones que contengan azida sódica vertiéndolas en fregaderos de laboratorio, deje correr abundante agua fría para evitar la formación de depósitos de azida.
- P. Utilice guantes de laboratorio, batas de laboratorio y protección ocular cuando manipule los reactivos. Evite el contacto de estos materiales con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua. Pueden producirse quemaduras si no se actúa adecuadamente. Si se producen derrames, diluya las manchas con agua antes de secarlas con un paño.
- Q. Los elementos desechables son de un solo uso. No deben reutilizarse.
- R. No utilice soluciones de hipoclorito de sodio (lejía) para limpiar el equipo **cobas x** 480 o el analizador **cobas z** 480. Limpie el **cobas x** 480 instrument o el **cobas z** 480 analyzer según los procedimientos descritos en la Asistencia al usuario del **cobas**[®] 4800 System.
- S. Si desea conocer las advertencias, precauciones y procedimientos adicionales para reducir el riesgo de contaminación del **cobas x** 480 instrument o el **cobas z** 480 analyzer, consulte la Asistencia al usuario del **cobas**[®] 4800 System.
- T. Informe a la autoridad competente local de cualquier incidente grave que pueda tener lugar durante la realización del ensayo.

REQUISITOS DE ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN

A. *No congele los reactivos.*

- B. Almacene el Kit de preparación de muestras (**MGP**, **EB**), el Kit de preparación para citología líquida (**PK**, **SDS**, **LYS**), el Kit de amplificación/detección de CT/NG (**CT/NG MMX**, **CT/NG Mn**) y el Kit de controles CT/NG (**CT/NG (+) C**, **(-) C** y **CT/NG IC**) a 2-8 °C. Estos reactivos se conservan estables hasta la fecha de caducidad indicada.
- C. Almacene el Kit de tampón de lavado (**WB**) y el Kit de diluyentes de control (**CDIL**) a una temperatura comprendida entre 15 y 25 °C. Estos reactivos se mantienen estables hasta la fecha de caducidad indicada.

MATERIALES SUMINISTRADOS

A. **cobas® 4800 System Sample Preparation Kit**

Kit de preparación de muestras para el sistema **cobas® 4800**
(P/N: 05235782190)

c4800 SMPL PREP

240 pruebas

MGP

(Micropartículas magnéticas para el sistema **cobas® 4800**)

EB

(Tampón de elución para el sistema **cobas® 4800**)

B. **cobas® 4800 System Sample Preparation Kit**

Kit de preparación de muestras para el sistema **cobas® 4800**
(P/N: 05235804190)

c4800 SMPL PREP

960 pruebas

MGP

(Micropartículas magnéticas para el sistema **cobas® 4800**)

EB

(Tampón de elución para el sistema **cobas® 4800**)

C. **cobas® 4800 System Wash Buffer Kit**

Kit de tampón de lavado para el sistema **cobas® 4800**
(P/N: 05235863190)

c4800 WB

240 pruebas

WB

(Tampón de lavado para el sistema **cobas® 4800**)

D. **cobas® 4800 System Wash Buffer Kit**

Kit de tampón de lavado para el sistema **cobas® 4800**
(P/N: 05235871190)

c4800 WB

960 pruebas

WB

(Tampón de lavado para el sistema **cobas® 4800**)

E. **cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit**

Kit de preparación para citología líquida del sistema **cobas® 4800**
(P/N: 05235812190)

c4800 LIQ CYT

240 pruebas

PK

(Proteinasa K para **cobas® 4800**)

SDS

(Reactivo SDS para el sistema **cobas® 4800**)

LYS

(Tampón de lisis para el sistema **cobas® 4800**)

F. **cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit**

Kit de preparación para citología líquida del sistema **cobas® 4800**
(P/N: 05235839190)

c4800 LIQ CYT

960 pruebas

PK

(Proteinasa K para **cobas® 4800**)

SDS

(Reactivo SDS para el sistema **cobas® 4800**)

LYS

(Tampón de lisis para el sistema **cobas® 4800**)

G. **cobas® 4800 CT/NG Amplification/Detection Kit**

Kit de amplificación/detección **cobas® 4800 CT/NG**
(P/N: 05235952190)

c4800 CT/NG AMP/DET

240 pruebas

CT/NG MMX

(Mezcla maestra **cobas® 4800 CT/NG**)

CT/NG Mn

(Solución de manganeso **cobas® 4800 CT/NG**)

H. **cobas® 4800 CT/NG Amplification/Detection Kit**

Kit de amplificación/detección **cobas® 4800 CT/NG**
(P/N: 05235979190)

c4800 CT/NG AMP/DET

960 pruebas

CT/NG MMX

(Mezcla maestra **cobas® 4800 CT/NG**)

CT/NG Mn(Solución de manganeso **cobas**[®] 4800 CT/NG)**I. cobas[®] 4800 System Control Diluent Kit**Kit de diluyentes de control para el sistema **cobas**[®] 4800
(P/N: 05235847190)

c4800 CDIL

10 juegos**CDIL**(Diluyente de control para el sistema **cobas**[®] 4800)**J. cobas[®] 4800 CT/NG Controls Kit**Kit de controles **cobas**[®] 4800 CT/NG
(P/N: 05235928190)

c4800 CT/NG CTLS

10 juegos**CT/NG (+) C**(Control positivo **cobas**[®] 4800 CT/NG)**(-) C**(Control negativo para el sistema **cobas**[®] 4800)**CT/NG IC**(Control interno **cobas**[®] 4800 CT/NG)**MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS****Manipulación de muestras y reactivos**

- **cobas**[®] PCR Media Uni Swab Sample Kit (Roche P/N 07958030190)
- **cobas**[®] PCR Media Dual Swab Sample Kit (Roche P/N 07958021190)
- **cobas**[®] PCR Media Disposable Tube Stand Kit (Roche P/N 07958064190) (opcional)
- **cobas**[®] PCR Urine Sample Kit (Roche P/N 05170486190)
- **cobas**[®] PCR Media Kit (Roche P/N 06466281190)
- Puntas CO-RE de 1000 µl, bandeja de 96 (Roche P/N 04639642001 o Hamilton P/N 235905)
- Contenedor de reactivos de 50 ml (Roche P/N 05232732001)
- Contenedor de reactivos de 200 ml (Roche P/N 05232759001)
- Placa de extracción (pocillos profundos) para el sistema **cobas**[®] 4800 (Roche P/N 05232716001)
- Placa de amplificación y detección (micropocillos) de 0,3 ml y plástico de sellado para el sistema **cobas**[®] 4800 (Roche P/N 05232724001)
- Bolsa para residuos sólidos [Roche P/N 05530873001 (pequeña) o 04691989001 (grande)]
- Salida de plástico Hamilton STAR (Roche P/N 04639669001)
- Tubos de 13 ml de base redonda (Roche P/N 07958048190) para uso como tubos de muestras secundarios
- Tapones de color neutral (Roche P/N 07958056190) para volver a tapar las muestras ya procesadas en tubos de 13 ml de base redonda
- Guantes desechables, sin polvo

Instrumentos y software

- Equipo **cobas x** 480
- Analizador **cobas z** 480
- Unidad de control del sistema **cobas**[®] 4800 con versión 2.2 o superior del programa
- Programa PA versión 2.0.0 o superior para **cobas**[®] CT/NG del sistema **cobas**[®] 4800

EQUIPO Y MATERIALES OPCIONALES

- Pipetas: con capacidad para 1.000 µl
- Puntas exentas de DNasa con filtro para aerosol: con capacidad para 1000 µl
- Centrífuga equipada con un rotor para placas basculante con una FCR mínima de 1.500
- Placa magnética independiente (Roche P/N 05440777001)
- Agitador (un solo tubo)
- Agitador con varios tubos [p.ej., VWR P/N 58816-116]

OBTENCIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS**NOTA:** *manipule todas las muestras como si pudieran transmitir agentes infecciosos.***A. Obtención de las muestras**

Se ha validado el uso de las muestras endocervicales y vaginales recogidas en torunda con el **cobas**[®] PCR Media Dual Swab Sample Kit y el **cobas**[®] PCR Media Uni Swab Sample Kit, de las muestras de orina masculina y femenina obtenidas mediante el **cobas**[®] PCR Urine Sample Kit o el **cobas**[®] PCR Media Kit y de las muestras cervicales obtenidas en solución PreservCyt[®] para su uso con la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG. Siga las instrucciones del fabricante para obtener muestras endocervicales y vaginales en torunda, y muestras de orina, con el **cobas**[®] PCR Media Dual Swab Sample Kit y el **cobas**[®] PCR Media Uni Swab Sample Kit, el **cobas**[®] PCR Urine Sample Kit y el **cobas**[®] PCR Media Kit, respectivamente. Siga las instrucciones del fabricante para recoger las muestras cervicales en solución PreservCyt[®].

B. Transporte de las muestras

Las muestras endocervicales y vaginales recogidas en torunda con el **cobas**[®] PCR Media Dual Swab Sample Kit y el **cobas**[®] PCR Media Uni Swab Sample Kit, así como las muestras de orina masculina y femenina obtenidas mediante el **cobas**[®] PCR Urine Sample Kit o el **cobas**[®] PCR Media Kit y las muestras cervicales obtenidas en solución PreservCyt[®] pueden transportarse a una temperatura comprendida entre 2 y 30 °C. El transporte de las muestras CT/NG en **cobas**[®] PCR Media y la solución PreservCyt[®] debe realizarse según la reglamentación nacional, federal, estatal y local para el transporte de agentes etiológicos.²⁵

C. Almacenamiento de las muestras

Las muestras endocervicales y vaginales recogidas en torunda con el **cobas**[®] PCR Media Dual Swab Sample Kit y el **cobas**[®] PCR Media Uni Swab Sample Kit, así como las muestras de orina masculina y femenina recogidas con el **cobas**[®] PCR Urine Sample Kit o el **cobas**[®] PCR Media Kit pueden conservarse a una temperatura comprendida entre 2 y 30 °C durante un máximo de 12 meses después de haber estabilizado las muestras en **cobas**[®] PCR Media. Las muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt[®] pueden almacenarse a una temperatura comprendida entre 2 y 30 °C durante 12 meses.

INSTRUCCIONES DE USO

NOTA: *todos los reactivos, excepto CT/NG MMX y CT/NG Mn, deben estar a temperatura ambiente antes de introducirlos en el equipo cobas x 480. Los reactivos CT/NG MMX y CT/NG Mn pueden obtenerse directamente del almacenamiento a 2-8 °C, puesto que alcanzarán la temperatura ambiente para cuando vayan a ser utilizados después de cargarse en el equipo cobas x 480.*

NOTA: *las muestras en cobas[®] PCR Media y solución PreservCyt[®] deben equilibrarse a temperatura ambiente durante un mínimo de 30 minutos antes de ser cargadas en el equipo cobas x 480.*

NOTA: *si es necesario transferir las muestras de los tubos de recogida primarios cobas[®] PCR Media a los tubos secundarios con el código de barras adecuado, utilice pipeteadores con puntas con filtro para aerosol o de desplazamiento positivo para manipular las muestras. Extreme la atención para evitar la contaminación.*

NOTA: *consulte la Asistencia al usuario del cobas[®] 4800 System para obtener información detallada sobre el funcionamiento.*

Tamaño de la serie:

El sistema **cobas**[®] 4800 se ha diseñado para poder utilizar la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG con tamaños de serie de 1 a 94 muestras más controles (hasta 96 pruebas por serie). Todos los kits de preparación de muestras para el sistema **cobas**[®] 4800, los kits de preparación para citología líquida del sistema **cobas**[®] 4800 y el kit de tampón de lavado para el sistema **cobas**[®] 4800 contienen reactivos suficientes para 10 series de 24 pruebas (240 pruebas por kit) o de 96 pruebas (960 pruebas por kit). Todos los kits de amplificación/detección de CT/NG para **cobas**[®] 4800 contienen reactivos suficientes para 10 series de 24 pruebas (240 pruebas por kit) o de 96 pruebas (960 pruebas por kit); pueden utilizarse varios kits de 240 pruebas para optimizar el uso de los reactivos para 48 o 72 pruebas. El kit de diluyentes de control para el sistema **cobas**[®] 4800 y el kit de controles **cobas**[®] 4800 CT/NG contienen reactivos suficientes para un total de 10 series (10 juegos por kit). El tamaño de serie mínimo para el sistema **cobas**[®] 4800 es de 1 muestra más los controles. Para realizar cada serie de pruebas se requiere una réplica del control negativo para el sistema **cobas**[®] 4800 [(-) C] y una réplica del control positivo de CT/NG para el sistema **cobas**[®] 4800 [CT/NG (+) C] (consulte el apartado "Control de calidad").

Flujo de trabajo:

NOTA: *aunque no suponga un uso óptimo de los reactivos, pueden utilizarse un kit de preparación de muestras para el sistema con 960 pruebas para una serie de 24 muestras y un kit de amplificación/detección de CT/NG con 960 pruebas para una serie de 24, 48 o 72 muestras.*

La prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG se puede llevar a cabo con cualquiera de los dos flujos de trabajo existentes: "Full workflow" (Flujo de trabajo completo) o "Recovery workflow" (Flujo de trabajo de recuperación) en el programa **cobas**[®] 4800.

Flujo de trabajo completo para CT/NG:

El "Flujo de trabajo completo para CT/NG" contempla la preparación de las muestras en el equipo **cobas x 480** y la posterior fase de amplificación/detección en el analizador **cobas z 480**. Consulte el apartado "Ejecutar un flujo de trabajo completo" que figura a continuación y la Asistencia al usuario del **cobas**[®] 4800 System para conocer más detalles.

Flujo de trabajo de recuperación para CT/NG:

El "Flujo de trabajo de recuperación para CT/NG" comprende una configuración de placa para PCR manual mediante una elución obtenida de la placa de plasmotecas procesada seguida de la amplificación/detección en el analizador **cobas z 480**. Consulte el apartado "Ejecutar un flujo de trabajo de recuperación" que figura a continuación y la Asistencia al usuario del **cobas**[®] 4800 System para conocer más detalles.

Muestras:

Se han validado los siguientes tipos de muestras con la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG: a) muestras endocervicales recogidas en torunda en **cobas**[®] PCR Media (torunda), b) muestras vaginales recogidas en torunda por el propio paciente con ayuda del personal médico en **cobas**[®] PCR Media (torunda), c) muestras de orina masculina y femenina estabilizadas en **cobas**[®] PCR Media (orina) y d) muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt[®] Solution (PC). Las muestras endocervicales y vaginales recogidas en torunda y las muestras de orina deben encontrarse en un tubo **cobas**[®] PCR Media con el código de barras adecuado o en un tubo de 13 ml de base redonda y con código de barras para su procesamiento en el equipo **cobas x 480**. Las muestras cervicales deben encontrarse en un tubo primario de solución PreservCyt[®] con un código de barras adecuado o en un tubo de 13 ml de base redonda y código de barras para su procesamiento en el equipo **cobas x 480**. Consulte la Asistencia al usuario del **cobas**[®] 4800 System para conocer los procedimientos adecuados referentes a los códigos de barras y la lista de códigos de barras compatibles con el **cobas**[®] 4800 System.

Muestras endocervicales y vaginales recogidas en torunda:

NOTA: los kits de reactivos necesarios para el procesamiento de las muestras endocervicales y vaginales recogidas en torunda en el equipo cobas x 480 incluyen: el kit de preparación de muestras para el sistema cobas® 4800, el kit de diluyentes de control para el sistema cobas® 4800, el kit de tampón de lavado para el sistema cobas® 4800, el kit de amplificación/detección de CT/NG para cobas® 4800 y el kit de controles de CT/NG para cobas® 4800.

NOTA: utilice solamente el cobas® PCR Media Dual Swab Sample Kit o el cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit para la obtención de muestras endocervicales y vaginales en torunda para la prueba cobas® 4800 CT/NG. La prueba cobas® 4800 CT/NG no ha sido validada con otros tipos de dispositivos o medios de recogida en torunda.

NOTA: para evitar la contaminación cruzada de las muestras procesadas, se deben usar otros tapones para los tubos cobas® PCR Media, de un color distinto (neutro; consulte el apartado “Materiales necesarios no suministrados”), para volver a tapar las muestras después de su procesamiento.

NOTA: las muestras endocervicales y vaginales recogidas en torunda que contienen una sola torunda en el tubo de cobas® PCR Media se pueden procesar directamente en el sistema cobas® 4800. Si es necesario, se puede extraer la torunda antes de cargar el tubo de muestra en el equipo (consulte la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para obtener más información).

NOTA: las muestras endocervicales en torunda y las muestras vaginales en torunda recogidas correctamente deben tener una sola torunda con el mango partido por la línea de corte. Si el mango se parte por encima de la línea de corte será más largo de lo normal y es posible que se tenga que doblar para que entre en el tubo cobas® PCR Media. Esto puede obstruir el sistema y causar por ello la pérdida de los resultados de la prueba. En el caso de que una muestra recogida en torunda presente un mango partido incorrectamente, extraiga la torunda antes de procesar la muestra en el equipo cobas x 480.

NOTA: los tubos de muestras endocervicales y vaginales primarios entrantes sin torunda o con dos torundas no han sido recogidos de acuerdo con las instrucciones del el cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit y el cobas® PCR Media Dual Swab Sample Kit, por lo que no deben analizarse.

NOTA: no procese muestras endocervicales y vaginales en torunda con aspecto sangriento o de color marrón oscuro.

NOTA: en ocasiones, las muestras endocervicales o vaginales recogidas en torunda estabilizadas entrantes contienen demasiado moco, lo que puede causar errores al pipetearlas en el equipo cobas x 480 (p. ej., un coágulo u otra obstrucción). Antes de volver a analizar las muestras que presentaron coágulos durante el procesamiento inicial, extraiga y deseche la torunda y luego vuelva a tapar y agitar estas muestras durante 30 segundos para dispersar el exceso de moco.

NOTA: las muestras endocervicales y vaginales recogidas en torunda se pueden analizar dos veces en el equipo cobas x 480 siempre y cuando la torunda esté dentro del tubo de recogida. Si se debe realizar un análisis adicional, o si la primera prueba falla a causa de un error de pipeteo de la muestra (p. ej., un coágulo u otra obstrucción), se debe extraer la torunda y el volumen de fluido restante ha de ser de al menos 1,0 ml.

El tubo cobas® PCR Media que contiene la muestra en torunda se puede destapar y cargar directamente en el equipo cobas x 480 o también se puede usar una parte alícuota de al menos 1,0 ml de muestra en un tubo de 13 ml de base redonda y el código de barras adecuado y cargarlo a continuación en el equipo cobas x 480.

NOTA: extreme la atención cuando transfiera las muestras de los contenedores primarios a los tubos secundarios de 13 ml de base redonda. Mezcle las muestras primarias antes de transferirlas. Cambie las puntas de pipeta para cada muestra.

Muestras de orina masculina y femenina:

NOTA: los kits de reactivos necesarios para el procesamiento de las muestras de orina en el equipo cobas x 480 incluyen: el kit de preparación de muestras para el sistema cobas® 4800, el kit de diluyentes de control para el sistema cobas® 4800, el kit de tampón de lavado para el sistema cobas® 4800, el kit de amplificación/detección de CT/NG para cobas® 4800 y el kit de controles CT/NG para cobas® 4800.

NOTA: utilice solamente el cobas® PCR Urine Sample Kit o el cobas® PCR Media Kit para la obtención de muestras de orina para la prueba cobas® 4800 CT/NG. La prueba cobas® 4800 CT/NG no ha sido validada con otros tipos de dispositivos o medios de recogida de orina.

NOTA: para evitar la contaminación cruzada de las muestras procesadas, se deben usar otros tapones para los tubos cobas® PCR Media, de un color distinto (neutro; consulte el apartado “Materiales necesarios no suministrados”), para volver a tapar las muestras después de su procesamiento.

NOTA: las muestras de orina sin analizar presentan la parte superior del nivel de líquido entre las dos líneas negras del visor de la etiqueta del tubo cobas® PCR Media. Si el nivel de líquido se encuentra por encima o por debajo de estas líneas, significará que la muestra no se ha recogido correctamente y no se podrá usar para las pruebas.

NOTA: no procese muestras de orina con aspecto sangriento o de color marrón oscuro.

El tubo cobas® PCR Media que contiene la muestra de orina se puede destapar y cargar directamente en el equipo cobas x 480 o también se puede usar una parte alícuota de al menos 1,5 ml de muestra en un tubo de 13 ml de base redonda y el código de barras adecuado y cargarlo a continuación en el equipo cobas x 480.

NOTA: extreme la atención cuando transfiera las muestras de los contenedores primarios a los tubos secundarios de 13 ml de base redonda. Mezcle las muestras primarias antes de transferirlas. Cambie las puntas de pipeta para cada muestra.

Una serie puede incluir cualquier combinación de muestras endocervicales, vaginales y de orina, y cada muestra se puede analizar para la detección de CT, NG o ambas (CT y NG).

Muestras cervicales:

NOTA: los kits de reactivos necesarios para el procesamiento de las muestras cervicales en el equipo cobas x 480 incluyen: el kit de preparación de muestras para el sistema cobas® 4800, el kit de preparación para citología líquida del sistema cobas® 4800, el kit de tampón de lavado para el sistema cobas® 4800, el kit de amplificación/detección de CT/NG para cobas® 4800 y el kit de controles de CT/NG para cobas® 4800.

NOTA: la prueba cobas® 4800 CT/NG se ha validado para muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt®. La prueba cobas® 4800 CT/NG no ha sido validada para muestras cervicales obtenidas con otros tipos de medios. El uso de la prueba cobas® 4800 CT/NG con otros tipos de medios puede generar resultados falsos negativos, falsos positivos y/o no válidos.

NOTA: el sistema cobas® 4800 puede procesar muestras cervicales tanto en contenedores primarios como secundarios. Cuando sea necesario crear partes alícuotas de las muestras recogidas en contenedores primarios para transferirlas a tubos de 13 ml de base redonda a fin de procesarlas en el equipo cobas x 480, utilice pipeteadores con puntas con filtro para aerosol o desplazamiento positivo para manipular las muestras. Para evitar la contaminación cruzada, utilice tapones adicionales de otro color para estos tubos (color neutro; consulte el apartado “Materiales necesarios no suministrados”) para volver a tapar las muestras una vez que se han procesado.

NOTA: extreme la atención cuando transfiera las muestras de los contenedores primarios a los tubos secundarios de 13 ml de base redonda. Agite las muestras primarias antes de transferirlas. Cambie las puntas de pipeteo para cada muestra.

NOTA: no procese muestras recogidas en solución PreservCyt® con aspecto sangriento o de color marrón oscuro.

En el caso de las muestras cervicales, el volumen mínimo necesario para los contenedores primarios de solución PreservCyt® es de 3,0 ml. Si se utilizan tubos secundarios de 13 ml de base redonda, debe utilizarse un volumen mínimo de 1,0 ml y un volumen máximo de 10 ml.

Una sola serie de muestras cervicales puede incluir cualquier combinación de bandejas de contenedores primarios y secundarios y cada muestra se puede analizar para detectar CT, NG o ambos (CT y NG).

NOTA: las muestras cervicales no se pueden procesar con muestras endocervicales, vaginales o de orina en la misma serie. Para optimizar el uso de los reactivos, analice lotes de 22 pruebas de muestras cervicales por serie (más un control negativo para el sistema cobas® 4800 y un control positivo de CT/NG para cobas® 4800) con kits de 240 pruebas o lotes de 94 pruebas de muestras cervicales por serie (más un control negativo para el sistema cobas® 4800 y un control positivo de CT/NG para cobas® 4800) con kits de 960 pruebas.

Flujos de trabajo

Ejecutar un flujo de trabajo completo:

- A. La prueba cobas® 4800 CT/NG puede utilizarse con series que contengan de 1 a 94 muestras más un control negativo para el sistema cobas® 4800 y un control positivo de CT/NG para cobas® 4800.
- B. Inicie el sistema y lleve a cabo los procedimientos de mantenimiento con ayuda de las instrucciones que aparecen en la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System.
- C. Inicie una serie nueva haciendo clic en el botón “New run”.
- D. En la ventana “Select test”, seleccione el tipo de flujo de trabajo “Full” y, a continuación, seleccione la prueba “CT/NG”.
- E. Introduzca un nombre para la serie o deje el nombre predeterminado. Haga clic en “OK” para continuar.
- F. Siga las instrucciones del asistente del programa para cargar las muestras.

NOTA: las muestras endocervicales, vaginales y de orina pueden cargarse en tubos primarios o secundarios con código de barras en cualquier orden.

NOTA: las muestras cervicales en solución PreservCyt® pueden procesarse en bandejas de viales primarios para muestras o en tubos secundarios en la misma serie. Si se utilizan viales PreservCyt primarios para el procesamiento, es necesario agitar cada vial antes de cargarlo.

- G. Seleccione un tipo de muestra para cada muestra.
 - Elija “Swab” para crear una petición de muestras endocervicales y vaginales recogidas en torunda.
 - Elija “Urine” para crear una petición de muestras de orina.
 - Elija “PC” para crear una petición de muestras conservadas en solución PreservCyt®.
- H. Seleccione el resultado solicitado para cada muestra.
 - Elija el resultado solicitado “CT/NG” para comunicar los resultados de las pruebas CT y NG.
 - Elija el resultado solicitado “CT” para comunicar únicamente los resultados de la prueba CT.
 - Elija el resultado solicitado “NG” para comunicar únicamente los resultados de la prueba NG.
- I. Siga las instrucciones del asistente del programa para cargar todos los consumibles.
- J. Siga las instrucciones del asistente del programa para cargar todos los reactivos.

NOTA: los controles [CT/NG (+) C, CT/NG IC y (-) C] no se cargan junto con las muestras. Se cargan en la bandeja de reactivos durante la carga de los reactivos. En cada placa de extracción y placa de amplificación y detección se reservan dos posiciones (A1 y B1) para los controles CT/NG (+) y (-), respectivamente.

NOTA: el sistema cobas® 4800 posee un reloj interno que supervisa el tiempo que llevan cargados los reactivos. Tras leer el WB, se concede 1 hora para completar el proceso de carga y hacer clic en el botón “Start”. En la pestaña “Workplace” aparece un cronómetro de cuenta atrás. El sistema no permite iniciar la serie si se ha superado el tiempo de carga permitido.

NOTA: para garantizar una transferencia precisa de MGP, agite contundentemente el vial de MGP antes de dispensarlo al depósito de reactivo.

K. Cargue los reactivos para la preparación de muestras (**WB, MGP, EB, SDS y LYS**) en los contenedores para reactivos con código de barras mediante el método de doble identificación y llenado:

- Leer el código de barras de la botella de reactivo
- Leer el código de barras del contenedor de reactivo
- Verter el reactivo en el depósito
- Colocar el depósito lleno de reactivo en la bandeja de reactivos

L. Los depósitos de reactivos están disponibles en dos tamaños: 200 ml y 50 ml. Siga las instrucciones del asistente del programa para seleccionar el tamaño adecuado de los depósitos de reactivos. Los códigos de barras de los depósitos de reactivos deben estar colocados frente al lateral derecho de la bandeja.

NOTA: el equipo cobas x 480 carga directamente en la bandeja de reactivos y leen automáticamente los reactivos de amplificación/detección (CT/NG MMX y CT/NG Mn), los controles [CT/NG (+) C, CT/NG IC y (-) C] y el diluyente de control (CDIL).

NOTA: todos los reactivos y los depósitos de reactivos tienen códigos de barras y están diseñados para un solo uso. El programa cobas® 4800 realiza un seguimiento del uso de los reactivos y de los depósitos de reactivos y rechaza los reactivos o depósitos de reactivos usados previamente. El programa también verifica que en el equipo se hayan cargado suficientes reactivos.

NOTA: el programa cobas® 4800 controla la fecha de caducidad de todos los reactivos. El sistema cobas® 4800 no acepta reactivos caducados.

M. Haga clic en “Start Run” para iniciar la preparación de las muestras.

N. Después de completar correctamente la preparación de las muestras**, haga clic en “Unload” para descargar el transportador de placas.

** En este punto puede revisarse el estado de la preparación de las muestras, antes de hacer clic en “Unload”. Consulte la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System.

O. Siga las instrucciones indicadas en la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para sellar la microplaca, transportar la placa al cobas z 480 analyzer y empezar la serie de amplificación y detección.

NOTA: el sistema cobas® 4800 posee un reloj interno que supervisa el tiempo transcurrido tras añadir las muestras preparadas a la mezcla maestra (Master Mix) de trabajo. La amplificación y la detección se deben iniciar tan pronto como sea posible, nunca después de los 90 minutos posteriores a la finalización de la serie del cobas x 480 instrument. En la pestaña “Workplace” aparece un cronómetro de cuenta atrás. El sistema cancela la serie si el cronómetro agota el tiempo.

P. Cuando termine la serie de amplificación y detección, descargue la placa de micropocillos del analizador cobas z 480.

Q. Siga las instrucciones de la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para revisar y aceptar los resultados.

Ejecutar un flujo de trabajo de recuperación:

NOTA: el flujo de trabajo de recuperación está disponible como opción de recuperación en caso de que no se pueda completar el flujo de trabajo completo debido a circunstancias ajenas al control del usuario (p. ej., un fallo de alimentación durante la serie de amplificación/detección).

NOTA: solamente las muestras procesadas correctamente en el equipo cobas x 480 pueden someterse a un proceso de amplificación/detección con las series de recuperación. El control que efectúa el sistema de los reactivos y los consumibles se ve limitado durante las series de recuperación. El flujo de trabajo de recuperación no incluye el seguimiento de la posición de las muestras. Es el usuario final quien se encarga de comprobar que la posición de una muestra en la placa de PCR se corresponda con la indicada en el archivo de peticiones de trabajo para el informe de distribución de la placa de recuperación. Preste mucha atención al preparar la placa de PCR para asegurar una correcta configuración de la PCR y evitar la contaminación.

NOTA: las muestras procesadas en el equipo cobas x 480 tienen una estabilidad limitada. Deben someterse al proceso de amplificación/detección con un flujo de trabajo de recuperación durante las 24 horas siguientes si se almacenan a una temperatura comprendida entre 2 °C y 30 °C.

A. Inicie una serie de recuperación haciendo clic en el botón “New run”.

B. En la ventana “Select test”, seleccione el tipo de flujo de trabajo “Recovery” y, a continuación, seleccione la prueba “CT/NG”.

C. Introduzca un nombre para la serie o deje el nombre predeterminado. Haga clic en “OK” para continuar.

D. Seleccione la serie que desea recuperar.

E. Si utiliza el programa PA versión 2.1 o superior para CT/NG, escanee el identificador original de la DWP del flujo de trabajo completo.

F. Introduzca el ID de la nueva placa de PCR.

G. Introduzca los ID de la mezcla maestra y de **CT/NG Mn** para todos los viales de reactivos de amplificación/detección del kit.

H. Prepare la mezcla maestra cobas® 4800 CT/NG:

1. Para un kit de 240 pruebas, añada 240 µl de **CT/NG Mn** a un vial de **CT/NG MMX** (vial de 0,5 ml del kit de 240 pruebas).
2. Para un kit de 960 pruebas, añada 450 µl de **CT/NG Mn** a cada uno de los dos viales de **CT/NG MMX** (viales de 1,0 ml del kit de 960 pruebas).

NOTA: la serie de recuperación debe iniciarse durante los 90 minutos posteriores a la adición de CT/NG Mn a CT/NG MMX. El sistema no controla el tiempo transcurrido después de añadir las muestras preparadas a la mezcla maestra de trabajo en el flujo de trabajo de recuperación. Es el usuario final quien debe comprobar que la amplificación y detección comienzan en el tiempo asignado.

- I. Mezcle bien la mezcla maestra invirtiendo los viales con cuidado. No agite la mezcla maestra de trabajo.
- J. Transfiera 25 µl de mezcla maestra de trabajo a los pocillos correspondientes de la placa de PCR.
- K. Coloque la placa de extracción de la serie que debe repetirse en la placa magnética independiente.
- L. Transfiera manualmente 25 µl de solución de elución desde los pocillos de la placa de extracción a los pocillos correspondientes de la placa de PCR. Asegúrese de que no se alteren las posiciones de los pocillos (p. ej., la solución de elución del pocillo A1 de la placa de extracción debería transferirse a la posición A1 de la placa de PCR). Compruebe que no se transfiera MGP a la placa de PCR.
- M. Siga las instrucciones de la Asistencia al usuario del **cobas**[®] 4800 System para obtener información sobre el sellado de la microplaca.
- N. Centrifugue la placa de PCR con la centrífuga para placas basculante durante 5 segundos como mínimo a 1.500 FCR.
- O. Traslade la placa al analizador **cobas z** 480 e inicie la serie de amplificación y detección.
- P. Cuando termine la serie de amplificación y detección, descargue la placa de micropocillos del analizador **cobas z** 480.
- Q. Siga las instrucciones de la Asistencia al usuario del **cobas**[®] 4800 System para revisar y aceptar los resultados.

Interpretación de los resultados

NOTA: la validación de los ensayos y las series la lleva a cabo el programa cobas[®] 4800.

NOTA: una serie válida puede incluir resultados de muestras tanto válidos como no válidos.

En las series consideradas válidas, los resultados de las muestras se interpretan como se indica en la Tabla 1:

Tabla 1
Interpretación de los resultados de la prueba cobas[®] 4800 CT/NG

Prueba cobas [®] 4800 CT/NG	Notificación e interpretación de los resultados
Resultado solicitado "CT/NG":	
POS CT, POS NG	CT Positivo, NG Positivo La muestra es positiva para el ADN de CT y NG.
NEG CT, NEG NG	CT Negativo*, NG Negativo* No se ha podido detectar la presencia de ADN de CT ni de NG.
POS CT, NEG NG	CT Positivo, NG Negativo* La muestra es positiva para el ADN de CT. No se ha podido detectar el ADN de NG, si está presente.
POS CT, Invalid NG	CT Positivo, NG No válido La muestra es positiva para el ADN de CT. El resultado para NG no es válido. La muestra original debe volverse a analizar para obtener resultados válidos para NG (como máximo dos veces). Si los resultados siguen siendo no válidos, debe utilizarse una muestra nueva.
NEG CT, POS NG	CT Negativo*, NG Positivo* No se ha podido detectar el ADN de CT, si está presente. La muestra es positiva para el ADN de NG.
Invalid CT, POS NG	CT No válido, NG Positivo El resultado para CT no es válido. La muestra original debe volverse a analizar para obtener resultados válidos para CT (como máximo dos veces). Si los resultados siguen siendo no válidos, debe utilizarse una muestra nueva. La muestra es positiva para el ADN de NG.
Invalid CT, NEG NG	CT No válido, NG Negativo* El resultado para CT no es válido. La muestra original debe volverse a analizar para obtener resultados válidos para CT (como máximo dos veces). Si los resultados siguen siendo no válidos, debe utilizarse una muestra nueva. No se ha podido detectar el ADN de NG, si está presente.
NEG CT, Invalid NG	CT Negativo*, NG No válido No se ha podido detectar el ADN de CT, si está presente. El resultado para NG no es válido. La muestra original debe volverse a analizar para obtener resultados válidos para NG (como máximo dos veces). Si los resultados siguen siendo no válidos, debe utilizarse una muestra nueva.
Invalid	CT No válido, NG No válido Ninguno de los resultados (CT y NG) es válido. La muestra original debe volverse a analizar para obtener resultados válidos para CT y NG (como máximo dos veces). Si los resultados siguen siendo no válidos, debe utilizarse una muestra nueva.

Prueba cobas® 4800 CT/NG	Notificación e interpretación de los resultados
Failed	Muestra sin resultados Consulte la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para obtener instrucciones sobre la revisión de los avisos de la serie y las acciones recomendadas.
Resultado solicitado "CT":	
POS CT	CT Positivo La muestra es positiva para el ADN de CT.
NEG CT	CT Negativo* No se ha podido detectar el ADN de CT, si está presente.
Invalid	CT No válido El resultado para CT no es válido. La muestra original debe volverse a analizar para obtener resultados válidos para CT (como máximo dos veces). Si los resultados siguen siendo no válidos, debe utilizarse una muestra nueva.
Failed	Muestra sin resultados Consulte la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para obtener instrucciones sobre la revisión de los avisos de la serie y las acciones recomendadas. Debería volver a analizarse la muestra original para obtener resultados de CT válidos.
Resultado solicitado "NG":	
POS NG	NG Positivo La muestra es positiva para el ADN de NG.
NEG NG	NG Negativo* No se ha podido detectar el ADN de NG, si está presente.
Invalid	NG No válido El resultado para NG no es válido. La muestra original debe volverse a analizar para obtener resultados válidos para NG (como máximo dos veces). Si los resultados siguen siendo no válidos, debe utilizarse una muestra nueva.
Failed	Muestra sin resultados Consulte la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para obtener instrucciones sobre la revisión de los avisos de la serie y las acciones recomendadas. Debería volver a analizarse la muestra original para obtener resultados de NG válidos.

* Un resultado negativo no implica una infección por CT y/o NG porque los resultados dependen de una recogida adecuada de las muestras, de la ausencia de inhibidores y de que haya ADN suficiente para detectar.

LISTA DE AVISOS DE RESULTADOS

En la siguiente tabla se indican los avisos relevantes para la interpretación de los resultados.

Tabla 2
Lista de avisos para la prueba cobas® 4800 CT/NG

Código del aviso	Descripción	Acción recomendada
R20	El control positivo no es válido.	Los valores del control positivo no son válidos. 1. Repita toda la serie con reactivos nuevos. 2. Si el problema persiste, póngase en contacto con el servicio técnico de Roche.
R21	El control negativo no es válido.	Los valores del control negativo no son válidos. Para evitar la contaminación por arrastre, siga las buenas prácticas de laboratorio. 1. Repita toda la serie con reactivos nuevos. 2. Si el problema persiste, póngase en contacto con el servicio técnico de Roche.
X3	Error: se ha detectado un coágulo y no se ha podido procesar la muestra.	Asegúrese de que las muestras se hayan manipulado según la descripción del flujo de trabajo. 1. Compruebe que no haya coágulos en la muestra. 2. Si hay un dispositivo de recogida, extráigalo del tubo de muestra. Vuelva a tapar el tubo de muestra y mézclelo por vórtice. 3. Vuelva a analizar la muestra.
X4	Error: se ha producido un error de pipeteo. No se ha procesado la muestra.	Lo más probable es que el volumen de muestra sea insuficiente o se haya producido un error mecánico durante el pipeteo. 1. Asegúrese de que haya volumen de muestra suficiente. 2. Si hay un dispositivo de recogida, extráigalo del tubo de muestra. 3. Compruebe que la placa de expulsión de puntas esté bien colocada. 4. Vuelva a analizar la muestra.

CONTROL DE CALIDAD

En cada serie se incluye un juego de controles positivos y negativos para la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG. Para todas las series, es necesario haber obtenido resultados válidos tanto para el control positivo como para el control negativo para que el programa **cobas**[®] 4800 muestre los resultados para notificar de la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG de dicha serie.

Control positivo

El control CT/NG (+) debe tener el valor "Valid". Si los resultados obtenidos para el control CT/NG (+) son repetidamente no válidos, póngase en contacto con su oficina local de Roche para recibir asistencia técnica.

Control negativo

El control (-) debe tener el valor "Valid". Si los resultados obtenidos para el control (-) son repetidamente no válidos, póngase en contacto con su oficina local de Roche para recibir asistencia técnica.

PRECAUCIONES DURANTE EL PROCEDIMIENTO

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

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. Analice sólo los tipos de muestras indicados. La prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG solamente se ha validado para su uso con muestras endocervicales femeninas en torunda y muestras vaginales en torunda recogidas por el personal médico y por el propio paciente con ayuda del personal médico recogidas en **cobas**[®] PCR Media (UT), con muestras de orina masculina y femenina estabilizadas en **cobas**[®] PCR Media (UUT) y con muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt[®] (PC).
2. Entre las sustancias que pueden alterar el resultado se incluyen, entre muchas otras:
 - La presencia de moco en muestras endocervicales y cervicales puede inhibir la PCR y provocar resultados negativos falsos de las pruebas. Es imprescindible utilizar muestras sin moco para obtener un rendimiento óptimo. Utilice una esponja o una torunda complementaria para eliminar las secreciones cervicales y descargarlas antes de obtener la muestra.
 - Las muestras de orina estabilizadas en **cobas**[®] PCR Media que contengan más de un 0,35 % (v/v) de sangre pueden dar resultados negativos falsos.
 - Las muestras endocervicales obtenidas con torunda, las muestras vaginales en torunda y las muestras cervicales, cada una de las cuales contiene un máximo de un 5 % (v/v) de sangre no han mostrado efectos interferentes. Unos niveles de sangre entera superiores al 5 % (v/v) pueden generar resultados no válidos o falsos negativos.
 - Las muestras endocervicales en torunda, muestras vaginales en torunda y muestras de orina estabilizadas en **cobas**[®] PCR Media y con un volumen de CMSP células/ml superior a 1×10^5 , y las muestras cervicales con un volumen de CMSP células/ml superior a 1×10^7 pueden dar lugar a resultados no válidos o falsos negativos.
 - Las muestras de orina obtenidas de pacientes que han utilizado el humectante vaginal Replens[®] disponible en farmacias pueden dar resultados negativos falsos o no válidos.
 - Las muestras de orina obtenidas de pacientes que han utilizado productos de venta sin receta como el gel eliminador de olor vaginal RepHresh[™] y la ducha vaginal RepHresh[™] Clean Balance pueden generar resultados no válidos o falsos negativos.
3. La detección de la *C. trachomatis* y la *N. gonorrhoeae* depende del número de organismos presentes en la muestra y puede verse afectada por los métodos de obtención de la muestra, factores del paciente (como la edad, el historial de ETS, presencia de síntomas), el estadio de infección y/o la fuerza de infección de las cepas *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae*.
4. Pueden obtenerse resultados falsos negativos debido a la inhibición de la polimerasa. El control interno de la CT/NG se incluye en la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG para permitir identificar las muestras que contienen sustancias que puedan interferir con el aislamiento de ácidos nucleicos y la amplificación mediante PCR.
5. La prevalencia de la infección en una población puede alterar el resultado. Los valores de predicción positivos disminuyen cuando las pruebas se realizan en poblaciones con una prevalencia baja o en pacientes sin riesgo de infección. Dado que la prevalencia de la *C. trachomatis* y la *N. gonorrhoeae* puede ser baja en algunas poblaciones o grupos de pacientes, una tasa de falsos positivos puede ser superior a la tasa de positivos reales, con lo que el valor de predicción de una prueba positiva resulta muy bajo. Puesto que el análisis de una sola prueba no permite detectar algunos pacientes que estén realmente infectados, la tasa real de falsos positivos no puede determinarse ni presuponerse a partir de los datos clínicos. La tasa de resultados falsos positivos de las pruebas puede depender de la formación, de la capacidad del usuario, de la manipulación de los reactivos y las muestras o de otros factores específicos de cada laboratorio.
6. La obtención de resultados fiables depende de que la obtención, el transporte, el almacenamiento y el procesamiento de las muestras sean adecuados. Siga los procedimientos de este boletín técnico, de los boletines técnicos de los kits de recogida con **cobas**[®] PCR Media y de la Asistencia al usuario del **cobas**[®] 4800 System.
7. La incorporación de la enzima AmpErase a la mezcla maestra **cobas**[®] 4800 CT/NG permite realizar una amplificación selectiva del ADN objetivo; no obstante, es imprescindible utilizar buenas prácticas de laboratorio y cumplir estrictamente los procedimientos especificados en este boletín técnico para evitar la contaminación de los reactivos.
8. El uso de este producto debe limitarse al personal con experiencia en el empleo de técnicas de PCR y la utilización del sistema **cobas**[®] 4800.
9. Solamente el equipo **cobas x** 480 y el analizador **cobas z** 480 se han validado para su uso con este producto. No debería utilizarse ningún otro equipo de preparación de muestras ni sistema de PCR con este producto.

10. Debido a las diferencias específicas entre tecnologías, se recomienda a los usuarios que realicen estudios de correlación en el laboratorio para determinar las diferencias tecnológicas antes de cambiar de una a otra. No cabe esperar un porcentaje de concordancia del 100 % entre los resultados debido a las diferencias entre tecnologías indicadas anteriormente.
11. No se recomienda el uso de la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG para la evaluación de presuntos abusos sexuales u otras indicaciones de carácter médico o jurídico.
12. La prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG proporciona resultados cualitativos. No puede establecerse ninguna correlación entre el valor de Ct de una prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG positiva y el número de células de *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae* presentes en la muestra infectada.
13. La prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG para el análisis de orina femenina y masculina está recomendada para ser efectuada en muestras de orina de la primera porción (definidas como los primeros 10 a 50 ml del volumen expulsado). No se han evaluado los efectos de otras variables como la obtención de la porción media en lugar de la primera o la obtención de la orina posterior a la ducha.
14. Es probable que las muestras endocervicales recogidas en torunda contengan un exceso de moco, lo que puede provocar coágulos en el sistema **cobas**[®] 4800. Si esto sucede demasiadas veces, deberá agitar las muestras endocervicales recogidas en torunda antes de cargarlas en el equipo **cobas x** 480 a fin de disolver el exceso de moco. Agite las muestras 30 segundos a 1.700 – 1.800 rpm. Utilice un agitador con varios tubos para obtener una mayor eficacia [consulte el apartado “Equipo y materiales opcionales”].
15. Tampoco se han evaluado los efectos de otras variables potenciales como la descarga vaginal, el uso de tampones, la ducha, etc., y las variables que afectan a la obtención de las muestras.
16. La prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG no pretende sustituir la obtención de muestras para el examen cervical y endocervical para el diagnóstico de infecciones urogenitales. Los pacientes pueden sufrir cervicitis, uretritis, infecciones del tracto urinario o infecciones vaginales debidas a otras causas o a infecciones simultáneas provocadas por otros agentes.
17. Aunque es poco probable, las mutaciones en las regiones muy conservadas del ADN plasmídico críptico o genómico de la *C. trachomatis* o del ADN genómico de la *N. gonorrhoeae* cubiertas por los cebadores y/o las sondas de la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG pueden impedir la detección de la bacteria.
18. La presencia de inhibidores de la PCR puede dar lugar a resultados de falsos negativos o resultados no válidos.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Rendimiento clínico con muestras clínicas

Estudio de correlación con muestras endocervicales recogidas en torunda y muestras de orina masculina y femenina

Se comparó el rendimiento de la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG y diversas pruebas comparativas de marcado CE mediante el análisis de muestras endocervicales en torunda y muestras de orina (masculina y femenina) obtenidas de pacientes sanos e infectados con CT y/o NG. Todas las muestras endocervicales en torunda fueron recogidas conjuntamente con el **cobas**[®] PCR Female Swab Sample Kit para la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG y con los kits de recogida de la prueba comparativa. Las muestras provenían de países de Europa y Norteamérica y se analizaron en los Estados Unidos y en Holanda.

Se analizaron un total de 1.318 muestras de orina con la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG posteriormente al análisis estándar de referencia de laboratorio con las pruebas comparativas. Se descartaron un total de 37 muestras del análisis. Treinta muestras presentaron un etiquetado incorrecto durante las pruebas NAAT 1, dos dieron error en la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG debido a coágulos formados durante el procesamiento de las muestras y otras cinco muestras se descartaron debido a inhibición repetida (cuatro muestras repetidamente no válidas en la prueba NAAT 1 y 1 muestra repetidamente no válida en la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG). Se analizaron un total de 656 muestras endocervicales en torunda recogidas conjuntamente y analizadas con la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG y pruebas comparativas. Se descartó un total de 1 muestra del análisis debido a una inhibición repetida por parte de la prueba NAAT 1. Las tablas 2-10 recogen todos los resultados, incluido el porcentaje de concordancia de muestras positivas, negativas y totales, además de los valores del límite inferior (LI) del intervalo de confianza del 95 %.

Los resultados de las pruebas *Chlamydia trachomatis* de las muestras de orina se detallan en las Tablas 3-5. El porcentaje de concordancia de resultados positivos de todas las muestras de orina fue del 100,0 %. El porcentaje de concordancia de resultados negativos de todas las muestras de orina fue del 99,7 % y el porcentaje total de concordancia (consulte la Tabla 3) de todas las muestras de orina fue del 99,7 % entre la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG y la prueba comparativa. Cuando los resultados de las muestras de orina se separaron por sexo (consulte las Tablas 4 y 5), el porcentaje de concordancia de resultados positivos fue del 100,0 % para muestras de orina masculina y del 100,0 % para muestras de orina femenina [Test exacto de Fisher (valor p ~1,0)], el porcentaje de resultados negativos fue del 99,8 % para muestras de orina masculinas y del 99,4 % para muestras de orina femenina [Test exacto de Fisher (valor p de 0,9668)] y el porcentaje total de concordancia fue del 99,9 % para muestras de orina masculina y del 99,5 % para muestras de orina femenina [Test exacto de Fisher (valor p de 0,9683)]. El Test exacto de Fisher indica que no se han detectado diferencias significativas estadísticamente en la correlación de muestras de orina masculina, femenina o totales entre los dos métodos de análisis.

Los resultados de las pruebas *Chlamydia trachomatis* de las muestras endocervicales recogidas en torunda se detallan en la Tabla 6. El porcentaje de concordancia de resultados positivos para muestras endocervicales recogidas en torunda fue del 96,0 %. El porcentaje de concordancia de resultados negativos para las muestras endocervicales recogidas en torunda fue del 99,7 % y el porcentaje total de concordancia de las muestras endocervicales recogidas en torunda fue del 99,1 % entre la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG y la prueba comparativa.

Los resultados de las pruebas *Neisseria gonorrhoeae* de las muestras de orina se detallan en las Tablas 7-9. El porcentaje de concordancia de resultados positivos de todas las muestras de orina fue del 100,0 %. El porcentaje de concordancia de resultados negativos de todas las muestras de orina fue del 99,8 % y el porcentaje total de concordancia (consulte la Tabla 7) de todas las

muestras de orina fue del 99,8 % entre la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG y la prueba comparativa. Cuando los resultados de las muestras de orina se separaron por sexo (consulte las Tablas 8 y 9), el porcentaje de concordancia de resultados positivos fue del 100,0 % para muestras de orina masculina y del 100,0 % para muestras de orina femenina [Test exacto de Fisher (valor p ~1,0)], el porcentaje de resultados negativos fue del 99,9 % para muestras de orina masculinas y del 99,8 % para muestras de orina femenina [Test exacto de Fisher (valor p de 1,0)] y el porcentaje total de concordancia fue del 99,9 % para muestras de orina masculina y del 99,8 % para muestras de orina femenina [Test exacto de Fisher (valor p de 1,0)]. El Test exacto de Fisher indica que no se han detectado diferencias significativas estadísticamente en la correlación de muestras de orina masculina, femenina o totales entre los dos métodos de análisis.

La prueba de *Neisseria gonorrhoeae* de muestras endocervicales recogidas en torunda se comparó con las pruebas comparativas de marcado CE (NAAT 1 y NAAT 2) y se muestran en las Tablas 10 y 11. De la comparación con NAAT 1, el porcentaje de concordancia de resultados positivos para las muestras endocervicales recogidas en torunda fue del 100,0 %. El porcentaje de concordancia de resultados negativos para las muestras endocervicales recogidas en torunda fue del 99,3 % y el porcentaje de concordancia total para las muestras endocervicales recogidas en torunda fue del 99,3 % entre la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG y la prueba comparativa NAAT 1. De la comparación con NAAT 2, el porcentaje de concordancia de resultados positivos para las muestras endocervicales recogidas en torunda fue del 100,0 %. El porcentaje de concordancia de resultados negativos para las muestras endocervicales recogidas en torunda fue del 100,0 % y el porcentaje de concordancia total para las muestras endocervicales recogidas en torunda fue del 100,0 % entre la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG y la prueba comparativa NAAT 2.

Tabla 3

Resumen de los resultados de la prueba cobas[®] 4800 CT/NG para CT comparados con una prueba comparativa de marcado CE (NAAT 1) con muestras de orina de pacientes sanos e infectados con CT

Orina total N = 1281		Prueba comparativa (NAAT 1)		
		Positivos	Negativos	Total
Prueba cobas [®] 4800 CT/NG	Positivos	115	4*	119
	Negativos	0	1162	1162
	Total	115	1166	1281

Concordancia de resultados positivos = 115/115 = 100,0 % (LI del IC al 95 %[§] = 97 %)

Concordancia de resultados negativos = 1162/1166 = 99,7 % (LI del IC al 95 %[§] = 99 %)

Concordancia total = 1277/1281 = 99,7 % (LI del IC al 95 %[§] = 99 %)

*Resultados posteriores de la amplificación de la CT indican que 2 de 4 muestras de orina discrepantes fueron positivas.

[§]Valor del límite inferior (LI) del intervalo de confianza al 95 %

Tabla 4

Resumen de los resultados de la prueba cobas[®] 4800 CT/NG para CT comparados con una prueba comparativa de marcado CE (NAAT 1) con muestras de orina masculina de pacientes sanos e infectados con CT

Orina masculina N = 700		Prueba comparativa (NAAT 1)		
		Positivos	Negativos	Total
Prueba cobas [®] 4800 CT/NG	Positivos	70	1*	71
	Negativos	0	629	629
	Total	70	630	700

Concordancia de resultados positivos = 70/70 = 100,0 % (LI del IC al 95 %[§] = 95 %)

Concordancia de resultados negativos = 629/630 = 99,8 % (LI del IC al 95 %[§] = 99 %)

Concordancia total = 699/700 = 99,9 % (LI del IC al 95 %[§] = 99 %)

*La muestra discrepante sigue siendo discrepante tras análisis posteriores.

[§]Valor del límite inferior (LI) del intervalo de confianza al 95 %

Tabla 5

Resumen de los resultados de la prueba cobas[®] 4800 CT/NG para CT comparados con una prueba comparativa de marcado CE (NAAT 1) con muestras de orina femenina de pacientes sanas e infectadas con CT

Orina femenina N = 581		Prueba comparativa (NAAT 1)		
		Positivos	Negativos	Total
Prueba cobas [®] 4800 CT/NG	Positivos	45	3*	48
	Negativos	0	533	533
	Total	45	536	581

Concordancia de resultados positivos = 45/45 = 100,0 % (LI del IC al 95 %[§] = 92 %)

Concordancia de resultados negativos = 533/536 = 99,4 % (LI del IC al 95 %[§] = 98 %)

Concordancia total = 578/581 = 99,5 % (LI del IC al 95 %[§] = 99 %)

*Resultados posteriores de la amplificación de la CT indican que 2 de 3 muestras de orina femenina discrepantes fueron positivas.

[§]Valor del límite inferior (LI) del intervalo de confianza al 95 %

Tabla 6**Resumen de los resultados de la prueba cobas® 4800 CT/NG para CT comparados con una prueba comparativa de marcado CE (NAAT 1) con muestras endocervicales en torunda de pacientes sanas e infectadas con CT**

Torunda endocervical N = 445		Prueba comparativa (NAAT 1)		
		Positiva	Negativa	Total
Prueba cobas ® 4800 CT/NG	Positiva	71	1	72
	Negativa	3*	370	373
	Total	74	371	445

Concordancia de resultados positivos = $71/74 = 96,0\%$ (LI del IC al 95 %[§] 89,9 %)

Concordancia de resultados negativos = $370/371 = 99,7\%$ (LI del IC al 95 %[§] 98,7 %)

Concordancia total = $441/445 = 99,1\%$ (LI del IC al 95 %[§] 98 %)

*Resultados posteriores de la amplificación de la CT indican que las 3 muestras endocervicales en torunda discrepantes fueron positivas.

§Valor del límite inferior (LI) del intervalo de confianza al 95 %.

Tabla 7**Resumen de los resultados de la prueba cobas® 4800 CT/NG para NG comparados con una prueba comparativa de marcado CE (NAAT 1) con muestras de orina de pacientes sanos e infectados con NG**

Orina total N = 1281		Prueba comparativa (NAAT 1)		
		Positivos	Negativos	Total
Prueba cobas ® 4800 CT/NG	Positivos	46	2*	48
	Negativos	0	1233	1233
	Total	46	1235	1281

Concordancia de resultados positivos = $46/46 = 100,0\%$ (LI del IC al 95 %[§] = 92 %)

Concordancia de resultados negativos = $1233/1235 = 99,8\%$ (LI del IC al 95 %[§] = 99 %)

Concordancia total = $1279/1281 = 99,8\%$ (LI del IC al 95 %[§] = 99 %)

*Todas las muestras discrepantes siguen siendo discrepantes tras análisis posteriores.

§Valor del límite inferior (LI) del intervalo de confianza al 95 %

Tabla 8**Resumen de los resultados de la prueba cobas® 4800 CT/NG para NG comparados con una prueba comparativa de marcado CE (NAAT 1) con muestras de orina masculina de pacientes sanos e infectados con NG**

Orina masculina N = 700		Prueba comparativa (NAAT 1)		
		Positivos	Negativos	Total
Prueba cobas ® 4800 CT/NG	Positivos	30	1*	31
	Negativos	0	669	669
	Total	30	670	700

Concordancia de resultados positivos = $30/30 = 100,0\%$ (LI del IC al 95 %[§] = 88 %)

Concordancia de resultados negativos = $669/670 = 99,9\%$ (LI del IC al 95 %[§] = 99 %)

Concordancia total = $699/700 = 99,9\%$ (LI del IC al 95 %[§] = 99 %)

*La muestra discrepante sigue siendo discrepante tras análisis posteriores.

§Valor del límite inferior (LI) del intervalo de confianza al 95 %

Tabla 9**Resumen de los resultados de la prueba cobas® 4800 CT/NG para NG comparados con una prueba comparativa de marcado CE (NAAT 1) con muestras de orina femenina de pacientes sanas e infectadas con NG**

Orina femenina N = 581		Prueba comparativa (NAAT 1)		
		Positivos	Negativos	Total
Prueba cobas ® 4800 CT/NG	Positivos	16	1*	17
	Negativos	0	564	564
	Total	16	565	581

Concordancia de resultados positivos = $16/16 = 100,0\%$ (LI del IC al 95 %[§] = 79 %)

Concordancia de resultados negativos = $564/565 = 99,8\%$ (LI del IC al 95 %[§] = 99 %)

Concordancia total = $580/581 = 99,8\%$ (LI del IC al 95 %[§] = 99 %)

*La muestra discrepante sigue siendo discrepante tras análisis posteriores.

§Valor del límite inferior (LI) del intervalo de confianza al 95 %

Tabla 10

Resumen de los resultados de la prueba cobas® 4800 CT/NG para NG comparados con una prueba comparativa de mercado CE (NAAT 1) con muestras endocervicales recogidas en torunda de pacientes sanas e infectadas con NG

Torunda endocervical N = 445		Prueba comparativa (NAAT 1)		
		Positivos	Negativos	Total
Prueba cobas ® 4800 CT/NG	Positivos	15	3*	18
	Negativos	0	427	427
	Total	15	430	445

Concordancia de resultados positivos = $15/15 = 100,0\%$ (LI del IC al 95 %[§] = 78 %)

Concordancia de resultados negativos = $427/430 = 99,3\%$ (LI del IC al 95 %[§] = 98 %)

Concordancia total = $442/445 = 99,3\%$ (LI del IC al 95 %[§] = 98 %)

*Resultados posteriores de la amplificación de la NG indican que 2 de 3 muestras endocervicales en torunda discrepantes fueron positivas.

§Valor del límite inferior (LI) del intervalo de confianza al 95 %

Tabla 11

Resumen de los resultados de la prueba cobas® 4800 CT/NG para NG comparados con una prueba comparativa de mercado CE (NAAT 2) con muestras endocervicales recogidas en torunda de pacientes sanas e infectadas con NG

Torunda endocervical N = 210		Prueba comparativa (NAAT 2)		
		Positivos	Negativos	Total
Prueba cobas ® 4800 CT/NG	Positivos	11	0	11
	Negativos	0	199	199
	Total	11	199	210

Concordancia de resultados positivos = $11/11 = 100,0\%$ (LI del IC al 95 %[§] = 72 %)

Concordancia de resultados negativos = $199/199 = 100,0\%$ (LI del IC al 95 %[§] = 98 %)

Concordancia total = $210/210 = 100,0\%$ (LI del IC al 95 %[§] = 98 %)

§Valor del límite inferior (LI) del intervalo de confianza al 95 %

Estudio de correlación con muestras vaginales en torunda y muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt®

Las muestras vaginales recogidas en torunda por el personal médico y por el propio paciente obtenidas con el dispositivo para muestras femeninas en torunda **cobas**® para PCR y las muestras conservadas en PreservCyt se obtuvieron de pacientes femeninas sintomáticas y asintomáticas que acudieron a clínicas obstétricas y ginecológicas, centros de atención para enfermedades de transmisión sexual (ETS) y clínicas de planificación familiar de 12 ubicaciones diferentes de los Estados Unidos. Además de las muestras vaginales y las conservadas en PreservCyt, cada paciente donó 3 muestras endocervicales recogidas en torunda obtenidas con el **cobas**® PCR Female Swab Sample Kit y con dos dispositivos de obtención para pruebas NAAT (prueba de amplificación de ácidos nucleicos) de referencia. Una de estas pruebas NAAT también se utilizó para evaluar las muestras en solución PreservCyt. Todos los tipos de muestras se analizaron con la prueba **cobas**® 4800 CT/NG.

El resultado de las muestras vaginales recogidas en torunda y las muestras en solución PreservCyt® se determinó a partir del número total de resultados obtenidos con la prueba **cobas**® 4800 CT/NG para estos tipos de muestras y comparando este resultado con el resultado de la prueba **cobas**® 4800 CT/NG con muestras endocervicales recogidas en torunda (anteriormente con aprobación para el mercado CE). Para resolver las muestras vaginales y en solución PreservCyt® discrepantes en el estudio de correlación se utilizaron los resultados de las dos pruebas NAAT de referencia con muestras endocervicales recogidas en torunda y en solución PreservCyt®.

Se utilizaron un total de 3.238 sujetos para la obtención de las muestras vaginales en torunda recogidas por el personal médico o por el propio sujeto y una muestra endocervical en torunda y todas ellas se analizaron con la prueba **cobas**® 4800 CT/NG. Se eliminaron sesenta y cinco muestras (28 endocervicales en torunda y 37 vaginales en torunda) del estudio por no contener un volumen suficiente, presentar coágulos generados durante el procesamiento de las muestras o por otros errores desconocidos del sistema. El análisis no generó ningún resultado no válido. El total final de sujetos utilizados para el análisis fue de 3.173¹. Las Tablas 12 y 13 muestran respectivamente los resultados de las pruebas para la identificación de *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae*. El porcentaje de concordancia de resultados positivos de todas las muestras vaginales fue del 94,6 % para la *Chlamydia trachomatis*. El porcentaje de concordancia de resultados negativos para todas las muestras vaginales fue del 99,6 % y el porcentaje total de concordancia (consulte la Tabla 12) de todas las muestras vaginales fue del 99,3 % en comparación con los resultados de las muestras endocervicales recogidas en torunda obtenidos con la prueba **cobas**® 4800 CT/NG. El porcentaje de concordancia de resultados positivos de todas las muestras vaginales fue del 97,7 % para la *Neisseria gonorrhoeae*. El porcentaje de concordancia de resultados negativos para todas las muestras vaginales fue del 99,9 % y el porcentaje total de concordancia (consulte la Tabla 13) de todas las muestras vaginales fue del 99,9 % en comparación con los resultados de las muestras endocervicales recogidas en torunda obtenidos con la prueba **cobas**® 4800 CT/NG.

Las muestras PreservCyt se analizaron con partes alícuotas de 1 ml en tubos secundarios antes de realizar el procesamiento para citología (alícuotado previo, de ahora en adelante “pre-alícuota”) y con el vial primario original de la muestra PreservCyt después del procesamiento para citología (alícuotado posterior, de ahora en adelante “post-alícuota”). Se compararon los resultados de la prueba

¹ De las 3.173 muestras vaginales recogidas en torunda analizadas, un 51,4 % fueron recogidas por el personal médico y un 48,6 % por el propio paciente.

con muestras PreservCyt pre-alícuotas y post-alícuotas con los resultados de la prueba con muestras endocervicales en torunda de los mismos sujetos mediante la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG. Se utilizaron un total de 3.235 sujetos para obtener las muestras PreservCyt pre-alícuotas y las muestras endocervicales en torunda. Se eliminaron ochenta muestras (29 torundas endocervicales y 51 muestras PreservCyt pre-alícuotas) del análisis por contener coágulos generados durante el procesamiento de las muestras o por otros errores desconocidos del sistema, con lo que el número total de sujetos se redujo a 3.155. El análisis no generó ningún resultado no válido. Para el análisis de las muestras post-alícuotas se utilizaron un total de 3.228 sujetos, de quienes se obtuvieron las muestras PreservCyt post-alícuotas y las muestras endocervicales en torunda. Se eliminaron noventa y siete muestras (28 torundas endocervicales y 69 muestras PreservCyt post-alícuotas) del análisis por no contener volumen suficiente, presentar coágulos generados durante el procesamiento de las muestras o por otros errores desconocidos del sistema, con lo que el número total de sujetos se redujo a 3.131. El análisis no generó ningún resultado no válido.

Las Tablas 14 y 15 muestran respectivamente los resultados de las pruebas para la identificación de *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* en muestras PreservCyt pre-alícuotas. Para el análisis de *Chlamydia trachomatis*, el porcentaje de concordancia de resultados positivos de todas las muestras PreservCyt pre-alícuotas fue del 95,2 %. El porcentaje de concordancia de resultados negativos para todas las muestras PreservCyt pre-alícuotas fue del 99,5 %, mientras que el porcentaje total de concordancia (consulte la Tabla 14) de todas las muestras PreservCyt pre-alícuotas fue del 99,3 % en comparación con los resultados de las muestras endocervicales recogidas en torunda obtenidos con la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG. Para el análisis de *Neisseria gonorrhoeae*, el porcentaje de concordancia de resultados positivos de todas las muestras PreservCyt pre-alícuotas fue del 95,6 %. El porcentaje de concordancia de resultados negativos para todas las muestras PreservCyt pre-alícuotas fue del 99,9 %, mientras que el porcentaje total de concordancia (consulte la Tabla 15) de todas las muestras PreservCyt pre-alícuotas fue del 99,8 % en comparación con los resultados de las muestras endocervicales recogidas en torunda obtenidos con la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG. Las Tablas 16 y 17 muestran respectivamente los resultados de las pruebas de *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* con muestras PreservCyt post-alícuotas.

Para el análisis de *Chlamydia trachomatis*, el porcentaje de concordancia de resultados positivos de todas las muestras PreservCyt post-alícuotas fue del 94,5 %. El porcentaje de concordancia de resultados negativos para todas las muestras PreservCyt post-alícuotas fue del 99,7 %, mientras que el porcentaje total de concordancia (consulte la Tabla 16) de todas las muestras PreservCyt post-alícuotas fue del 99,5 % en comparación con los resultados de las muestras endocervicales recogidas en torunda obtenidos con la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG. Para el análisis de *Neisseria gonorrhoeae*, el porcentaje de concordancia de resultados positivos de todas las muestras PreservCyt post-alícuotas fue del 95,6 %. El porcentaje de concordancia de resultados negativos para todas las muestras PreservCyt post-alícuotas fue del 99,9 %, mientras que el porcentaje total de concordancia (consulte la Tabla 17) de todas las muestras PreservCyt post-alícuotas fue del 99,9 % en comparación con los resultados de las muestras endocervicales recogidas en torunda obtenidos con la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG. Todos los resultados se muestran en las Tablas 12 a 17, incluidos los valores de límite inferior (LI) del intervalo de confianza al 95 %.

Para resolver las muestras vaginales se utilizaron los resultados de las pruebas de las muestras endocervicales en torunda obtenidos con las pruebas de referencia NAAT 3 y NAAT 4. Un resultado positivo de las muestras endocervicales en torunda con cualquiera de las pruebas de referencia indica un resultado positivo verdadero para la muestra vaginal en torunda discrepante.

Para el análisis de resolución de las muestras PreservCyt (pre-alícuotas y post-alícuotas) se utilizaron los resultados de las muestras endocervicales en torunda obtenidos con las pruebas de referencia NAAT 3 y los resultados de las muestras PreservCyt y torundas endocervicales obtenidos con la prueba de referencia NAAT 4. Un mínimo de dos resultados positivos de los tres posibles con las pruebas NAAT 3 y NAAT 4 indican un resultado positivo verdadero para la muestra en solución PreservCyt pre-alícuota y post-alícuota discrepante.

Tabla 12
Resumen de los resultados de la prueba cobas[®] 4800 CT/NG para CT comparados con muestras vaginales en torunda y muestras endocervicales en torunda de pacientes sanas e infectadas con CT

Prueba cobas [®] 4800 CT/NG Infección por CT N = 3173		Torunda endocervical		
		Positivos	Negativos	Total
Torunda vaginal	Positivos	158	13**	171
	Negativos	9*	2993	3002
	Total	167	3006	3173

Concordancia de resultados positivos = $158/167 = 94,6\%$ (LI del IC al 95 %[§] = 90 %)

Concordancia de resultados negativos = $2993/3006 = 99,6\%$ (LI del IC al 95 %[§] = 99 %)

Concordancia total = $3151/3173 = 99,3\%$ (LI del IC al 95 %[§] = 99 %)

*La resolución de resultados discrepantes con pruebas NAAT 3 y NAAT 4 indica que 6 de 9 resultados son resultados positivos verdaderos.

**La resolución de resultados discrepantes con pruebas NAAT 3 y NAAT 4 indica que 8 de 13 resultados son resultados positivos verdaderos.

§Valor del límite inferior (LI) del intervalo de confianza al 95 %

Tabla 13
Resumen de los resultados de la prueba cobas® 4800 CT/NG para NG comparados con muestras vaginales en torunda y muestras endocervicales en torunda de pacientes sanas e infectadas con NG

Prueba cobas ® 4800 CT/NG Infección por NG N = 3173		Torunda endocervical		
		Positivos	Negativos	Total
Torunda vaginal	Positivos	42	2**	44
	Negativos	1*	3128	3129
	Total	43	3130	3173

Concordancia de resultados positivos = 42/43 = 97,7 % (LI del IC al 95 %[§] = 88 %)

Concordancia de resultados negativos = 3128/3130 = 99,9 % (LI del IC al 95 %[§] = 99 %)

Concordancia total = 3170/3173 = 99,9 % (LI del IC al 95 %[§] = 99 %)

*La resolución de resultados discrepantes con pruebas NAAT 3 y NAAT 4 indica resultados positivos verdaderos.

**La resolución de resultados discrepantes con pruebas NAAT 3 y NAAT 4 indica que 1 de 2 resultados es un resultado positivo verdadero.

§Valor del límite inferior (LI) del intervalo de confianza al 95 %

Tabla 14
Resumen de los resultados de la prueba cobas® 4800 CT/NG para CT comparados con muestras PreservCyt (pre-álícuotas) y muestras endocervicales en torunda de pacientes sanas e infectadas con CT

Prueba cobas ® 4800 CT/NG Infección por CT N = 3155		Torunda endocervical		
		Positivos	Negativos	Total
PreservCyt (pre-álícuota)	Positivos	159	15**	174
	Negativos	8*	2973	2981
	Total	167	2988	3155

Concordancia de resultados positivos = 159/167 = 95,2 % (LI del IC al 95 %[§] = 91 %)

Concordancia de resultados negativos = 2973/2988 = 99,5 % (LI del IC al 95 %[§] = 99 %)

Concordancia total = 3132/3155 = 99,3 % (LI del IC al 95 %[§] = 99 %)

*La resolución de resultados discrepantes con pruebas NAAT 3 y NAAT 4 indica que 4 de 8 resultados son resultados positivos verdaderos.

**La resolución de resultados discrepantes con pruebas NAAT 3 y NAAT 4 indica que 6 de 15 resultados son resultados positivos verdaderos.

§Valor del límite inferior (LI) del intervalo de confianza al 95 %

Tabla 15
Resumen de los resultados de la prueba cobas® 4800 CT/NG para NG comparados con muestras PreservCyt (pre-álícuotas) y muestras endocervicales en torunda de pacientes sanas e infectadas con NG

Prueba cobas ® 4800 CT/NG Infección por NG N = 3155		Torunda endocervical		
		Positivos	Negativos	Total
PreservCyt (pre-álícuota)	Positivos	43	3**	46
	Negativos	2*	3107	3109
	Total	45	3110	3155

Concordancia de resultados positivos = 43/45 = 95,6 % (LI del IC al 95 %[§] = 85 %)

Concordancia de resultados negativos = 3107/3110 = 99,9 % (LI del IC al 95 %[§] = 99 %)

Concordancia total = 3150/3155 = 99,8 % (LI del IC al 95 %[§] = 99 %)

*La resolución de resultados discrepantes con pruebas NAAT 3 y NAAT 4 indica que 1 de 2 resultados es un resultado positivo verdadero.

**La resolución de resultados discrepantes con pruebas NAAT 3 y NAAT 4 indica que 1 de 3 resultados es un resultado positivo verdadero.

§Valor del límite inferior (LI) del intervalo de confianza al 95 %

Tabla 16**Resumen de los resultados de la prueba cobas® 4800 CT/NG para CT comparados con muestras PreservCyt (post-álícuotas) y muestras endocervicales en torunda de pacientes sanas e infectadas con CT**

Prueba cobas ® 4800 CT/NG Infección por CT N = 3131		Torunda endocervical		
		Positivos	Negativos	Total
PreservCyt (post-álícuota)	Positivos	155	8**	163
	Negativos	9*	2959	2968
	Total	164	2967	3131

Concordancia de resultados positivos = $155/164 = 94,5\%$ (LI del IC al $95\%^{§} = 90\%$)

Concordancia de resultados negativos = $2959/2967 = 99,7\%$ (LI del IC al $95\%^{§} = 99\%$)

Concordancia total = $3114/3131 = 99,5\%$ (LI del IC al $95\%^{§} = 99\%$)

*La resolución de resultados discrepantes con pruebas NAAT 3 y NAAT 4 indica que 6 de 9 resultados son resultados positivos verdaderos.

**La resolución de resultados discrepantes con pruebas NAAT 3 y NAAT 4 indica que 2 de 8 resultados son resultados positivos verdaderos.

§Valor del límite inferior (LI) del intervalo de confianza al 95%

Tabla 17**Resumen de los resultados de la prueba cobas® 4800 CT/NG para NG comparados con muestras PreservCyt (post-álícuotas) y muestras endocervicales en torunda de pacientes sanas e infectadas con NG**

Prueba cobas ® 4800 CT/NG Infección por NG N = 3131		Torunda endocervical		
		Positivos	Negativos	Total
PreservCyt (post-álícuota)	Positivos	43	1**	44
	Negativos	2*	3085	3087
	Total	45	3086	3131

Concordancia de resultados positivos = $43/45 = 95,6\%$ (LI del IC al $95\%^{§} = 85\%$)

Concordancia de resultados negativos = $3085/3086 = 99,9\%$ (LI del IC al $95\%^{§} = 99\%$)

Concordancia total = $3128/3131 = 99,9\%$ (LI del IC al $95\%^{§} = 99\%$)

*La resolución de resultados discrepantes con pruebas NAAT 3 y NAAT 4 indica que 1 de 2 resultados es un resultado positivo verdadero.

**La resolución de resultados discrepantes con pruebas NAAT 3 y NAAT 4 indica resultados negativos verdaderos.

§Valor del límite inferior (LI) del intervalo de confianza al 95%

Reproducibilidad

Se realizó un estudio de reproducibilidad entre lotes, áreas de ensayo, operadores, series y días de la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG para la detección de *Chlamydia trachomatis* (CT) y *Neisseria gonorrhoeae* (NG) mediante 3 paneles preparados a partir de torundas y orina recogidas en **cobas**[®] PCR Media y solución PreservCyt[®]. La serie para **cobas**[®] PCR Media (muestras de orina o en torunda) incluía 3 réplicas de cada uno de los 5 miembros del panel más 1 control positivo y 1 control negativo (17 pruebas en total). Si se combinan los paneles de **cobas**[®] PCR Media en una serie, solamente debe incluirse 1 control positivo y 1 control negativo (32 pruebas en total). La serie para el panel PreservCyt incluía 6 réplicas de cada uno de los 5 miembros del panel más 1 control positivo y 1 control negativo (32 pruebas en total). Los 2 operadores de cada área de ensayo realizaron 2 series cada día durante un total de 3 días de análisis por operador y tipo de panel (6 días de análisis en total para cada tipo de panel y lote de reactivos). Para el panel de muestras en medio para PCR/de orina y el panel para muestras en **cobas**[®] PCR Media/en torunda, el análisis se realizó con 2 lotes de reactivos (6 días de análisis por lote); el panel de muestras en solución PreservCyt[®] se analizó con 1 lote de reactivos.

En total, se realizaron 74 series y se obtuvieron 72 series válidas para los tipos de panel de muestras de orina y en torunda. Las 2 series no válidas se debieron a errores del equipo. Para las muestras en solución PreservCyt[®] se realizaron 36 series, siendo todas ellas válidas. Se realizaron un total de 1.080 pruebas con los miembros de los 5 paneles para cada tipo de panel de las series válidas. Se obtuvo 1 resultado de la prueba no válido en el tipo de panel de orina, 2 resultados de prueba no válidos para el tipo de panel de muestras en torunda y 0 en el tipo de panel de muestras en solución PreservCyt[®]. Las pruebas no válidas se debieron a errores del equipo.

Se incluyeron todos los resultados válidos de las pruebas en los análisis para los que se había especificado el porcentaje de concordancia para *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae* para cada tipo de panel por separado. No se obtuvieron resultados positivos falsos para ningún analito (CT y NG) en ninguno de los 3 tipos de paneles con miembros de panel negativos, lo que representa un porcentaje de concordancia de resultados negativos (NPA) del 100 % para cada analito.

C. trachomatis (Tablas 18, 19, 20)

El porcentaje de concordancia para los miembros positivos del panel fue excelente para todos los tipos de panel y miembros de panel. El porcentaje de concordancia de resultados positivos (PPA) mínimo global fue del 98,1 % para el tipo de panel PreservCyt “1 X LOD de CT, NG Negativo”.

El análisis de los componentes de variación de los valores de Ct de las pruebas válidas se realizó con los miembros del panel positivos para los que se obtuvieron rangos de CV (%) globales comprendidos entre 1,1 % y 1,5 % para el tipo de panel de orina; entre el 1,6 % y el 1,8 % para el tipo de panel en torunda y entre 1,7 % y 2,6 % para el tipo de panel PreservCyt.

Tabla 18

C. trachomatis: concordancia de porcentaje por miembro del panel por lote, ubicación/equipo y día (muestras en medio para PCR/orina)

Miembro del panel	SD de Ct	% de CV de Ct	Concordancia de porcentaje *								
			Lote			Ubicación/Equipo			Día		
CT Negativo, NG Negativo	N/D	N/D	2	100,0	108/108	1	100,0	71/71	1	100,0	72/72
			3	100,0	107/107	2	100,0	72/72	2	100,0	71/71
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
1 X LOD de CT, NG Negativo	0,54	1,5	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
CT Negativo, 1 X LOD de NG	N/D	N/D	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
1 X LOD de CT, 2,5 X LOD de NG	0,48	1,3	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
2,5 X LOD de CT, 1 X LOD de NG	0,40	1,1	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72

* Para las muestras negativas, el porcentaje de concordancia = (número de resultados negativos/resultados válidos totales);
Para las muestras positivas, el porcentaje de concordancia = (número de resultados positivos/resultados válidos totales)

Tabla 19
C. trachomatis: concordancia de porcentaje por miembro del panel por lote, ubicación/equipo y día
(muestras en medio para PCR/torunda)

Miembro del panel	SD de Ct	% de CV de Ct	Concordancia de porcentaje *								
			Lote			Ubicación/Equipo			Día		
CT Negativo, NG Negativo	N/D	N/D	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
1 X LOD de CT, NG Negativo	0,61	1,6	2	100,0	107/107	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	71/71	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	71/71
CT Negativo, 1 X LOD de NG	N/D	N/D	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	107/107	2	100,0	71/71	2	100,0	71/71
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
1 X LOD de CT, 2,5 X LOD de NG	0,66	1,8	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
2,5 X LOD de CT, 1 X LOD de NG	0,59	1,6	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72

* Para las muestras negativas, el porcentaje de concordancia = (número de resultados negativos/resultados válidos totales);
Para las muestras positivas, el porcentaje de concordancia = (número de resultados positivos/resultados válidos totales)

Tabla 20
C. trachomatis: concordancia de porcentaje por miembro del panel por lote, ubicación/equipo y día
(muestras en solución PreservCyt®)

Miembro del panel	SD de Ct	% de CV de Ct	Concordancia de porcentaje *								
			Lote			Ubicación/Equipo			Día		
CT Negativo, NG Negativo	N/D	N/D	1	100,0	216/216	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
						2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
1 X LOD de CT, NG Negativo	0,96	2,6	1	98,1	212/216	1	100,0	72/72	1	98,6	71/72
						2	95,8	69/72	2	97,2	70/72
						3	98,6	71/72	3	98,6	71/72
CT Negativo, 1 X LOD de NG	N/D	N/D	1	100,0	216/216	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
						2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
1 X LOD de CT, 2,5 X LOD de NG	0,86	2,4	1	99,5	215/216	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
					2	98,6	71/72	2	98,6	71/72	
					3	100,0	72/72	3	100,0	72/72	
2,5 X LOD de CT, 1 X LOD de NG	0,59	1,7	1	100,0	216/216	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
					2	100,0	72/72	2	100,0	72/72	
					3	100,0	72/72	3	100,0	72/72	

* Para las muestras negativas, el porcentaje de concordancia = (número de resultados negativos/resultados válidos totales);
Para las muestras positivas, el porcentaje de concordancia = (número de resultados positivos/resultados válidos totales)

N. gonorrhoeae (Tablas 21, 22, 23)

El porcentaje de concordancia para los miembros positivos del panel fue excelente para todos los tipos de panel y miembros de panel. El porcentaje de concordancia de resultados positivos (PPA) mínimo global fue del 97,2 % para el tipo de panel PreservCyt “CT Negativo, 1 x LOD de NG”.

El análisis de los componentes de variación de los valores de Ct de las pruebas válidas se realizó con los miembros del panel positivos para los que se obtuvieron rangos de CV (%) globales comprendidos entre 1,2 % y 1,5 % para el tipo de panel de orina; entre el 1,4 % y el 1,9 % para el tipo de panel en torunda y entre 1,9 % y 4,1 % para el tipo de panel PreservCyt.

Tabla 21
N. gonorrhoeae: concordancia de porcentaje por miembro del panel por lote, ubicación/equipo y día
(muestras en medio para PCR/orina)

Miembro del panel	SD de Ct	% de CV de Ct	Concordancia de porcentaje ¹								
			Lote			Ubicación/Equipo			Día		
CT Negativo, NG Negativo	N/D	N/D	2	100,0	108/108	1	100,0	71/71	1	100,0	72/72
			3	100,0	107/107	2	100,0	72/72	2	100,0	71/71
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
1 X LOD de CT, NG Negativo	N/D	N/D	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
CT Negativo, 1 X LOD de NG	0,53	1,5	2	99,1	107/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	72/72	2	98,6	71/72
						3	98,6	71/72	3	100,0	72/72
1 X LOD de CT, 2,5 X LOD de NG	0,41	1,2	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
2,5 X LOD de CT, 1 X LOD de NG	0,54	1,5	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72

¹ Para las muestras negativas, el porcentaje de concordancia = (número de resultados negativos/resultados válidos totales); Para las muestras positivas, el porcentaje de concordancia = (número de resultados positivos/resultados válidos totales)

Tabla 22
N. gonorrhoeae: concordancia de porcentaje por miembro del panel por lote, ubicación/equipo y día
(muestras en medio para PCR/en torunda)

Miembro del panel	SD de Ct	% de CV de Ct	Concordancia de porcentaje ¹								
			Lote			Ubicación/Equipo			Día		
CT Negativo, NG Negativo	N/D	N/D	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
1 X LOD de CT, NG Negativo	N/D	N/D	2	100,0	107/107	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	71/71	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	71/71
CT Negativo, 1 X LOD de NG	0,68	1,8	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	107/107	2	100,0	71/71	2	100,0	71/71
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
1 X LOD de CT, 2,5 X LOD de NG	0,49	1,4	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
2,5 X LOD de CT, 1 X LOD de NG	0,71	1,9	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72

¹ Para las muestras negativas, el porcentaje de concordancia = (número de resultados negativos/resultados válidos totales); Para las muestras positivas, el porcentaje de concordancia = (número de resultados positivos/resultados válidos totales)

Tabla 23
N. gonorrhoeae: concordancia de porcentaje por miembro del panel por lote, ubicación/equipo y día
(muestras en solución PreservCyt®)

Miembro del panel	SD de Ct	% de CV de Ct	Concordancia de porcentaje *								
			Lote			Ubicación/Equipo			Día		
CT Negativo, NG Negativo	N/D	N/D	1	100,0	216/216	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
						2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
1 X LOD de CT, NG Negativo	N/D	N/D	1	100,0	216/216	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
						2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
CT Negativo, 1 X LOD de NG	0,94	2,5	1	97,2	210/216	1	100,0	72/72	1	95,8	69/72
						2	93,1	67/72	2	97,2	70/72
						3	98,6	71/72	3	98,6	71/72
1 X LOD de CT, 2,5 X LOD de NG	0,69	1,9	1	100,0	216/216	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
						2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
2,5 X LOD de CT, 1 X LOD de NG	1,52	4,1	1	98,6	213/216	1	98,6	71/72	1	98,6	71/72
						2	98,6	71/72	2	100,0	72/72
						3	98,6	71/72	3	97,2	70/72

* Para las muestras negativas, el porcentaje de concordancia = (número de resultados negativos/resultados válidos totales); Para las muestras positivas, el porcentaje de concordancia = (número de resultados positivos/resultados válidos totales)

EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO

Rendimiento analítico

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica (límite de detección o LOD) de la prueba **cobas**® 4800 CT/NG se ha determinado mediante el análisis de diluciones de cultivos de *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* cuantificados. Se diluyeron los cultivos de CT y NG en **cobas**® PCR Media, muestras vaginales en torunda negativas en **cobas**® PCR Media, muestras de orina negativas más **cobas**® PCR Media y muestras en solución PreservCyt® negativas para determinar el LOD de las muestras endocervicales en torunda, vaginales en torunda, de orina y en solución PreservCyt® respectivamente. Se analizaron todos los niveles con el flujo de trabajo completo de la prueba **cobas**® 4800 CT/NG con 3 lotes únicos de reactivos de la prueba **cobas**® 4800 CT/NG. El LOD de esta prueba es la concentración objetivo que puede detectarse como positiva en $\geq 95\%$ de las réplicas analizadas. Dado que la evaluación del LOD se realiza con muestras estabilizadas en **cobas**® PCR Media, el LOD de la orina sin tratar será el doble del que se indica en la Tabla 24.

En la Tabla 24 se muestra el LOD del cultivo de serotipo D de CT y de la cepa 19424 de NG en **cobas**® PCR Media, muestras vaginales en torunda estabilizadas en **cobas**® PCR Media, muestras de orina diluidas en **cobas**® PCR Media y muestras en solución PreservCyt®. Si se analizan por separado, los resultados de las muestras de orina masculina y femenina son equivalentes en los cultivos de CT y NG.

Tabla 24
Límite de detección de la prueba cobas® 4800 CT/NG

Tipos de muestra	<i>C. trachomatis</i>			<i>N. gonorrhoeae</i>		
	Niveles analizados	Réplicas/Nivel	LOD (UFI/ml)	Niveles analizados	Réplicas/Nivel	LOD (UFC/ml)
cobas ® PCR Media (endocervicales en torunda)	7	192*	3,00	7	192*	9,00
Torundas vaginales	5	192**	10,00	5	192**	100,00
Orina	7	192*	0,75	7	192*	2,25
PreservCyt	5	189-192**	0,60	5	189-192**	3,50

*El análisis incluía un nivel negativo con 167-168 réplicas

**El análisis incluía un nivel negativo con 82-84 réplicas

Verificación de la inclusividad

Se ha determinado la sensibilidad de la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG para 14 serotipos adicionales de *Chlamydia trachomatis*, la cepa de la nueva variante sueca (nvCT) y 44 cepas aisladas independientes de la *Neisseria gonorrhoeae*. Los paneles se prepararon según se describe en el estudio del LOD, variando el número de niveles de panel entre 1 y 5, según fuera necesario. Se analizaron un mínimo de 49 réplicas para cada nivel del panel mediante un lote de reactivos de la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG. Los resultados se muestran en las Tablas 25 y 26. En la Tabla 26, todas las cepas de la NG con resultados del LOD idénticos se presentan como un grupo, mostrado en las columnas cuyo encabezado es “Número de cepas de NG”. Dado que la evaluación del LOD se realiza con muestras estabilizadas en **cobas**[®] PCR Media, el LOD de la orina sin tratar será el doble del que se indica en las Tablas 25 y 26.

La sensibilidad analítica de los 14 serotipos de CT más la variante nvCT (Tabla 25) osciló entre 0,2 UFI/ml y 5,0 UFI/ml en **cobas**[®] PCR Media, entre 0,13 UFI/ml y 0,75 UFI/ml en **cobas**[®] PCR Media más orina negativa y entre 0,2 UFI/ml y 2,0 UFI/ml en muestras negativas en solución PreservCyt[®]. Todos los serotipos de CT y la variante nvCT se analizaron con una concentración de 10 UFI/ml exclusivamente en muestras vaginales negativas estabilizadas. Todos mostraron unas tasas de positividad del 100 % a 10 UFI/ml (UFI = unidades formadoras de inclusión).

La sensibilidad analítica de las 44 cepas de NG osciló entre 3,0 UFC/ml y 20 UFC/ml en **cobas**[®] PCR Media, fue del 3,75 UFC/ml en **cobas**[®] PCR Media más orina y osciló entre 1,5 UFC/ml y 10 UFC/ml en muestras negativas en solución PreservCyt[®]. Todas las cepas de NG se analizaron con una concentración de 100 UFC/ml exclusivamente en muestras vaginales negativas estabilizadas. Todas mostraron unas tasas de positividad del 100 % a 100 UFC/ml (UFC = unidades formadoras de colonias).

Tabla 25
Resumen de los resultados de la verificación de la inclusividad de los serotipos/las variantes de la CT

Serotipo o variante	Resultados del LOD para <i>C. trachomatis</i>							
	cobas [®] PCR Media (endocervicales en torunda)		Torundas vaginales*		Orina		PreservCyt (muestra cervical)	
	UFI/ml	% pos.	UFI/ml	% pos.	UFI/ml	% pos.	UFI/ml	% pos.
A	3,0	100 %	10,0	100 %	0,13	98 %	0,2	100 %
B	3,0	100 %	10,0	100 %	0,75	100 %	0,6	100 %
Ba	3,0	100 %	10,0	100 %	0,75	100 %	0,6	100 %
C	3,0	100 %	10,0	100 %	0,75	100 %	0,2	98 %
E	3,0	100 %	10,0	100 %	0,75	100 %	0,2	99 %
F	3,0	100 %	10,0	100 %	0,75	100 %	0,6	100 %
G	3,0	100 %	10,0	100 %	0,75	100 %	0,6	100 %
H	3,0	100 %	10,0	100 %	0,75	100 %	0,6	100 %
I	3,0	100 %	10,0	100 %	0,75	98 %	0,6	100 %
J	3,0	100 %	10,0	100 %	0,13	96 %	0,2	98 %
K	3,0	100 %	10,0	100 %	0,75	100 %	0,2	100 %
LV tipo 1	0,2	100 %	10,0	100 %	0,13	100 %	0,2	98 %
LV tipo 2	0,2	96 %	10,0	100 %	0,13	100 %	0,2	98 %
LV tipo 3	3,0	100 %	10,0	100 %	0,13	100 %	0,6	100 %
nvCT	5,0	96 %	10,0	100 %	0,75	100 %	2,0	100 %

*Inclusividad de muestras vaginales en torunda verificada solamente con el nivel 10 UFI/ml

Tabla 26
Resumen de los resultados de la verificación de la inclusividad de las cepas de la NG

Número de cepas de NG	LOD para cobas® PCR Media (torundas endocervicales)		Número de cepas de NG	LOD para orina	
	UFC/ml	Tasa de positividad (%)		UFC/ml	Tasa de positividad (%)
2	3,0	96 %	3	3,75	96 %
2	3,0	98 %	4	3,75	98 %
3	15,0	96 %	37	3,75	100 %
3	15,0	98 %	Total = 44		
33	15,0	100 %			
1	20,0	100 %			
Total = 44					
Número de cepas de NG	LOD para torundas vaginales*		Número de cepas de NG	LOD para PreservCyt	
	UFC/ml	Tasa de positividad (%)		UFC/ml	Tasa de positividad (%)
Total = 44	100	100 %	3	1,5	96 %
			6	1,5	98 %
			16	1,5	100 %
			1	3,5	96 %
			3	3,5	98 %
			11	3,5	100 %
			1	10	96 %
			1	10	98 %
			2	10	100 %
			Total = 44		

*Inclusividad de muestras vaginales en torunda verificada solamente con el nivel 100 UFC/ml

Precisión

La precisión interna se ha determinado con paneles compuestos por cultivos de CT y NG diluidos en **cobas**[®] PCR Media, **cobas**[®] PCR Media mezclado con orina negativa y solución PreservCyt[®]. El panel de precisión se ha diseñado de manera que incluya miembros con CT o NG con un LOD aproximado al de la matriz del panel, miembros con CT y NG con un LOD aproximado a 2,5 x LOD de la matriz del panel y un nivel negativo. El análisis se realizó con tres lotes exclusivos de reactivos de la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG y tres equipos con un total de 24 series. La Tabla 27 incluye una descripción de los paneles de precisión y del rendimiento del estudio en cuanto al porcentaje (%) de resultados positivos. Todos los niveles de panel positivos generaron las tasas de positividad previstas. Todos los niveles de panel negativos resultaron negativos durante todo el estudio.

Tabla 27
Análisis de la tasa de positividad del estudio de precisión interna

Número de panel	Matriz del panel	Conc. obj.		N pruebas	N CT pos.	N NG pos.	Tasa de positividad	IC al 95 %	
		CT	NG					Inferior	Superior
1	cobas [®] PCR Media	Neg	Neg	144	0	0	0 %	0,0	2,5
2	cobas [®] PCR Media	1 X LOD	Neg	144	144	0	100 %	97,5	100,0
3	cobas [®] PCR Media	Neg	1 X LOD	144	0	144	100 %	97,5	100,0
4	cobas [®] PCR Media	1 X LOD	2,5 X LOD	144	144	144	100 %	97,5	100,0
5	cobas [®] PCR Media	2,5 X LOD	1 X LOD	144	144	144	100 %	97,5	100,0
1	cobas [®] PCR Media + Orina	Neg	Neg	144	0	0	0 %	0,0	2,5
2	cobas [®] PCR Media + Orina	1 X LOD	Neg	144	144	0	100 %	97,5	100,0
3	cobas [®] PCR Media + Orina	Neg	1 X LOD	144	0	144	100 %	97,5	100,0
4	cobas [®] PCR Media + Orina	1 X LOD	2,5 X LOD	144	144	144	100 %	97,5	100,0
5	cobas [®] PCR Media + Orina	2,5 X LOD	1 X LOD	144	144	144	100 %	97,5	100,0
1	Solución PreservCyt [®]	Neg	Neg	144	0	0	0 %	0,0	2,5
2	Solución PreservCyt [®]	1 X LOD	Neg	144	144	0	100 %	97,5	100,0
3	Solución PreservCyt [®]	Neg	1 X LOD	144	0	141	97,9 %	97,5	100,0
4	Solución PreservCyt [®]	1 X LOD	2,5 X LOD	144	144	144	100 %	97,5	100,0
5	Solución PreservCyt [®]	2,5 X LOD	1 X LOD	144	144	143	*99,3 %	96,2	99,9

*Tasa de positividad del 99,3 % para NG. La tasa de positividad para CT es del 100 %.

Especificidad analítica

Se analizó un panel de 184 bacterias, fungi y virus (incluidos los virus de mayor presencia en el tracto urogenital femenino, así como agentes representativos de *N. cineria*, *flava*, *lactamica*, *perflava* y *subflava* y otros organismos no relacionados filogenéticamente con la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG para valorar la especificidad analítica. Se añadieron los organismos incluidos en la Tabla 28 con concentraciones elevadas (los microorganismos con resultados inferiores a 1×10^6 copias/ml se incluyen en la Tabla 29) a las muestras negativas para CT/NG conservadas en **cobas**[®] PCR Media, a las colecciones de muestras vaginales negativas y colecciones de muestras negativas en solución PreservCyt[®] y a las muestras negativas para CT/NG conservadas en **cobas**[®] PCR Media, las colecciones de muestras vaginales negativas y colecciones de muestras PreservCyt negativas con cultivos de CT y NG con 3 veces el límite de detección. Los resultados indicaron que ninguno de estos organismos interfirió en la detección de CT y NG ni generó ningún resultado falso positivo en las matrices negativas para CT/NG.

Tabla 28
Microorganismos analizados para la especificidad analítica

<i>Achromobacter xerosis</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Neisseria sicca</i>
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Virus de la hepatitis B (VHB)	<i>Neisseria subflava</i>
<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	Virus de la hepatitis (VHC)	<i>Neisseria subflava</i> 6458
<i>Acinetobacter sp. genospecies 3</i>	Virus de inmunodeficiencia humana	<i>Neisseria subflava</i> 6617
<i>Actinomyces israelii</i>	Virus del papiloma humano tipo 16 (células CaSki)	<i>Neisseria subflava</i> 6618
<i>Actinomyces pyogenes</i>	Virus del papiloma humano tipo 18 (células HeLa)	<i>Neisseria subflava</i> 7441
Adenovirus tipo 2	Virus del herpes simple (HSV-1)	<i>Neisseria subflava</i> 7452
<i>Aerococcus viridans</i>	Virus del herpes simple (HSV-2)	<i>Neisseria weaverii</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Kingella denitrificans</i>	<i>Pantoea agglomerans</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Kingella kingae</i>	<i>Paracoccus denitrificans</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Pasteurella multocida</i>
<i>Bacillus thuringiensis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ss ozaenae	<i>Pediococcus acidilactici</i>
<i>Bacteriodes caccae</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i>
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	<i>Lactobacillus crispatus</i>	<i>Peptostreptococcus magnus</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
<i>Bifidobacterium breve</i>	<i>Lactobacillus jensenii</i>	<i>Prevotella bivia</i>
<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Lactobacillus lactis lactis</i>	<i>Prevotella corporis</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Lactobacillus oris</i>	<i>Prevotella intermedia</i>
<i>Brevibacterium linens</i>	<i>Lactobacillus parabuchneri</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>
<i>Campylobacter gracilis</i>	<i>Lactobacillus vaginalis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Lactococcus lactis cremoris</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Legionella bozemanii</i>	<i>Providencia stuartii</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Candida guilliermondii</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Candida krusei</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Mobiluncus curtisii</i> subsp. <i>curtisii</i>	<i>Rahnella aquatilis</i>
<i>Candida tropicalis</i>	<i>Mobiluncus curtisii</i> subsp. <i>holmesii</i>	<i>Rhizobium radiobacter</i>
<i>Chlamydomydia pneumoniae</i>	<i>Mobiluncus mulieris</i>	<i>Rhodospirillum rubrum</i>
<i>Chromobacter violaceum</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Ruminococcus productus</i>
<i>Chryseobacterium meningosepticum</i>	<i>Moraxella lacunata</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Citrobacter braakii</i>	<i>Moraxella osloensis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Salmonella minnesota</i>
<i>Clostridium innocuum</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycobacterium gordonae</i>	<i>Serratia denitrificans</i>
<i>Clostridium sporogenes</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Corynebacterium renale</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Neisseria cinerea</i> 832	<i>Streptococcus agalactiae</i>
Citomegalovirus	<i>Neisseria cinerea</i> 3306	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Deinococcus radiodurans</i>	<i>Neisseria cinerea</i> 3307	<i>Streptococcus bovis</i>
<i>Deinococcus radiopugnans</i>	<i>Neisseria cinerea</i> 3308	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>
<i>Derxia gummosa</i>	<i>Neisseria cinerea</i> 6317	<i>Streptococcus equinus</i>
<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>Neisseria denitrificans</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Neisseria elongata</i> subsp. <i>nitroreducens</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Neisseria flava</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Neisseria flavescens</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Neisseria kochii</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria lactamica</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Neisseria meningitidis</i> 135	<i>Streptomyces griseus</i>
Virus Epstein Barr	<i>Neisseria meningitidis</i> Serogrupo A	<i>Treponema pallidum</i>
<i>Erwinia herbicola</i>	<i>Neisseria meningitidis</i> Serogrupo B	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	<i>Neisseria meningitidis</i> Serogrupo C	<i>Ureaplasma urealyticum</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Neisseria meningitidis</i> Serogrupo D	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Ewingella americana</i>	<i>Neisseria meningitidis</i> Serogroup Y	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	<i>Weissella paramesenteroides</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Neisseria perflava</i> 837	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Neisseria perflava</i> 911	
<i>Gemella haemolysans</i>	<i>Neisseria perflava</i> 6339	
<i>Gemella morbillorum</i>	<i>Neisseria perflava</i> 6340	
<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Neisseria perflava</i> 6341	
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Neisseria polysaccharea</i>	

Tabla 29

Lista de microorganismos analizados para especificidad analítica con resultados inferiores a 1×10^6 copias/ml

Microorganismos analizados	Concentración analizada en la matriz de la lista*		
	cobas [®] PCR Media	Muestra vaginal negativa	Muestra PreservCyt negativa
Adenovirus		8×10^5 copias/ml	8×10^5 copias/ml
Citomegalovirus (CMV)	1×10^4 copias/ml		
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	1×10^5 copias/ml	$1,1 \times 10^4$ copias/ml	$1,1 \times 10^4$ copias/ml
<i>Gemella morbillorum</i>		$4,5 \times 10^4$ copias/ml	$4,5 \times 10^4$ copias/ml
Virus de la hepatitis (VHC)		$5,6 \times 10^4$ copias/ml	$5,6 \times 10^4$ copias/ml
Virus del papiloma humano (HPV) tipo 16 (células SiHa)		1×10^4 copias/ml	1×10^4 copias/ml
Virus del papiloma humano (HPV) tipo 18 (células HeLa)		1×10^4 copias/ml	1×10^4 copias/ml
<i>Neisseria cinerea 3307</i>		4×10^5 copias/ml	4×10^5 copias/ml
<i>Prevotella bivia</i>		9×10^4 copias/ml	9×10^4 copias/ml
<i>Prevotella corporis</i>		$1,4 \times 10^5$ copias/ml	$1,4 \times 10^5$ copias/ml
<i>Treponema pallidum</i>	No analizado	1×10^5 copias/ml	1×10^5 copias/ml
<i>Trichomonas vaginalis</i>		$6,5 \times 10^5$ copias/ml	$6,5 \times 10^5$ copias/ml

*Las células grises indican un resultado del análisis de concentración $\geq 1 \times 10^6$ copias/ml en dicha matriz

Fallo de todo el sistema

Se determinó la tasa de fallo de todo el sistema para la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG con el **cobas**[®] PCR Media, el **cobas**[®] PCR Media más orina negativa, muestras vaginales negativas (estabilizadas en **cobas**[®] PCR Media) y muestras PreservCyt negativas con cultivos de CT y NG con un $\sim 3 \times$ LOD para cada fragmento objetivo. Se analizaron un mínimo de cien réplicas representativas de cada tipo de las matrices especificadas en el sistema **cobas**[®] 4800 con la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG. Todos los resultados fueron positivos, lo que representa una tasa global de fallo del sistema del 0,0 % según las condiciones utilizadas para analizar las muestras endocervicales en torunda, vaginales en torunda, de orina y en solución PreservCyt[®].

Interferencia

El análisis de interferencia se ha realizado con muestras endocervicales en torunda negativas (estabilizadas en **cobas**[®] PCR Media), con el **cobas**[®] PCR Media más orina negativa, con muestras vaginales en torunda negativas (estabilizadas en **cobas**[®] PCR Media) y muestras PreservCyt negativas con cultivos de CT y NG con $\sim 3 \times$ LOD para cada fragmento objetivo. Se analizaron dieciocho productos disponibles a la venta, incluidos geles contraceptivos, lubricantes, sprays femeninos, cremas antifúngicas y cremas antipicoreas, así como sangre entera, moco cervical y células CMSP para determinar la interferencia. De los 18 productos analizados, el humectante vaginal Replens[®] generó resultados no válidos y/o falsos negativos en el **cobas**[®] PCR Media más muestras del panel de orina negativa. El gel eliminador de olor vaginal RepHresh[™] y la ducha vaginal RepHresh[™] Clean Balance presentan una formulación similar a la del humectante vaginal Replens[®] y cabe esperar que generen resultados no válidos y/o falsos negativos en muestras de orina. No se observaron interferencias del humectante vaginal Replens[®] con el resto de las matrices de las muestras analizadas.

Los niveles de sangre entera, moco y células CMSP mostrados en la Tabla 30 representan las concentraciones máximas permitidas para no interferir con el rendimiento de la prueba **cobas**[®] 4800 CT/NG. Las concentraciones de las muestras de orina se determinaron con un volumen de muestra total que incluye medio estabilizador.

Tabla 30

Resultados del análisis de interferencias endógenas

	Sangre (v/v)		CMSP (células/ml)		Muco	
	Conc. prueba	Interferencia observada	Conc. prueba	Interferencia observada	Conc. prueba	Interferencia observada
Muestra endocervical estabilizada en cobas [®] PCR Media	0, 1 %, 3 %, 5 %	Ninguna	0, $1,0E+05$, $1,0E+06$, $1,0E+07$	$> 1 \times 10^5$	0,25 %, 0,35 %, Nivel de rutina*	$> 0,35 \%$ (p/v)
cobas [®] PCR Media + Orina	0, 0,25 %, 0,35 %, 0,5 %, 1 %, 3 %	$> 0,35 \%$	0, $1,0E+05$, $1,0E+06$, $1,0E+07$	$> 1 \times 10^5$	NT	NT
Muestra vaginal estabilizada en cobas [®] PCR Media	0, 1 %, 3 %, 5 %	Ninguna	0, $1,0E+05$, $1,0E+06$, $1,0E+07$	$> 1 \times 10^5$	Nivel de rutina*	Ninguna
Muestra PreservCyt	0, 1 %, 3 %, 5 %	Ninguna	0, $1,0E+05$, $1,0E+06$, $1,0E+07$	Ninguna	Nivel de rutina*	Ninguna

NT = no analizado

*Nivel de rutina = Cantidad de moco cervical equivalente al volumen que se suele extraer antes de recoger la muestra

BIBLIOGRAFÍA

1. Mahony, J.B., Coombes, B.K., and Chernesky, M.A.. 2003. Chlamydia and Chlamyidophila. In: Manual of Clinical Microbiology, (P.R. Murray, ed.) 8th ed., ASM Press, Washington, D.C., 991-1004.
2. Gerbase, A., Rowley J.T., and Mertens, T.E. 1998. Global epidemiology of sexually transmitted diseases. *Lancet* **351**:(S3) 2-4.
3. Sexually Transmitted Disease Surveillance 2006 Supplement. Chlamydial Prevalence Monitoring Project, Annual Report, Division of STD Prevention, Revised May 2008.
4. Institute of Medicine. The hidden epidemic: confronting sexually transmitted diseases. Eng TR, Butler WT, eds. National Academy Press, Washington DC, 1997.
5. Miller WC, Ford CA, Morris M, et al. Prevalence of chlamydial and gonococcal infections among young adults in the United States. *JAMA*. 2004; **291**:2229-36.
6. Stamm WE, Jones RS, Batteiger BE. *Chlamydia trachomatis* (Trachoma, Perinatal Infections, Lymphogranuloma Venerum, and Other Genital Infections). In Mandell GL, Benett JE, Dolin R, eds. *Principles and Practices of Infectious Diseases*. 6th ed. 2005. Elsevier, Churchill, Livingston: Vol 2.
7. Sexually Transmitted Disease Surveillance 2006 Supplement. Gonococcal Isolate Surveillance Project (GISP) Annual Report 2006. Division of STD Prevention, Revised May 2008.
8. Centers for Disease Control Fact Sheet *Gonorrhoeae*, 2006.
9. Cohen MS, Cannon JG. Human experimentation with *Neisseria gonorrhoeae*. Progress and goals. *J Infect Dis*.1999; **179**(Suppl 2):S375-379.
10. Handsfield HH, Lipman TO, Harnish JP, et al. Asymptomatic gonorrhoeae in men: diagnosis, natural course, prevalence and significance. *N Eng J Med*. 1973; **290**:117-123.
11. McCormack WM, Stumacher RJ, Johnson K, et al. Clinical spectrum of gonococcal infections in women. *Lancet*. 1977; **1**:1182-1185.
12. Ross JD. An update on pelvic inflammatory disease. *Sex Transm Infect*. 2002; **78**:18-19.
13. Handsfield HH, Sparling PF. *Neisseria gonorrhoeae*. In Mandell GL, Benett JE, Dolin R. Principles and Practices of Infectious Diseases. 6th ed. 2005. Elsevier, Churchill, Livingston: Vol 2.
14. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted disease surveillance, 2008. Division of STD/HIV Prevention, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA.
15. Centers for Disease Control and Prevention. STD Facts-Gonorrhea, 2007. National Center for HIV, STD and TB Prevention. Division of Sexually Transmitted Diseases, Atlanta, GA.
16. HookIII, E.W. and Handsfield, H.H. 1990. Gonococcol infections in the adult, in Sexually Transmitted Diseases. (Holmes, K.K., Mardh, P-A, Sparling, P.F., and Weisner, P.J., ed) Second Edition, McGraw-Hill, New York, 131-147.
17. Miyada, C.G. and Born, T.L. 1991. A DNA sequence for the discrimination of *Neisseria gonorrhoeae* from other Neisseria species. *Molecular and Cellular Probes* **5**:327-335.
18. Palmer, L. and Falkow, S. 1986. A common plasmid of *Chlamydia trachomatis*. *Plasmid* **16**:52-63.
19. Peterson, E. M. and de la Maza, L.M. 1988, Restriction endonuclease analysis of DNA from *Chlamydia trachomatis* biovars. *Journal of Clinical Microbiology* **26**:625-629.
20. Longo, M.C., Berninger, M.S. and Hartley, J.L. 1990. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. **93**:125-128.
21. Higuchi, R., Dollinger, G., Walsh, P.S., and Griffith, R. 1992. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Bio/Technology* **10**:413-417.
22. Heid, C.A., Stevens, J., Livak, J.K., and Williams, P.M. 1996. Real time quantitative PCR. *Genome Research* **6**:986-994.
23. Richmond, J.Y. and McKinney, R.W. eds. 1999. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. HHS Publication Number (CDC) 93-8395.
24. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. Approved Guideline-Third Edition. CLSI Document M29-A3 Villanova, PA:CLSI, 2005.
25. International Air Transport Association. Dangerous Goods Regulations, 59th Edition. 2018.

Información de revisión del documento	
Doc Rev. 18.0 02/2022	<p>Se ha actualizado para cumplir los requisitos del reglamento IVDR.</p> <p>Se ha incluido el símbolo Rx Only en la primera página.</p> <p>Se ha actualizado el apartado ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES para recomendar al usuario que se ponga en contacto con una autoridad local competente.</p> <p>Se ha cambiado el nombre del apartado Estudios de correlación por Rendimiento clínico con muestras clínicas.</p> <p>Se ha actualizado la referencia a cobas PCR Media Kit en los apartados correspondientes.</p> <p>Se ha actualizado la Tabla 6 con datos adicionales.</p> <p>Se ha incluido un enlace web al resumen del informe de seguridad y rendimiento.</p> <p>Se ha actualizado el apartado Marcas registradas y patentes.</p> <p>Se ha incluido la declaración "Fabricado en".</p> <p>Se ha incluido el apartado Asistencia técnica.</p> <p>Se ha actualizado para reflejar los Operadores Económicos.</p> <p>Se ha actualizado la página de símbolos armonizados.</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>

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



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

Este producto está cubierto por una o más patentes de EE. UU. con n.º 8097717, 8192958, 10059993, 10358675, 8609340, 9234250 y 6727067, y por las patentes equivalentes extranjeras.

COBAS y AMPERASE son marcas comerciales de Roche.

PRESERVCYT es una marca comercial de Hologic Corporation, Marlborough, MA.

REPLENS es una marca comercial de Lil' Drug Store Products, Inc., Cedar Rapids, IA.

El resto de nombres de productos y marcas comerciales son propiedad de sus respectivos propietarios.

La tecnología de prevención de contaminación cruzada de la enzima AmpErase® está protegida por la patente estadounidense 7,687,247 propiedad de Life Technologies y con licencia para Roche Molecular Systems, Inc.

Consulte <http://www.roche-diagnostics.us/patents>

Copyright

©2022 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Símbolos

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

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