

# **cobas<sup>®</sup> Respiratory flex**

---

## **Test qualitativo degli acidi nucleici per l'uso sui sistemi cobas<sup>®</sup> 5800/6800/8800**

Per uso diagnostico *in vitro*

**cobas<sup>®</sup> Respiratory flex**

P/N: 09623701190

**Per l'uso sul sistema cobas<sup>®</sup> 5800**

**cobas<sup>®</sup> Respiratory flex Control Kit**

P/N: 09623728190

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

P/N: 09051953190

**Per l'uso sui sistemi cobas<sup>®</sup> 6800/8800**

**cobas<sup>®</sup> Respiratory flex Control Kit**

P/N: 09623728190

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

P/N: 09051953190 oppure

P/N: 07002238190

# Indice generale

<b>Uso previsto .....</b>	<b>4</b>
<b>Riassunto e spiegazione del test.....</b>	<b>4</b>
<b>Reagenti e materiali .....</b>	<b>8</b>
Reagenti e controlli cobas® Respiratory flex .....	8
Reagenti cobas® omni per la preparazione dei campioni .....	10
Requisiti per la conservazione dei reagenti.....	11
Requisiti per la manipolazione dei reagenti per il sistema cobas® 5800.....	11
Requisiti per la manipolazione dei reagenti per i sistemi cobas® 6800/8800.....	12
Altri materiali necessari per il sistema cobas® 5800.....	13
Altri materiali necessari per i sistemi cobas® 6800/8800.....	14
Strumentazione e software necessari.....	14
<b>Precauzioni e requisiti per l'uso.....</b>	<b>15</b>
Avvertenze e precauzioni .....	15
Manipolazione dei reagenti.....	15
Buone pratiche di laboratorio.....	16
<b>Prelievo, trasporto e conservazione dei campioni .....</b>	<b>16</b>
Prelievo dei campioni .....	16
Trasporto e conservazione .....	17
<b>Istruzioni per l'uso.....</b>	<b>18</b>
Note sulla procedura.....	18
Trattamento dei campioni nasofaringei.....	18
Esecuzione del test cobas® Respiratory flex .....	19
Esecuzione del test cobas® Respiratory flex sul sistema cobas® 5800.....	19
Esecuzione del test cobas® Respiratory flex sui sistemi cobas® 6800/8800.....	21

<b>Risultati .....</b>	<b>22</b>
Controllo di qualità e validità dei risultati sul sistema <b>cobas</b> ® 5800 .....	22
Interpretazione dei risultati sul sistema <b>cobas</b> ® 5800 .....	22
Controllo di qualità e validità dei risultati sui sistemi <b>cobas</b> ® 6800/8800 .....	23
Interpretazione dei risultati sui sistemi <b>cobas</b> ® 6800/8800.....	23
Interpretazione dei risultati.....	24
Limiti della procedura .....	25
<b>Valutazione delle prestazioni non cliniche .....</b>	<b>26</b>
Caratteristiche delle prestazioni .....	26
Sensibilità analitica (limite di sensibilità) .....	26
Precisione interna nel laboratorio .....	27
Inclusività.....	29
Equivalenza delle matrici.....	33
Specificità analitica (reattività crociata e interferenza microbica) .....	33
Specificità analitica e sostanze interferenti.....	35
Coinfezione (interferenza competitiva).....	36
Tasso globale d'errore del sistema .....	37
Contaminazione crociata.....	37
<b>Valutazione delle prestazioni cliniche .....</b>	<b>38</b>
<b>Informazioni supplementari.....</b>	<b>41</b>
Caratteristiche del test .....	41
Simboli.....	42
Assistenza tecnica.....	43
Produttore e importatore .....	43
Marchi e brevetti.....	43
Copyright.....	43
Bibliografia .....	44
Revisione del documento .....	46

## Uso previsto

cobas® Respiratory flex per l'uso sui sistemi cobas® 5800/6800/8800 (in breve, cobas® Respiratory flex) è un test degli acidi nucleici multiplex, automatizzato, basato sulla reazione a catena della polimerasi in real-time (real-time PCR), che consente la rilevazione qualitativa *in vitro* e la differenziazione simultanea tra adenovirus (specie B, C ed E), coronavirus umani comuni (229E, HKU1, NL63, OC43), metapneumovirus umano, rinovirus/enterovirus umano, virus dell'influenza A, virus dell'influenza B, virus parainfluenzali 1, 2, 3 e 4, virus respiratorio sinciziale (RSV) e SARS-CoV-2 in un campione di tampone nasofaringeo prelevato da individui che presentano sintomi di un'infezione delle vie respiratorie unitamente a fattori di rischio clinici ed epidemiologici.

La rilevazione e l'identificazione di specifici acidi nucleici virali nei campioni di individui che presentano sintomi di un'infezione respiratoria possono coadiuvare la diagnosi di infezione respiratoria, se usate contestualmente ad altre informazioni cliniche ed epidemiologiche. Eventuali risultati negativi non precludono un'infezione respiratoria e non dovrebbero costituire l'unico fattore decisionale per quanto riguarda il trattamento o la gestione del paziente. Per contro, eventuali risultati positivi non escludono una co-infezione con altri organismi e il patogeno rilevato potrebbe non essere la causa certa della malattia.

A causa della somiglianza genetica tra rinovirus ed enterovirus umano, il test cobas® Respiratory flex non è in grado di differenziare tra i due in maniera affidabile.

## Riassunto e spiegazione del test

### Premessa

Le infezioni acute delle vie respiratorie sono importanti cause di morbilità e mortalità nel mondo.<sup>1-5</sup> Le infezioni acute delle vie respiratorie superiori (*Upper Respiratory Tract Infection*: URTI), benché meno gravi delle infezioni delle vie respiratorie inferiori (*Lower Respiratory Tract Infection*: LRTI), sono più comuni e sono la causa frequente di visite mediche e assenteismo.<sup>6</sup> Spesso le URTI si presentano come un "raffreddore comune", un'infezione autolimitante caratterizzata da sintomi comuni come naso che cola, congestione nasale, starnuti, tosse, stanchezza, mal di gola o febbre. I raffreddori comuni hanno raramente un'origine batterica e sono in gran parte causati da virus quali rinovirus, metapneumovirus, coronavirus, virus parainfluenzale, adenovirus, RSV e virus dell'influenza.<sup>6,7</sup>

Nelle popolazioni a maggiore rischio, come neonati, bambini piccoli, anziani o adulti immunodepressi, trapiantati o con patologie croniche, le URTI possono evolvere spesso in LRTI gravi, come polmoniti, bronchiti o bronchioliti.<sup>8,9</sup> Tuttavia i sintomi infettivi delle URTI non bastano, soprattutto nella fase iniziale dell'infezione, a formulare una diagnosi certa del patogeno responsabile o a distinguere clinicamente queste infezioni dalle LRTI, che possono essere causate da una gamma ancora più vasta di patogeni, inclusi virus, batteri e funghi.<sup>10</sup> Grazie ai test di amplificazione degli acidi nucleici (*Nucleic Acid Amplification Test*: NAAT), è possibile rilevare in modo affidabile le URTI di origine virale utilizzando un campione di tampone nasofaringeo prelevato in ambito ambulatoriale, ovvero laddove si presenta la maggior parte dei pazienti e le infezioni respiratorie di origine virale sono molto comuni.<sup>11,12</sup> Per rilevare le LRTI è spesso necessario un prelievo più invasivo (ad esempio aspirato tracheale, espettorato indotto o lavaggio broncoalveolare), normalmente eseguito in un ambiente ospedaliero o in un contesto interventistico. La possibilità di formulare una diagnosi più semplice delle comuni origini virali delle URTI è preziosa perché consente una valutazione più informata, ad esempio, circa la necessità di una terapia antibiotica empirica, misure di controllo dell'infezione, test supplementari o ospedalizzazione.<sup>13</sup>

I virus dell'influenza, RSV e SARS-CoV-2 (sindrome respiratoria acuta grave coronavirus 2) causano le URTI e spesso evolvono in LRTI: queste patologie meritano particolare attenzione, data la loro maggiore incidenza, morbilità e mortalità (rispetto alle altre URTI).<sup>1,3,14</sup> Con una diagnosi e una differenziazione efficace tra un'infezione causata da virus influenzale, SARS-CoV-2 e RSV e altri patogeni respiratori nei pazienti selezionati, si ottengono informazioni diagnostiche preziose. La stagionalità globale e i sintomi clinici dell'influenza e delle infezioni da RSV sono sovrapponibili, con picchi di attività infettiva nei mesi invernali dei climi temperati negli emisferi Nord e Sud.<sup>15</sup> Una rilevazione accurata e affidabile di un'infezione da virus influenzale e da RSV può favorire l'uso di antivirali mirati e l'adozione di misure di controllo delle infezioni, evitare l'uso improprio degli antibiotici, ridurre il ricorso a test secondari e ospedalizzazioni e localizzare più rapidamente i focolai delle malattie.

I primi casi di COVID-19 emersero verso la fine del 2019, in seguito alla diffusione di un focolaio di questo nuovo coronavirus in tutto il mondo, che costrinse l'Organizzazione mondiale della sanità (OMS) a dichiarare un'emergenza sanitaria pubblica di portata internazionale all'inizio del 2020.<sup>16,17</sup> Globalmente a gennaio 2023 risultavano più di 750 milioni di casi confermati di COVID-19, con 6,8 milioni di decessi registrati dall'OMS, ma si stima che i numeri effettivi fossero ben più elevati.<sup>18</sup> Il patogeno responsabile, SARS-CoV-2, è un virus a RNA con un rivestimento esterno, di origine zoonotica.<sup>19</sup> I coronavirus (CoV) sono una grande famiglia di virus normalmente presenti in molte specie animali, alcuni dei quali sono comuni negli esseri umani (ad esempio 229E, NL63, OC43 e HKU1).<sup>19,20</sup>

Secondo le stime, globalmente il virus dell'influenza causa più di un miliardo di infezioni e 500.000 decessi ogni anno, colpendo principalmente neonati, bambini piccoli, anziani e adulti affetti da patologie sottostanti, come la malattia polmonare cronica.<sup>21</sup> Benché i virus dell'influenza A e B possano causare entrambi epidemie umane, nella maggior parte delle pandemie umane il tipo A è responsabile della comparsa di nuovi ceppi e di un maggiore carico complessivo della malattia.<sup>2,22</sup> Il virus RSV è tra le principali cause di LRTI e di ospedalizzazione dei neonati e dei bambini, tanto che la maggioranza dei bambini contrae un'infezione da RSV nei primi due anni di vita.<sup>4,23</sup> Tra i bambini di cinque anni o più piccoli, si stimano globalmente più di tre milioni di ospedalizzazioni e 100.000 decessi ogni anno dovuti a infezioni RSV delle vie respiratorie inferiori.<sup>4</sup> Più recentemente, in parte grazie ai progressi diagnostici, il virus RSV è stato associato a un carico importante della malattia e a un fardello economico sanitario anche per gli adulti più anziani.<sup>14</sup>

## Spiegazione del test

**cobas® Respiratory flex** è un test qualitativo degli acidi nucleici per l'uso sul sistema **cobas® 5800**, sul sistema **cobas® 6800** o sul sistema **cobas® 8800**, che consente di rilevare e differenziare tra adenovirus (specie B, C ed E), coronavirus umani comuni (229E, HKU1, NL63, OC43), metapneumovirus umano, rinovirus/enterovirus umano, virus dell'influenza A, virus dell'influenza B, virus parainfluenzali 1, 2, 3 e 4, RSV e RNA di SARS-CoV-2 in un campione di tampone nasofaringeo prelevato in Copan Universal Transport Medium System (UTM-RT®) o BD™ Universal Viral Transport System (UVT) o un terreno di raccolta equivalente. Il controllo interno a RNA (RNA IC), utilizzato per monitorare l'intero processo di preparazione dei campioni e amplificazione PCR, viene aggiunto a ogni campione durante il trattamento. Il test utilizza anche i controlli esterni (controllo positivo con titolo basso e controllo negativo).

## Principi della procedura

Il test **cobas® Respiratory flex** si basa su una procedura di preparazione dei campioni completamente automatizzata (estrazione e purificazione degli acidi nucleici), seguita da amplificazione e rilevazione mediante PCR. Il sistema **cobas® 5800** è progettato come strumento unico integrato. I sistemi **cobas® 6800/8800** sono costituiti dal modulo di inserimento dei campioni, dal modulo di trasferimento, dal modulo di preparazione e dal modulo analitico. La gestione automatizzata dei dati è affidata la software **cobas® 5800** o **cobas® 6800/8800**, che assegna i risultati ad ogni test.

I risultati possono essere visualizzati direttamente sullo schermo del sistema o stampati in un report.

Viene eseguita l'estrazione simultanea degli acidi nucleici dai campioni dei pazienti e dalle molecole aggiunte di controllo interno a RNA (RNA IC). L'acido nucleico viene liberato aggiungendo nel campione la proteinasi e il reagente di lisi. L'acido nucleico liberato si lega quindi alla superficie di silice delle biglie di vetro magnetiche aggiunte. Le sostanze che non formano legami e le impurità (ad esempio le proteine denaturate, i detriti cellulari e i potenziali inibitori della PCR) vengono rimosse nei successivi lavaggi, mentre l'acido nucleico purificato viene sottoposto ad eluizione dalle biglie di vetro magnetiche utilizzando il buffer di eluizione a temperature elevate. I controlli esterni (positivi e negativi) vengono eseguiti allo stesso modo.

L'amplificazione selettiva della sequenza di acido nucleico bersaglio ricavata dal campione è ottenuta grazie all'uso di primer forward e reverse specifici del target che sono in grado di rilevare le regioni genomiche virali conservate, come illustrato nella Tabella 1.

**Tabella 1** Regioni target del test cobas® Respiratory flex

Organismo target	Gene target (simbolo)
Influenza A	Proteina di matrice 1 (M1)
Influenza B	Proteina non strutturale NS-1/2 (NS1/NEP)
Virus respiratorio sinciziale	Proteina di matrice (M)
SARS-CoV-2	Poliproteina ORF1 ab (ORF1ab) e Poliproteina ORF 1a (ORF1a)
Adenovirus B/E	Proteina precursore del terminale (E2B)
Adenovirus C	Proteina precursore del capsido (L3)
Metapneumovirus umano	Proteina di matrice (M)
Enterovirus/Rinovirus	Regione 5' non tradotta (5'UTR)
Coronavirus OC43	Poliproteina 1 a/b replicasi (ORF1ab)
Coronavirus HKU1	Poliproteina 1 a/b replicasi (ORF1ab)
Coronavirus 229E	Poliproteina 1 a/b replicasi (ORF1ab)
Coronavirus NL63	Poliproteina 1 a/b replicasi (ORF1ab)
Virus parainfluenzale umano 1	Proteina L polimerasi (L)
Virus parainfluenzale umano 2	Proteina Large (L)
Virus parainfluenzale umano 3	Proteina del nucleocapside (N)
Virus parainfluenzale umano 4	Proteina Large (L)

L'amplificazione selettiva del controllo interno a RNA (RNA IC) è ottenuto mediante l'uso dei primer forward e reverse non competitivi per sequenze specifiche, che non hanno nessuna omologia con i genomi specifici del target virale. La sequenza di acido nucleico bersaglio amplificata viene rilevata tramite scissione delle sonde oligonucleotidiche marcate con fluorescenza. La tecnologia Roche per la generazione del segnale assistita dalla temperatura (*Temperature Assisted Generation of Signal: TAGS*) viene introdotta per differenziare fino a tre sequenze di acido nucleico bersaglio per ogni canale di fluorescenza, consentendo così la rilevazione di 12 target e del controllo interno per ogni pozzetto. Un enzima DNA polimerasi termostabile viene utilizzato per l'amplificazione.

La soluzione Master Mix del test **cobas**® Respiratory flex contiene sonde di rilevazione specifiche per adenovirus (specie B, C ed E), coronavirus umani comuni (229E, HKU1, NL63, OC43), metapneumovirus umano, rinovirus/enterovirus umano, virus dell'influenza A, virus dell'influenza B, virus parainfluenzali 1, 2, 3 e 4, RSV e SARS-CoV-2, oltre all'acido nucleico del controllo interno a RNA (RNA IC). È possibile rilevare target multipli grazie all'azione di quenching dipendente dalla temperatura, ovvero la soppressione della fluorescenza delle sonde specifiche del target scisse. Ciò si ottiene separando i segnali emessi dalle sonde nei canali termici introdotti, dove la fluorescenza viene acquisita a due temperature fisse supplementari per ogni ciclo di amplificazione.

Nella fase di amplificazione PCR, l'ibridazione delle sonde con lo stampo specifico di DNA a filamento unico determina la scissione della sonda grazie all'attività esonucleasica 5'→3' della DNA polimerasi, con la conseguente separazione del colorante reporter e del marcatore quencher e la produzione di un segnale fluorescente. Le sonde convenzionali emettono il segnale fluorescente immediatamente, appena avviene la separazione del reporter dal quencher. Le sonde TAGS si basano sull'attivazione della fluorescenza dipendente dalla temperatura che, per attivare il fluoroforo altrimenti dormiente, richiede sia la scissione della nucleasi nella fase di prolungamento, sia un aumento della temperatura della reazione. Per questo motivo, durante ogni ciclo di PCR il test cattura la fluorescenza nei cinque canali di fluorescenza disponibili in associazione con tre canali termici (rilevazione della fluorescenza a tre temperature fisse: T1, T2 e T3), consentendo la rilevazione e la differenziazione simultanea dei target virali di adenovirus (specie B, C ed E), coronavirus umani comuni (229E, HKU1, NL63, OC43), metapneumovirus umano, rinovirus/enterovirus umano, virus dell'influenza A, virus dell'influenza B, virus parainfluenzali 1, 2, 3 e 4, RSV e SARS-CoV-2, oltre al controllo interno a RNA (RNA IC).

La soluzione Master Mix contiene deossiuridina trifosfato (dUTP) anziché deossitimidina trifosfato (dTTP), che è incorporato nel DNA appena sintetizzato (amplicone). Gli eventuali ampliconi contaminanti prodotti da precedenti sedute di PCR verranno distrutti dall'enzima AmpErase [uracil-N-glicosilasi], contenuto nella miscela per PCR, durante il primo passaggio del ciclaggio termico. Al contrario, gli ampliconi che si sono appena formati non verranno distrutti perché l'enzima AmpErase si inattiva dopo l'esposizione a temperature superiori a 55°C.

## Reagenti e materiali

I materiali forniti per il test cobas® Respiratory flex kit sono elencati nella Tabella 2. I materiali necessari ma non forniti sono elencati dalla Tabella 3 alla Tabella 5 e dalla Tabella 9 alla Tabella 11.

Per informazioni sui pericoli relativi al prodotto, consultare i paragrafi **Reagenti e materiali** e **Precauzioni e requisiti per l'uso**.

## Reagenti e controlli cobas® Respiratory flex

Tutti i reagenti e i controlli non ancora aperti devono essere conservati rispettando le condizioni indicate dalla Tabella 2 alla Tabella 6.

**Tabella 2** cobas® Respiratory flex

### (RESP FLEX)

Conservare a 2-8°C

Cassetta per 192 test (P/N 09623701190)

Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit 192 test
<b>Soluzione proteinasi (PASE)</b>	Tampone Tris, < 0,05% EDTA, cloruro di calcio, acetato di calcio, 8% proteinasi, glicerolo EUH210: Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta. EUH208: Contiene subtilisina da <i>Bacillus subtilis</i> . Può provocare una reazione allergica.	22,3 ml
<b>Controllo Interno a RNA (RNA IC)</b>	Tampone Tris, < 0,05% EDTA, < 0,001% costruito di Armored RNA non correlato al target, contenente regioni di sequenze di legame specifiche per primer e sonda (RNA non infettivo in batteriofago MS2), < 0,1% sodio azide	21,2 ml
<b>Buffer di eluizione (EB)</b>	Tampone Tris, 0,2% metil-4 idrossibenzoato	21,2 ml
<b>Master Mix Reagente 1 (MMX-R1)</b>	Acetato di manganese, idrossido di potassio, < 0,1% sodio azide	7,5 ml
<b>Respiratory flex Master Mix Reagente 2 (RESP FLEX MMX-R2)</b>	Tampone tricina, acetato di potassio, < 18% dimetilsolfossido, glicerolo, < 0,1% Tween 20, EDTA, < 0,12% dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01% primer upstream e downstream, < 0,01% primer forward e reverse di controllo interno, < 0,01% sonde oligonucleotidiche fluorescenti e controllo interno a RNA, < 0,01% aptamero oligonucleotidico, < 0,1% DNA polimerasi Z05D, < 0,10% enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasi) (microbico), < 0,1% sodio azide	9,7 ml

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

Conservare a 2-8°C

(P/N 09623728190)

Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit
<b>Respiratory flex controllo positivo (RESP FLEX CTL)</b>	Tampone Tris, < 0,05% sodio azide, < 0,005% EDTA, 0,003% Poly rA, < 0,01% DNA plasmidico non infettivo (microbico) contenente una sequenza di adenovirus, < 0,01% DNA plasmidico non infettivo (microbico) contenente una sequenza di coronavirus (229E), < 0,01% DNA plasmidico non infettivo (microbico) contenente una sequenza di metapneumovirus umano, < 0,01% DNA plasmidico non infettivo (microbico) contenente una sequenza di rinovirus, < 0,01% DNA plasmidico non infettivo (microbico) contenente una sequenza di influenza A, < 0,01% DNA plasmidico non infettivo (microbico) contenente una sequenza di influenza B, < 0,01% DNA plasmidico non infettivo (microbico) contenente una sequenza di virus parainfluenzale 1 umano, < 0,01% DNA plasmidico non infettivo (microbico) contenente una sequenza di virus parainfluenzale 2 umano, < 0,01% DNA plasmidico non infettivo (microbico) contenente una sequenza di virus parainfluenzale 3 umano, < 0,01% DNA plasmidico non infettivo (microbico) contenente una sequenza di virus parainfluenzale 4 umano, < 0,01% DNA plasmidico non infettivo (microbico) contenente una sequenza di virus respiratorio sinciziale, < 0,01% DNA plasmidico non infettivo (microbico) contenente una sequenza di SARS-CoV-2	6,4 ml (16 × 0,4 ml)

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

Conservare a 2-8°C

Per l'utilizzo sul sistema cobas® 5800 (P/N 09051953190)

Per l'utilizzo sui sistemi cobas® 6800/8800 (P/N 07002238190 o P/N 09051953190)

Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit
<b>cobas® Buffer Negative Control (BUF (-) C)</b>	Tampone Tris, < 0,1% sodio azide, EDTA, 0,002% Poly rA RNA (sintetico)	16 ml (16 × 1 ml)

## Reagenti cobas® omni per la preparazione dei campioni

**Tabella 5** Reagenti cobas® omni per la preparazione dei campioni\*

Reagenti	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento**
<b>cobas® omni MGP Reagent (MGP)</b> Conservare a 2-8°C (P/N 06997546190)	Biglie di vetro magnetiche, tampone Tris, 0,1% metil-4 idrossibenzoato, < 0,1% sodio azide	480 test	Non applicabile
<b>cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL)</b> Conservare a 2-8°C (P/N 06997511190)	Tampone Tris, 0,1% metil-4 idrossibenzoato, < 0,1% sodio azide	4 × 875 ml	Non applicabile
<b>cobas® omni Lysis Reagent (LYS)</b> Conservare a 2-8°C (P/N 06997538190)	43% (p/p) guanidina tiocianato***, 5% (p/v) polidocanolo***, 2% (p/v) ditiotreitolo***, citrato di sodio diidrato	4 × 875 ml	 <p><b>PERICOLO</b></p> <p>H302: Nocivo per ingestione. H314: Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari. H412: Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. EUH032: A contatto con acidi libera gas molto tossici. EUH071: Corrosivo per le vie respiratorie. P273: Non disperdere nell'ambiente. P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/proteggere il viso/proteggere l'udito. P301 + P330 + P331: IN CASO DI INGESTIONE: Sciacquare la bocca. NON provocare il vomito. P303 + P361 + P353: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle. P304 + P340 + P310: IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico. P305 + P351 + P338 + P310: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico. 593-84-0 Guanidina tiocianato 9002-92-0 Polidocanolo 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercapto-2,3-butandiolo</p>
<b>cobas® omni Wash Reagent (WASH)</b> Conservare a 15-30°C (P/N 06997503190)	Citrato di sodio diidrato, 0,1% metil-4 idrossibenzoato	4,2 l	Non applicabile

\* Questi reagenti non sono inclusi nel kit del test cobas® Respiratory flex. Consultare l'elenco degli altri materiali richiesti (dalla Tabella 9 alla Tabella 11).

\*\* L'etichettatura per la sicurezza dei prodotti è conforme principalmente alle indicazioni GHS dell'Unione Europea.

\*\*\* Sostanza pericolosa

## Requisiti per la conservazione dei reagenti

I reagenti devono essere conservati e manipolati rispettando le condizioni indicate dalla Tabella 6, Tabella 7 alla Tabella 8.

I reagenti che non sono ancora stati caricati sul sistema cobas® 5800 o sui sistemi cobas® 6800/8800 devono essere conservati alla temperatura indicata nella Tabella 6.

**Tabella 6** Conservazione dei reagenti (non ancora caricati sul sistema)

Reagente	Temperatura di conservazione
cobas® Respiratory flex – 192T	2-8°C
cobas® Respiratory flex Control Kit	2-8°C
cobas® Buffer Negative Control Kit	2-8°C
cobas® <b>omni</b> Lysis Reagent	2-8°C
cobas® <b>omni</b> MGP Reagent	2-8°C
cobas® <b>omni</b> Specimen Diluent	2-8°C
cobas® <b>omni</b> Wash Reagent	15-30°C

## Requisiti per la manipolazione dei reagenti per il sistema cobas® 5800

Dopo il caricamento sul sistema cobas® 5800, i reagenti sono conservati alla temperatura appropriata e la loro data di scadenza viene monitorata dal sistema. Il sistema consente l'utilizzo dei reagenti soltanto se sono rispettate tutte le condizioni descritte nella Tabella 7. Il sistema impedisce automaticamente l'uso dei reagenti scaduti. Nella Tabella 7 vengono fornite all'utente informazioni utili sulle condizioni di manipolazione dei reagenti previste per il sistema cobas® 5800.

**Tabella 7** Scadenza dei reagenti sul sistema cobas® 5800

Reagente	Data di scadenza del kit	Stabilità del kit aperto	Numero di sedute per cui il kit può essere usato	Stabilità a bordo
cobas® Respiratory flex – 192T	Data non superata	90 giorni dal primo uso	Max 40 sedute	Max 36 giorni <sup>b</sup>
cobas® Respiratory flex Control Kit	Data non superata	Non applicabile <sup>a</sup>	Non applicabile	Max 36 giorni <sup>b</sup>
cobas® Buffer Negative Control Kit	Data non superata	Non applicabile <sup>a</sup>	Non applicabile	Max 36 giorni <sup>b</sup>
cobas® <b>omni</b> Lysis Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento <sup>b</sup>	Non applicabile	Non applicabile
cobas® <b>omni</b> MGP Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento <sup>b</sup>	Non applicabile	Non applicabile
cobas® <b>omni</b> Specimen Diluent	Data non superata	30 giorni dal caricamento <sup>b</sup>	Non applicabile	Non applicabile
cobas® <b>omni</b> Wash Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento <sup>b</sup>	Non applicabile	Non applicabile

<sup>a</sup> Il kit è contiene flaconi di controllo monouso.

<sup>b</sup> Il calcolo inizia dalla prima volta che il reagente viene caricato sul sistema cobas® 5800.

## Requisiti per la manipolazione dei reagenti per i sistemi cobas® 6800/8800

Dopo il caricamento sui sistemi cobas® 6800/8800, i reagenti sono conservati alla temperatura appropriata e la loro data di scadenza viene monitorata dal sistema. I sistemi cobas® 6800/8800 consentono l'uso dei reagenti solo se sono rispettate tutte le condizioni descritte nella Tabella 8. Il sistema impedisce automaticamente l'uso dei reagenti scaduti. La Tabella 8 fornisce all'utente informazioni utili sulle condizioni di manipolazione dei reagenti previste per i sistemi cobas® 6800/8800.

**Tabella 8** Scadenza dei reagenti sui sistemi cobas® 6800/8800

Reagente	Data di scadenza del kit	Stabilità del kit aperto	Numero di sedute per cui il kit può essere usato	Stabilità a bordo (tempo cumulativo a bordo fuori dal frigorifero)
cobas® Respiratory flex – 192T	Data non superata	90 giorni dal primo uso	Max 40 sedute	Max 40 ore
cobas® Respiratory flex Control Kit	Data non superata	Non applicabile <sup>a</sup>	Non applicabile	Max 10 ore
cobas® Buffer Negative Control Kit	Data non superata	Non applicabile <sup>a</sup>	Non applicabile	Max 10 ore
cobas® <b>omni</b> Lysis Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento <sup>b</sup>	Non applicabile	Non applicabile
cobas® <b>omni</b> MGP Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento <sup>b</sup>	Non applicabile	Non applicabile
cobas® <b>omni</b> Specimen Diluent	Data non superata	30 giorni dal caricamento <sup>b</sup>	Non applicabile	Non applicabile
cobas® <b>omni</b> Wash Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento <sup>b</sup>	Non applicabile	Non applicabile

<sup>a</sup> Il kit è contiene flaconi di controllo monouso.

<sup>b</sup> Il calcolo inizia da quando il reagente viene caricato per la prima volta sui sistemi cobas® 6800/8800.

## Altri materiali necessari per il sistema cobas® 5800

**Tabella 9** Materiali e consumabili per l'utilizzo sul sistema **cobas® 5800**

<b>Materiale</b>	<b>P/N</b>
<b>cobas® omni</b> Processing Plate 24	08413975001
<b>cobas® omni</b> Amplification Plate 24	08499853001
<b>cobas® omni</b> Liquid Waste Plate 24	08413983001
Puntale CORE TIPS con filtro, 1 ml	04639642001
Puntale CORE TIPS con filtro, 300 µl	07345607001
<b>cobas® omni</b> Liquid Waste Container	07094388001
<b>cobas® omni</b> Lysis Reagent	06997538190
<b>cobas® omni</b> MGP Reagent	06997546190
<b>cobas® omni</b> Specimen Diluent	06997511190
<b>cobas® omni</b> Wash Reagent	06997503190
Sacchetto per rifiuti solidi oppure Sacchetto per rifiuti solidi con inserto	07435967001 oppure 08030073001
Provette secondarie <b>cobas® omni</b> 13 × 75 (opzionali)	06438776001
MPA RACK 13 oppure 16 MM <sup>a</sup>	N/A
RD5 RACK – RD Standard rack <sup>a</sup>	N/A
Carrier per provette a 16 posizioni <sup>a</sup>	09224319001
Carrier per rack a 5 posizioni <sup>b</sup>	09224475001

<sup>a</sup> Contattare il rappresentante Roche locale per richiedere un listino dettagliato dei rack per campioni, dei rack per puntali otturati e dei carrier per rack accettati sugli strumenti e compatibili con il test.

<sup>b</sup> I rack RD5 o MPA sono indispensabili in associazione con il carrier per rack a 5 posizioni sul sistema **cobas® 5800**.

## Altri materiali necessari per i sistemi cobas® 6800/8800

**Tabella 10** Materiali e consumabili per l'uso sui sistemi **cobas®** 6800/8800

Materiale	P/N
<b>cobas®</b> <b>omni</b> Processing Plate	05534917001
<b>cobas®</b> <b>omni</b> Amplification Plate	05534941001
<b>cobas®</b> <b>omni</b> Pipette Tips	05534925001
<b>cobas®</b> <b>omni</b> Liquid Waste Container	07094388001
<b>cobas®</b> <b>omni</b> Lysis Reagent	06997538190
<b>cobas®</b> <b>omni</b> MGP Reagent	06997546190
<b>cobas®</b> <b>omni</b> Specimen Diluent	06997511190
<b>cobas®</b> <b>omni</b> Wash Reagent	06997503190
Sacchetto per rifiuti solidi e Contenitore per rifiuti solidi oppure Sacchetto per rifiuti solidi con inserto e Kit cassetto	07435967001 e 07094361001 oppure 08030073001 e 08387281001
Provette secondarie <b>cobas®</b> <b>omni</b> 13 × 75 (opzionali)	06438776001
MPA RACK 13 oppure 16 MM <sup>a</sup>	N/A
RD5 RACK – RD Standard rack <sup>a</sup>	N/A

<sup>a</sup> Contattare il rappresentante Roche locale per richiedere un listino dettagliato dei rack per campioni, dei rack per puntali otturati e dei carrier per rack accettati sugli strumenti e compatibili con il test.

## Altri materiali necessari per il flusso di lavoro preanalitico

**Tabella 11** Altri materiali necessari per il flusso di lavoro preanalitico

Materiale	P/N
<b>cobas®</b> Microbial Inactivation Solution	08185476001

## Strumentazione e software necessari

Il software del software **cobas®** 5800 e il pacchetto di analisi **cobas®** Respiratory flex per il sistema **cobas®** 5800 devono essere installati sugli strumenti **cobas®** 5800. Il software Data Manager e l'unità PC del sistema **cobas®** 5800 verranno forniti con il sistema.

Il software dei sistemi **cobas®** 6800/8800 e il pacchetto di analisi **cobas®** Respiratory flex per i sistemi **cobas®** 6800/8800 devono essere installati sugli strumenti. Il server IG (Instrument Gateway) verrà fornito con il sistema.

**Tabella 12** Strumentazione

Apparecchiatura	P/N
Sistema <b>cobas®</b> 5800	08707464001
Sistema <b>cobas®</b> 6800 (opzione mobile)	05524245001 e 06379672001
Sistema <b>cobas®</b> 6800 (fisso)	05524245001 e 06379664001
Sistema <b>cobas®</b> 8800	05412722001
Modulo di inserimento dei campioni (soltanto sistemi <b>cobas®</b> 6800/8800)	06301037001
Instrument Gateway	06349595001

Per ulteriori informazioni, consultare l'assistenza utente o le guida per l'utente del sistema **cobas®** 5800 o dei sistemi **cobas®** 6800/8800.

# Precauzioni e requisiti per l'uso

## Avvertenze e precauzioni

Come richiesto per qualsiasi procedura di analisi, per lo svolgimento di questo test è necessario attenersi alle buone pratiche di laboratorio. Data l'elevata sensibilità di questo test, fare attenzione ad evitare la contaminazione dei reagenti e delle miscele di amplificazione.

- Per uso diagnostico *in vitro*.
- Tutti i campioni dei pazienti devono essere manipolati come materiale a rischio biologico, seguendo le buone procedure di laboratorio descritte in Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories e nel documento M29-A4 del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).<sup>24,25</sup> Questa procedura deve essere eseguita esclusivamente da personale esperto nella manipolazione di materiale a rischio biologico e nell'uso del test **cobas® Respiratory flex** e dei sistemi **cobas® 5800/6800/8800**.
- Tutti i materiali di origine umana devono essere considerati a rischio biologico e quindi manipolati adottando precauzioni universalmente valide. In caso di fuoriuscita accidentale, disinfettare immediatamente seguendo le procedure previste dall'organizzazione.
- In caso di fuoriuscita dei campioni in MIS (contenente guanidina tiocianato), evitare il contatto con i disinfettanti contenenti ipoclorito di sodio, come la candeggina. L'eventuale miscela potrebbe produrre gas altamente tossici.
- In caso di fuoriuscita dei campioni in MIS, pulire PRIMA con acqua e un detergente da laboratorio idoneo e successivamente con etanolo al 70%.
- La soluzione MIS è sensibile alla luce e viene spedita in flaconi schermati. La soluzione MIS deve essere conservata in posizione verticale.
- È consigliato l'uso di pipette sterili monouso e puntali di pipettamento privi di nucleasi. Per garantire prestazioni ottimali del test, utilizzare soltanto i consumabili forniti o consigliati.
- Le schede di sicurezza (SDS) possono essere richieste al rappresentante Roche locale.
- Per un corretto svolgimento del test, attenersi scrupolosamente alle procedure e alle linee guida approvate. Qualunque deviazione dalle procedure e dalle linee guida approvate potrebbe compromettere le prestazioni del test.
- Potrebbero essere generati risultati falsi positivi senza un'adeguata prevenzione dell'effetto carryover durante la manipolazione e la preparazione dei campioni.
- In caso di incidenti gravi che dovessero verificarsi durante l'uso di questo test, inviare una segnalazione all'autorità competente locale e al produttore.

## Manipolazione dei reagenti

- Manipolare tutti i reagenti, i controlli e i campioni seguendo le buone pratiche di laboratorio, al fine di prevenire il carryover dei campioni e dei controlli.
- Prima dell'uso ispezionare visivamente ogni cassetta dei reagenti, del diluente, del reagente di lisi e del reagente di lavaggio per confermare l'assenza di perdite. In caso di perdite accertate, non utilizzare il materiale per il test.
- Il **cobas® omni** Lysis Reagent e la soluzione MIS contengono guanidina tiocianato, una sostanza chimica potenzialmente pericolosa. Evitare che i reagenti entrino in contatto con la pelle, gli occhi o le mucose. In caso di contatto, lavare immediatamente con abbondante acqua per prevenire possibili ustioni.

- Kit del test **cobas®** Respiratory flex, **cobas®** Respiratory flex Control kit, **cobas®** Buffer Negative Control kit, **cobas®** **omni** MGP Reagent e **cobas®** **omni** Specimen Diluent contengono sodio azide come conservante. Evitare che i reagenti entrino in contatto con la pelle, gli occhi o le mucose. In caso di contatto, lavare immediatamente con abbondante acqua per prevenire possibili ustioni. In caso di fuoriuscita dei reagenti, diluire il liquido con acqua prima di asciugare.
- Evitare che il **cobas®** **omni** Lysis Reagent e la soluzione MIS, contenenti guanidina tiocianato, entrino in contatto con la soluzione di ipoclorito di sodio (candeggina). L'eventuale miscela potrebbe produrre gas altamente tossici.
- Smaltire tutti i materiali entrati in contatto con i campioni e i reagenti nel rispetto dei regolamenti previsti a livello locale, nazionale e internazionale.

## Buone pratiche di laboratorio

- Non pipettare con la bocca.
- Non mangiare, bere o fumare nelle aree di lavoro designate.
- Durante la manipolazione dei campioni e dei reagenti del kit, indossare guanti monouso, camici da laboratorio e protezioni per gli occhi. Occorre sostituire i guanti quando si manipolano i campioni e i reagenti dei kit **cobas®** Respiratory flex, **cobas®** Respiratory flex Control, **cobas®** Buffer Negative Control e **cobas®** **omni** per prevenire la contaminazione. Evitare di contaminare i guanti durante la manipolazione dei campioni e dei controlli.
- Lavare accuratamente le mani dopo avere manipolato i reagenti dei kit e dopo aver rimosso i guanti.
- Pulire e disinfettare accuratamente tutte le superfici di lavoro del laboratorio con una soluzione fresca a base di ipoclorito di sodio allo 0,5% in acqua deionizzata o distillata. Successivamente pulire la superficie con etanolo al 70%.
- In caso di versamenti di liquidi sullo strumento **cobas®** 5800 o **cobas®** 6800/8800, attenersi alle istruzioni contenute nell'assistenza utente e/o nella guida per l'utente dei sistemi **cobas®** 5800 o **cobas®** 6800/8800 per pulire accuratamente e decontaminare la superficie dello strumento (o degli strumenti).

## Prelievo, trasporto e conservazione dei campioni

**Nota: manipolare tutti i campioni e i controlli come se fossero in grado di trasmettere agenti infettivi.**

Conservare tutti i campioni alle temperature indicate.

La stabilità dei campioni risente delle temperature elevate.

Prestare attenzione durante il trasferimento dei campioni dalla provetta primaria usata per il prelievo alla provetta secondaria.

Utilizzare pipette con puntali dotati di barriera antiaerosol o ad erogazione positiva per trasferire i campioni.

Utilizzare sempre un nuovo puntale di pipettamento per ogni campione.

Assicurarsi che i campioni siano equilibrati a temperatura ambiente prima di trasferirli in una provetta secondaria **cobas®** **omni**.

## Prelievo dei campioni

- Prelevare i campioni nasofaringei secondo la tecnica di prelievo standard, utilizzando un tampone floccato o un tampone con puntale in poliestere che dovrà essere immerso immediatamente in 3 ml di UTM-RT® o UVT o un terreno di raccolta equivalente.
- Per informazioni sui rischi, consultare le istruzioni per l'uso dei dispositivi per il prelievo.

## Trasporto e conservazione

- Il trasporto dei campioni raccolti deve avvenire nel rispetto di tutte le normative in vigore relativamente al trasporto di agenti eziologici.
- Campioni raccolti in UTM-RT® o UVT o un terreno di raccolta equivalente:
- Dopo il prelievo, i campioni possono essere conservati fino a 12 ore a 2-25°C e, successivamente, fino a 3 giorni a 2-8°C e fino a 30 giorni a  $\leq -18^{\circ}\text{C}$ .
- I campioni sono stabili per un massimo di tre cicli di congelamento/scongelo se congelati a una temperatura  $\leq -18^{\circ}\text{C}$ .

# Istruzioni per l'uso

## Note sulla procedura

- Non utilizzare i reagenti del test **cobas®** Respiratory flex, il **cobas®** Respiratory flex Control Kit, il **cobas®** Buffer Negative Control Kit o i reagenti **cobas®** **omni** dopo la data di scadenza.
- Non riutilizzare i consumabili. Sono esclusivamente monouso.
- Assicurarsi che le etichette barcode sulle provette campione siano ben visibili attraverso le aperture ai lati dei rack per campioni. Per le esatte specifiche dei barcode e per maggiori informazioni sul caricamento delle provette campione, consultare la Guida per l'utente del sistema **cobas®** 5800 o dei sistemi **cobas®** 6800/8800.
- Per informazioni sulla corretta manutenzione degli strumenti, consultare l'assistenza utente e/o la Guida per l'utente del sistema **cobas®** 5800 o dei sistemi **cobas®** 6800/8800.

## Trattamento dei campioni nasofaringei

Prima di eseguire il test **cobas®** Respiratory flex sui sistemi **cobas®** 5800/6800/8800, è necessario trattare i campioni utilizzando una provetta secondaria con un volume morto massimo di 350 µl. La provetta secondaria **cobas®** **omni** è l'opzione preferibile. Sono disponibili ulteriori provette secondarie per eseguire il test **cobas®** Respiratory flex. Rivolgersi al rappresentante Roche locale per ricevere istruzioni dettagliate sulla procedura del test e un ordine di provette secondarie compatibili con gli strumenti.

- Nota:** prestare attenzione durante il trasferimento dei campioni dalla provetta primaria usata per il prelievo alla provetta secondaria.  
Utilizzare pipette con puntali dotati di barriera antiaerosol o ad erogazione positiva per trasferire i campioni.  
Utilizzare sempre un nuovo puntale di pipettamento per ogni campione.  
Assicurarsi che i campioni siano equilibrati a temperatura ambiente prima di trasferirli in una provetta secondaria **cobas®** **omni**.

Per trasferire e diluire il campione del paziente dalla provetta primaria usata per il prelievo alla provetta secondaria **cobas®** **omni**, seguire la procedura descritta di seguito:

- Verificare che la provetta campione con il tampone nasofaringeo abbia l'etichetta corretta e contenga almeno 0,4 ml di campione. Se il campione è stato conservato congelato, scongelarlo e portarlo a temperatura ambiente.
- Capovolgere i flaconi di soluzione MIS due o quattro volte prima dell'uso.
- Trasferire 0,8 ml di soluzione MIS nella provetta secondaria preparata con l'etichetta barcode. Le provette secondarie preparate contenenti 0,8 ml di soluzione MIS possono essere conservate chiuse per un massimo di 7 giorni a 2-8°C.
- Svitare il tappo della provetta campione primaria.
- Sollevare il tappo e il tampone attaccato per favorire l'inserimento di una pipetta all'interno della provetta campione.
- Trasferire 0,4 ml nella provetta secondaria preparata con l'etichetta barcode e contenente la soluzione MIS. Non occorre miscelare ulteriormente.
- Trasferire la provetta secondaria in un rack.
- Richiudere il tappo della provetta campione primaria.

- Nota:** i campioni nasofaringei diluiti in soluzione MIS possono essere conservati per un massimo di 8 ore a 37°C o per 20 ore a 25°C.

## Esecuzione del test cobas® Respiratory flex

Il test cobas® Respiratory flex può essere eseguito con un volume di campione di 1,2 ml (0,4 ml di campione e 0,8 ml di soluzione MIS), di cui verranno trattati 850 µl. È necessario selezionare il tipo di campione “Diluito in cobas® MIS” per poter eseguire il test cobas® Respiratory flex.

## Esecuzione del test cobas® Respiratory flex sul sistema cobas® 5800

La procedura del test è descritta dettagliatamente nell'Assistenza Utente e/o nella Guida per l'utente del sistema cobas® 5800. La Figura 1 più avanti riassume la procedura. Il test cobas® Respiratory flex include opzioni flessibili per gli ordini:

- Configurazione dei gruppi target: Ogni campione può essere testato per qualsiasi combinazione di target virali: adenovirus, pan-coronavirus (229E, HKU1, NL63, OC43), metapneumovirus umano, rinovirus/enterovirus umano, virus dell'influenza A, virus dell'influenza B, virus parainfluenzali 1, 2, 3 e 4, RSV e SARS-CoV-2.
- Calcolo dei target aggiuntivi (reflex digitale): in base ai risultati del test iniziali, è possibile ordinare target aggiuntivi dal pannello del test multiplex entro il periodo di tempo predefinito. I target aggiuntivi ordinati saranno poi calcolati in base ai dati grezzi già misurati. Per ottenere i risultati dei test aggiuntivi non sarà necessario trattare nuovamente il campione.

**Figura 1** Procedura del test cobas® Respiratory flex sul sistema cobas® 5800

<b>1</b>	Eseguire la procedura di accesso al sistema
<b>2</b>	Caricare i rack per campioni sul sistema: <ul style="list-style-type: none"><li>• Caricare i rack per campioni sul sistema</li><li>• Il sistema si prepara automaticamente</li><li>• Ordinare i test</li></ul>
<b>3</b>	Caricare i reagenti e i consumabili segnalati dal sistema: <ul style="list-style-type: none"><li>• Caricare le cassette dei reagenti specifici per il test</li><li>• Caricare i minirack per i controlli</li><li>• Caricare i puntali di estrazione</li><li>• Caricare i puntali di eluizione</li><li>• Caricare le piastre di estrazione</li><li>• Caricare le piastre per rifiuti liquidi</li><li>• Caricare le piastre di amplificazione</li><li>• Caricare la cassetta MGP</li><li>• Ricaricare il diluente per campioni</li><li>• Ricaricare il reagente di lisi</li><li>• Ricaricare il reagente di lavaggio</li></ul>
<b>4</b>	Avviare la seduta selezionando il pulsante Start processing nell'interfaccia utente; tutte le sedute successive si avvieranno automaticamente, a meno che non vengano posticipate manualmente
<b>5</b>	Rivedere ed esportare i risultati
<b>6</b>	Rimuovere eappare le provette campione contenenti il volume minimo richiesto per eventuale uso futuro Pulire lo strumento: <ul style="list-style-type: none"><li>• Scaricare le cassette dei controlli vuote</li><li>• Svuotare il cassetto per piastre di amplificazione</li><li>• Svuotare i rifiuti liquidi</li><li>• Svuotare i rifiuti solidi</li></ul>

## Esecuzione del test cobas® Respiratory flex sui sistemi cobas® 6800/8800

La procedura del test è descritta dettagliatamente nell'Assistenza Utente e/o nella Guida per l'utente dei sistemi cobas® 6800/8800. La Figura 2 più avanti riassume la procedura. Il test cobas® Respiratory flex include opzioni flessibili per gli ordini. Ogni campione può essere analizzato con i pacchetti di analisi specifici del test (*Assay Specific Analysis Package: ASAP*), che consentono un'analisi dell'intero pannello, dei sottogruppi predefiniti o un'opzione reflex digitale. Il pacchetto ASAP reflex digitale automatizzato prima calcola e poi visualizza una serie predefinita di target (ad esempio FluA, FluB, RSV, SARS-CoV-2). Se il campione risulta negativo per questi target, il test calcola e visualizza automaticamente i risultati dei target restanti nel pannello (reflex digitale automatizzato). Se un campione risulta positivo o non valido per uno dei target iniziali, non viene eseguito il calcolo dei target aggiuntivi. Ogni campione viene gestito in modo indipendente dagli altri. Ciò significa che alcuni campioni avranno soltanto i risultati per i target più comuni, mentre altri campioni mostreranno i risultati per un numero maggiore di target.

**Figura 2** Procedura del test cobas® Respiratory flex sui sistemi cobas® 6800/8800

<b>1</b>	Eeguire la procedura di accesso al sistema Premere Avvio per preparare il sistema Ordinare i test
<b>2</b>	Caricare i reagenti e i consumabili segnalati dal sistema: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Caricare la cassetta dei reagenti specifici per il test</li> <li>• Caricare le cassette dei controlli</li> <li>• Caricare i puntali di pipettamento</li> <li>• Caricare le piastre di estrazione</li> <li>• Caricare il reagente MGP</li> <li>• Caricare le piastre di amplificazione</li> <li>• Ricaricare il diluente per campioni</li> <li>• Ricaricare il reagente di lisi</li> <li>• Ricaricare il reagente di lavaggio</li> </ul>
<b>3</b>	Caricamento dei campioni sul sistema: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Caricare i rack per campioni e i rack per puntali otturati sullo stesso modulo di inserimento dei campioni</li> <li>• Confermare che i campioni sono stati accettati dal modulo di trasferimento</li> </ul>
<b>4</b>	Per avviare la seduta, scegliere il pulsante Avvio manuale nell'interfaccia utente o impostare l'avvio automatico dopo 120 minuti o se il batch è al completo
<b>5</b>	Rivedere ed esportare i risultati
<b>6</b>	Rimuovere e tappare le provette campione contenenti il volume minimo richiesto per eventuale uso futuro  Pulire lo strumento: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Scaricare le cassette dei controlli vuote</li> <li>• Svotare il cassetto per piastre di amplificazione</li> <li>• Svotare i rifiuti liquidi</li> <li>• Svotare i rifiuti solidi</li> </ul>

## Risultati

Il sistema **cobas**® 5800 e i sistemi **cobas**® 6800/8800 rilevano automaticamente i target virali di adenovirus (specie B, C ed E), coronavirus umani comuni (229E, HKU1, NL63, OC43), metapneumovirus umano, rinovirus/enterovirus umano, virus dell'influenza A, virus dell'influenza B, virus parainfluenzali 1, 2, 3 e 4, RSV e SARS-CoV-2 per ogni campione e controllo trattato individualmente, visualizzando i risultati dei individuali target per i campioni, nonché la validità del test e i risultati complessivi per i controlli.

### Controllo di qualità e validità dei risultati sul sistema **cobas**® 5800

- È prevista l'esecuzione di un controllo negativo **cobas**® Buffer Negative Control [(-) Ctrl] e di un controllo positivo [RESP-FLEX (+) C] almeno ogni 72 ore o con ogni nuovo lotto del kit. È possibile aumentare la frequenza con cui sono programmati i controlli positivi e/o negativi in base alle procedure del laboratorio e/o ai regolamenti locali.
- Per verificare la validità dei risultati, controllare se nel software **cobas**® 5800 e/o nel report sono presenti flag con risultati associati.

Il **cobas**® 5800 software considera automaticamente non validi i risultati in caso di fallimento del controllo negativo o dei controlli positivi.

**NOTA:** il sistema **cobas**® 5800 è preimpostato in modo che venga eseguita una serie di controlli (positivi e negativi) con ogni seduta; tuttavia è possibile configurare una frequenza inferiore, fino a 72 ore, in base alle procedure del laboratorio e/o ai regolamenti locali. Per maggiori informazioni, rivolgersi ad un tecnico Roche e/o all'assistenza clienti Roche.

### Interpretazione dei risultati sul sistema **cobas**® 5800

I risultati dei campioni sono visualizzati nell'app “Risultati” del software **cobas**® 5800.

Nel caso di un batch di controllo valido, verificare nel software **cobas**® 5800 e/o nel report se sono presenti eventuali avvisi per ogni singolo campione. I risultati dovranno essere interpretati applicando i seguenti criteri:

- I campioni associati a un batch di controllo valido sono mostrati come “Validi” nella colonna “Risultato di controllo” se tutti i risultati dei target del controllo sono stati indicati come validi nel report. I campioni associati a un batch di controllo non riuscito sono mostrati come “Invalid” nella colonna “Risultato di controllo” se i risultati di controllo sono indicati come non validi nel report.
- Se i controlli associati di un risultato campione sono non validi, verrà aggiunto un flag specifico al risultato campione nel modo seguente:
  - Q05D: validazione dei risultati non riuscita a causa di un controllo positivo non valido.
  - Q06D: validazione dei risultati non riuscita a causa di un controllo negativo non valido.
- I valori nella colonna “Risultati” relativi ai singoli risultati target dei campioni devono essere interpretati nel modo indicato in Tabella 13.

Se uno o più target dei campioni sono contrassegnati con “Invalid”, il software **cobas**® 5800 mostra un avviso nella colonna “Flag”. Nella vista dettagliata viene spiegato il motivo per cui i target dei campioni sono contrassegnati come non validi e vengono mostrati gli eventuali avvisi.

È possibile che vengano generati risultati non validi per una o più combinazioni di target: questi verranno segnalati in modo specifico per ogni target. Se un risultato di un target non è valido, non è possibile stabilire se quel target è presente o assente.

**Tabella 13** Esempio di visualizzazione dei risultati del test **cobas®** Respiratory flex sul sistema **cobas®** 5800

ID campione	Test	Risultato di controllo	Flag*	Stato	Risultato	Data/ora creazione
Sample_01	RESP-FLEX	Valid		Released	Negative (12)	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_C1	RESP-FLEX	Valid		Released	Invalid (12)	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_B1	RESP-FLEX	Valid		Released	Positive (1), Negative (11)	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_B2	RESP-FLEX	Valid		Released	Negative (12)	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_D1	RESP-FLEX	Valid		Released	Positive (2), Negative (10)	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_A6	RESP-FLEX	Valid		Released	Negative (12)	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_A2	RESP-FLEX	Invalid		Released	Invalid (12)	7/7/2021 8:27:39 AM

\* La panoramica dei risultati mostra il simbolo di una bandierina in caso di risultati non validi. Le descrizioni dei flag sono riportate nei dettagli dei risultati.

## Controllo di qualità e validità dei risultati sui sistemi **cobas®** 6800/8800

- È prevista l'esecuzione di un controllo negativo **cobas®** Buffer Negative Control [(-) Ctrl] e di un controllo positivo [RESP-FLEX (+) C] con ogni batch.
- Verificare se, nel software dei sistemi **cobas®** 6800/8800 e/o nel report, sono presenti avvisi e risultati ad essi associati, per accertarsi della validità del batch.
- Il batch è valido se non ci sono flag per nessun controllo. Se il batch non è valido, ripetere il test sull'intero batch.
- Per una descrizione di tutti i flag, fare riferimento alla Guida per l'utente dei sistemi **cobas®** 6800/8800.

La validazione dei risultati viene eseguita automaticamente dal software dei sistemi **cobas®** 6800/8800 sulla base delle prestazioni dei controlli negativi e positivi.

## Interpretazione dei risultati sui sistemi **cobas®** 6800/8800

Se un batch è valido, verificare nel software dei sistemi **cobas®** 6800/8800 e/o nel report se sono presenti flag per ogni singolo campione. I risultati dovranno essere interpretati applicando i seguenti criteri:

- Un batch valido può includere risultati dei campioni validi e non validi.
- È possibile che vengano generati risultati non validi per una o più combinazioni di target: questi verranno segnalati in modo specifico per ogni target. Se un risultato di un target non è valido, non è possibile stabilire se quel target è presente o assente.
- Gli altri risultati iniziali validi dei target possono essere interpretati secondo le indicazioni fornite nella tabella. Nella Tabella 15 sono riportati i risultati e l'interpretazione corrispondente.

Nella Tabella 14 sono riportati alcuni esempi di visualizzazione dei risultati per il test **cobas®** Respiratory flex.

**Tabella 14** Esempio di visualizzazione dei risultati del test cobas® Respiratory flex sui sistemi cobas® 6800/8800

ID campione	Nome test*	Positivi	Negativi	Non validi	Stato	Data/ora creazione
Sample_01	RESP-FLEX	0	12	NA	Released	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_C1	RESP-FLEX	0	0	12	Not Released	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_B1	RESP-FLEX	1	11	NA	Released	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_B2	RESP-FLEX	4	8	NA	Released	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_D1	RESP-FLEX	0	12	NA	Released	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_A6	RESP-FLEX	0	12	NA	Released	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_A2	RESP-FLEX	0	0	12	Released	7/7/2021 8:27:39 AM

\* Il nome del test potrebbe differire a seconda del pacchetto ASAP selezionato per cobas® Respiratory flex

## Interpretazione dei risultati

Nel caso di una seduta/batch di controllo validi, verificare se per ogni singolo campione sono presenti flag nel software e/o nel report del sistema cobas® 5800 e dei sistemi cobas® 6800/8800. I risultati dovranno essere interpretati applicando i seguenti criteri:

- Un batch valido può includere risultati dei campioni validi e non validi.
- Potrebbero essere generati risultati non validi per una o più combinazioni di target, che verranno indicati in modo specifico per ogni canale.
- I risultati del test devono essere interpretati contestualmente alle altre informazioni raccolte attraverso la valutazione clinica del paziente e la relativa anamnesi.

Nella Tabella 13 e nella Tabella 14 sono riportati alcuni esempi di visualizzazione dei risultati per il test cobas® Respiratory flex.

Nella Tabella 15 più avanti sono riportati i risultati e la relativa interpretazione per quanto riguarda la rilevazione dei target virali di adenovirus (specie B, C ed E), coronavirus umani comuni (229E, HKU1, NL63, OC43), metapneumovirus umano, rinovirus/enterovirus umano, virus dell'influenza A, virus dell'influenza B, virus parainfluenzali 1, 2, 3 e 4, RSV e SARS-CoV-2.

**Tabella 15** Risultati per i singoli target e relativa interpretazione

Risultato del target*	Interpretazione
Negative	Non è stato rilevato nessun segnale per il target virale corrispondente; è stato rilevato il segnale IC.
<b>Positive</b>	È stato rilevato il segnale del target virale corrispondente; il segnale IC potrebbe essere stato rilevato o meno.

\* Viene mostrato per ognuno dei 12 target virali individualmente: virus dell'influenza A (FluA), virus dell'influenza B (FluB), virus respiratorio sinciziale (RSV), SARS-CoV-2 (SCoV2), adenovirus (AdV), metapneumovirus umano (MPV), rinovirus/enterovirus umano (EVRV), coronavirus umani comuni (CoV) e virus parainfluenzale 1 (hPIV1), 2 (hPIV2), 3 (hPIV3) e 4 (hPIV4).

Se un risultato di un target non è valido, non è possibile stabilire se quel target è presente o assente. Gli altri risultati iniziali validi dei target possono essere interpretati secondo le indicazioni fornite nella Tabella 15.

## Limiti della procedura

- Il test **cobas**® Respiratory flex è stato valutato soltanto in associazione con i prodotti **cobas**® Respiratory flex Control Kit, **cobas**® Buffer Negative Control Kit, **cobas**® **omni** MGP Reagent, **cobas**® **omni** Lysis Reagent, **cobas**® **omni** Specimen Diluent e **cobas**® **omni** Wash Reagent per l'uso sui sistemi **cobas**® 5800/6800/8800.
- Le decisioni riguardanti la gestione del paziente non dovrebbero basarsi unicamente sui risultati del test **cobas**® Respiratory flex, ma dovrebbero tenere conto anche delle osservazioni cliniche, della storia del paziente, delle sue recenti esposizioni, delle informazioni epidemiologiche disponibili e di altri dati diagnostici.
- L'affidabilità dei risultati è influenzata dal metodo di raccolta, conservazione e manipolazione dei campioni. Evitare di mangiare, bere, fumare, svapare o fiutare prodotti a base di tabacco nei 30 minuti che precedono il prelievo del campione.
- FluMist® Quadrivalent, un vaccino quadrivalente vivo intranasale, potrebbe causare risultati positivi per i virus dell'influenza A e dell'influenza B. Non è stata valutata una somministrazione di FluMist® recente (nelle 6 settimane precedenti il prelievo del campione) per comprendere se l'interferenza con altri target possa influire sulle prestazioni cliniche del test.
- Questo test è destinato all'uso con un campione di tampone nasofaringeo prelevato in UTM-RT® o UVT o in un terreno di raccolta equivalente. L'uso di altri tipi di campioni con il test **cobas**® Respiratory flex può generare imprecisioni nei risultati.
- La rilevazione dei virus respiratori può essere influenzata dal metodo di prelievo del campione, da fattori legati al paziente (ad esempio la presenza di sintomi) e/o dallo stadio dell'infezione.
- Come accade con tutti i test molecolari, le mutazioni comprese nelle regioni target del test **cobas**® Respiratory flex potrebbero influenzare il legame del primer e/o della sonda e impedire al test di rilevare la presenza del virus.
- Si potrebbero ottenere risultati falsi negativi o non validi dovuti alle interferenze. Il controllo interno è incluso nel test **cobas**® Respiratory flex per favorire l'identificazione dei campioni contenenti sostanze che potenzialmente possono interferire con l'estrazione degli acidi nucleici e l'amplificazione PCR.
- L'aggiunta dell'enzima AmpErase al reagente Master Mix **cobas**® Respiratory flex consente di amplificare selettivamente la sequenza di DNA e RNA bersaglio, tuttavia è necessario attenersi scrupolosamente alle Buone Pratiche di Laboratorio e alle procedure descritte in queste istruzioni per l'uso per evitare la contaminazione dei reagenti.

# Valutazione delle prestazioni non cliniche

## Caratteristiche delle prestazioni

### Sensibilità analitica (limite di sensibilità)

Il limite di sensibilità (LoD) del test cobas® Respiratory flex è stato determinato analizzando diluizioni seriali co-formulate per i target virali di coronavirus umani comuni, RSV, influenza A, influenza B, SARS-CoV-2, adenovirus, rinovirus, metapneumovirus umano e virus parainfluenzali 1, 2, 3 e 4, diluiti in una matrice clinica simulata negativa stabilizzata in UTM™. I pannelli, costituiti da almeno cinque livelli di concentrazione più un bianco, sono stati testati con tre lotti di reagenti del test cobas® Respiratory flex in più sedute, in più giorni, da più operatori e con più strumenti. I risultati e i materiali utilizzati sono riportati nella Tabella 16.

**Tabella 16** Limite di sensibilità con tasso di successo  $\geq 95\%$  e 95% Probit, compresi gli intervalli di confidenza

Target	Ceppo/Isolato	LoD per tasso di successo $\geq 95\%$	LoD 95% PROBIT	Intervallo di confidenza al 95%	Unità di concentrazione
Influenza A (H1N1)	Brisbane/02/2018	1,00E+02	8,39E+01	6,59E+01 - 1,19E+02	cp/ml
Influenza A (H3N2)	A/Darwin/6/2021	5,00E+01	5,36E+01	4,06E+01 - 8,09E+01	cp/ml
Influenza B (Victoria)	B/Austria/1359417/2021	2,50E+02	2,28E+02	1,82E+02 - 3,16E+02	cp/ml
Influenza B (Yamagata)	Phuket/3073/13	8,00E+02	6,84E+02	5,57E+02 - 9,12E+02	cp/ml
RSV A	Virus respiratorio sinciziale A2	4,00E+03	3,28E+03	2,60E+03 - 4,58E+03	cp/ml
SARS-CoV-2	1° standard internazionale OMS codice NIBSC 20/146	8,00E+01	7,07E+01	5,45E+01 - 1,04E+02	UI/ml
Adenovirus B	Tipo 3 Isolato 1921/08	5,00E+02	5,00E+02	4,30E+02 - 6,21E+02	cp/ml
Adenovirus C	1° standard internazionale OMS codice NIBSC 16/324	1,20E+02	7,77E+01	5,92E+01 - 1,14E+02	UI/ml
Metapneumovirus umano	hMPV-27 Tipo A2 IA27-2004	1,70E+03	1,96E+03	1,61E+03 - 2,55E+03	cp/ml
Rinovirus B	B42 Zeptomatrix 0810286CF	1,80E+03	9,07E+02	7,29E+02 - 1,21E+03	cp/ml
Coronavirus 229E	229E Zeptomatrix 0810229CF	3,50E+02	3,64E+02	2,83E+02 - 5,23E+02	cp/ml
Coronavirus NL63	NL63 Zeptomatrix 0810228CF-CL	1,80E+02	1,77E+02	1,34E+02 - 2,72E+02	cp/ml
Coronavirus OC43	OC43 Zeptomatrix 0810024CF	1,60E+03	8,53E+02	6,50E+02 - 1,27E+03	cp/ml
Coronavirus HKU1	aRNA	2,40E+02	1,84E+02	1,44E+02 - 2,58E+02	cp/ml
Virus parainfluenzale umano 1	Tipo 1 Zeptomatrix 0810014CF-CL	3,00E+03	2,11E+03	1,82E+03 - 2,61E+03	cp/ml
Virus parainfluenzale umano 2	Tipo 2 Zeptomatrix 0810015CF-CL	7,00E+02	6,85E+02	5,13E+02 - 1,06E+03	cp/ml
Virus parainfluenzale umano 3	Tipo 3 Zeptomatrix 0810016CF-CL	3,80E+03	2,56E+03	2,15E+03 - 3,26E+03	cp/ml
Virus parainfluenzale umano 4	Tipo 4a Zeptomatrix 0810060CF-CL	4,80E+04	3,05E+04	2,49E+04 - 4,02E+04	cp/ml

## Precisione interna nel laboratorio

La precisione del test cobas® Respiratory flex è stata determinata analizzando pannelli composti da diversi ceppi di colture cellulari in una matrice clinica simulata negativa stabilizzata in UTM™. Sono stati analizzati due livelli di diluizione in 216 repliche per ogni livello, con tre lotti di reagenti del test cobas® Respiratory flex, utilizzando sei strumenti e cinque operatori nell'arco di dodici giorni. Ogni campione è stato sottoposto all'intera procedura prevista per il test cobas® Respiratory flex, che è completamente automatizzata sui sistemi cobas® 5800/6800/8800. La precisione riferita in questa sede è dunque rappresentativa di tutti gli aspetti della procedura del test. I risultati sono riportati nella Tabella 17 e nella Tabella 18. In base ai risultati di questo studio, il test cobas® Respiratory flex per l'uso sui sistemi cobas® 5800/6800/8800 è in grado di rilevare la presenza di tutte le sequenze di acido nucleico bersaglio, con tassi di successo  $\geq 95\%$  attorno al LoD ( $\sim 1 \times \text{LoD}$ ) e tassi di successo  $\geq 99\%$  al di sopra del LoD ( $\sim 3 \times \text{LoD}$ ).

**Tabella 17** Precisione: riepilogo dei tassi di successo e intervalli di confidenza

Target	Livello	Risultati positivi	Risultati totali	% di positività	Limite inferiore IC al 95% bilaterale	Limite superiore IC al 95% bilaterale
Influenza A (H3N2)	$\sim 3 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Influenza A (H3N2)	$\sim 1 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Influenza B (Victoria)	$\sim 3 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Influenza B (Victoria)	$\sim 1 \times \text{LoD}$	215	216	99,54	97,45	99,99
RSV A	$\sim 3 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
RSV A	$\sim 1 \times \text{LoD}$	214	216	99,07	96,70	99,89
SARS-CoV-2	$\sim 3 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
SARS-CoV-2	$\sim 1 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Adenovirus B	$\sim 3 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Adenovirus B	$\sim 1 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Metapneumovirus umano	$\sim 3 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Metapneumovirus umano	$\sim 1 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Rinovirus B	$\sim 3 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Rinovirus B	$\sim 1 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Coronavirus 229E	$\sim 3 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Coronavirus 229E	$\sim 1 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Virus parainfluenzale umano 1	$\sim 3 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Virus parainfluenzale umano 1	$\sim 1 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Virus parainfluenzale umano 2	$\sim 3 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Virus parainfluenzale umano 2	$\sim 1 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Virus parainfluenzale umano 3	$\sim 3 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Virus parainfluenzale umano 3	$\sim 1 \times \text{LoD}$	215	216	99,54	97,45	99,99
Virus parainfluenzale umano 4	$\sim 3 \times \text{LoD}$	216	216	100	98,31	100
Virus parainfluenzale umano 4	$\sim 1 \times \text{LoD}$	214	216	99,07	96,70	99,89
N/A	Vuoto	0	216	0	0,00	3,36

**Tabella 18** Precisione: deviazioni standard e coefficienti di variazione dei valori Ct

Target	Livello	Tasso di successo	Ct medio	Tra strumenti		Tra lotti		Tra giorni		Tra sedute		Nella stessa seduta		Totale	
				DS	CV%	DS	CV%	DS	CV%	DS	CV%	DS	CV%	DS	CV%
Influenza A (H3N2)	~3 × LoD	100,00%	37,28	0,09	0,24	0,08	0,21	0,00	0,00	0,07	0,20	0,48	1,28	0,50	1,34
Influenza A (H3N2)	~1 × LoD	100,00%	39,00	0,13	0,33	0,13	0,34	0,23	0,60	0,00	0,00	1,02	2,62	1,06	2,73
Influenza B (Victoria)	~3 × LoD	100,00%	34,61	0,04	0,11	0,09	0,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,22	0,64	0,24	0,69
Influenza B (Victoria)	~1 × LoD	99,54%	35,34	0,04	0,12	0,08	0,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,24	0,69	0,26	0,73
RSV A	~3 × LoD	100,00%	33,20	0,06	0,18	0,08	0,25	0,04	0,11	0,00	0,00	0,19	0,58	0,22	0,66
RSV A	~1 × LoD	99,07%	33,62	0,04	0,11	0,05	0,16	0,02	0,06	0,02	0,06	0,24	0,70	0,25	0,73
SARS-CoV-2	~3 × LoD	100,00%	35,62	0,03	0,09	0,00	0,00	0,03	0,09	0,00	0,00	0,32	0,89	0,32	0,90
SARS-CoV-2	~1 × LoD	100,00%	36,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,09	0,00	0,00	0,41	1,13	0,42	1,14
Adenovirus B	~3 × LoD	100,00%	30,50	0,18	0,58	0,00	0,00	0,06	0,19	0,00	0,00	0,69	2,28	0,72	2,36
Adenovirus B	~1 × LoD	100,00%	31,22	0,07	0,21	0,06	0,18	0,02	0,07	0,00	0,00	0,16	0,52	0,19	0,59
Metapneumovirus umano	~3 × LoD	100,00%	34,18	0,08	0,24	0,02	0,06	0,05	0,15	0,00	0,00	0,24	0,70	0,26	0,76
Metapneumovirus umano	~1 × LoD	100,00%	35,15	0,08	0,23	0,02	0,07	0,04	0,11	0,00	0,00	0,30	0,86	0,32	0,90
Rinovirus B	~3 × LoD	100,00%	33,68	0,08	0,24	0,25	0,73	0,02	0,07	0,00	0,00	0,26	0,79	0,37	1,10
Rinovirus B	~1 × LoD	100,00%	34,74	0,04	0,10	0,20	0,56	0,07	0,19	0,00	0,00	0,30	0,87	0,37	1,06
Coronavirus 229E	~3 × LoD	100,00%	33,11	0,12	0,36	0,05	0,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,45	1,36	0,47	1,41
Coronavirus 229E	~1 × LoD	100,00%	33,63	0,08	0,23	0,03	0,08	0,00	0,00	0,03	0,09	0,32	0,95	0,33	0,98
Virus parainfluenzale umano 1	~3 × LoD	100,00%	33,62	0,08	0,23	0,00	0,00	0,08	0,24	0,02	0,05	0,22	0,66	0,25	0,74
Virus parainfluenzale umano 1	~1 × LoD	100,00%	34,46	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,34	0,99	0,34	0,99
Virus parainfluenzale umano 2	~3 × LoD	100,00%	34,83	0,14	0,41	0,07	0,21	0,10	0,28	0,05	0,13	0,59	1,70	0,62	1,79
Virus parainfluenzale umano 2	~1 × LoD	100,00%	36,45	0,11	0,30	0,06	0,17	0,15	0,41	0,00	0,00	0,80	2,21	0,83	2,27
Virus parainfluenzale umano 3	~3 × LoD	100,00%	34,82	0,06	0,17	0,04	0,12	0,04	0,11	0,00	0,00	0,21	0,59	0,22	0,64
Virus parainfluenzale umano 3	~1 × LoD	99,54%	35,72	0,09	0,25	0,02	0,06	0,04	0,11	0,00	0,00	0,26	0,71	0,27	0,77
Virus parainfluenzale umano 4	~3 × LoD	100,00%	35,00	0,09	0,26	0,00	0,00	0,01	0,02	0,04	0,12	0,26	0,75	0,28	0,80
Virus parainfluenzale umano 4	~1 × LoD	99,07%	35,65	0,07	0,20	0,02	0,05	0,04	0,12	0,00	0,00	0,31	0,88	0,33	0,91

## Inclusività

L'inclusività con riferimento alla rilevazione di diversi ceppi dei virus dell'influenza A e dell'influenza B, RSV, SARS-CoV-2, adenovirus, metapneumovirus umano, enterovirus, rinovirus, coronavirus umani comuni e virus parainfluenzali umani 1, 2, 3 e 4 è stata analizzata utilizzando ceppi pertinenti di ogni target virale. Ogni ceppo è stato analizzato in 3 repliche prossime al LoD, a partire da  $\sim 3 \times \text{LoD}$ . La concentrazione che ha ottenuto un tasso di successo del 100% è riportata dalla Tabella 19 alla Tabella 28.

**Tabella 19** Inclusività per i ceppi di influenza A

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

**Tabella 20** Inclusività per i ceppi di influenza B

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

**Tabella 21** Inclusività per i ceppi del virus respiratorio sinciziale

Tipo di virus	Ceppo	ID fornitore	Tasso di successo 100% a
RSV tipo A	Isolato 2006	0810040ACF-CL	~3 × LoD
RSV tipo A	02/2015	0810475CF	~3 × LoD
RSV tipo A2	A2	VR-1540	~3 × LoD
RSV tipo B	CH93(18)-18	0810040CF-CL	~3 × LoD
RSV tipo B	9320	VPL-030	~3 × LoD
RSV tipo B	B WV/14617/85	VR-1400	~3 × LoD
RSV tipo B	18537	VR-1580	~3 × LoD

**Tabella 22** Inclusività per i ceppi di SARS-CoV-2

Tipo di virus	Ceppo	ID fornitore	Tasso di successo 100% a
SARS-CoV-2 lignaggio B.1.1.7	England/204820464/2020	0810614CFHI-CL	~3 × LoD
SARS-CoV-2 lignaggio B.1.351	South Africa/KRISP-K005325/2020	0810613CFHI-CL	~3 × LoD
SARS-CoV-2 lignaggio P.1	Japan/TY7-503/2021	0810616CFHI-CL	~3 × LoD
SARS-CoV-2 B.1.617.2	USA/PHC658/2021	0810624CFHI-CL	~3 × LoD
SARS-CoV-2 lignaggio B.1.1.529	USA/MD-HP20874/2021	0810642CFHI-CL	~3 × LoD
SARS-CoV-2	USA-WA1/2020	0810587CFHI	~3 × LoD

**Tabella 23** Inclusività per i ceppi di adenovirus

Tipo di virus	Sottotipo	ID fornitore	Tasso di successo 100% a
Mastadenovirus umano B	Tipo 03	0810062CF	~3 × LoD
Mastadenovirus umano B	Tipo 7A	0810021CF	~3 × LoD
Mastadenovirus umano B	Tipo 11	0810112CF	~3 × LoD
Mastadenovirus umano B	Tipo 14	0810108CF	~3 × LoD
Mastadenovirus umano B	Tipo 16	VR-17	~12 × LoD
Mastadenovirus umano B	Tipo 21	0810116CF	~6 × LoD
Mastadenovirus umano B	Tipo 34	VR-716	~3 × LoD
Mastadenovirus umano B	Tipo 35	VR-718	~3 × LoD
Mastadenovirus umano C	Tipo 1	VR-1	~3 × LoD
Mastadenovirus umano C	Tipo 2	VR-846	~3 × LoD
Mastadenovirus umano C	Tipo 5	0810020CF	~3 × LoD
Mastadenovirus umano C	Tipo 5	0810020CF	~3 × LoD
Mastadenovirus umano C	Tipo 6	VR-6	~3 × LoD
Mastadenovirus umano E	Tipo 4	0810070CF	~3 × LoD
Mastadenovirus umano E	Tipo 4	0810326CF	~3 × LoD

**Tabella 24** Inclusività per i ceppi di metapneumovirus umano

Tipo di virus	Tipo/Ceppo	ID fornitore	Tasso di successo 100% a
Metapneumovirus umano A1	Tipo 9 - ceppo: IA3-2002	0810160CF	~3 × LoD
Metapneumovirus umano A1	Tipo 16 - ceppo: IA10-2003	0810161CF-CL	~3 × LoD
Metapneumovirus umano A2	Tipo 27 - ceppo: IA27-2004	0810164CF	~3 × LoD
Metapneumovirus umano B1	Tipo 5 - ceppo: Peru3-2003	0810158CF-CL	~6 × LoD
Metapneumovirus umano B2	Tipo 8 - ceppo: Peru6-2003	0810159CF	~3 × LoD
Metapneumovirus umano B2	Tipo 18 - ceppo: IA18-2003	0810162CF	~3 × LoD

**Tabella 25** Inclusività per i ceppi di enterovirus

Tipo di virus	Sottotipo	ID fornitore	Tasso di successo 100% a
Enterovirus A	Tipo A10	VR-168	~3 × LoD
Enterovirus A	Tipo 71	VR-1775	~3 × LoD
Enterovirus B	Tipo A9	0810017CF	~3 × LoD
Enterovirus B	Tipo B3	0810074CF	~3 × LoD
Enterovirus B	Tipo B4	0810075CF	~3 × LoD
Enterovirus B	Tipo 6	0810076CF	~3 × LoD
Enterovirus B	Tipo 9	0810077CF	~3 × LoD
Enterovirus B	Tipo 11	0810023CF	~3 × LoD
Enterovirus C	Tipo A21	VR-850	~3 × LoD
Enterovirus C	Tipo A24	VR-1662	~3 × LoD
Enterovirus D	Tipo 68	VR-1823	~3 × LoD

**Tabella 26** Inclusività per i ceppi di rinovirus

Tipo di virus	Sottotipo	ID fornitore	Tasso di successo 100% a
Rinovirus umano A	Tipo 1A	0810012CFN	~3 × LoD
Rinovirus umano A	Tipo 2	VR-482	~3 × LoD
Rinovirus umano A	Tipo 7	VR-1601	~35 × LoD*
Rinovirus umano A	Tipo 16	VR-283	~3 × LoD
Rinovirus umano A	Tipo 34	VR-1365	~3 × LoD
Rinovirus umano A	Tipo 57	VR-1600	~3 × LoD
Rinovirus umano A	Tipo 77	VR-1187	~3 × LoD
Rinovirus umano A	Tipo 85	VR-1195	~3 × LoD
Rhinovirus umano B	Tipo 3	VR-483	~3 × LoD
Rhinovirus umano B	Tipo 14	VR-284	~3 × LoD
Rhinovirus umano B	Tipo 17	VR-1663	~3 × LoD
Rhinovirus umano B	Tipo 27	VR-502	~3 × LoD
Rhinovirus umano B	Tipo 83	VR-1193	~3 × LoD

\* Il rinovirus umano tipo 7 (ATCC VR-1601) è un ceppo derivato *in vitro* dal reagente NIAID V-127-001-021 (VR-117) tramite passaggio ad ATCC e non è un isolato clinico con rilevanza clinica. Sulla base dell'analisi *in silico* che rappresenta una variabilità genetica più ampia di questo sottotipo, i ceppi di rinovirus del tipo 7 dovrebbero essere rilevati dal test cobas® Respiratory flex.

**Tabella 27** Inclusività per i ceppi di coronavirus umani comuni

Tipo di virus	Ceppo	ID fornitore	Tasso di successo 100% a
Coronavirus	229E	0810229CF	~3 × LoD
Coronavirus	229E	VR-740	~3 × LoD
Coronavirus	NL63	NR-470	~3 × LoD
Coronavirus	OC43	VR-1558	~3 × LoD

**Tabella 28** Inclusività per i ceppi di virus parainfluenzali umano

Tipo di virus	Ceppo	ID fornitore	Tasso di successo 100% a
Virus parainfluenzale umano 1	N/A	0810014CF	~3 × LoD
Virus parainfluenzale umano 1	C35	VR-94	~3 × LoD
Virus parainfluenzale umano 2	N/A	0810015CF	~3 × LoD
Virus parainfluenzale umano 2	Greer	VR-92	~3 × LoD
Virus parainfluenzale umano 3	N/A	0810016CF	~3 × LoD
Virus parainfluenzale umano 4A	N/A	0810060CF	~3 × LoD
Virus parainfluenzale umano 4B	CH 19503	VR-1377	~3 × LoD
Virus parainfluenzale umano 4B	N/A	0810060BCF	~3 × LoD

## Equivalenza delle matrici

È stata valutata l'equivalenza tra i tamponi nasofaringei e una matrice clinica simulata stabilizzata in UTM-RT®. I pool di campioni (nasofaringei) clinici individuali negativi e la matrice clinica simulata stabilizzata in UTM™ sono stati arricchiti con tre pannelli co-formulati e contenenti, a un livello di concentrazione  $\sim 2 \times \text{LoD}$ : coronavirus umani comuni, RSV, virus dell'influenza A e SARS-CoV-2 (pannello 1); virus dell'influenza B, adenovirus, rinovirus e virus parainfluenzale 3 umano (pannello 2); metapneumovirus umano, virus parainfluenzali 1, 2 e 4 umano (pannello 3). Sono state analizzate 42 repliche per ogni livello di concentrazione per ogni tipo di campione. Tutte le repliche testate con il pannello  $2 \times \text{LoD}$  sono risultate positive per il target virale corrispondente per entrambe le matrici, con un tasso di successo del 100%.

## Specificità analitica (reattività crociata e interferenza microbica)

La specificità analitica del test cobas® Respiratory flex è stata valutata analizzando un pannello di microorganismi comprendente quelli più comunemente presenti nelle vie respiratorie, più un pool di lavaggi nasali umani.

Gli organismi elencati nella Tabella 29 sono stati aggiunti a una concentrazione di  $1,00\text{E}+06$  unità/ml nel caso dei batteri e dei funghi e a una concentrazione di  $1,00\text{E}+05$  unità/ml nel caso dei virus, se non diversamente specificato. I test sono stati eseguiti con ogni organismo potenzialmente interferente, sia con che senza i target virali di coronavirus umani comuni, RSV, influenza A, influenza B, SARS-CoV-2, adenovirus, rinovirus, metapneumovirus umano e virus parainfluenzali umani 1, 2, 3 e 4, i quali sono stati aggiunti a una concentrazione di  $\sim 3 \times \text{LoD}$ .

Il test cobas® Respiratory flex ha prodotto risultati negativi per tutti i campioni dei microrganismi privi di target virale e risultati positivi per tutti i campioni dei microrganismi con target virale, aggiunto a una concentrazione di  $\sim 3 \times \text{LoD}$ .

**Tabella 29** Microrganismi analizzati ai fini della specificità analitica/reattività crociata

<b>Microrganismo</b>	<b>Concentrazione</b>
<i>Aspergillus flavus</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Bordetella parapertussis</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Bordetella pertussis</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Candida albicans</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1,00E+06 IFU/ml
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1,00E+06 CFU/ml
Citomegalovirus	1,00E+05 TCID <sub>50</sub> /ml
Virus di Epstein Barr	1,00E+05 cp/ml
<i>Escherichia coli</i>	1,00E+06 CFU/flacone
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1,00E+06 CFU/flacone
<i>Legionella pneumophila</i>	1,00E+06 CFU/ml
Virus del morbillo	1,00E+05 TCID <sub>50</sub> /ml
Coronavirus MERS	1,00E+05 cp/ml
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1,00E+06 CFU/ml
Virus della parotite	1,00E+05 TCID <sub>50</sub> /ml
<i>Mycobacterium bovis</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Mycoplasma genitalium</i>	1,00E+06 CFU/flacone
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,00E+06 CCU/ml
<i>Neisseria elongata</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Neisseria meningitidis</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	5,00E+03 organismi/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,00E+06 CFU/ml
SARS-coronavirus (SARS-CoV-1)	1,00E+05 cp/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Streptococcus salivarius</i>	1,00E+06 CFU/ml

## Specificità analitica e sostanze interferenti

Livelli elevati di mucina (0,3-0,5% p/v) e sangue intero (1,5-3,0% v/v) sono stati analizzati in una matrice clinica simulata stabilizzata in UTM-RT®, sia con che senza i target virali di coronavirus umani comuni, RSV, influenza A, influenza B, SARS-CoV-2, adenovirus, rinovirus, metapneumovirus umano e virus parainfluenzali umani 1, 2, 3 e 4 target, i quali sono stati aggiunti a una concentrazione di  $\sim 3 \times \text{LoD}$ . Le sostanze interferenti endogene che sono state analizzate non hanno interferito con le prestazioni del test cobas® Respiratory flex.

Inoltre i campioni clinici di tampone nasofaringeo negativi, prelevati in terreno di raccolta Remel (M4RT, M5 e M6) e nelle provette Greiner (VACUETTE® 3 ml Virus Stabilization Tube), sono stati analizzati come terreno di raccolta equivalente. I terreni di raccolta alternativi sono stati testati sia non arricchiti, sia arricchiti a una concentrazione di  $\sim 3 \times \text{LoD}$ . Nessuno dei terreni di raccolta alternativi ha interferito con le prestazioni del test cobas® Respiratory flex.

Inoltre i composti farmacologici elencati nella Tabella 30 sono stati analizzati sia con che senza tutti i target virali.

Nessuna delle sostanze potenzialmente interferenti, ad eccezione del FluMist® e del tabacco da fiuto, ha interferito con le prestazioni del test. Il test cobas® Respiratory flex ha prodotto risultati negativi per tutti i campioni privi di target virale e risultati positivi per tutti i campioni con target virale.

Come previsto, FluMist® Quadrivalent, un vaccino quadrivalente vivo somministrato come spray intranasale che contiene due ceppi virali del vaccino dell'influenza A e due dell'influenza B, ha prodotto risultati positivi per l'influenza A e l'influenza B e risultati negativi per tutti gli altri target, quando il test riguardava soltanto FluMist®.

Il tabacco da fiuto è stato identificato come potenziale sostanza interferente con il test cobas® Respiratory flex, in quanto ha prodotto risultati non validi quando il tabacco da fiuto è stato analizzato a una concentrazione dello 0,1% (p/v) senza target virale e risultati negativi/non validi quando sono stati analizzati campioni contenenti i target virali.

**Tabella 30** Composti farmacologici analizzati con riferimento all'interferenza con il test cobas® Respiratory flex

Nome generico del farmaco	Principio attivo	Concentrazione
AXOTIDE Diskus Multidose 250 mcg	Fluticasone propionato	0,167 mg/ml
BACTROBAN Unguento Nasale	Mupirocina	0,20 mg/ml
BUDESONID Sandoz Spray Nasale 64 mcg	Budesonide	0,039 mg/ml
CEPACOL Extra Strength Sore Throat (pastiglie forti per la gola)	Benzocaina	5 mg/ml
Chloraseptic Max (collutorio)	Fenolo	0,47 mg/ml
FLUMIST® Quadrivalent	Virus dell'influenza A e B vivi attenuati	50.000.000 FFU/ml
Heel Luffeel Spray Nasale	<i>Luffa operculata</i> <i>Thryallis glauca</i> Istamina Zolfo	2,99 mg/ml 2,99 mg/ml 1,5 mg/ml 1,5 mg/ml
NASIVIN Pur Spray 0,05%	Oximetazolina	0,011 mg/ml
OBRACIN Soluzione per iniezione 40 mg/ml	Tobramicina	0,018 mg/ml
RELENZA Disk 5 mg	Zanamivir	0,0015 mg/ml
TAMIFLU Capsule 75 mg	Osetamivir	0,0073 mg/ml
Tabacco da fiuto	Nicotina	0,1% p/v
Vaselina	Vaselina	1% p/v
VICKS VapoRub	Olio di eucalipto e mentolo	1% p/v
XYLOCAIN Spray 10%	Lidocaina	2,68 mg/ml

## Coinfezione (interferenza competitiva)

Per valutare la potenziale interferenza competitiva tra i target virali, sono stati analizzati 30 pannelli composti da varie combinazioni dei target del test cobas® Respiratory flex. Sono incluse le combinazioni di tutte le co-infezioni delle vie respiratorie rilevanti dal punto di vista clinico, elencate nella Tabella 31. Sono state analizzate 12 repliche con uno o due target virali a una concentrazione di  $\sim 3 \times \text{LoD}$ , miscelati con un target a una concentrazione elevata ( $1,0\text{E}+06$  unità/ml). Nessuno dei target presenti a una concentrazione altissima ha interferito con la rilevazione degli altri target virali a livelli di concentrazione bassi.

**Tabella 31** Combinazioni analizzate per identificare una potenziale inibizione competitiva

Combinazione	Target 1 (alto) $\geq 1,00\text{E}+06$ unità/ml	Target 2 (basso) $\sim 3 \times \text{LoD}$	Target 3 (basso) $\sim 3 \times \text{LoD}$
1	Influenza A	Adenovirus	SARS-CoV-2
2	Influenza B	Adenovirus	SARS-CoV-2
3	RSV	Adenovirus	SARS-CoV-2
4	Coronavirus umani comuni	Influenza A	SARS-CoV-2
5	Adenovirus	Influenza A	SARS-CoV-2
6	EV/RV	RSV	SARS-CoV-2
7	hMPV	RSV	SARS-CoV-2
8	SARS-CoV-2	EV/RV	Inf A
9	Influenza B	EV/RV	Inf A
10	RSV	EV/RV	Inf A
11	hPIV-1	Influenza B	Inf A
12	hPIV-2	Influenza B	Inf A
13	hPIV-3	SARS-CoV-2	Inf A
14	hPIV-4	SARS-CoV-2	Inf A
15	Influenza A	Coronavirus umani comuni	Inf B
16	SARS-CoV-2	Coronavirus umani comuni	Inf B
17	RSV	Coronavirus umani comuni	Inf B
18	CoV	RSV	Inf B
19	Adenovirus	RSV	Inf B
20	EV/RV	Influenza A	Inf B
21	hMPV	Influenza A	Inf B
22	Influenza A	EV/RV	RSV
23	Influenza B	CoV	RSV
24	SARS-CoV-2	Adenovirus	RSV
25	hPIV-1	SARS-CoV-2	RSV
26	hPIV-2	SARS-CoV-2	RSV
27	hPIV-3	Influenza B	RSV
28	hPIV-4	Influenza B	RSV
29	Adenovirus	EV/RV	-
30	EV/RV	Adenovirus	-

## Tasso globale d'errore del sistema

Il tasso globale d'errore del sistema per il test **cobas**® Respiratory flex è stato determinato analizzando 100 repliche di una matrice clinica simulata negativa arricchita con il target virale. Questi campioni sono stati analizzati a una concentrazione di  $\sim 3 \times \text{LoD}$ . I risultati di questo studio dimostrano che tutte le repliche erano valide e positive per i target virali corrispondenti, generando così un tasso globale d'errore del sistema dello 0% (intervallo di confidenza al 95% unilaterale superiore: 2,95%).

## Contaminazione crociata

Il tasso di contaminazione crociata del test **cobas**® Respiratory flex è stato determinato analizzando 480 repliche di una matrice clinica simulata negativa e 430 repliche di un pannello SARS-CoV-2 con titolo alto, a una concentrazione di circa  $6,50\text{E}+08$  particelle/ml. Complessivamente sono state eseguite 5 sedute sui sistemi **cobas**® 6800/8800 e 25 sedute sui sistemi **cobas**® 5800, con campioni positivi e negativi, in una configurazione a scacchiera. Tutte le 480 repliche del campione negativo sono risultate negative, generando così un tasso di contaminazione crociata dello 0% (intervallo di confidenza al 95% unilaterale superiore: 0,62%).

## Valutazione delle prestazioni cliniche

Le prestazioni cliniche del test cobas® Respiratory flex sui sistemi cobas® 5800/6800/8800 sono state valutate rispetto a test comparativi dotati di autorizzazione FDA 510(k) e marcatura CE, utilizzando campioni di tampone nasofaringeo (NPS) prelevati da pazienti sintomatici. La serie di campioni era composta da una combinazione di campioni prospettici che erano stati congelati prima di essere sottoposti al test cobas® Respiratory flex (campioni prospettici) e campioni di archivio retrospettivi che erano stati prelevati in UTM-RT® o UVT.

Complessivamente sono stati inclusi nello studio 1439 campioni NPS (884 prospettici e 555 di archivio), di cui 1360 idonei al test (824 prospettici e 536 di archivio) e infine 1306 valutabili (792 prospettici e 514 di archivio). Le prestazioni cliniche del test cobas® Respiratory flex sono state buone. Le rispettive stime puntuali per concordanza percentuale positiva (PPA) e concordanza percentuale negativa (NPA) tra il test cobas® Respiratory flex e i test comparativi corrispondenti per i diversi patogeni target sono riassunte nella Tabella 32.

**Tabella 32** Riepilogo dell'analisi della concordanza tra il test cobas® Respiratory flex e i test comparativi

Virus target	Categoria campione	PPA (a/a+b)	PPA IC 95%	NPA (c/c+d)	NPA IC 95%	OPA (a+d/N)	OPA IC 95%
Influenza A	Prospettici	100,0% (8/8)	(67,6%, 100,0%)	99,5% (779/783)	(98,7%, 99,8%)	99,5% (787/791)	(98,7%, 99,8%)
Influenza A	Di archivio	100,0% (44/44)	(92,0%, 100,0%)	98,2% (331/337)	(96,2%, 99,2%)	98,4% (375/381)	(96,6%, 99,3%)
<b>Influenza A</b>	<b>Generale</b>	<b>100,0% (52/52)</b>	<b>(93,1%, 100,0%)</b>	<b>99,1% (1110/1120)</b>	<b>(98,4%, 99,5%)</b>	<b>99,1% (1162/1172)</b>	<b>(98,4%, 99,5%)</b>
Influenza B	Prospettici	100,0% (1/1)	(20,7%, 100,0%)	100,0% (791/791)	(99,5%, 100,0%)	100,0% (792/792)	(99,5%, 100,0%)
Influenza B	Di archivio	100,0% (8/8)	(67,6%, 100,0%)	99,4% (361/363)	(98,0%, 99,8%)	99,5% (369/371)	(98,1%, 99,9%)
<b>Influenza B</b>	<b>Generale</b>	<b>100,0% (9/9)</b>	<b>(70,1%, 100,0%)</b>	<b>99,8% (1152/1154)</b>	<b>(99,4%, 100,0%)</b>	<b>99,8% (1161/1163)</b>	<b>(99,4%, 100,0%)</b>
RSV	Prospettici	33,3% (1/3)	(6,1%, 79,2%)	100,0% (789/789)	(99,5%, 100,0%)	99,7% (790/792)	(99,1%, 99,9%)
RSV	Di archivio	100,0% (47/47)	(92,4%, 100,0%)	99,4% (333/335)	(97,8%, 99,8%)	99,5% (380/382)	(98,1%, 99,9%)
<b>RSV</b>	<b>Generale</b>	<b>96,0% (48/50)</b>	<b>(86,5%, 98,9%)</b>	<b>99,8% (1122/1124)</b>	<b>(99,4%, 100,0%)</b>	<b>99,7% (1170/1174)</b>	<b>(99,1%, 99,9%)</b>
SARS-CoV-2	Prospettici	97,4% (76/78)	(91,1%, 99,3%)	98,2% (701/714)	(96,9%, 98,9%)	98,1% (777/792)	(96,9%, 98,8%)
SARS-CoV-2	Di archivio	100,0% (47/47)	(92,4%, 100,0%)	0/0	Non calcolabile	100,0% (47/47)	(92,4%, 100,0%)
<b>SARS-CoV-2</b>	<b>Generale</b>	<b>98,4% (123/125)</b>	<b>(94,4%, 99,6%)</b>	<b>98,2% (701/714)</b>	<b>(96,9%, 98,9%)</b>	<b>98,2% (824/839)</b>	<b>(97,1%, 98,9%)</b>
Adenovirus	Prospettici	100,0% (2/2)	(34,2%, 100,0%)	99,6% (785/788)	(98,9%, 99,9%)	99,6% (787/790)	(98,9%, 99,9%)
Adenovirus	Di archivio	100,0% (37/37)	(90,6%, 100,0%)	95,6% (328/343)	(92,9%, 97,3%)	96,1% (365/380)	(93,6%, 97,6%)
<b>Adenovirus</b>	<b>Generale</b>	<b>100,0% (39/39)</b>	<b>(91,0%, 100,0%)</b>	<b>98,4% (1113/1131)</b>	<b>(97,5%, 99,0%)</b>	<b>98,5% (1152/1170)</b>	<b>(97,6%, 99,0%)</b>

Virus target	Categoria campione	PPA (a/a+b)	PPA IC 95%	NPA (c/c+d)	NPA IC 95%	OPA (a+d/N)	OPA IC 95%
Metapneumovirus umano	Prospettici	90,9% (10/11)	(62,3%, 98,4%)	99,9% (780/781)	(99,3%, 100,0%)	99,7% (790/792)	(99,1%, 99,9%)
Metapneumovirus umano	Di archivio	97,7% (42/43)	(87,9%, 99,6%)	99,7% (334/335)	(98,3%, 99,9%)	99,5% (376/378)	(98,1%, 99,9%)
<b>Metapneumovirus umano</b>	<b>Generale</b>	<b>96,3% (52/54)</b>	<b>(87,5%, 99,0%)</b>	<b>99,8% (1114/1116)</b>	<b>(99,3%, 100,0%)</b>	<b>99,7% (1166/1170)</b>	<b>(99,1%, 99,9%)</b>
Enterovirus e rinovirus	Prospettici	77,0% (47/61)	(65,1%, 85,8%)	99,2% (725/731)	(98,2%, 99,6%)	97,5% (772/792)	(96,1%, 98,4%)
Enterovirus e rinovirus	Di archivio	96,9% (31/32)	(84,3%, 99,4%)	96,8% (332/343)	(94,3%, 98,2%)	96,8% (363/375)	(94,5%, 98,2%)
<b>Enterovirus e rinovirus</b>	<b>Generale</b>	<b>83,9% (78/93)</b>	<b>(75,1%, 90,0%)</b>	<b>98,4% (1057/1074)</b>	<b>(97,5%, 99,0%)</b>	<b>97,3% (1135/1167)</b>	<b>(96,2%, 98,1%)</b>
Coronavirus umani comuni (229E, HKU1, NL63, OC43)	Prospettici	90,0% (18/20)	(69,9%, 97,2%)	99,9% (771/772)	(99,3%, 100,0%)	99,6% (789/792)	(98,9%, 99,9%)
Coronavirus umani comuni (229E, HKU1, NL63, OC43)	Di archivio	98,4% (63/64)	(91,7%, 99,7%)	91,0% (283/311)	(87,3%, 93,7%)	92,3% (346/375)	(89,1%, 94,6%)
<b>Coronavirus umani comuni (229E, HKU1, NL63, OC43)</b>	<b>Generale</b>	<b>96,4% (81/84)</b>	<b>(90,0%, 98,8%)</b>	<b>97,3% (1054/1083)</b>	<b>(96,2%, 98,1%)</b>	<b>97,3% (1135/1167)</b>	<b>(96,2%, 98,1%)</b>
Virus parainfluenzale 1	Prospettici	0/0	Non calcolabile	100,0% (792/792)	(99,5%, 100,0%)	100,0% (792/792)	(99,5%, 100,0%)
Virus parainfluenzale 1	Di archivio	100,0% (40/40)	(91,2%, 100,0%)	97,6% (327/335)	(95,4%, 98,8%)	97,9% (367/375)	(95,8%, 98,9%)
<b>Virus parainfluenzale 1</b>	<b>Generale</b>	<b>100,0% (40/40)</b>	<b>(91,2%, 100,0%)</b>	<b>99,3% (1119/1127)</b>	<b>(98,6%, 99,6%)</b>	<b>99,3% (1159/1167)</b>	<b>(98,7%, 99,7%)</b>
Virus parainfluenzale 2	Prospettici	100,0% (2/2)	(34,2%, 100,0%)	100,0% (790/790)	(99,5%, 100,0%)	100,0% (792/792)	(99,5%, 100,0%)
Virus parainfluenzale 2	Di archivio	100,0% (44/44)	(92,0%, 100,0%)	98,5% (330/335)	(96,6%, 99,4%)	98,7% (374/379)	(96,9%, 99,4%)
<b>Virus parainfluenzale 2</b>	<b>Generale</b>	<b>100,0% (46/46)</b>	<b>(92,3%, 100,0%)</b>	<b>99,6% (1120/1125)</b>	<b>(99,0%, 99,8%)</b>	<b>99,6% (1166/1171)</b>	<b>(99,0%, 99,8%)</b>
Virus parainfluenzale 3	Prospettici	100,0% (5/5)	(56,6%, 100,0%)	100,0% (787/787)	(99,5%, 100,0%)	100,0% (792/792)	(99,5%, 100,0%)
Virus parainfluenzale 3	Di archivio	95,3% (41/43)	(84,5%, 98,7%)	99,7% (336/337)	(98,3%, 99,9%)	99,2% (377/380)	(97,7%, 99,7%)
<b>Virus parainfluenzale 3</b>	<b>Generale</b>	<b>95,8% (46/48)</b>	<b>(86,0%, 98,8%)</b>	<b>99,9% (1123/1124)</b>	<b>(99,5%, 100,0%)</b>	<b>99,7% (1169/1172)</b>	<b>(99,3%, 99,9%)</b>
Virus parainfluenzale 4	Prospettici	100,0% (1/1)	(20,7%, 100,0%)	100,0% (791/791)	(99,5%, 100,0%)	100,0% (792/792)	(99,5%, 100,0%)
Virus parainfluenzale 4	Di archivio	97,3% (36/37)	(86,2%, 99,5%)	98,3% (337/343)	(96,2%, 99,2%)	98,2% (373/380)	(96,2%, 99,1%)
<b>Virus parainfluenzale 4</b>	<b>Generale</b>	<b>97,4% (37/38)</b>	<b>(86,5%, 99,5%)</b>	<b>99,5% (1128/1134)</b>	<b>(98,9%, 99,8%)</b>	<b>99,4% (1165/1172)</b>	<b>(98,8%, 99,7%)</b>

Nota: a = numero di campioni con risultati positivi sia per il test cobas® Respiratory flex che per i test comparativi; b = numero di campioni con risultato negativo per il test cobas® Respiratory flex e positivo per il test comparativo; c = numero di campioni con risultato positivo per il test cobas® Respiratory flex e negativo per il test comparativo; d = numero di campioni con risultati negativi sia per il test cobas® Respiratory flex che per i test comparativi; N = numero totale di campioni appaiati. PPA: concordanza percentuale positiva. NPA: concordanza percentuale negativa. OPA: concordanza percentuale totale.

RSV: virus respiratorio sinciziale; SARS-CoV-2: coronavirus da sindrome respiratoria acuta grave 2.

Complessivamente sono stati generati 140 risultati discrepanti tra il test **cobas**® Respiratory flex e il test comparativo corrispondente: 113 risultati positivi per il test **cobas**® Respiratory flex e negativi per il test comparativo; 27 risultati negativi per il test **cobas**® Respiratory flex e positivi per il test comparativo. Dopo ulteriori test dei campioni utilizzando un test alternativo dotato di autorizzazione 510(k) e marcatura CE e/o con il sequenziamento del DNA degli ampliconi, l'analisi dei risultati discrepanti dei 113 campioni positivi per il test **cobas**® Respiratory flex ha confermato la presenza degli organismi target in 104 campioni. A causa del volume di campione limitato, non è stato possibile eseguire l'analisi della discrepanza sui restanti 9 campioni. Un'ampia maggioranza (96 campioni su 113, pari all'85,0%) di questi risultati discrepanti del test **cobas**® Respiratory flex erano presumibilmente campioni con titolo basso ( $Ct > 30$ ) (concentrazione uguale o prossima al LoD del test candidato e dei test comparativi), dove le differenze tra i LoD analitici dei differenti metodi possono determinare eventuali discrepanze.

A causa del volume di campione limitato, non è stato possibile eseguire l'analisi della discrepanza su 1 dei 27 campioni negativi per il test **cobas**® Respiratory flex. Sui restanti 26 campioni negativi per il test **cobas**® Respiratory flex è stata eseguita l'analisi della discordanza, utilizzando alcuni test NAAT alternativi dotati di autorizzazione 510(k) e marcatura CE. L'analisi della discordanza ha confermato il risultato iniziale del test **cobas**® Respiratory flex in 16 campioni e ha confermato i risultati del test comparativo in 10 campioni.

La Tabella 33 mostra le istanze della rilevazione di virus multipli da parte del test **cobas**® Respiratory flex. La combinazione identificata con maggiore frequenza, riscontrata in 9 campioni, è stata una combinazione di adenovirus e rinovirus/enterovirus. Di queste, 6 sono state rilevate anche da un test comparativo.

**Tabella 33** Rilevazione di virus multipli ( $\geq 3$  istanze) da parte del test **cobas**® Respiratory flex

Analita 1	Analita 2	Rilevazioni multiple totali	Numero di campioni con rilevazioni false positive	Analita/i falsi positivi
Adenovirus	Rinovirus/enterovirus	9	3	Rinovirus/enterovirus (1), adenovirus (2)
Virus respiratorio sinciziale	Rinovirus/enterovirus	8	3	Rinovirus/enterovirus (2), virus respiratorio sinciziale (1)
Adenovirus	Virus respiratorio sinciziale	6	5	Adenovirus (5)
Virus parainfluenzale umano 1	Rinovirus/enterovirus	6	3	Rinovirus/enterovirus (1), virus parainfluenzale umano 1 (2)
Coronavirus	Influenza A	5	3	Influenza A (1), Coronavirus (2)
Coronavirus	Virus respiratorio sinciziale	5	4	Coronavirus (4), virus respiratorio sinciziale (1)
Coronavirus	Rinovirus/enterovirus	5	4	Coronavirus (4), rinovirus/enterovirus (1)
Adenovirus	Coronavirus	4	2	Adenovirus (2)
Adenovirus	Metapneumovirus umano	3	1	Adenovirus (1)
Coronavirus	Metapneumovirus umano	3	1	Coronavirus (1)
Coronavirus	Virus parainfluenzale umano 3	3	2	Coronavirus (2)
Coronavirus	SARS-CoV-2	3	1	Coronavirus (1)
Virus parainfluenzale umano 1	Influenza A	3	2	Virus parainfluenzale umano 1 (2)

Nota: per falso positivo si intende un campione che viene rilevato dal test **cobas**® Respiratory flex ma non da un test comparativo.

---

## Informazioni supplementari

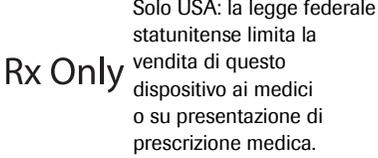
### Caratteristiche del test

<b>Tipo di campione</b>	Campioni di tampone nasofaringeo prelevati in Copan UTM-RT® System o BD™ UVT System o un terreno di raccolta equivalente, diluiti in soluzione <b>cobas®</b> MIS
<b>Quantità di campione richiesta</b>	1,2 ml (0,4 ml di campione del paziente diluito in 0,8 ml di soluzione <b>cobas®</b> MIS)
<b>Volume di analisi del campione</b>	0,85 ml

## Simboli

I seguenti simboli appaiono su tutte le confezioni dei prodotti diagnostici PCR di Roche.

**Tabella 34** Simboli sulle etichette dei prodotti Roche per la diagnostica mediante PCR

 <b>Age/DOB</b> Età o data di nascita	 Dispositivo non idoneo ai test POC	 <b>QS IU/PCR</b> UI QS per reazione PCR; utilizzare le unità internazionali (UI) QS per la reazione PCR nel calcolo dei risultati.
 Software ausiliario	 Dispositivo non idoneo all'autodiagnosi	 <b>SN</b> Numero di serie
 <b>Assigned Range [copies/mL]</b> Intervallo assegnato (copie/mL)	 Distributore <i>(Nota: il paese e/o la regione applicabili potrebbero essere indicati sotto il simbolo.)</i>	 <b>Site</b> Sede
 <b>Assigned Range [IU/mL]</b> Intervallo assegnato (UI/mL)	 Non riutilizzare	 <b>Procedure Standard</b> Procedura standard
 <b>EC REP</b> Mandatario nella Comunità Europea	 Femmina	 <b>STERILE EO</b> Sterilizzazione con ossido di etilene
 <b>BARCODE</b> Foglio di dati del barcode	 Solo per valutazione delle prestazioni IVD	 Conservare al buio
 <b>LOT</b> Codice del lotto	 <b>GTIN</b> Global Trade Item Number	 Limiti di temperatura
 Rischio biologico	 Importatore	 <b>TDF</b> File di definizione del test
 <b>REF</b> Numero di catalogo	 <b>IVD</b> Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>	 Alto
 Contrassegno di conformità CE: questo dispositivo è conforme ai requisiti pertinenti del marchio CE relativamente ai dispositivi medico-diagnostici <i>in vitro</i>	 <b>LLR</b> Limite inferiore dell'intervallo assegnato	 <b>Procedure UltraSensitive</b> Procedura ultrasensibile
 <b>Collect Date</b> Data di raccolta	 Maschio	 <b>UDI</b> Identificativo unico del dispositivo
 Consultare le istruzioni per l'uso	 Produttore	 <b>ULR</b> Limite superiore dell'intervallo assegnato
 Contenuto sufficiente per <n> test	 <b>CONTROL -</b> Controllo negativo	 <b>Urine Fill Line</b> Riga di riempimento urina
 <b>CONTENT</b> Contenuto del kit	 Non sterile	 Solo USA: la legge federale statunitense limita la vendita di questo dispositivo ai medici o su presentazione di prescrizione medica.
 <b>CONTROL</b> Controllo	 Nome del paziente	 Utilizzare entro la data
 Data di produzione	 Numero del paziente	
 Dispositivo idoneo ai test POC	 Staccare qui	
 Dispositivo idoneo all'autodiagnosi	 <b>CONTROL +</b> Controllo positivo	
	 <b>QS copies / PCR</b> Copie QS per reazione PCR; usare le copie QS per reazione PCR nel calcolo dei risultati.	

## Assistenza tecnica

Per richiedere assistenza tecnica, contattare la nostra filiale locale:

[https://www.roche.com/about/business/roche\\_worldwide.htm](https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm)

## Produttore e importatore

### Tabella 35 Produttore e importatore



Roche Molecular Systems, Inc.  
1080 US Highway 202 South  
Branchburg, NJ 08876, USA  
[www.roche.com](http://www.roche.com)

Prodotto in USA



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
68305 Mannheim, Germany

## Marchi e brevetti

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

## Copyright

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Str. 116  
68305 Mannheim  
Germany



## Bibliografia

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

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

## Revisione del documento

Informazioni sulla revisione del documento	
Doc. Rev. 1.0 09/2024	Prima pubblicazione.

Per prendere visione del report sintetico sulla sicurezza e sulle prestazioni, utilizzare il seguente collegamento:

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