



Rx Only

cobas[®] Influenza A/B & RSV UC

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

Para diagnóstico *in vitro*

cobas[®] Influenza A/B & RSV UC	P/N: 09233962190
cobas[®] Influenza A/B & RSV UC Control Kit	P/N: 09356525190
cobas omni Utility Channel Reagent Kit	P/N: 09052011190
cobas[®] Buffer Negative Control Kit	P/N: 07002238190

Tabla de contenido

Uso previsto	4
Resumen y explicación de la prueba	4
Reactivos y materiales	7
Reactivos y controles de cobas® Influenza A/B & RSV UC	7
Reactivos cobas omni para la preparación de muestras	9
Requisitos de almacenamiento y manipulación	10
Material adicional necesario	11
Instrumentos y software necesarios	11
Precauciones y requisitos de manipulación	12
Advertencias y precauciones	12
Manipulación de reactivos	12
Buenas prácticas de laboratorio	13
Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras	13
Recogida de muestras	13
Transporte y almacenamiento	13
Instrucciones de uso	14
Notas sobre el procedimiento	14
Ejecución de la prueba cobas® Influenza A/B & RSV UC	14
Preparación del casete de reactivo	16
Prepare las muestras y los controles	17
Defina la petición de la prueba	18
Resultados	19
Control de calidad y validez de los resultados	19
Interpretación de los resultados	19
Limitaciones del procedimiento	20

Evaluación no clínica del rendimiento	22
Características clave de rendimiento	22
Límite de detección (LoD)	22
Precisión intralaboratorio	23
Inclusividad	27
Especificidad analítica (reactividad cruzada e interferencia microbiana)	28
Sustancias interferentes	30
Coinfección (interferencia competitiva)	31
Fallo de todo el sistema	31
Evaluación clínica del rendimiento	32
Información adicional	33
Características principales de la prueba	33
Símbolos	34
Asistencia técnica	35
Fabricante y distribuidores	35
Marcas registradas y patentes	35
Copyright	35
Bibliografía	36
Revisión del documento	38

Uso previsto

La prueba cobas® Influenza A/B & RSV UC Qualitative Nucleic Acid para uso con el cobas omni Utility Channel en los cobas® 6800/8800 Systems es un ensayo multiplex automatizado que utiliza la reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa a tiempo real (RT-PCR) para la detección y discriminación cualitativas *in vitro* tempranas de ARN del virus de la influenza A, la influenza B y el virus respiratorio sincitial (RSV) en muestras de exudado nasofaríngeo de pacientes con signos y síntomas de infección respiratoria junto factores de riesgo clínicos y epidemiológicos. La prueba se ha concebido como complemento del diagnóstico y la diferenciación de la influenza A, la influenza B y el RSV en humanos y no tiene como finalidad detectar el virus de la influenza C.

Los resultados negativos no excluyen la infección por el virus de la influenza y no deberían utilizarse como fundamento único para el tratamiento o la adopción de otras decisiones relativas al tratamiento de los pacientes. En cambio, los resultados positivos no descartan infecciones bacterianas o la coinfección con otros virus. Existe la posibilidad de que el agente detectado no sea la causa de la enfermedad.

La prueba cobas® Influenza A/B & RSV UC Qualitative Nucleic Acid para uso con el cobas omni Utility Channel en los cobas® 6800/8800 Systems se ha diseñado para uso profesional en entornos de laboratorios clínicos.

Resumen y explicación de la prueba

Información de referencia

La influenza y las infecciones del tracto respiratorio inferior son causas significativas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo.¹⁻⁴ Se estima que el virus de la influenza provoca más de mil millones de infecciones y 500.000 muertes cada año, especialmente en bebés y niños, personas mayores y personas con condiciones médicas existentes como una enfermedad crónica de los pulmones.^{3,4} El virus de la influenza tipo A y B puede provocar epidemias humanas; no obstante, en el caso de la mayoría de las epidemias humanas, la aparición de nuevas cepas y la mayor carga de morbilidad de la enfermedad se atribuye al tipo A.^{3,4}

El virus respiratorio sincitial es una de las principales causas de infecciones del tracto respiratorio inferior y de hospitalizaciones de bebés y niños, la mayoría de los cuales ha padecido una infección por RSV antes de los dos años.⁵⁻⁷ En niños de cinco años o menos se registran más de 3 millones de hospitalizaciones y más de 100.000 muertes estimadas en todo el mundo por infecciones del RSV en el tracto respiratorio inferior.⁵ Más recientemente, debido en parte a las mejoras en el diagnóstico, el RSV también se ha relacionado con una significativa carga de morbilidad e impacto económico sanitario en personas adultas.⁸

Se precisan un diagnóstico y una diferenciación efectivos de infecciones de influenza y RSV respecto a otros patógenos respiratorios en pacientes vulnerables para abordar esta carga tan significativa.⁹ La estacionalidad global de las epidemias de influenza y RSV se solapa, produciéndose picos de actividad infecciosa en los meses de invierno de los climas cálidos de los hemisferios Norte y Sur.¹⁰ Por otra parte, los signos y síntomas infecciosos de los virus influenza y RSV a menudo resultan insuficientes para realizar un diagnóstico definitivo o distinguir clínicamente entre síntomas “tipo influenza” y de “resfriado común” tales como fiebre, tos, congestión o cansancio que pueden estar presentes en pacientes infectados con el virus de la influenza o el RSV, junto con muchos otros patógenos respiratorios virales y bacterianos.⁹ Una detección temprana y precisa de las infecciones por influenza y RSV puede ayudar a gestionar el uso de antivirales e implementar medidas de control de la infección; evitar el uso inadecuado de antibióticos; reducir el número de pruebas auxiliares y hospitalizaciones e identificar con mayor rapidez epidemias locales de la enfermedad.⁹

Motivos para el uso de la prueba de PCR

El diagnóstico tradicional mediante pruebas rápidas de detección de antígenos para el virus de la influenza y el RSV ofrece una sensibilidad inferior a la de los nuevos métodos moleculares rápidos.^{11, 12} Una gestión médica rápida y un control efectivo de la infección exigen una solución de diagnóstico rápida, precisa, de alto rendimiento y fácil de utilizar que permita detectar el virus de la influenza y el RSV en pacientes de riesgo de cualquier edad con síntomas respiratorios agudos.¹³ Gracias a su rendimiento clínico mejorado, los métodos de pruebas moleculares de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT) como los basados en la reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa a tiempo real (RT-PCR) se han convertido en el método preferido de los laboratorios para la detección de la influenza y el RSV en detrimento de los métodos intensivos basados en cultivos.^{14, 15}

Explicación de la prueba

La prueba cualitativa de ácidos nucleicos **cobas**® Influenza A/B & RSV UC para uso con el **cobas omni** Utility Channel en los **cobas**® 6800/8800 Systems es un ensayo multiplex automatizado que utiliza la reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa a tiempo real (RT-PCR) para la detección y discriminación cualitativas in vitro de ARN del virus de la influenza A, la influenza B y el virus respiratorio sincitial (RSV) en muestras de exudado nasofaríngeo obtenidas en sistema de medio de transporte universal (UTM-RT) de Copan, en medio de transporte universal de virus (UVT) de BD™ o equivalente. El control interno de ARN, utilizado para supervisar el proceso completo de preparación de la muestra y amplificación de la PCR, se introduce en cada muestra durante el procesamiento. Además, la prueba utiliza controles externos (control positivo de título bajo y un control negativo).

Principios del procedimiento

La prueba **cobas**® Influenza A/B & RSV UC para uso en el **cobas omni** Utility Channel se basa en la preparación de muestras totalmente automática (extracción y purificación de ácidos nucleicos) seguida de un proceso de amplificación y detección mediante PCR. Los **cobas**® 6800/8800 Systems constan del módulo de suministro de muestras, el módulo de transferencia, el módulo de procesamiento y el módulo analítico. La gestión de datos automática se realiza mediante el software **cobas**® 6800/8800 Systems, que asigna los resultados de las pruebas para todas las pruebas. Los resultados pueden revisarse directamente en la pantalla del sistema y luego imprimirse como informe.

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

La prueba **cobas**® Influenza A/B & RSV UC contiene los cebadores y las sondas de la influenza A, influenza B y el RSV que se utilizan en combinación con el reactivo 2 de Master Mix de **cobas omni** Utility Channel (UC MMX-R2) y el casete para 192 pruebas incluido en el **cobas omni** Utility Channel Reagent Kit. El casete para 192 pruebas contiene un control interno reconocido por cebadores y sondas específicos incluidos en el reactivo 2 de Master Mix de **cobas omni** Utility Channel (UC MMX-R2).

La amplificación selectiva del ácido nucleico diana del virus de la influenza A e influenza B de la muestra se consigue mediante cebadores que van en un sentido y en sentido contrario específicos para la diana para las proteínas de la matriz 1 y 2 (M1/M2) en el caso de la influenza A y los genes de la proteína de exportación nuclear (NEP)/proteína no estructural 1 (NS1) en el caso de la influenza B. En el caso del RSV, la amplificación selectiva de los ácidos nucleicos de la diana de la muestra se lleva a cabo mediante cebadores que van en un sentido y en sentido contrario específicos de la diana para las secuencias de la proteína de la matriz del RSV. La amplificación selectiva del control interno de ARN se consigue mediante el uso de cebadores que van en un sentido y en sentido contrario específicos para una secuencia no competitiva y que no tienen homología con los genomas del RSV o de la influenza. La diana amplificada se detecta mediante la escisión de la sonda oligonucleótida marcada con fluorescencia. Para el proceso de amplificación se utiliza una enzima ADN polimerasa termoestable.

La Master Mix preparada de cobas® Influenza A/B & RSV UC contiene sondas de detección específicas para el virus de influenza A, influenza B, el RSV y el ácido nucleico del control interno de ARN. Las sondas de detección de la influenza A, la influenza B, el RSV y el control interno de ARN se marcan con marcadores fluorescentes exclusivos que actúan como emisores. Además, cada sonda dispone de un segundo marcador que actúa como silenciador. Cuando no se unen a la secuencia diana, las señales fluorescentes de las sondas intactas se eliminan mediante el marcador silenciador. Durante el paso de amplificación mediante PCR, la hibridación de las sondas con la plantilla específica de ADN monocatenario provoca la escisión de la sonda por la actividad de la exonucleasa 5' a 3' de la ADN polimerasa, lo que produce la separación de los marcadores emisor y silenciador y la emisión de una señal fluorescente. Con cada ciclo de PCR, se generan cantidades crecientes de sondas escindidas y la señal acumulada del marcador emisor aumenta concomitantemente. Los dos marcadores emisores se miden en longitudes de onda definidas, lo que permite detectar y discriminar simultáneamente la diana amplificada y el control interno del ARN. El reactivo de Master Mix incluye trifosfato de deoxiuridina (dUTP), en lugar de trifosfato desoxitimidina (dTTP), que se incorpora al ADN recién sintetizado (amplicón). La enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa), que se incluye en la Master Mix para PCR cuando se calienta durante la primera ciclación térmica, destruye los amplicones contaminados de las series de PCR anteriores. Sin embargo, los amplicones nuevos no se destruyen porque la enzima AmpErase se inactiva cuando se expone a temperaturas superiores a los 55 °C.

Reactivos y materiales

Los materiales suministrados para cobas® Influenza A/B & RSV se detallan en la Tabla 1. Los materiales necesarios no proporcionados se indican en la Tabla 2, Tabla 3, Tabla 4, Tabla 5 y la Tabla 9.

Consulte el apartado **Reactivos y materiales** y el apartado **Precauciones y requisitos de manipulación** para conocer la información sobre peligros del producto.

Reactivos y controles de cobas® Influenza A/B & RSV UC

Todos los reactivos y controles sin abrir deben almacenarse como se recomienda desde la Tabla 1 hasta la Tabla 5.

Tabla 1 cobas® Influenza A/B & RSV UC (cebadores y sondas)

Almacenar a 2-8 °C

Cebadores y sondas (P/N 09233962190)

Componentes del kit	Composición del reactivo	Cantidad por kit 192 pruebas
INFLUENZA A/B & RSV UC PP (FluA/B-RSV)	Buffer TE, < 0,02 % de cebadores que van en un sentido y en sentido contrario para influenza A, < 0,02 % de cebadores que van en un sentido y en sentido contrario para influenza B, < 0,02 % de cebadores que van en un sentido y en sentido contrario para RSV, < 0,01 % de sondas oligonucleótidas marcadas con fluorescente específicas para influenza A, influenza B, RSV y el control interno de ARN, < 0,1 % de azida sódica	1 × 0,65 ml

Tabla 2 cobas® Influenza A/B & RSV UC Control Kit

Almacenar a 2-8 °C

(P/N: 09356525190)

Componentes del kit	Composición del reactivo	Cantidad por kit
INFLUENZA A/B & RSV UC (+) C (FluA/B-RSV (+) C)	< 0,001 % de ADN sintético (plasmídico) para influenza A, ADN de influenza B y ADN de RSV en buffer Tris, < 0,1 % de azida sódica, EDTA, < 0,002 % de ARN poli Ar (sintético)	16 ml (10 × 1,6 ml)

Tabla 3 cobas omni Utility Channel Reagent Kit (UC)

Almacenar a 2-8 °C

(P/N: 09052011190)

Reactivos	Composición del reactivo	Cantidad por kit de 192 pruebas
Casete para 192 pruebas		
Solución de proteinasa (PASE)	Buffer Tris, < 0,05 % de EDTA, cloruro de calcio, acetato de calcio, 8 % (p/v) de proteinasa EUH210: Puede solicitarse la ficha de datos de seguridad. EUH208: Contiene subtilisina. Puede provocar una reacción alérgica.	22,3 ml
Control interno de ARN (RNA-QS)	Buffer Tris, < 0,05 % de EDTA, < 0,001 % de constructo de Armored RNA que contiene regiones de secuencia específicas del cebador y la sonda (ARN no infeccioso encapsulado en bacteriófago MS2), < 0,1 % de azida sódica	21,2 ml
Buffer de elución (EB)	Buffer Tris, 0,2 % de metil-4-hidroxibenzoato	21,2 ml
Reactivo 1 de Master Mix (MMX-R1)	Acetato de manganeso, hidróxido potásico, < 0,1 % de azida sódica	7,5 ml
Recipiente vacío de R2 (R2 EV)	N/D	1
Botella de reactivo 2 de Master Mix		
Reactivo 2 de Master Mix de cobas omni Utility Channel (UC MMX-R2)	Buffer Tricina, acetato de potasio, < 18 % de sulfóxido de dimetilo, glicerol, < 0,1 % de Tween 20, EDTA, < 0,12 % de dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,01 % de cebadores que van en un sentido y en otro para el control interno, < 0,01 % de sondas oligonucleótidas marcadas con fluorescente específicas para IC de ARN, < 0,01 % de aptámero oligonucleótido, < 0,01 % de ADN polimerasa Z05D, < 0,1 % de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana), < 0,1 % de azida sódica	19,6 ml (2 × 9,8 ml)

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

Almacenar a 2-8 °C

(P/N 07002238190)

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

Reactivos cobas omni para la preparación de muestras

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

Reactivos	Composición del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997546190)	Partículas de vidrio magnéticas, buffer Tris, 0,1 % de metil-4 hidroxibenzoato, < 0,1 % de azida sódica	480 pruebas	No aplicable
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997511190)	Buffer Tris, 0,1 % de metil-4 hidroxibenzoato, < 0,1 % de azida sódica	4 × 875 ml	No aplicable
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997538190)	43 % (p/p) de tiocianato de guanidina***, 5 % (p/v) de polidocanol***, 2 % (p/v) de ditiotretol***, citrato de sodio dihidratado	4 × 875 ml	 PELIGRO H302 + H332: Nocivo en caso de ingestión o inhalación. H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. H411: Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. EUH032: En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos. P273: Evítese su liberación al medio ambiente. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección/protección para los oídos. P303 + P361 + P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua. P304 + P340 + P310: EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P305 + P351 + P338 + P310: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P391: Recoger los derrames. 593-84-0 Tiocianato de guanidina 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol
cobas omni Wash Reagent (WASH) Almacenar a 15-30 °C (P/N: 06997503190)	Citrato de sodio dihidratado, 0,1 % de metil-4-hidroxibenzoato	4,2 l	No aplicable

* Estos reactivos no están incluidos en el kit de la prueba **cobas®** Influenza A/B & RSV UC. Consulte el listado de material adicional necesario (Tabla 8).

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

*** Sustancia peligrosa.

Requisitos de almacenamiento y manipulación

Os reactivos deben almacenarse y manipularse según las indicaciones de la Tabla 6 y la Tabla 7.

Cuando los reactivos no están cargados en los cobas® 6800/8800 Systems, almacénelos a la temperatura correspondiente especificada en la Tabla 6.

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

Reactivo	Temperatura de almacenamiento
cobas® Influenza A/B & RSV UC ^a	2-8 °C
cobas® Influenza A/B & RSV UC Control Kit	2-8 °C
cobas omni Utility Channel Reagent Kit	2-8 °C
cobas® Buffer Negative Control Kit	2-8 °C
cobas omni Lysis Reagent	2-8 °C
cobas omni MGP Reagent	2-8 °C
cobas omni Specimen Diluent	2-8 °C
cobas omni Wash Reagent	15-30 °C

^a El casete de reactivo preparado puede almacenarse un máximo de 30 días a 2-8 °C antes del primer uso. Después del primer uso, consulte las condiciones de caducidad de cobas omni Utility Channel Reagent Kit en la Tabla 7.

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

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

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

^a Reactivos no caducados

^b Reactivos de un solo uso

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

Material adicional necesario

Tabla 8 Materiales y fungibles para el uso en los **cobas®** 6800/8800 Systems

Material	P/N
cobas omni Processing Plate	05534917001
cobas omni Amplification Plate	05534941001
cobas omni Pipette Tips	05534925001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Bolsa para residuos sólidos y recipiente de residuos sólidos o Bolsa para residuos sólidos con complemento y actualización del kit del cajón de residuos sólidos	07435967001 y 07094361001 o 08030073001 y 08387281001
Tubos secundarios cobas omni 13 × 75 (opcional)	06438776001

Instrumentos y software necesarios

Es necesario instalar el software **cobas®** 6800/8800 y el paquete de análisis **cobas®** Influenza A/B & RSV UC en los instrumentos. El IG (Instrument Gateway) se suministra con el sistema.

Tabla 9 Instrumentos

Equipo	P/N
cobas® 6800 System (opción móvil)	05524245001 y 06379672001
cobas® 6800 System (fijo)	05524245001 y 06379664001
cobas® 8800 System	05412722001
Módulo de suministro de muestras	06301037001
Instrument Gateway	06349595001
TWN3 Legic NFC USB (Lector/Grabador de RFID)	07450460001
PC externo con conexión remota suministrado por el cliente	N/D
Impresora de código de barras	N/D

Para obtener información adicional, consulte la Asistencia al usuario o la Guía del usuario de los **cobas®** 6800/8800 Systems.

Nota: póngase en contacto con su representante local de Roche para obtener una lista de pedido detallada para racks de muestras, racks para puntas obstruidas y bandejas de racks compatibles con cada instrumento.

Precauciones y requisitos de manipulación

Advertencias y precauciones

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

- Para diagnóstico *in vitro* exclusivamente.
- Todas las muestras de paciente deben tratarse como si fueran infecciosas, utilizando los procedimientos de laboratorio recomendados tal como se describe en la publicación Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories y en el documento M29-A4 del CLSI.^{16, 17} Solamente el personal competente en la manipulación de material biopeligroso y en el uso de la prueba cobas® Influenza A/B & RSV UC y los cobas® 6800/8800 Systems deberían llevar a cabo este procedimiento.
- Todos los materiales de origen humano deben considerarse potencialmente infecciosos y manipularse teniendo en cuenta las precauciones generales. En caso de que se produzca un derrame, desinfecte de inmediato con una solución recién preparada de hipoclorito de sodio al 0,5 % en agua destilada o desionizada (lejía doméstica diluida a 1:10) o siga los procedimientos apropiados del laboratorio.
- Se recomienda la utilización de pipetas estériles desechables y puntas de pipetas sin nucleasa. Utilice solo el material fungible suministrado o que se requiera expresamente para garantizar el óptimo rendimiento de la prueba.
- Puede solicitar Hojas de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) al representante local de Roche.
- Siga al pie de la letra los procedimientos y las directrices que se suministran para garantizar la correcta realización de la prueba. Cualquier variación de dichos procedimientos y directrices podría afectar al rendimiento óptimo de la prueba.
- Podrían producirse resultados falsos positivos si no se evita la contaminación por arrastre de las muestras durante la manipulación y el procesamiento de las mismas.
- Informe a la autoridad competente local de cualquier incidente grave que pueda tener lugar durante la realización del ensayo.

Manipulación de reactivos

- Manipule todos los reactivos, controles y muestras de acuerdo con las prácticas de laboratorio recomendadas para evitar la contaminación por arrastre de las muestras o los controles.
- Antes de utilizarlos, revise cada casete de reactivo y viales, diluyente, reactivo de lisis y reactivo de lavado para asegurarse de que no hay signos de fugas. No utilice el material si hay alguna evidencia de fuga.
- El cobas omni Lysis Reagent contiene tiocianato de guanidina, una sustancia química potencialmente peligrosa. Evite el contacto de reactivos con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua para evitar quemaduras.
- El kit de la prueba cobas® Influenza A/B & RSV UC, cobas® Influenza A/B & RSV UC Control Kit, cobas omni Utility Channel Kit, cobas® Buffer Negative Control Kit, cobas omni MGP Reagent y cobas omni Specimen Diluent contienen azida sódica como conservante. Evite el contacto de reactivos con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua para evitar quemaduras. Si se producen salpicaduras de reactivos, diluya las manchas con agua antes de secarlas con un paño.

- No permita que el **cobas omni** Lysis Reagent, que contiene tiocianato de guanidina, entre en contacto con la solución de hipoclorito de sodio (lejía). Tales mezclas pueden producir gases de alta toxicidad.
- Elimine todos los materiales que hayan estado en contacto con las muestras y los reactivos de acuerdo con la reglamentación nacional, estatal y local.

Buenas prácticas de laboratorio

- No pipetee con la boca.
- No se debe comer, beber ni fumar en las áreas de trabajo.
- Utilice guantes, bata de laboratorio y protección ocular cuando manipule las muestras y los reactivos. Es necesario cambiarse los guantes entre la manipulación de las muestras y los kits de la prueba **cobas®** Influenza A/B & RSV UC, el **cobas®** Influenza A/B & RSV UC Control Kit, el **cobas omni** Utility Channel Reagent Kit, el **cobas®** Buffer Negative Control Kit y los reactivos **cobas omni** para evitar la contaminación. Evite la contaminación de los guantes durante la manipulación de las muestras y de los controles.
- Lávese bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos del kit, y cuando se saque los guantes.
- Limpie y desinfecte minuciosamente todas las superficies de trabajo del laboratorio usando una solución recién preparada de hipoclorito de sodio al 0,5 % en agua destilada o desionizada (lejía doméstica diluida a 1:10). A continuación, límpielas con un trapo impregnado en etanol al 70 %.
- Si el derrame se produce sobre un instrumento **cobas®** 6800/8800, siga las instrucciones descritas en la Asistencia al usuario o la Guía del usuario de los **cobas®** 6800/8800 Systems para limpiar y descontaminar correctamente la superficie de los instrumentos.

Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras

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

Almacene todas las muestras a las temperaturas especificadas.

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

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

Recogida de muestras

- Recoja las muestras nasofaríngeas de acuerdo con la técnica de recogida estándar mediante torundas afelpadas y colóquelas inmediatamente en 3 ml de medio de transporte universal (UTM-RT) de Copan o de transporte universal de virus (UVT) de BD™, o equivalente.
- Consulte las instrucciones de uso de los dispositivos de recogida para conocer la información sobre peligros.

Transporte y almacenamiento

- El transporte de las muestras recogidas debe cumplir todas las normativas aplicables para el transporte de agentes etiológicos.
- Después de la recogida, las muestras pueden almacenarse en tubos primarios durante un máximo de 48 horas a una temperatura de 2-25 °C, seguido de hasta 3 días a 2-8 °C y hasta 30 días a ≤ -15 °C.
- Las muestras se mantienen estables hasta un máximo de tres ciclos de congelación/descongelación si se congelan en tubos primarios a ≤ -15 °C.

Instrucciones de uso

Notas sobre el procedimiento

- El ensayo se ha diseñado exclusivamente para el uso con **cobas**® FluAB_RSV USAP o **cobas**® RSV USAP de Roche.
- No utilice los reactivos de la prueba **cobas**® Influenza A/B & RSV UC, **cobas**® Influenza A/B & RSV UC Control Kit, **cobas omni** Utility Channel Reagent Kit, **cobas**® Buffer Negative Control Kit o los reactivos **cobas omni** después de su fecha de caducidad.
- Utilice solamente las botellas de UC MMx-R2 suministradas con el casete de reactivos.
- No reutilice el material fungible. Son de un solo uso.
- Asegúrese de que las etiquetas de código de barras de los tubos de muestras puedan verse a través de las aberturas laterales de los racks de muestras. Consulte la Guía del usuario de los **cobas**® 6800/8800 Systems para conocer las especificaciones de códigos de barras adecuadas e información adicional sobre la carga de tubos de muestras.
- Consulte la Asistencia al usuario y/o la Guía del usuario de los **cobas**® 6800/8800 Systems para obtener información sobre el correcto mantenimiento de los instrumentos.

Ejecución de la prueba **cobas**® Influenza A/B & RSV UC

La prueba **cobas**® Influenza A/B & RSV UC puede realizarse con un volumen de muestra mínimo de 0,6 ml en un tubo secundario **cobas omni** para muestras obtenidas en medio de transporte universal (Universal Transport Medium, UTM-RT) de Copan, medio de transporte universal de virus (UVT) de BD™ o equivalente.

Ilustración 1 Procedimiento de análisis de la prueba cobas® Influenza A/B & RSV UC

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

Preparación del casete de reactivo

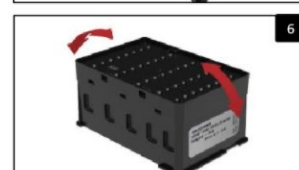
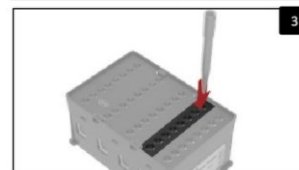
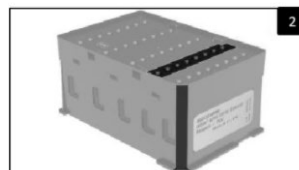
La preparación de PCR MMX R2 se lleva a cabo mezclando el reactivo 2 de Master Mix (UC-MMX-R2) con cebadores y sondas de cobas® Influenza A/B & RSV UC cargados en un casete para 192 pruebas cobas omni Utility Channel Reagent Kit.

- Obtenga el reactivo 2 de Master Mix (UC-MMX-R2, vea la ilustración 1) del cobas omni Utility Channel Reagent Kit y los cebadores y sondas de cobas® Influenza A/B & RSV UC de la ubicación de almacenamiento a 2-8 °C.
- Mezcle el reactivo UC-MMx-R2 en el agitador de rodillos durante 5 minutos a temperatura ambiente.
Nota: si no hay ningún agitador de rodillos disponible, invierta la botella 20 veces.
- Transfiera 10 ml de reactivo UC MMX-R2 a un tubo de polipropileno protegido de la luz.
Nota: consulte la Asistencia al usuario de cobas omni Utility Channel para obtener más detalles sobre los pasos de opción de transferencia.
- Mezcle los cebadores y las sondas de cobas® Influenza A/B & RSV UC invirtiéndolos 20 veces.
- Añada 0,600 ml de los cebadores y sondas de cobas® Influenza A/B & RSV UC (véase la Tabla 1) al tubo de polipropileno protegido de la luz.
- Mezcle el tubo de polipropileno durante 5 minutos en el agitador de rodillos.
Nota: si no hay ningún agitador de rodillos disponible, invierta la botella 20 veces.



Para preparar el casete de reactivos, cargue la mezcla de PCR en el casete de reactivos cobas omni Utility Channel Reagent Kit.

- Para colocar el casete, sitúe el extremo sesgado hacia la esquina inferior derecha (véase la ilustración 2).
Nota: en la segunda fila del lateral derecho se halla el contenedor de MMX vacío.
- Coloque una punta de pipeta de 1 ml en el primer agujero con membrana de la fila 2 (véase la ilustración 3).
Nota: la punta de pipeta transfiere la presión de aire al recipiente para ajustarla mientras se añade la mezcla de PCR preparada.
- Utilice una pipeta repetidora con una punta de pipeta de 10 ml. Cargue la punta de pipeta con 9,7 ml de la mezcla de PCR preparada.
- Introduzca la pipeta cargada en el último agujero de la membrana del casete de reactivo. Perfore la membrana lo suficiente para evitar derrames en la fila 2 (véase la ilustración 4).
- Inclíne el casete de reactivos en un ángulo de 45° en toda su longitud desde la parte inferior. Asegúrese de que el casete esté inclinado por el lado en el que se haya insertado la punta de pipeta con 10 ml (véase la ilustración 5).
- Pipetee lenta y cuidadosamente 9,7 ml de la mezcla de PCR preparada a través de la membrana inferior hasta el contenedor vacío de la fila 2 (véase la ilustración 6). Si es posible, dispense la mezcla PCR preparada con un solo movimiento. Asegúrese de que se pipetee el volumen correcto de mezcla de PCR preparada.



- Asegúrese de que no haya fluido en la punta de pipeta de 1 ml y retírela de la membrana.
Nota: si queda líquido en la punta, gírela con cuidado para liberar el líquido de la punta hacia el casete. Si todavía queda líquido en la punta de 1 ml, proceda de la manera siguiente: Utilice una pipeta repetidora con punta de 10 ml para retirar algo de la mezcla de PCR preparada del recipiente del casete hasta que no quede líquido en la punta de 1 ml. Vuelva a pipetear despacio y con cuidado el líquido que quede en la punta de pipeta de 10 ml en el recipiente. Cuando ambas puntas estén vacías, retírelas del casete.
- Inclíne lentamente el casete de reactivos 20 veces para eliminar cualquier burbuja de aire del contenedor recién llenado (véase la ilustración 6).
- En la etiqueta del **cobas omni** Utility Channel Reagent Kit para 192 pruebas, anote el nombre del ensayo (Influenza A/B & RSV UC), la fecha de preparación del casete, el número de lote de los cebadores y las sondas de los kits de ensayo utilizados (P&P Mix Lot [Lote de mezcla C+S]) y marque la casilla “P&P Added” (C+S añadidos) para confirmar que se han añadido los cebadores y las sondas.

La etiqueta RFID del casete de reactivo **cobas omni** Utility Channel Reagent Kit preparado se etiqueta de la siguiente manera:

- Abra la **cobas omni** Utility Channel Tool desde el icono de inicio Roche Utility Channel Tool del escritorio.
- Haga clic en el botón “Abrir paquete de análisis UC” y seleccione el archivo USAP.zip del apartado de paquetes de análisis específicos para UC utilizados recientemente o cargue **cobas®** Flu AB_RSV USAP o **cobas®** RSV USAP mediante la opción “Abrir paquete de análisis UC publicado para escribir en la etiqueta RFID del casete de reactivo.” Se abre la pantalla del paquete de análisis UC en la pestaña UCAP.
- En el panel del paquete de análisis de UC, haga clic en el botón “Casete de reactivo”.
- Escriba el número de lote de **cobas omni** Utility Channel Reagent Kit en el campo correspondiente al ID del lote del casete de reactivo.
- Coloque el lector/grabador de RFID junto a la etiqueta de RFID del casete de reactivo Utility Channel en el que va a escribir.
- Haga clic en el botón “Escribir datos en la etiqueta de RFID” para escribir en la etiqueta de RFID.
- Cargue el casete de reactivo preparado en los **cobas®** 6800/8800 Systems.
- El casete de reactivo preparado puede almacenarse un máximo de 30 días a 2-8 °C antes del primer uso. Después del primer uso, consulte las condiciones de caducidad de **cobas omni** Utility Channel Reagent Kit en la Tabla 7.

Prepare las muestras y los controles

Es necesario ejecutar un control positivo como muestra en cada serie y para cada casete de reactivo nuevo. Para garantizar que cada serie de control contenga un control positivo se recomienda gastar todo el casete de reactivo **cobas omni** Utility Channel antes de cargar un casete de reactivo **cobas omni** Utility Channel nuevo.

Las muestras obtenidas en el medio de transporte universal (UTM-RT) de Copan, el medio de transporte universal de virus (UVT) de BD™ o equivalente deben transferirse a un tubo secundario **cobas omni** antes de su procesamiento en los **cobas®** 6800/8800 Systems. Las muestras transferidas a los tubos secundarios **cobas omni** deben procesarse utilizando la selección de tipo de muestra “VTM”.

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

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

Utilice siempre una punta de pipeta nueva para cada muestra.

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

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

- Desenrosque el tapón del tubo principal de muestra.
- Transfiera 0,6 ml al tubo secundario preparado con código de barras.
- Transfiera el tubo secundario a un rack. Cierre el tapón del tubo principal de muestra.

Defina la petición de la prueba

Cree una petición de prueba del modo descrito en la Guía del usuario de los **cobas**® 6800/8800 Systems.

- En el campo de tipo de muestra, seleccione **VTM** en el menú desplegable.
- En el apartado de prueba, seleccione la prueba **FluAB_RSV** o “RSV” en el menú desplegable.
- En la selección Volumen, compruebe que el volumen sea **400 µl**.
- Guarde los cambios y realice la prueba del modo descrito en la Guía del usuario de los **cobas**® 6800/8800 Systems.

Consulte la Guía del usuario de los **cobas**® 6800/8800 Systems para obtener información detallada.

Resultados

Los **cobas**® 6800/8800 Systems detectan el virus de influenza A, influenza B y el RSV automáticamente para cada muestra y control procesados individualmente, además de mostrar los resultados individuales para cada diana de las muestras y el control positivo, la validez de la prueba y los resultados globales del control negativo.

Control de calidad y validez de los resultados

- Con cada serie debe procesarse un control negativo para el buffer **cobas**® [BUF (-) C] y un control para **cobas**® Influenza A/B & RSV UC [FluA/B-RSV (+) C].
- Compruebe los avisos y los resultados asociados tanto en el software **cobas**® 6800/8800 como en el informe para garantizar la validez de la serie.
- Todas los avisos están descritos en la Guía del usuario de los **cobas**® 6800/8800 Systems.
- La serie se considera válida cuando no hay avisos para el control negativo y cuando el control positivo es positivo para todas las dianas. Si la serie no es válida, repita las pruebas para toda la serie.

El software **cobas**® 6800/8800 realiza una validación automática de los resultados en función del rendimiento del control negativo. La validación basada en el control positivo debe realizarla el usuario en función del rendimiento del control positivo.

Para determinar esta validez, interprete los resultados de los controles y el IC tal como se describe en la Tabla 10 a continuación.

Tabla 10 Interpretación de la validez de la serie analítica y de los resultados

Validez	Control	Válido	No válido	Validación
Serie	BUF (-) C	Se indica como "Válido" en la columna de resultado de la prueba	Se indica como "No válido" en la columna de resultado de la prueba (deben volverse a analizar todas las muestras de la serie analítica)	cobas ® 6800/8800 Systems
Serie	FluA/B-RSV (+) C	Valor de Ct indicado en la columna de cada diana	Se indica como "No válida" o "Negativa" en una de las columnas de diana (2, 3 o 4) (deben volverse a analizar todas las muestras de la serie analítica)	Usuario
Resultado de la muestra	IC	Se indica como "Sí" en la columna de validez	Se indica como "No" en la columna de validez Y en las dianas 2, 3 y 4: No válida (debe volverse a analizar la muestra invalidada)	cobas ® 6800/8800 Systems

Interpretación de los resultados

Si la serie y la muestra son válidas, la interpretación de los resultados para cada diana se basa en los resultados suministrados por los **cobas**® 6800/8800 Systems y descritos en la Tabla 11. Los resultados no válidos para una o varias combinaciones de dianas son posibles y se comunican específicamente para cada canal en los **cobas**® 6800/8800 Systems. En tales casos, debe volverse a analizar la muestra original para obtener un resultado válido de la diana. Si el resultado de la diana sigue siendo no válido, deberá obtenerse una nueva muestra.

Los resultados y sus interpretaciones correspondientes para la detección de la influenza A/B y el RSV se muestran a continuación (Tabla 11).

Tabla 11 Interpretación de los resultados de la prueba cobas® Influenza A/B & RSV UC (Flu = influenza)

Diana 2 (RSV)	Diana 3 (Flu A)	Diana 4 (Flu B)	Interpretación
RSV Negativa	Cualquiera	Cualquiera	El resultado de la diana para RSV es válido. El resultado para ARN de RSV es No detectado.
RSV Valor de Ct	Cualquiera	Cualquiera	El resultado de la diana para RSV es válido. El resultado para ARN de RSV es Detectado.
No válida	Cualquiera	Cualquiera	El resultado de la diana para RSV no es válido. La muestra se debe volver a analizar. Si el resultado sigue siendo no válido, deberá obtenerse una nueva muestra.
Cualquiera	Flu A Negativa	Cualquiera	El resultado de la diana para gripe A es válido. El resultado para ARN de gripe A es No detectado.
Cualquiera	Flu A Valor de Ct	Cualquiera	El resultado de la diana para gripe A es válido. El resultado para ARN de gripe A es Detectado.
Cualquiera	No válida	Cualquiera	El resultado de la diana para gripe A no es válido. La muestra se debe volver a analizar. Si el resultado sigue siendo no válido, deberá obtenerse una nueva muestra.
Cualquiera	Cualquiera	Flu B Negativa	El resultado de la diana para gripe B es válido. El resultado para ARN de gripe B es No detectado.
Cualquiera	Cualquiera	Flu B Valor de Ct	El resultado de la diana para gripe B es válido. El resultado para ARN de gripe B es Detectado.
Cualquiera	Cualquiera	No válida	El resultado de la diana para gripe B no es válido. La muestra se debe volver a analizar. Si el resultado sigue siendo no válido, deberá obtenerse una nueva muestra.
No válida	No válida	No válida	Ninguno de los resultados de las dianas es válido. La muestra se debe volver a analizar. Si el resultado sigue siendo no válido, deberá obtenerse una nueva muestra.

Limitaciones del procedimiento

- La prueba cobas® Influenza A/B & RSV UC se ha evaluado para ser utilizada únicamente en combinación con el cobas® Influenza A/B & RSV UC Control Kit, el cobas omni Utility Channel Reagent Kit, el cobas® Buffer Negative Control Kit, el cobas omni MGP Reagent, el cobas omni Lysis Reagent, el cobas omni Specimen Diluent y el cobas omni Wash Reagent para uso en los cobas® 6800/8800 Systems.
- El ensayo se ha diseñado exclusivamente para el uso con cobas® FluAB_RSV USAP o cobas® RSV USAP de Roche.
- La obtención de resultados fiables depende de que los procedimientos de recogida, almacenamiento y manipulación de muestras sean adecuados.
- Esta prueba está diseñada para la detección de ARN de la influenza A, la influenza B y el RSV en muestras de exudado nasofaríngeo obtenidas en un sistema de medio de transporte universal (UTM-RT) de Copan, un sistema de transporte universal de virus (UVT) de BD™ o un sistema equivalente. La realización de la prueba cobas® Influenza A/B & RSV UC con otros tipos de muestras puede dar lugar a resultados inexactos.
- La detección de ARN de la influenza A, la influenza B y el RSV puede verse afectada por los métodos de obtención de la muestra, otros factores propios del paciente (p. ej., presencia de síntomas) y/o el estadio de la infección.
- Como sucede con cualquier prueba molecular, las mutaciones en las regiones diana cubiertas por la prueba cobas® Influenza A/B & RSV UC pueden afectar a la unión de cebadores y/o sondas e impedir la detección de la presencia del virus.

- Pueden obtenerse resultados falsos negativos o no válidos debido a la interferencia. La prueba **cobas® Influenza A/B & RSV UC** incluye el control interno (en el **cobas omni** Utility Channel Reagent Kit) para permitir la identificación de muestras que contienen sustancias que podrían interferir en el aislamiento de ácidos nucleicos y la amplificación mediante PCR.
- La incorporación de la enzima AmpErase al reactivo de Master Mix de **cobas omni** Utility Channel permite realizar una amplificación selectiva del ARN diana; no obstante, es imprescindible emplear las mejores prácticas de laboratorio y cumplir estrictamente los procedimientos especificados en este documento de instrucciones de uso para evitar la contaminación de los reactivos.

Evaluación no clínica del rendimiento

Características clave de rendimiento

Límite de detección (LoD)

El estudio del LoD determina la concentración detectable más baja de influenza A, influenza B y RSV a la que un porcentaje igual o superior al 95 % de todas las réplicas (positivos verdaderos) genera un resultado positivo para la prueba.

Para determinar el LoD, se diluyeron en serie seis cultivos de virus (dos de influenza A, dos de influenza B y dos de RSV) en una matriz clínica simulada para crear dos paneles de dianas con formulación conjunta con una cepa por virus. Se prepararon seis niveles de concentración, con diluciones en serie dos veces mayores entre los niveles, para tres días y se analizó un total de 63 réplicas por concentración con tres lotes de reactivo. De la Tabla 12 a la Tabla 14 se resumen los valores establecidos para el LoD.

Tabla 12 Resumen del LoD para la influenza A

Cepa viral	Lote de kits	95 % de Probit [TCID ₅₀ /ml]	IC del 95 % de Probit [TCID ₅₀ /ml]	Tasa de positividad ≥ 95 % [TCID ₅₀ /ml]	CT medio a ≥ tasa de positividad del 95 %
A/Brisbane/02/2018 (H1N1) N.º de ref. 0810585CF Lote 323771	Lote 1	0,029	0,018-0,076	0,024	37,2
	Lote 2	0,017	0,011-0,38	0,024	37,1
	Lote 3	0,016	0,011-0,034	0,024	36,9
	Lotes 1-3	0,020	0,015-0,031	0,024	37,1
A/Kansas/14/2017 (H3N2) N.º de ref. 0810586CF Lote 324412	Lote 1	0,56	0,39-1,05	0,50	37,3
	Lote 2	0,78	0,49-1,80	1,00	35,8
	Lote 3	0,52	0,37-0,98	0,50	37,5
	Lotes 1-3	0,61	0,48-0,86	1,00	36,0

Tabla 13 Resumen del LoD para la influenza B

Cepa viral	Lote de kits	95 % de Probit [TCID ₅₀ /ml]	IC del 95 % de Probit [TCID ₅₀ /ml]	Tasa de positividad ≥ 95 % [TCID ₅₀ /ml]	CT medio a ≥ tasa de positividad del 95 %
B/Colorado/06/17 (linaje Victoria) N.º de ref. 0810573CF Lote 323459	Lote 1	0,022	0,015-0,043	0,026	36,0
	Lote 2	0,020	0,013-0,045	0,026	35,6
	Lote 3	0,017	0,012-0,034	0,013	37,0
	Lotes 1-3	0,020	0,015-0,028	0,026	35,9
B/Phuket/3073/13 (linaje Yamagata) N.º de ref. 0810515CF Lote 324397	Lote 1	0,010	0,0062-0,022	0,010	36,1
	Lote 2	0,0054	0,0036-0,011	0,010	36,7
	Lote 3	0,0079	0,0052-0,017	0,010	36,5
	Lotes 1-3	0,0077	0,0059-0,011	0,010	36,4

Tabla 14 Resumen del LoD para el RSV

Cepa viral	Lote de kits	95 % de Probit [TCID ₅₀ /ml]	IC del 95 % de Probit [TCID ₅₀ /ml]	Tasa de positividad ≥ 95 % [TCID ₅₀ /ml]	CT medio a ≥ tasa de positividad del 95 %
2/2015, aislado n.º 2 (tipo A) N.º de ref. 0810474CF Lote 317572 (sublote: 526637)	Lote 1	0,074	0,046-0,18	0,080	36,2
	Lote 2	0,11	0,067-0,28	0,080	36,5
	Lote 3	0,073	0,048-0,15	0,080	36,0
	Lotes 1-3	0,085	0,063-0,13	0,080	36,2
3/2015, aislado n.º 2 (tipo B) N.º de ref. 0810480CF Lote 318797 (sublote: 531071)	Lote 1	0,015	0,0098-0,033	0,020	36,8
	Lote 2	0,019	0,012-0,046	0,020	36,3
	Lote 3	0,014	0,0088-0,034	0,010	37,6
	Lotes 1-3	0,016	0,012-0,024	0,020	36,5

Precisión intralaboratorio

La precisión intralaboratorio se examinó mediante seis cultivos de virus (dos de influenza A, dos de influenza B y dos de RSV) que se diluyeron en serie en una matriz clínica simulada para crear dos paneles de dianas con formulación conjunta. Las fuentes de variación se examinaron con dos paneles compuestos por tres niveles de concentración de aproximadamente $0,3 \times$, $1 \times$ y $3 \times$ el LoD de la prueba cobas® Influenza A/B & RSV UC. Todos los miembros negativos del panel resultaron negativos a lo largo del estudio.

Las pruebas se han realizado para determinar los siguientes componentes de variabilidad:

- Variabilidad entre días durante 12 días
- Variabilidad entre series
- Variabilidad entre lotes con 3 lotes de reactivos diferentes de la prueba cobas® Influenza A/B & RSV UC
- Variabilidad entre instrumentos con 3 cobas® 6800/8800 Systems diferentes por parte de 3 usuarios

Se analizaron 24 réplicas con cada uno de los 3 miembros de panel para cada lote de reactivos para un total de 72 réplicas en todos los lotes de reactivos por diana. Los resultados de precisión se evaluaron calculando el porcentaje de resultados de las pruebas reactivas en cada nivel de concentración para cada uno de los componentes de variabilidad analizados.

Se calcularon los límites de los intervalos de confianza del 95 % bilaterales de cada tasa de reactividad para cada uno de los tres niveles de las diferentes cepas de influenza A, influenza B y RSV analizados durante 12 días, con 3 lotes de reactivos y 3 cobas® 6800/8800 Systems/usuarios distintos. La prueba cobas® Influenza A/B & RSV UC garantiza la reproducibilidad durante varios días, con varios lotes de reactivos y con varios instrumentos/operadores. Los resultados de la variabilidad entre lotes de reactivos se resumen desde la Tabla 15 hasta la Tabla 17.

Tabla 15 Resumen de la precisión entre lotes de reactivos para la influenza A

Analito	Concentración	Lote de reactivos	% de reactividad (réplicas reactivas/válidas)	Límite inferior del intervalo de confianza del 95 %	Límite superior del intervalo de confianza del 95 %
A/Brisbane/02/2018 (H1N1)	~0,3 × LoD	1	83,3 % (20/24)	62,6 %	95,3 %
A/Brisbane/02/2018 (H1N1)	~0,3 × LoD	2	75,0 % (18/24)	53,3 %	90,2 %
A/Brisbane/02/2018 (H1N1)	~0,3 × LoD	3	70,8 % (17/24)	48,9 %	87,4 %
A/Brisbane/02/2018 (H1N1)	~1 × LoD	1	95,8 % (23/24)	78,9 %	99,9 %
A/Brisbane/02/2018 (H1N1)	~1 × LoD	2	100 % (24/24)	85,8 %	100 %
A/Brisbane/02/2018 (H1N1)	~1 × LoD	3	100 % (24/24)	85,8 %	100 %
A/Brisbane/02/2018 (H1N1)	~3 × LoD	1	100 % (24/24)	85,8 %	100 %
A/Brisbane/02/2018 (H1N1)	~3 × LoD	2	100 % (24/24)	85,8 %	100 %
A/Brisbane/02/2018 (H1N1)	~3 × LoD	3	100 % (24/24)	85,8 %	100 %
A/Kansas/14/2017 (H3N2)	~0,3 × LoD	1	66,7 % (16/24)	44,7 %	84,4 %
A/Kansas/14/2017 (H3N2)	~0,3 × LoD	2	75,0 % (18/24)	53,3 %	90,2 %
A/Kansas/14/2017 (H3N2)	~0,3 × LoD	3	62,5 % (15/24)	40,6 %	81,2 %
A/Kansas/14/2017 (H3N2)	~1 × LoD	1	95,8 % (23/24)	78,9 %	99,9 %
A/Kansas/14/2017 (H3N2)	~1 × LoD	2	95,8 % (23/24)	78,9 %	99,9 %
A/Kansas/14/2017 (H3N2)	~1 × LoD	3	100 % (24/24)	85,8 %	100 %
A/Kansas/14/2017 (H3N2)	~3 × LoD	1	100 % (24/24)	85,8 %	100 %
A/Kansas/14/2017 (H3N2)	~3 × LoD	2	100 % (24/24)	85,8 %	100 %
A/Kansas/14/2017 (H3N2)	~3 × LoD	3	100 % (24/24)	85,8 %	100 %

Tabla 16 Resumen de la precisión entre lotes de reactivos para la influenza B

Analito	Concentración	Lote de reactivos	% de reactividad (réplicas reactivas/válidas)	Límite inferior del intervalo de confianza del 95 %	Límite superior del intervalo de confianza del 95 %
B/Colorado/06/2017 (linaje Victoria)	~0,3 × LoD	1	79,2 % (19/24)	57,8 %	92,9 %
B/Colorado/06/2017 (linaje Victoria)	~0,3 × LoD	2	83,3 % (20/24)	62,6 %	95,3 %
B/Colorado/06/2017 (linaje Victoria)	~0,3 × LoD	3	95,8 % (23/24)	78,9 %	99,9 %
B/Colorado/06/2017 (linaje Victoria)	~1 × LoD	1	100 % (24/24)	85,8 %	100 %
B/Colorado/06/2017 (linaje Victoria)	~1 × LoD	2	100 % (24/24)	85,8 %	100 %
B/Colorado/06/2017 (linaje Victoria)	~1 × LoD	3	100 % (24/24)	85,8 %	100 %
B/Colorado/06/2017 (linaje Victoria)	~3 × LoD	1	100 % (24/24)	85,8 %	100 %
B/Colorado/06/2017 (linaje Victoria)	~3 × LoD	2	100 % (24/24)	85,8 %	100 %
B/Colorado/06/2017 (linaje Victoria)	~3 × LoD	3	100 % (24/24)	85,8 %	100 %
B/Phuket/3073/2013 (linaje Yamagata)	~0,3 × LoD	1	75,0 % (18/24)	53,3 %	90,2 %
B/Phuket/3073/2013 (linaje Yamagata)	~0,3 × LoD	2	83,3 % (20/24)	62,6 %	95,3 %
B/Phuket/3073/2013 (linaje Yamagata)	~0,3 × LoD	3	79,2 % (19/24)	57,8 %	92,9 %
B/Phuket/3073/2013 (linaje Yamagata)	~1 × LoD	1	100 % (24/24)	85,8 %	100 %
B/Phuket/3073/2013 (linaje Yamagata)	~1 × LoD	2	95,8 % (23/24)	78,9 %	99,9 %
B/Phuket/3073/2013 (linaje Yamagata)	~1 × LoD	3	100 % (24/24)	85,8 %	100 %
B/Phuket/3073/2013 (linaje Yamagata)	~3 × LoD	1	100 % (24/24)	85,8 %	100 %
B/Phuket/3073/2013 (linaje Yamagata)	~3 × LoD	2	100 % (24/24)	85,8 %	100 %
B/Phuket/3073/2013 (linaje Yamagata)	~3 × LoD	3	100 % (24/24)	85,8 %	100 %

Tabla 17 Resumen de la precisión entre lotes de reactivos para el RSV

Analito	Concentración	Lote de reactivos	% de reactividad (réplicas reactivas/válidas)	Límite inferior del intervalo de confianza del 95 %	Límite superior del intervalo de confianza del 95 %
2/2015, aislado n.º 2 (tipo A)	~0,3 × LoD	1	75,0 % (18/24)	53,3 %	90,2 %
2/2015, aislado n.º 2 (tipo A)	~0,3 × LoD	2	75,0 % (18/24)	53,3 %	90,2 %
2/2015, aislado n.º 2 (tipo A)	~0,3 × LoD	3	83,3 % (20/24)	62,6 %	95,3 %
2/2015, aislado n.º 2 (tipo A)	~1 × LoD	1	100 % (24/24)	85,8 %	100 %
2/2015, aislado n.º 2 (tipo A)	~1 × LoD	2	100 % (24/24)	85,8 %	100 %
2/2015, aislado n.º 2 (tipo A)	~1 × LoD	3	100 % (24/24)	85,8 %	100 %
2/2015, aislado n.º 2 (tipo A)	~3 × LoD	1	100 % (24/24)	85,8 %	100 %
2/2015, aislado n.º 2 (tipo A)	~3 × LoD	2	100 % (24/24)	85,8 %	100 %
2/2015, aislado n.º 2 (tipo A)	~3 × LoD	3	100 % (24/24)	85,8 %	100 %
3/2015, aislado n.º 2 (tipo B)	~0,3 × LoD	1	79,2 % (19/24)	57,8 %	92,9 %
3/2015, aislado n.º 2 (tipo B)	~0,3 × LoD	2	66,7 % (16/24)	44,7 %	84,4 %
3/2015, aislado n.º 2 (tipo B)	~0,3 × LoD	3	95,8 % (23/24)	78,9 %	99,9 %
3/2015, aislado n.º 2 (tipo B)	~1 × LoD	1	91,7 % (22/24)	73,0 %	99,0 %
3/2015, aislado n.º 2 (tipo B)	~1 × LoD	2	95,8 % (23/24)	78,9 %	99,9 %
3/2015, aislado n.º 2 (tipo B)	~1 × LoD	3	100 % (24/24)	85,8 %	100 %
3/2015, aislado n.º 2 (tipo B)	~3 × LoD	1	100 % (24/24)	85,8 %	100 %
3/2015, aislado n.º 2 (tipo B)	~3 × LoD	2	100 % (24/24)	85,8 %	100 %
3/2015, aislado n.º 2 (tipo B)	~3 × LoD	3	100 % (24/24)	85,8 %	100 %

Inclusividad

La inclusividad de la prueba cobas® Influenza A/B & RSV UC para la detección de la influenza A, la influenza B y el RSV se confirmó mediante el análisis de diez cepas de influenza A, cinco de influenza B y nueve de RSV. En la Tabla 18 se muestra la concentración más baja del analito diana con la que se obtuvieron resultados positivos para las cuatro réplicas analizadas.

Tabla 18 Resumen de inclusividad

Diana vírica	Cepa	Número de catálogo	Número de lote	Concentración más baja detectada
Influenza A	A/Canada/6294/09 (H1N1)	0810109CFJ	306161 (sublote: 511440)	0,010 TCID ₅₀ /ml
	A/California/07/09 (H1N1)	0810165CF	325194	0,055 TCID ₅₀ /ml
	A/Mexico/4108/09 (H1N1)	0810166CF	313217 (sublote: 514161)	0,0079 TCID ₅₀ /ml
	A/Singapore/63/04 (H1N1)	0810246CF	313221 (sublote: 514205)	2,72 TCID ₅₀ /ml
	A/Michigan/45/15 (H1N1)	0810538CF	321053 (sublote: 533618)	0,056 TCID ₅₀ /ml
	A/Texas/50/12 (H3N2)	0810238CF	325079	0,20 TCID ₅₀ /ml
	A/Perth/16/09 (H3N2)	0810251CF	325143	0,0072 TCID ₅₀ /ml
	A/Wisconsin/67/05 (H3N2)	0810252CF	325407	0,098 TCID ₅₀ /ml
	A/Switzerland/9715293/13 (H3N2)	0810511CF	325276	0,018 TCID ₅₀ /ml
	A/Hong Kong/4801/14 (H3N2)	0810526CF	325191	0,095 TCID ₅₀ /ml
Influenza B	B/Florida/78/2015 (linaje Victoria)	VR-1931	70020870	0,23 TCID ₅₀ /ml
	B/Brisbane/60/08 (linaje Victoria)	0810254CF	313257 (sublote: 513438)	0,0029 TCID ₅₀ /ml
	B/Alabama/2/17 (linaje Victoria)	0810572CF	322548	0,022 TCID ₅₀ /ml
	B/Wisconsin/1/2010 (linaje Yamagata)	VR-1883	70012127	0,20 CEID ₅₀ /ml
	B/Utah/9/14 (linaje Yamagata)	0810516CF	323752	0,0039 TCID ₅₀ /ml
RSV	Largo (tipo A)	VR-26PQ	70024412	0,79 TCID ₅₀ /ml
	2/2015, aislado n.º 3 (tipo A)	0810475CF	317870 (529910)	0,26 TCID ₅₀ /ml
	4/2015, aislado n.º 1 (tipo A)	0810481CF	322739 (534595)	0,058 TCID ₅₀ /ml
	ATCC-2012-10 (tipo B)	VR-1794	61635142	0,045 TCID ₅₀ /ml
	18537 (tipo B)	VR-1580PQ	70025292	2,49 TCID ₅₀ /ml
	9320 (tipo B)	VR-955	70030486	3,25 TCID ₅₀ /ml
	12/2014, aislado n.º 1 (tipo B)	0810450CF	318798 (531073)	0,0054 TCID ₅₀ /ml
	3/2015, aislado n.º 1 (tipo B)	0810479CF	325279	0,049 TCID ₅₀ /ml
	11/2014, aislado n.º 2 (tipo B)	0810451CF	318796 (531072)	0,036 TCID ₅₀ /ml

Especificidad analítica (reactividad cruzada e interferencia microbiana)

Se analizó un panel de 44 virus, bacterias y hongos (incluidos los de mayor presencia en el tracto respiratorio) con la prueba cobas® Influenza A/B & RSV UC a fin de valorar su especificidad analítica. Se añadieron los organismos indicados en la Tabla 19 con concentraciones de aproximadamente 1×10^5 unidades/ml para los virus y de aproximadamente 1×10^6 unidades/ml para el resto de organismos, salvo que se indique lo contrario. Las pruebas se realizaron con cada organismo potencialmente interferente en ausencia y presencia de dianas de influenza A, influenza B y RSV (añadidas con formulación conjunta a $\sim 3 \times \text{LoD}$: 0,060; 0,057 y 0,23 TCID₅₀/ml, respectivamente). Ninguno de los organismos interfirió con el rendimiento de la prueba generando resultados falsos positivos. La detección de las dianas de influenza A, influenza B y RSV no se vio afectada por la presencia de los organismos analizados. La posible reactividad cruzada de influenza C, *Leptospira interrogans*, *Chlamydia psittaci*, *Bacillus anthracis* y *Coxiella burnetii* se evaluó *in silico*. De acuerdo con los análisis *in silico*, los organismos seleccionados tienen una probabilidad muy baja de interferir con el rendimiento de la prueba cobas® Influenza A/B & RSV UC.

Tabla 19 Microorganismos analizados para la especificidad analítica/reactividad cruzada

Microorganismo	Concentración
Adenovirus	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml
<i>Bordetella pertussis</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Candida albicans</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	7,9E+04 TCID ₅₀ /ml
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1,0E+06 UFC/ml
Citomegalovirus	1,0E+05 UI/ml
Virus de Epstein-Barr	1,0E+05 cp/ml
<i>Escherichia coli</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,0E+06 UFC/ml
Virus del herpes simple tipo I	1,0E+05 cp/ml
Virus del herpes simple tipo II	1,0E+05 cp/ml
Coronavirus humano 229E	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml
Coronavirus humano HKU1	1,0E+05 genoma cp/ml
Coronavirus humano NL63	2,5E+04 TCID ₅₀ /ml
Coronavirus humano OC43	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml
Enterovirus humano	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml
Metapneumovirus humano	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml
Rinovirus humano	1,0E+05 UFP/ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Legionella longbeachae</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Legionella pneumophila</i>	1,0E+06 UFC/ml
Virus del sarampión	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml

Microorganismo	Concentración
Coronavirus MERS	1,0E+05 cp/ml
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1,0E+06 UFC/ml
Virus de las paperas	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,0E+06 UCC/ml
<i>Neisseria elongata</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Neisseria meningitidis</i>	1,0E+06 UFC/ml
Virus de la parainfluenza 1	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml
Virus de la parainfluenza 2	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml
Virus de la parainfluenza 3	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml
Virus de la parainfluenza 4	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml
Parechovirus	1,0E+05 U/ml
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	5,0E+03 organismos/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,0E+06 UFC/ml
Coronavirus SARS	1,0E+05 UFP/ml
SARS-CoV-2 (inactivado por calor)	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Streptococcus salivarius</i>	1,0E+06 UFC/ml
Virus de la varicela zóster	1,0E+05 cp/ml

Sustancias interferentes

Se evaluó el efecto de sustancias exógenas potencialmente secretadas en las muestras respiratorias (Tabla 20). Todas las sustancias potencialmente interferentes se analizaron en los niveles clínicos relevantes o superiores en una matriz clínica simulada negativa estabilizada en UTM™ en ausencia y en presencia de dianas de influenza A, influenza B y RSV (añadidas con formulación conjunta a $\sim 3 \times \text{LoD}$: 0,060, 0,057 y 0,23 TCID₅₀/ml, respectivamente).

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

Tabla 20 Lista de sustancias exógenas analizadas para determinar la interferencia

Sustancia	Concentración
Oximetazolina	0,011 mg/ml
Budesónida	0,039 mg/ml
Propionato de fluticasona	0,167 mg/ml
Luffa operculata, Thryallis glauca	2,14 mg/ml
Histaminum, Sulfur	1,072 mg/ml
Benzocaína	5,0 mg/ml
Mentol	1,2 mg/ml
Glicerina	10,31 mg/ml
Fenol	0,47 mg/ml
Lidocaína	2,68 mg/ml
Mupirocina	0,2 mg/ml
Zanamivir	0,0015 mg/ml
Oseltamivir	0,0073 mg/ml
Tobramicina	0,018 mg/ml

Además, se analizó FluMist® Quadrivalent, una vacuna viva tetravalente para su administración mediante spray nasal que contiene dos cepas del virus de la vacuna de la influenza A y dos de la influenza B (Tabla 21) en una matriz clínica simulada negativa estabilizada en UTM™ en ausencia y en presencia de dianas de influenza A, influenza B y RSV (añadidas con formulación conjunta a $\sim 3 \times \text{LoD}$: 0,060, 0,057 y 0,23 TCID₅₀/ml, respectivamente). Como se esperaba, la prueba cobas® Influenza A/B & RSV UC generó resultados positivos para las dianas de influenza A e influenza B y resultados negativos para las dianas de RSV cuando únicamente se analizó FluMist® Quadrivalent. Los resultados fueron todos positivos para las dianas de influenza A, influenza B y RSV cuando se añadió adicionalmente con niveles bajos de formulación conjunta de influenza A, influenza B y RSV.

Tabla 21 FluMist® Quadrivalent analizado para determinar interferencias

Producto	Sustancia	Concentración
FluMist® Quadrivalent (vacuna viva contra la influenza, intranasal)	Antígeno viral de influenza A A/Hawaii/6 6/20 19 (H1N1) vivo (atenuado)	1336620,81 UFF/ml
	Antígeno viral de influenza A A/Hong Kong/26 71/20 19 (H3N2) vivo (atenuado)	
	Antígeno viral de influenza B B/Phuket/30 73/20 13 vivo (atenuado)	
	Antígeno viral de influenza B B/Washington/0 2/20 19 vivo (atenuado)	

Se analizaron sustancias endógenas que podrían estar presentes en muestras respiratorias a fin de determinar su interferencia (Tabla 22). Todas las sustancias potencialmente interferentes se analizaron en los niveles clínicos relevantes o superiores en una matriz clínica simulada negativa estabilizada en UTM™ en ausencia y en presencia de dianas de influenza A, influenza B y RSV (añadidas con formulación conjunta a $\sim 3 \times \text{LoD}$: 0,060, 0,057 y 0,23 TCID₅₀/ml, respectivamente).

Las sustancias endógenas analizadas no muestran interferencias con el rendimiento de la prueba a niveles iguales o superiores a los relevantes clínicamente, a excepción de la mucina, la cual presentó una interferencia superior al nivel relevante medicamento (0,4 %).¹⁸ Sin embargo, no se observaron interferencias por debajo de las concentraciones de mucina relevantes medicamento (Tabla 22).

Tabla 22 Lista de sustancias endógenas analizadas para determinar su interferencia

Sustancia	Concentración sin interferencia
Mucina	0,3 % (p/v)
Sangre total humana	3,0 % (v/v)

Coinfección (interferencia competitiva)

Para valorar la posible interferencia competitiva entre influenza A, influenza B y RSV, se analizaron muestras en réplicas de 5 en las que previamente se habían mezclado concentraciones bajas (aproximadamente $3 \times \text{LoD}$) de dos dianas con concentraciones muy altas ($1,0 \times 10^5$ TCID₅₀/ml) de la tercera diana. Ninguna de las dianas presentes en concentraciones muy elevadas interfirió en la detección de niveles bajos de las otras dos dianas.

Fallo de todo el sistema

La tasa de fallo de todo el sistema se determinó mediante el análisis de 100 muestras de matriz clínica simulada añadidas junto a una cepa de influenza A (A/Brisbane/02/2018 (H1N1)), una cepa de influenza B (B/Colorado/06/2017 (linaje Victoria)) y una cepa de RSV (2/2015, aislado n.º 2 (tipo A)) a una concentración de aproximadamente $3 \times \text{LoD}$ de cada diana. Los resultados de este estudio determinaron que todas las réplicas fueron válidas y positivas para influenza A, influenza B y RSV, lo que representa una tasa de fallo de todo el sistema del 0 % con un intervalo de confianza unilateral superior del 95 % del 3,0 %.

Evaluación clínica del rendimiento

El rendimiento de la prueba cobas® Influenza A/B & RSV UC se evaluó mediante comparación con la prueba cobas® Influenza A/B & RSV en un centro externo con muestras de exudado nasofaríngeo archivadas procedentes de pacientes con signos y síntomas de una infección respiratoria recogidas en UTM® o UVT. Las muestras clínicas fueron obtenidas por personal cualificado de acuerdo con el boletín técnico del dispositivo de obtención.

En el estudio de evaluación clínica se incluyó un total de 377 muestras de exudado nasofaríngeo con resultados válidos.

Tal como se muestra en la Tabla 23, la prueba cobas® Influenza A/B & RSV UC mostró una elevada concordancia de porcentaje con la prueba comparativa para la detección de influenza A, influenza B y RSV.

Tabla 23 Comparación de la prueba cobas® Influenza A/B & RSV UC con la prueba cobas® Influenza A/B & RSV para su uso en el cobas® Liat® System

Virus	Número de muestras	Resultados de la prueba				Estadísticas de concordancia		
		Positivo concordante (N)	Positivo discordante (N)	Negativo concordante (N)	Negativo discordante (N)	Parámetro de concordancia	Porcentaje de concordancia (%)	IC del 95% (LCI, LCS)*
Influenza A	377	91	6	280	0	CPP	100,0 %	(95,9 %, 100,0 %)
						CPN	97,9 %	(95,5 %, 99,0 %)
Influenza B	377	85	4	287	1	CPP	98,8 %	(93,7 %, 99,8 %)
						CPN	98,6 %	(96,5 %, 99,5 %)
RSV	377	98	2	277	0	CPP	100,0 %	(96,2 %, 100,0 %)
						CPN	99,3 %	(97,4 %, 99,8 %)

CPP = Concordancia de porcentaje de positivos

CPN = Concordancia de porcentaje de negativos

IC = intervalo de confianza; LCI = límite de confianza inferior; LCS = límite de confianza superior

* El intervalo de confianza se calcula con el método de puntuación de Wilson.

Se observaron resultados discordantes entre el ensayo cobas® Influenza A/B & RSV UC y el método comparativo para 13 muestras. En 12 de estas muestras, la prueba cobas® Influenza A/B & RSV UC detectó seis muestras adicionales positivas para el virus de la influenza A, cuatro para el virus de la influenza B y dos para el RSV en comparación con las detectadas por la prueba cobas® Influenza A/B & RSV para uso en el cobas® Liat® System. A excepción de una, todas estas muestras presentaron valores de Ct cercanos o inferiores al LoD del patógeno correspondiente. El análisis posterior mediante PCR de los amplicones de estas muestras positivas discordantes confirmó la presencia de influenza A, influenza B y RSV, respectivamente. Una de las 13 muestras resultó positiva únicamente según la prueba comparativa. Pruebas adicionales revelaron positividad para la influenza B tanto por parte del ensayo cobas® Influenza A/B & RSV UC como por parte de la prueba comparativa, con valores de Ct cercanos al LoD de ambas pruebas.

Información adicional

Características principales de la prueba

Tipo de muestra	Muestras de exudado nasofaríngeo obtenidas en el sistema UTM-RT® de Copan o en el sistema UVT de BD™ o equivalente
Cantidad mínima de muestra necesaria	0,6 ml*
Volumen de procesamiento de muestras	0,4 ml
Duración de la prueba	Los resultados están listos en menos de 3,5 horas desde la carga de la muestra en el sistema.

* Volumen muerto de 0,2 ml identificado para los tubos secundarios **cobas omni**. Otros tubos compatibles con **cobas**® 6800/8800 Systems (consulte la Guía de asistencia al usuario) pueden tener un volumen muerto distinto y requerir más o menos volumen mínimo.

Símbolos

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

Tabla 24 Símbolos utilizados en las etiquetas de los productos de PCR para diagnóstico de Roche

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

Asistencia técnica

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

Fabricante y distribuidores

Tabla 25 Fabricante y distribuidores



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

Fabricado en los EE. UU.

Distributed by

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

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Marcas registradas y patentes

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

Copyright

©2021 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Bibliografía

1. Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of lower respiratory infections in 195 countries, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Infect Dis.* 2018;18:1191-210. PMID: 30243584.
2. Forum of International Respiratory Societies. The Global Impact of Respiratory Disease – Second Edition. Sheffield, European Respiratory Society. 2017. Accessed: 17 June 2021. https://www.who.int/gard/publications/The_Global_Impact_of_Respiratory_Disease.pdf.
3. Ghebrehewet S, MacPherson P, Ho A. Influenza. *BMJ.* 2016;355:i6258. PMID: 27927672.
4. Recommendations for Prevention and Control of Influenza in Children, 2018-2019. *Pediatrics.* 2018;142. PMID: 30177511.
5. 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. PMID: 28689664.
6. Heikkinen T, Ojala E, Waris M. Clinical and Socioeconomic Burden of Respiratory Syncytial Virus Infection in Children. *J Infect Dis.* 2017;215:17-23. PMID: 27738052.
7. Smith DK, Seales S, Budzik C. Respiratory Syncytial Virus Bronchiolitis in Children. *Am Fam Physician.* 2017;95:94-9. PMID: 28084708.
8. Ackerson B, Tseng HF, Sy LS, et al. Severe Morbidity and Mortality Associated With Respiratory Syncytial Virus Versus Influenza Infection in Hospitalized Older Adults. *Clin Infect Dis.* 2019;69:197-203. PMID: 30452608.
9. Uyeki TM, Bernstein HH, Bradley JS, et al. Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America: 2018 Update on Diagnosis, Treatment, Chemoprophylaxis, and Institutional Outbreak Management of Seasonal Influenza. *Clin Infect Dis.* 2019;68:895-902. PMID: 30834445.
10. 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. PMID: 23457451.
11. Chartrand C, Tremblay N, Renaud C, Papenburg J. Diagnostic Accuracy of Rapid Antigen Detection Tests for Respiratory Syncytial Virus Infection: Systematic Review and Meta-analysis. *J Clin Microbiol.* 2015;53:3738-49. PMID: 26354816.
12. Merckx J, Wali R, Schiller I, et al. Diagnostic Accuracy of Novel and Traditional Rapid Tests for Influenza Infection Compared With Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction: A Systematic Review and Meta-analysis. *Ann Intern Med.* 2017;167:394-409. PMID: 28869986.
13. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, et al. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clin Infect Dis.* 2018;67:e1-e94. PMID: 29955859.
14. 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. PMID: 29695519.

15. Vos LM, Bruning AHL, Reitsma JB, et al. Rapid Molecular Tests for Influenza, Respiratory Syncytial Virus, and Other Respiratory Viruses: A Systematic Review of Diagnostic Accuracy and Clinical Impact Studies. *Clin Infect Dis*. 2019;69:1243-53. PMID: 30689772.
16. Center for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.
18. Bose ME, McCaul KC, Mei H, et al. Simulated Respiratory Secretion for Use in the Development of Influenza Diagnostic Assays. *PLoS One*. 2016;11:e0166800. PMID: 27870895.

Revisión del documento

Información de revisión del documento	
Doc Rev. 1.0 06/2021	Primera publicación.