



Rx Only

cobas[®] SARS-CoV-2

Test qualitativo per l'utilizzo sui cobas[®] 6800/8800 Systems

Per uso diagnostico *in vitro*

cobas[®] SARS-CoV-2 - 192T

P/N: 09175431190

cobas[®] SARS-CoV-2 - 480T

P/N: 09343733190

cobas[®] SARS-CoV-2 Control Kit

P/N: 09175440190

cobas[®] 6800/8800 Buffer Negative Control Kit

P/N: 07002238190

Indice generale

Uso previsto	4
Riassunto e spiegazione del test.....	4
Reagenti e materiali	6
Reagenti e controlli cobas® SARS-CoV-2.....	6
Reagenti cobas omni per la preparazione dei campioni.....	8
Requisiti per la conservazione e la manipolazione dei reagenti.....	9
Materiali aggiuntivi necessari	10
Strumentazione e software necessari.....	11
Precauzioni e requisiti per l'uso.....	12
Avvertimenti e precauzioni.....	12
Manipolazione dei reagenti.....	12
Buone pratiche di laboratorio.....	13
Prelievo, trasporto e conservazione dei campioni	14
Prelievo dei campioni	14
Prelievo del campione con tampone nasale (narici anteriori) eseguito dal paziente o da un medico in loco.....	14
Trasporto e conservazione.....	16
Istruzioni per l'uso.....	17
Note sulla procedura.....	17
Esecuzione del test cobas® SARS-CoV-2.....	17
Campioni raccolti in cobas® PCR Media, soluzione fisiologica 0,9%, UTM-RT o UVT	17
Campioni raccolti con cobas® PCR Media Uni o con Dual Swab Sample Kit o con cobas® PCR Media, insieme a cobas® Uni Swab 100 Kit.....	18
Pool di campioni per i test SARS-CoV-2.....	19
Metodi di pooling	19
Classificazione dei risultati del pool e test di follow-up	20
Procedura del test cobas® SARS-CoV-2.....	21

Risultati	22
Controllo di qualità e validità dei risultati	22
Interpretazione dei risultati	23
cobas® SARS-CoV-2 per il software del sistema v1.2.....	23
cobas® SARS-CoV-2 per il software del sistema versione 1.3 o successiva	23
Interpretazione dei risultati	24
Limiti della procedura	26
Uso del pool testing in base alla prevalenza	27
Valutazione delle prestazioni non cliniche.....	28
Caratteristiche delle prestazioni	28
Sensibilità analitica	28
Reattività crociata	29
Equivalenza dei tipi di campioni	32
Equivalenza delle matrici - UTM-RT e cobas® PCR Media.....	32
Equivalenza delle matrici - UTM-RT e soluzione fisiologica 0,9%	33
Prestazioni con i pool di campioni	34
Valutazione delle prestazioni cliniche.....	36
Informazioni supplementari.....	37
Caratteristiche del test	37
Simboli.....	38
Assistenza tecnica.....	40
Produttore e distributori	40
Marchi e brevetti.....	40
Copyright.....	40
Bibliografia	41
Revisione del documento	42

Uso previsto

Il test **cobas**® SARS-CoV-2 per l'utilizzo sui **cobas**® 6800/8800 Systems è un saggio RT-PCR real-time destinato alla rilevazione qualitativa degli acidi nucleici del virus SARS-CoV-2 nei campioni autoprelevati dal paziente (seguendo le istruzioni di un medico) con un tampone nasale (prelievo in loco) e nei campioni nasali, rinofaringei e orofaringei prelevati da un medico a pazienti con segni e sintomi indicativi di COVID-19 (ad esempio, febbre e/o sintomi di una sindrome respiratoria acuta).

Il test è inoltre destinato alla rilevazione qualitativa degli acidi nucleici del virus SARS-CoV-2 nei pool di campioni, contenenti e costituiti da un massimo di 6 campioni individuali, autoprelevati dal paziente (seguendo le istruzioni di un medico) con un tampone nasale (prelievo in loco) o prelevati da un medico con un tampone nasale, nasofaringeo o orofaringeo. I risultati negativi ottenuti da un pool di campioni devono essere considerati presunti negativi, ma se questi risultati non sono coerenti con i segni e i sintomi clinici, o se la gestione dei pazienti lo richiede, i campioni che costituiscono il pool dovranno essere analizzati individualmente. I campioni inclusi nei pool da cui si ottengono risultati positivi o presunti positivi devono essere analizzati individualmente prima di refertare i risultati. È possibile che l'RNA di SARS-CoV-2 a basse concentrazioni non venga rilevato nei pool di campioni, data la minore sensibilità del pool testing.

I risultati consentono di identificare l'RNA di SARS-CoV-2 nei campioni prelevati con tamponi nasali, rinofaringei e orofaringei nel corso dell'infezione. I risultati positivi sono indicativi del riconoscimento dell'RNA di SARS-CoV-2, ma non necessariamente della presenza del virus trasmissibile.

I risultati negativi non precludono un'infezione da SARS-CoV-2 e non possono essere l'unico elemento su cui basare decisioni relative alla gestione del paziente. I risultati negativi devono essere contestualizzati con l'osservazione clinica, l'anamnesi del paziente e i dati epidemiologici.

Il test **cobas**® SARS-CoV-2 è destinato ad essere utilizzato nel laboratorio clinico, da tecnici qualificati e con competenze specifiche nell'esecuzione delle procedure diagnostiche in vitro basate sulla PCR real-time.

Riassunto e spiegazione del test

Spiegazione del test

Il test **cobas**® SARS-CoV-2 è un saggio qualitativo per l'utilizzo sul **cobas**® 6800 System e sul **cobas**® 8800 System. Consente di rilevare l'RNA del nuovo coronavirus 2019 (SARS-CoV-2) nei campioni individuali o nei pool di campioni prelevati con tamponi nasali, rinofaringei e orofaringei in Copan Universal Transport Medium System (UTM-RT), BD™ Universal Viral Transport System (UVT), **cobas**® PCR Media o soluzione fisiologica 0,9%. Il controllo Interno a RNA, utilizzato per monitorare l'intero processo di preparazione dei campioni e di amplificazione PCR, viene aggiunto ad 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**® SARS-CoV-2 si basa su una procedura completamente automatizzata per la preparazione dei campioni (estrazione e purificazione degli acidi nucleici), seguita da amplificazione e rilevazione mediante PCR. I **cobas**® 6800/8800 Systems 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 al software **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 tampone di eluizione a temperature elevate. I controlli esterni (positivo e negativo) vengono trattati allo stesso modo nel corso della seduta del test **cobas**® SARS-CoV-2.

L'amplificazione selettiva dell'acido nucleico target estratto dal campione avviene grazie all'uso di primer forward e reverse specifici per la regione non strutturale ORF1 a/b che è distintiva del SARS-CoV-2. Inoltre è stata scelta una regione conservata nel gene E codificante per la proteina strutturale dell'envelope per la rilevazione del pan-Sarbecovirus. Le sonde di rilevazione dei pan-Sarbecovirus rileveranno anche il virus SARS-CoV-2.

L'amplificazione selettiva del controllo interno a RNA avviene mediante l'uso di specifici primer forward e reverse per sequenze non competitive che non hanno nessuna omologia con il genoma del coronavirus. Un enzima DNA polimerasi termostabile viene utilizzato per l'amplificazione.

Il reagente **cobas**® SARS-CoV-2 Master Mix contiene sonde di rilevazione specifiche per il tipo di coronavirus SARS-CoV-2, appartenente al sottogenere Sarbecovirus, e per l'acido nucleico del controllo interno a RNA. Le sonde di rilevazione del coronavirus e del controllo interno a RNA sono marcate ciascuna con fluorocromi univoci che agiscono da reporter. Ogni sonda include anche un secondo fluorocromo, che agisce da soppressore (quencher). Quando non sono legati alla sequenza target, i segnali fluorescenti vengono soppressi dal fluorocromo quencher. Nella fase di amplificazione mediante PCR, l'ibridizzazione delle sonde con lo stampo specifico di DNA a filamento unico determina la scissione della sonda ad opera dell'attività esonucleasica 5'→3' della DNA polimerasi, con la conseguente separazione dei fluorocromi reporter e quencher e la produzione di un segnale fluorescente. Ad ogni ciclo di PCR vengono generate quantità crescenti di sonde scisse e, in concomitanza, il segnale cumulativo del fluorocromo reporter aumenta. Ogni fluorocromo reporter viene misurato a lunghezze d'onda fisse, in modo tale da consentire la rilevazione e la discriminazione simultanee del target coronavirus e del controllo interno a RNA. La soluzione Master Mix contiene trifosfato di deossiridina (dUTP) anziché trifosfato di deossitimidina (dTTP), che è incorporato nel DNA appena sintetizzato (amplicone). Gli eventuali ampliconi contaminanti prodotti da precedenti sessioni di PCR verranno distrutti dall'enzima AmpErase [uracil-N-glicosilasi], contenuto nella miscela per PCR, durante il primo passaggio del ciclo 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® SARS-CoV-2 sono elencati nella Tabella 1. I materiali necessari ma non forniti sono elencati nella Tabella 2, Tabella 3, nella Tabella 4, nella Tabella 7, nella Tabella 8 e nella Tabella 9.

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

Reagenti e controlli cobas® SARS-CoV-2

Tutti i reagenti e i controlli non ancora aperti devono essere conservati rispettando le condizioni indicate dalla Tabella 1 alla Tabella 4.

Tabella 1 cobas® SARS-CoV-2

cobas® SARS-CoV-2			
Conservare a 2-8°C			
Cassetta per 192 test (P/N 09175431190)			
Cassetta per 480 test (P/N 09343733190)			
Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	
		192 test	480 test
Soluzione proteinasi (PASE)	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. Può provocare una reazione allergica.	22,3 ml	38 ml
Controllo Interno RNA (RNA IC)	Tampone Tris, < 0,05% EDTA, < 0,001% costruito di armored RNA non correlato al Sarbecovirus contenente regioni di sequenze di legame specifiche per primer e sonda (RNA non infettivo in batteriofago MS2), < 0,1% sodio azide	21,2 ml	38 ml
Tampone di eluizione (EB)	Tampone Tris, 0,2% metil-4 idrossibenzoato	21,2 ml	38 ml
Master Mix Reagente 1 (MMX-R1)	Acetato di manganese, idrossido di potassio, < 0,1% sodio azide	7,5 ml	14,5 ml
SARS-CoV-2 Master Mix Reagent 2 (SARS-CoV-2 MMX-R2)	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 SARS-CoV-2 e Sarbecovirus, < 0,01% primer forward e reverse di controllo interno, < 0,01% sonde e oligonucleotidiche fluorescenti specifiche per SARS-CoV-2 e Sarbecovirus e per controllo interno a RNA, < 0,01% aptamero oligonucleotidico, < 0,1% DNA polimerasi Z05D, < 0,10% enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasi) (batterico), < 0,1% sodio azide	9,7 ml	17,5 ml

Tabella 2 cobas® SARS-CoV-2 Control Kit

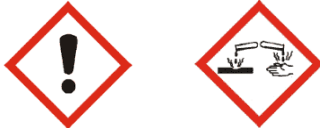
cobas® SARS-CoV-2 Control Kit		
Conservare a 2-8°C (P/N: 09175440190)		
Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit
SARS-CoV-2 Positive Control (SARS-CoV-2 (+)C)	Tampone Tris, < 0,05% sodio azide, < 0,005% EDTA, < 0,003% Poly rA, < 0,01% DNA plasmidico non infettivo (batterico) contenente la sequenza genomica di SARS-CoV-2, < 0,01% DNA plasmidico non infettivo (batterico) contenente la sequenza di pan-Sarbecovirus	16 ml (16 × 1 ml)

Tabella 3 cobas® Buffer Negative Control Kit

cobas® Buffer Negative Control Kit		
Conservare a 2-8°C (P/N 07002238190)		
Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit
cobas® Buffer Negative Control (BUF (-) C)	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 4 Reagenti **cobas omni** per la preparazione dei campioni*

Reagenti	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento**
cobas omni MGP Reagent (MGP) 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
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Conservare a 2-8°C (P/N: 06997511190)	Tampone Tris, 0,1% metil-4 idrossibenzoato, < 0,1% sodio azide	4 × 875 ml	Non applicabile
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Conservare a 2-8°C (P/N: 06997538190)	43% (p/p) tiocianato di guanidina***, 5% (p/v) polidocanolo***, 2% (p/v) ditiotreitolo***, citrato di sodio diidrato	4 × 875 ml	 <p>PERICOLO</p> <p>H302 + H332: Nocivo se ingerito o inalato. H314: Provoca gravi ustioni e lesioni oculari. H412: Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. EUH032: A contatto con acidi libera gas molto tossici. P261: Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. P273: Non disperdere nell'ambiente. P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/il viso. 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.</p> <p>593-84-0 Tiocianato di guanidinio 9002-92-0 Polidocanolo 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercapto-2,3-butandiolo</p>
cobas omni Wash Reagent (WASH) 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®** SARS-CoV-2. Consultare l'elenco dei materiali aggiuntivi necessari (Tabella 7).

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

*** Sostanza pericolosa.

Requisiti per la conservazione e la manipolazione dei reagenti

I reagenti devono essere conservati e manipolati rispettando le condizioni indicate dalla Tabella 5 alla Tabella 6.

I reagenti che non sono ancora stati caricati sui cobas® 6800/8800 Systems devono essere conservati alla temperatura indicata nella Tabella 5.

Tabella 5 Conservazione dei reagenti (non ancora caricati sul sistema)

Reagente	Temperatura di conservazione
cobas® SARS-CoV-2 - 192T	2-8°C
cobas® SARS-CoV-2 - 480T	2-8°C
cobas® SARS-CoV-2 Control Kit	2-8°C
cobas® Buffer Negative Control Kit	2-8°C
cobas omni Lysis Reagent	2-8°C
cobas omni MGP Reagent	2-8°C
cobas omni Specimen Diluent	2-8°C
cobas omni Wash Reagent	15-30°C

Dopo il caricamento sui cobas® 6800/8800 Systems, i reagenti sono conservati alla temperatura appropriata e la data di scadenza viene monitorata dal sistema. I cobas® 6800/8800 Systems consentono l'uso dei reagenti solo se sono rispettate tutte le condizioni descritte nella Tabella 6. Il sistema impedisce automaticamente l'uso dei reagenti scaduti. La Tabella 6 fornisce all'utente informazioni utili sulle condizioni di manipolazione dei reagenti previste per i cobas® 6800/8800 Systems.

Tabella 6 Scadenza dei reagenti sui cobas® 6800/8800 Systems

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® SARS-CoV-2 - 192T	Data non superata ¹	90 giorni dal primo utilizzo ¹	Max 40 sedute ¹	Max 40 ore ¹
cobas® SARS-CoV-2 - 480T	Data non superata ¹	90 giorni dal primo utilizzo ¹	Max 20 sedute ¹	Max 20 ore ¹
cobas® SARS-CoV-2 Control Kit	Data non superata ¹	Non applicabile ²	Non applicabile	Max 8 ore ¹
cobas® Buffer Negative Control Kit	Data non superata	Non applicabile ²	Non applicabile	Max 10 ore
cobas omni Lysis Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento ³	Non applicabile	Non applicabile
cobas omni MGP Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento ³	Non applicabile	Non applicabile
cobas omni Specimen Diluent	Data non superata	30 giorni dal caricamento ³	Non applicabile	Non applicabile
cobas omni Wash Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento ³	Non applicabile	Non applicabile

¹ Le prestazioni per i cicli e i tempi d'uso suggeriti non sono state determinate, ma si basano su reagenti simili utilizzati sullo stesso sistema.

² Reagenti monouso.

³ Il tempo viene misurato a partire dalla prima volta che il reagente viene caricato sui cobas® 6800/8800 Systems.

Materiali aggiuntivi necessari

Tabella 7 Materiali e consumabili per l'uso sui **cobas®** 6800/8800 Systems

Materiali	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
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 cobas omni 13 × 75 (opzionali)	06438776001
cobas® PCR Media Tube Replacement Cap Kit	07958056190
cobas® PCR Media Disposable Tube Stand (opzionale)	07958064190
MPA RACK 16 MM LIGHT GREEN 7001-7050*, **	03143449001
RD5 RACK - RD Standard rack 0001-0050 LR*, **	11902997001

* Per **cobas®** SARS-CoV-2 occorrono i rack MPA 16 mm e RD5. Contattare il rappresentante Roche locale per richiedere un listino dettagliato dei rack per campioni, dei rack per puntali otturati e dei vassoi portarack accettati dagli strumenti.

** Per i campioni raccolti nei tubi **cobas®** PCR Media, è preferibile utilizzare il rack MPA 16 mm. Se si utilizzano i rack RD5, assicurarsi di riempire le provette campione con una quantità iniziale di campione non inferiore a quella minima raccomandata. Nel rack RD5 le provette sono più alte per la presenza di una guarnizione di gomma sul fondo di ogni posizione. Quando si utilizzano i rack RD5, il sistema potrebbe accettare le provette che contengono un volume iniziale di campione inferiore al minimo e causare errori di pipettamento più avanti nella seduta.

Tabella 8 Kit alternativi per la raccolta dei campioni utilizzati con **cobas®** SARS-CoV-2

Kit di raccolta	P/N
cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit	07958030190
cobas® PCR Media Dual Swab Sample Kit	07958021190
cobas® PCR Media 100 tube kit	06466281190
cobas® Uni Swab 100 Kit	09205098190

Strumentazione e software necessari

Il software **cobas**® 6800/8800 e il pacchetto di analisi **cobas**® SARS-CoV-2 devono essere installati sugli strumenti. Il server IG (Instrument Gateway) verrà fornito con il sistema.

Tabella 9 Strumentazione

Apparecchiatura	P/N
cobas ® 6800 System (opzione mobile)	05524245001 e 06379672001
cobas ® 6800 System (fisso)	05524245001 e 06379664001
cobas ® 8800 System	05412722001
Modulo di inserimento dei campioni	06301037001
Gateway strumento	06349595001

Per ulteriori informazioni, fare riferimento alla Guida Utente e/o all'Assistenza Utente dei **cobas**® 6800/8800 Systems.

Nota: contattare il rappresentante Roche locale per richiedere un listino dettagliato dei rack per campioni, dei rack per puntali otturati e dei vassoi portarack accettati dagli strumenti.

Precauzioni e requisiti per l'uso

Avvertimenti 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*.
- I risultati positivi sono indicativi della presenza dell'RNA di SARS-CoV-2.
- 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).^{1,2} Questa procedura deve essere eseguita esclusivamente da personale esperto nella manipolazione di materiale a rischio biologico e nell'uso sia del test **cobas® SARS-CoV-2**, sia dei **cobas® 6800/8800 Systems**.
- 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 l'area con una soluzione fresca a base di ipoclorito di sodio allo 0,5% in acqua distillata o deionizzata (diluire la candeggina domestica 1:10) oppure seguire le procedure previste dal proprio laboratorio.
- 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 (Safety Data Sheets, 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.
- **È possibile che alcuni campioni positivi non vengano rilevati, se diluiti e analizzati in pool.** La concentrazione dell'RNA di SARS-CoV-2 diminuisce quando un campione positivo viene unito ad altri campioni in un pool: questa diminuzione è inversamente proporzionale alle dimensioni del pool. Ad esempio, se un pool di 6 campioni contiene un solo campione positivo, la concentrazione del campione positivo originale dovrebbe raggiungere il limite di sensibilità del test moltiplicato per 6 per poter essere rilevata nel pool.

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 contiene 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**® SARS-CoV-2, **cobas**® SARS-CoV-2 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, contenente guanidina tiocianato, entri 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.
- Indossare guanti, camici da laboratorio e protezioni per gli occhi durante la manipolazione dei campioni e dei reagenti del kit. Per prevenire eventuali contaminazioni, sostituire sempre i guanti prima di manipolare i campioni, il test **cobas**® SARS-CoV-2, i kit di controllo **cobas**® SARS-CoV-2 Control Kit e **cobas**® Buffer Negative Control Kit e i reagenti **cobas** **omni**. 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% e acqua deionizzata o distillata (candeggina per uso domestico diluita 1:10). Successivamente pulire la superficie con etanolo al 70%.
- In caso di versamenti di liquidi sullo strumento **cobas**® 6800/8800, attenersi alle istruzioni contenute nella Guida Utente e/o nell'Assistenza Utente dei **cobas**® 6800/8800 Systems 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.

Prelievo dei campioni

Consultare la tabella sottostante per verificare che il dispositivo utilizzato per il prelievo sia idoneo al tipo di campione:

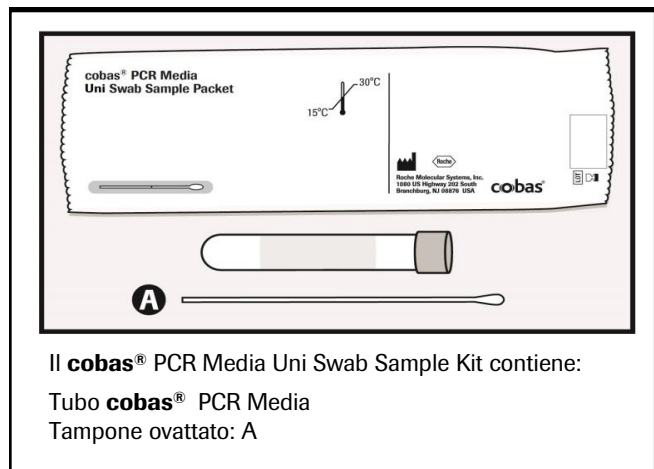
Tabella 10 Panoramica dei dispositivi per il prelievo e dei tipi di campioni

Dispositivo per il prelievo	Tipo di campione		
	Tampone rinofaringeo	Tampone orofaringeo	Tampone nasale
Copan Universal Transport Media (UTM-RT)	√	√	√
BD™ Universal Viral Transport (UVT)	√	√	√
cobas ® PCR Media Uni Swab Sample Kit			√
cobas ® Uni Swab 100 Kit			√
cobas ® PCR Media Dual Swab Sample Kit			√
cobas ® PCR Media Kit (e PCR Media Kit con 100 tubi)			√
Soluzione fisiologica 0,9%			√

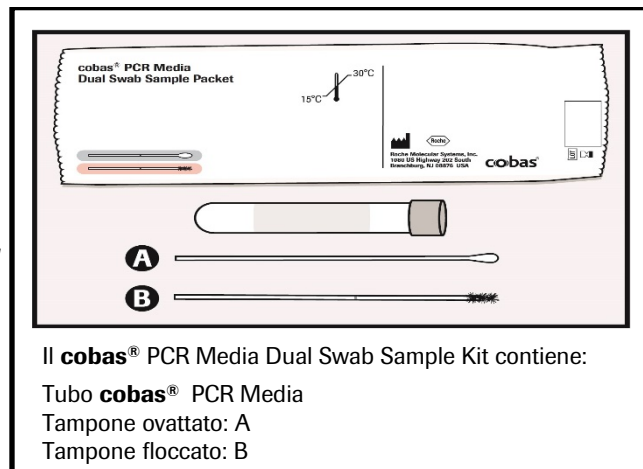
- Prelevare i campioni nasali, rinofaringei e orofaringei con la tecnica di prelievo standard, utilizzando un tampone floccato o un tampone con puntale in poliestere che dovrà essere inserito immediatamente in 3 ml di Copan Universal Transport Medium (UTM-RT) o BD™ Universal Viral Transport (UVT).
- Prelevare i campioni nasali con la tecnica di prelievo standard, utilizzando un tampone floccato o un tampone con puntale in poliestere che dovrà essere trasferito immediatamente in una provetta **cobas**® PCR Media del **cobas**® PCR Media Kit (P/N 06466281190).
- Prelevare i campioni nasali utilizzando il **cobas**® PCR Media Uni Swab Sample Kit (P/N 07958030190) oppure il **cobas**® PCR Media Dual Swab Sample Kit (P/N 07958021190), in base alle istruzioni riportate più avanti.
- Per informazioni sui rischi, consultare le istruzioni per l'uso dei dispositivi per il prelievo.

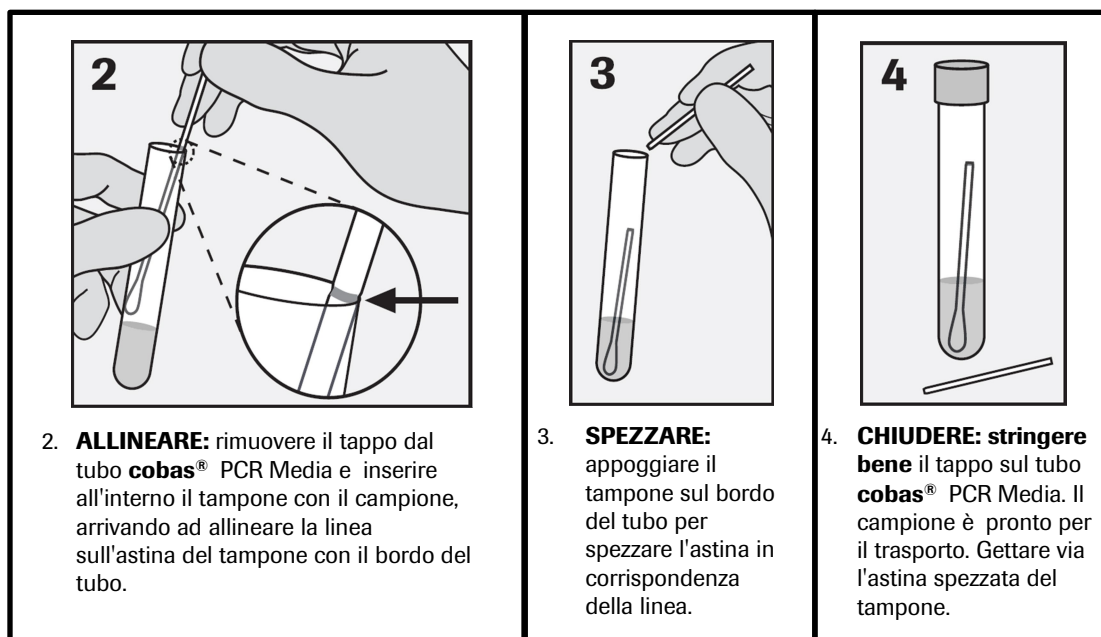
Prelievo del campione con tampone nasale (narici anteriori) eseguito dal paziente o da un medico in loco

AVVERTIMENTO: NON INUMIDIRE IL TAMPONE IN cobas® PCR MEDIA PRIMA DI ESEGUIRE IL PRELIEVO!



OPPURE





- Prelevare i campioni nasali con la tecnica di prelievo standard, utilizzando un tampone floccato o un tampone con puntale in poliestere che dovrà essere inserito immediatamente in 3 ml di soluzione fisiologica 0,9%.

Trasporto e conservazione

- Il trasporto dei campioni raccolti deve avvenire nel rispetto di tutte le normative in vigore relativamente al trasporto di agenti eziologici.
- Per il trasporto e la conservazione dei campioni prelevati con **cobas**® PCR Media o soluzione fisiologica 0,9%, rispettare le seguenti condizioni:
 - Dopo il prelievo, i campioni raccolti in **cobas**® PCR Media o in soluzione fisiologica 0,9% devono essere conservati a 2-8°C e trattati entro 48 ore.
- La stabilità dei campioni durante l'uso del test **cobas**® SARS-CoV-2, per quanto riguarda tempi e temperature, non è stata determinata ma si basa sui dati di vitalità ottenuti dai test eseguiti su virus simili con i sistemi UTM-RT o UVT, secondo quanto dichiarato nelle istruzioni per l'uso del Copan UTM-RT System riportate di seguito:
 - Dopo il prelievo, i campioni devono essere conservati a 2-25°C e trattati entro 48 ore.
 - Se la consegna e il trattamento richiedono più di 48 ore, i campioni devono essere trasportati in ghiaccio secco e, una volta giunti in laboratorio, congelati a una temperatura minima di -70°C.

Istruzioni per l'uso

Note sulla procedura

- Non utilizzare i reagenti **cobas**® SARS-CoV-2, il **cobas**® SARS-CoV-2 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.
- Per informazioni sulla corretta manutenzione degli strumenti, consultare la Guida Utente e/o l'Assistenza Utente dei **cobas**® 6800/8800 Systems.

Esecuzione del test **cobas**® SARS-CoV-2

Il test **cobas**® SARS-CoV-2 può essere eseguito con un volume minimo di campione di 0,6 ml nella provetta secondaria **cobas** **omni** per quanto riguarda i campioni raccolti in Copan Universal Transport Medium (UTM-RT), BD™ Universal Viral Transport (UVT), **cobas**® PCR Media o soluzione fisiologica 0,9%. I campioni raccolti con **cobas**® PCR Media Uni Swab Sample Kit o con **cobas**® PCR Media Dual Swab Sample Kit possono essere eseguiti nella provetta di prelievo primaria, con un volume di campione minimo di 1,0 ml.

Campioni raccolti in **cobas**® PCR Media, soluzione fisiologica 0,9%, UTM-RT o UVT

I campioni raccolti in Copan Universal Transport Medium (UTM-RT), BD™ Universal Viral Transport (UVT), **cobas**® PCR Media o soluzione fisiologica 0,9% devono essere trasferiti in una provetta secondaria **cobas** **omni** prima di essere analizzati sui **cobas**® 6800/8800 Systems. I campioni trasferiti nelle provette secondarie **cobas** **omni** devono essere analizzati selezionando il tipo di campione “Swab” nell'interfaccia utente (IU) del test **cobas**® SARS-CoV-2, come descritto nella Tabella 11.

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

- 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 0,6 ml di campione nella provetta secondaria già preparata ed etichettata con un codice a barre.
- Trasferire la provetta secondaria in un rack. Richiudere il tappo della provetta campione primaria.

Campioni raccolti con cobas® PCR Media Uni o con Dual Swab Sample Kit o con cobas® PCR Media, insieme a cobas® Uni Swab 100 Kit

I campioni raccolti con cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit, oppure con cobas® PCR Media Dual Swab Sample Kit, oppure con cobas® PCR Media insieme a cobas® Uni Swab 100 Kit devono essere stappati e poi caricati direttamente sui rack per essere analizzati sui cobas® 6800/8800 Systems. Il trasferimento in una provetta secondaria non è necessario. I tubi cobas® PCR Media si adattano perfettamente all'MPA RACK 16 MM LIGHT GREEN 7001-7050 (P/N 03143449001) e possono essere analizzati lasciando il tampone all'interno. I campioni raccolti con cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit, oppure con cobas® PCR Media Dual Swab Sample Kit, oppure con cobas® PCR Media insieme a cobas® Uni Swab 100 Kit devono essere analizzati selezionando il tipo di campione "cobas® PCR Media swab" nell'interfaccia utente (IU) cobas® SARS-CoV-2, come descritto nella Tabella 11.

Un campione raccolto correttamente avrà un solo tampone con l'asticella spezzata in corrispondenza del segno di demarcazione. Le asticelle spezzate al di sopra del segno di demarcazione saranno più lunghe del normale e potrebbero essere state anche piegate per poter entrare nel tubo cobas® PCR Media. Ciò potrebbe causare un'ostruzione nel sistema di pipettamento, con conseguente perdita del campione e dei risultati del test e/o danni meccanici allo strumento. Se l'asticella di un tampone appare spezzata in modo errato, rimuovere il tampone prima di avviare l'analisi del campione sui cobas® 6800/8800 Systems. Durante lo smaltimento dei tamponi, prestare attenzione a schizzi e contatti tra i tamponi e le altre superfici per evitare la contaminazione.

Quando i tubi dei campioni primari cobas® PCR Media non contengono nessun tampone o ne contengono due, significa che non sono state rispettate le istruzioni per l'uso fornite nei kit di raccolta corrispondenti. I campioni non dovrebbero essere analizzati. Se è assolutamente necessario analizzare il campione contenente due tamponi nel tubo primario cobas® PCR Media, trasferire 0,6 ml di campione nella provetta secondaria già preparata ed etichettata con un codice a barre.

Ogni tanto i tamponi potrebbero contenere del muco in eccesso, che potrebbe causare un errore di pipettamento (ad esempio, formando un coagulo o un'ostruzione) sui cobas® 6800/8800 Systems. Prima di ripetere i test sui campioni interessati dai coaguli durante il trattamento iniziale, rimuovere e scartare il tampone, quindi ritappare il contenitore e miscelare questi campioni in vortex per 30 secondi per disperdere il muco in eccesso.

È possibile analizzare i tamponi due volte sui cobas® 6800/8800 Systems, lasciando il tampone all'interno della provetta del prelievo. Se sono necessari ulteriori test, o se il primo test fallisce a causa di un errore di pipettamento (ad esempio per un coagulo o un'ostruzione), sarà necessario estrarre il tampone e verificare che il volume di liquido rimanente sia di almeno 1,0 ml.

Tabella 11 Selezione del tipo di campione nell'interfaccia utente del test cobas® SARS-CoV-2

Kit di raccolta/tipo di matrice	Volume minimo (ml) Provetta del test	Trattamento del tipo di campione
Copan Universal Transport Medium BD™ Universal Viral Transport Soluzione fisiologica 0,9% cobas® PCR Media Kit	0,6 ml Provetta secondaria cobas omni	Swab (Tampone)
cobas® PCR Media Uni o Dual Swab Sample Kit cobas® PCR Media Kit insieme a cobas® Uni Swab 100 Kit	1,0 ml Provetta primaria	cobas® PCR Media swab (Tampone cobas® PCR Media)

Pool di campioni per i test SARS-CoV-2

Il test cobas® SARS-CoV-2 consente di analizzare pool contenenti al massimo 6 campioni. Le dimensioni del pool decise dal laboratorio devono tenere conto degli incrementi di efficienza richiesti, del tasso di positività per SARS-CoV-2 nella popolazione sottoposta al test e dei potenziali rischi insiti nel pool testing. La combinazione di più tipi di campioni in un unico pool non è stata validata.

Quando le risorse disponibili sono sufficienti per eseguire tutti i test necessari, si raccomanda ai laboratori di valutare se valga la pena correre i rischi di ridotta sensibilità del pool testing per risparmiare qualche risorsa.

- La procedura adottata deve garantire la tracciabilità tra gli ID dei campioni individuali e gli ID dei pool.
- Per ridurre la potenziale contaminazione dei cobas® 6800/8800 Systems, non trasferire i campioni nelle provette secondarie mentre i campioni si trovano sui rack a 5 posizioni Roche (RD5 e/o MPA).
- Assicurarsi che le tecniche di manipolazione dei campioni siano appropriate, in modo da ridurre la contaminazione crociata tra i pool e i campioni originali dei pazienti.

Metodi di pooling

1. Identificare una provetta secondaria destinata al pooling con un'apposita etichetta.
2. Associare i campioni che faranno parte del pool all'identificativo della provetta di pooling, creando un foglio di lavoro per questo scopo o utilizzando un sistema di tracciamento dei campioni validato.
3. Per la manipolazione dei campioni in sicurezza (cioè per il trasferimento del campione in una provetta secondaria), Roche consiglia l'uso di una cappa di sicurezza biologica (BSC) o di altre misure approvate.
4. Se il pool viene creato manualmente, è consigliabile manipolare solo i campioni di un pool alla volta.
5. Assicurarsi che ogni campione sia disponibile in un volume sufficiente per creare il pool e per eseguire un eventuale test di risoluzione (risoluzione del pool). Esempio: per i pool costituiti da 6 campioni occorrono almeno 100 µL di campione (per il pool) e 600 µL di campione (per il test di risoluzione), pertanto prima di creare il pool occorre avere a disposizione 700 µL di campione come volume minimo (Tabella 12).

Tabella 12 Volumi minimi per la creazione di un pool di campioni

Dimensioni pool	Volume necessario per il pool (mL)	Volume necessario per il test di risoluzione (mL)	Volume minimo necessario per la creazione di un pool (mL)
6	0,100	0,600	0,700
5	0,120	0,600	0,720
4	0,150	0,600	0,750
3	0,200	0,600	0,800
2	0,300	0,600	0,900

6. Utilizzando un micropipettatore calibrato e un puntale di pipettamento nuovo per ogni campione, preparare il pool pipettando con cura ogni singolo campione nella provetta secondaria destinata al pooling.
7. Dopo avere pipettato tutti i campioni nella provetta secondaria, miscelarli molto bene (pipettando su e giù). Procedere con cautela per prevenire la formazione di bolle d'aria, schiuma o aerosol durante la miscelazione.
8. Se il pool viene creato manualmente, è consigliabile confrontare visivamente se il volume del pool nella provetta secondaria appena preparata corrisponde al volume del pool in una provetta secondaria di riferimento (che contiene sicuramente il volume esatto del pool). Se il livello della provetta di pooling appena preparata è più basso o più alto del volume della provetta di pooling di riferimento, eliminare il pool preparato manualmente e prepararne uno nuovo.
9. Sottoporre il pool di campioni alla procedura descritta nella Figura 1.

Classificazione dei risultati del pool e test di follow-up

L'interpretazione dei risultati del pool segue gli stessi criteri previsti per i risultati dei campioni individuali (sezione **Interpretazione dei risultati**).

- Se il pool genera un risultato negativo, tutti i campioni che include saranno classificati come negativi. La refertazione dei risultati dovrebbe includere un commento in cui viene dichiarato l'utilizzo del pool testing. Per ulteriori informazioni sulla diminuzione della sensibilità nel pool testing, vedere la sezione **Avvertimenti e precauzioni**.
- Se il pool genera un risultato positivo o presunto positivo, ognuno dei campioni del pool dovrà essere analizzato individualmente e separatamente. Per avere la certezza che vengano analizzati i campioni individuali corretti, utilizzare il sistema di tracciamento definito dal laboratorio. I risultati del test eseguito sui campioni individuali prevalgono sul risultato del pool.

Procedura del test cobas® SARS-CoV-2

La procedura del test è descritta dettagliatamente nella Guida Utente e/o nell'Assistenza Utente dei cobas® 6800/8800 Systems. La procedura è riassunta nella Figura 1.

Figura 1 Procedura del test cobas® SARS-CoV-2

1	Eeguire la procedura di accesso al sistema Premere Start per preparare il sistema Ordinare i test
2	Ricaricare i reagenti e i consumabili segnalati dal sistema: <ul style="list-style-type: none">• Caricare la cassetta dei reagenti specifici per il test• Caricare le cassette dei controlli• Caricare i puntali di pipettamento• Caricare le piastre di estrazione• Caricare il reagente MGP• Caricare le piastre di amplificazione• Ricaricare il diluente per campioni• Ricaricare il reagente di lisi• Ricaricare il reagente di lavaggio
3	Caricare i campioni sul sistema: <ul style="list-style-type: none">• Caricare i rack per campioni e i rack per puntali otturati sullo stesso modulo di inserimento dei campioni• Confermare che i campioni sono stati accettati dal modulo di trasferimento
4	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
5	Rivedere ed esportare i risultati
6	Rimuovere e tappare le provette campione contenenti il volume minimo richiesto per eventuale uso futuro Pulire lo strumento: <ul style="list-style-type: none">• Scaricare le cassette dei controlli vuote• Svuotare il cassetto per piastre di amplificazione• Svuotare i rifiuti liquidi• Svuotare i rifiuti solidi

Risultati

La rilevazione del virus SARS-CoV-2 sui **cobas**® 6800/8800 Systems viene eseguita automaticamente per ogni controllo e campione individuale o pool e, al termine, vengono visualizzati i risultati dei target individuali per i campioni e viene indicata la validità del test e dei risultati complessivi dei controlli.

Controllo di qualità e validità dei risultati

- In ogni batch vengono trattati un **cobas**® Buffer Negative Control [(-) Ctrl] e un [SARS-CoV-2 (+)C].
- Nel software **cobas**® 6800/8800 e/o nel report verificare se sono presenti flag e risultati ad essi associati per confermare la validità del batch.
- Per una descrizione di tutti i flag, fare riferimento alla Guida Utente **cobas**® 6800/8800 Systems.
- Il batch è valido se non ci sono flag per nessun controllo. Se il batch non è valido, ripetere il test sull'intero batch.

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

Interpretazione dei risultati

cobas® SARS-CoV-2 per il software del sistema v1.2

Nella Figura 2 sono riportati alcuni esempi dei risultati del test cobas® SARS-CoV-2 per il software del sistema versione 1.2.

Figura 2 Risultati di esempio del test cobas® SARS-CoV-2 per il software del sistema versione 1.2

Test	ID campione	Valido*	Flag	Tipo di campione	Risultato totale*	Target 1	Target 2
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_01	Yes		Swab	Negative	Negative	Negative
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_C1	No	Y40T	Swab	Invalid	Invalid	Invalid
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_B1	Yes		Swab	Reactive	Negative	Positive
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_B2	Yes		Swab	Positive	Positive	Positive
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_D1	Yes		Swab	Negative	Negative	Negative
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_A6	Yes		Swab	Reactive	Positive	Negative
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_E1	No	C01H2	Swab	Invalid	Positive	Invalid
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_A2	No	C01H1	Swab	Invalid	Invalid	Positive
SARS-CoV-2	C161420284090428828404	Yes		(-) Ctrl	Valid	Valid	Valid
SARS-CoV-2	C161420284093009580264	Yes		SARS-CoV-2 (+) C	Valid	Valid	Valid

* Le colonne "Valido" e "Risultato totale" non sono attinenti ai risultati dei campioni per il test cobas® SARS-CoV-2. I valori indicati in queste colonne non sono attinenti e non influenzano la validità dei risultati indicati nelle singole colonne "Risultato target". Per istruzioni specifiche sull'interpretazione dei risultati del test, fare riferimento alla Tabella 13, Interpretazione dei risultati del test cobas® SARS-CoV-2.

cobas® SARS-CoV-2 per il software del sistema versione 1.3 o successiva

Nella Figura 3 sono riportati alcuni esempi dei risultati del test cobas® SARS-CoV-2 per il software del sistema versione 1.3 o successiva.

Figura 3 Risultati di esempio del test cobas® SARS-CoV-2 per il software del sistema versione 1.3 o successiva

Test	ID campione	Valido*	Flag	Tipo di campione	Risultato totale*	Target 1	Target 2
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_01	NA		Swab	NA	Negative	Negative
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_C1	NA	Y40T	Swab	NA	Invalid	Invalid
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_B1	NA		Swab	NA	Negative	Positive
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_B2	NA		Swab	NA	Positive	Positive
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_D1	NA		Swab	NA	Negative	Negative
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_A6	NA		Swab	NA	Positive	Negative
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_E1	NA	C01H2	Swab	NA	Positive	Invalid
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_A2	NA	C01H1	Swab	NA	Invalid	Positive
SARS-CoV-2	C161420284090428828404	Yes		(-) Ctrl	Valid	Valid	Valid
SARS-CoV-2	C161420284093009580264	Yes		SARS-CoV-2 (+) C	Valid	Valid	Valid

* Le colonne "Valido" e "Risultato totale" non sono attinenti ai risultati dei campioni per il test cobas® SARS-CoV-2. I valori indicati in queste colonne non sono attinenti e non influenzano la validità dei risultati indicati nelle singole colonne "Risultato target". Per istruzioni specifiche sull'interpretazione dei risultati del test, fare riferimento alla Tabella 13, Interpretazione dei risultati del test cobas® SARS-CoV-2.

Interpretazione dei risultati

L'interpretazione dei risultati riportati più avanti si applica sia al software **cobas**® 6800/8800 versione 1.2 che al software **cobas**® 6800/8800 versione 1.3 e successive.

Se un batch è valido, verificare nel software **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.
- **Le colonne “Valido” e “Risultato totale” non sono attinenti ai risultati dei campioni per il test cobas® SARS-CoV-2. I valori indicati in queste colonne non sono attinenti e non influenzano la validità dei risultati indicati nelle singole colonne “Risultato target”.**
- 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 sono riportati i risultati e la loro interpretazione per la rilevazione del SARS-CoV-2.

Tabella 13 Interpretazione dei risultati del test cobas® SARS-CoV-2

Target 1	Target 2	Interpretazione
Positive	Positive	Tutti i risultati dei target sono validi. RNA di SARS-CoV-2 rilevato.
Positive	Negative	Tutti i risultati dei target sono validi. RNA di SARS-CoV-2 rilevato. Un risultato positivo per Target 1 e negativo per Target 2 è indicativo di 1) un campione con concentrazioni prossime o inferiori al limite di sensibilità del test; 2) una mutazione nella regione target di Target 2 oppure 3) altri fattori.
Negative	Positive	Tutti i risultati dei target sono validi. Presunta positività all'RNA di SARS-CoV-2. Un risultato negativo per Target 1 e un risultato positivo per Target 2 sono indicativi di 1) un campione con concentrazioni prossime o inferiori al limite di sensibilità del test; 2) una mutazione nella regione target di Target 1 nei siti di legame degli oligonucleotidi; oppure 3) un'infezione con un altro Sarbecovirus (ad esempio, SARS-CoV o un altro Sarbecovirus la cui infettività per gli esseri umani non è nota) oppure 4) altri fattori. Nel caso di campioni con un risultato di presunta positività, potrebbe essere necessario eseguire ulteriori test di conferma per differenziare tra SARS-CoV-2 e SARS-CoV-1 o altri Sarbecovirus, la cui infettività per gli esseri umani non è nota, a scopo epidemiologico o per la gestione clinica.
Negative	Negative	Tutti i risultati dei target sono validi. RNA di SARS-CoV-2 non rilevato.
Positive	Invalid	Non tutti i risultati dei target sono validi. RNA di SARS-CoV-2 rilevato.
Invalid	Positive	Non tutti i risultati dei target sono validi. Presunta positività all'RNA di SARS-CoV-2. Nel caso di campioni con un risultato di presunta positività, potrebbe essere necessario eseguire ulteriori test di conferma per differenziare tra SARS-CoV-2 e SARS-CoV-1 o altri Sarbecovirus, la cui infettività per gli esseri umani non è nota, a scopo epidemiologico o per la gestione clinica.
Negative	Invalid	Non tutti i risultati dei target sono validi. È necessario analizzare di nuovo il campione. Se il risultato è ancora non valido, è necessario richiedere un nuovo campione.
Invalid	Negative	Non tutti i risultati dei target sono validi. È necessario analizzare di nuovo il campione. Se il risultato è ancora non valido, è necessario richiedere un nuovo campione.
Invalid	Invalid	Tutti i risultati dei target sono non validi. È necessario analizzare di nuovo il campione. Se il risultato è ancora non valido, è necessario richiedere un nuovo campione.

Limiti della procedura

- Il test **cobas**® SARS-CoV-2 è stato valutato esclusivamente per l'uso con i seguenti prodotti: **cobas**® SARS-CoV-2 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'utilizzo sui **cobas**® 6800/8800 Systems.
- L'affidabilità dei risultati è influenzata dal metodo di raccolta, conservazione e manipolazione dei campioni.
- Il test è destinato all'uso per la rilevazione dell'RNA di SARS-CoV-2 nei campioni prelevati con tamponi nasali, rinofaringei e orofaringei in Copan UTM-RT System (UTM-RT) o BD™ Universal Viral Transport System (UVT) e nei campioni prelevati con tamponi nasali in **cobas**® PCR Media e in soluzione fisiologica 0,9%. L'uso di altri tipi di campioni con il test **cobas**® SARS-CoV-2 può generare risultati non accurati.
- La quantificazione dell'RNA di SARS-CoV-2 può essere influenzata dai metodi di raccolta 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**® SARS-CoV-2 potrebbero influenzare il legame del primer e/o della sonda e impedire al test di rilevare la presenza del virus.
- A causa delle differenze intrinseche tra le tecnologie, si consiglia agli utenti, prima di passare da una tecnologia a un'altra, di svolgere uno studio sulla correlazione tra i metodi nel proprio laboratorio, così da qualificare tali differenze. Non è dunque prevedibile una concordanza percentuale del 100% tra i risultati, proprio a causa delle differenze descritte tra le tecnologie. Si consiglia agli utenti di elaborare norme/procedure specifiche.
- Risultati falsi negativi o non validi potrebbero essere causati dalle interferenze. Il controllo interno è incluso nel kit **cobas**® SARS-CoV-2 per aiutare ad identificare i campioni che contengono sostanze potenzialmente interferenti con l'estrazione degli acidi nucleici e l'amplificazione PCR.
- L'aggiunta dell'enzima AmpErase al reagente Master Mix **cobas**® SARS-CoV-2 consente l'amplificazione selettiva dell'RNA target; è tuttavia necessario evitare la contaminazione dei reagenti rispettando le buone pratiche di laboratorio e attenendosi alle procedure descritte in queste istruzioni per l'uso.

Uso del pool testing in base alla prevalenza

L'uso del pool testing consente al laboratorio di aumentare la produttività nel testare le popolazioni con bassa prevalenza di SARS-CoV-2. Nelle popolazioni con prevalenza più alta, invece, potrebbero essere più indicati pool di dimensioni più piccole o test dei campioni individuali.

Per decidere quale strategia di pool testing adottare, un laboratorio deve valutare se il pool testing è idoneo al contesto specifico, sulla base del tasso di positività della popolazione e sulla base dell'efficienza del flusso di lavoro con i pool. Il laboratorio potrebbe anche tenere conto della sensibilità del pool testing sulla base del limite di sensibilità del test.

La Tabella 14 riporta l'efficienza massima stimata, sulla base dell'uso di pool composti da n campioni e sulla base della percentuale di campioni positivi per SARS-CoV-2 in una determinata popolazione.

Tabella 14 Efficienza del pool testing sulla base della prevalenza

P, percentuale di soggetti positivi nella popolazione testata	n_{efficienza_max} (dove n corrisponde all'efficienza massima)	Efficienza (F) del pool testing con pool composti da n campioni (aumento massimo del numero di pazienti sottoposti al test quando si adotta la strategia di n-pooling di Dorfman)
1-4%	6	4,44-2,60
5-6%	6	2,32-2,10
7-12%	6	1,92-1,42
13-25%	6	1,36-1,01
1-4%	5	4,02-2,60
5-6%	5	2,35-2,15
7-12%	5	1,98-1,49
13-25%	5	1,43-1,04
1-4%	4	3,46-2,50
5-6%	4	2,30-2,13
7-12%	4	1,99-1,54
13-25%	4	1,48-1,07
1-4%	3	2,75-2,23
5-6%	3	2,10-1,99
7-12%	3	1,89-1,53
13-25%	3	1,48-1,10
1-4%	2	1,92-1,73
5-6%	2	1,67-1,62
7-12%	2	1,57-1,38
13-25%	2	1,35-1,07

Poiché un pool positivo costringe a ripetere il test su tutti i campioni individuali che compongono quel pool, l'efficienza della strategia di pool testing dipende dal tasso di positività. L'efficienza (F) pool testing con pool composti da N campioni per il tasso di positività (P) può essere calcolata applicando la formula $F=1/(1+1/n-(1-P)n)$. L'efficienza (F) indica quanti campioni in più potrebbero essere analizzati, rispetto al numero di campioni individuali, utilizzando un pool di N campioni. Ad esempio, una strategia che prevede l'uso di pool composti da 6 campioni aumenterà di 2,10 volte il numero dei campioni analizzati per il tasso di positività P del 6% (F = 2,10). Se F = 2,10, con 1000 test sarà possibile analizzare mediamente 2100 campioni.

Valutazione delle prestazioni non cliniche

Caratteristiche delle prestazioni

Sensibilità analitica

Gli studi sul limite di sensibilità (Limit of Detection, LoD) stabiliscono la concentrazione minima del SARS-CoV-2 alla quale il virus è rilevabile nel 95% o più di tutti i replicati dei test positivi (veri positivi).

Per determinare il valore LoD, è stato utilizzato un virus coltivato di un isolato ottenuto da un paziente negli Stati Uniti (USA-WA1/2020, numero di catalogo NR-52281, numero di lotto 70033175, 2,8E+05 TCID₅₀/ml[§]) diluito in una matrice clinica simulata. In tutto sono state analizzate 7 concentrazioni, con diluizioni seriali 1:3, per un totale di 21 replicati per concentrazione, con ulteriori 10 replicati di un campione bianco (ovvero una matrice clinica simulata).

Come illustrato nella Tabella 15, la concentrazione con tassi di successo maggiori o uguali al 95% è di 0,009 e di 0,003 TCID₅₀/ml, rispettivamente per SARS-CoV-2 (Target 1) e per pan-Sarbecovirus (Target 2). Come illustrato nella Tabella 16, i tassi di successo del 95% previsti dal modello Probit erano di 0,007 e 0,004 TCID₅₀/ml, rispettivamente per SARS-CoV-2 (Target 1) e di pan-Sarbecovirus (Target 2).

Tabella 15 Determinazione del valore LoD con il ceppo USA-WA1/2020

Ceppo	Concentrazione [TCID ₅₀ /ml]	Totale risultati validi	Tasso di successo [%] [^]		Ct medio*	
			Target 1	Target 2	Target 1	Target 2
USA-WA1/2020 [§] (concentrazione stock 2,8E+05 TCID ₅₀ /ml)	0,084	21	100	100	31,0	33,0
	0,028	21	100	100	31,8	34,1
	0,009	21	100	100	32,7	35,2
	0,003	21	38,1	100	33,5	36,4
	0,001	21	0	52,4	n/d	37,9
	0,0003	21	0	14,3	n/d	37,2
	0,0001	21	0	9,5	n/d	38,5
	0 (bianco)	10	0	0	n/d	n/d

[§] Il seguente reagente è stato depositato dai CDC (Centers for Disease Control and Prevention) e ottenuto tramite BEI Resources, NIAID, NIH: SARS-Related Coronavirus 2, Isolate USA-WA1/2020, NR-52281.

[^] Tutti i replicati con Target 1 positivo erano positivi anche per Target 2.

* Nei calcoli sono stati inclusi soltanto i risultati positivi.

Tabella 16 Tassi di successo del 95% previsti dal modello Probit con il ceppo USA-WA1/2020

Ceppo	Tasso di successo del 95% previsto dal modello Probit [TCID ₅₀ /ml]	
	Target 1	Target 2
USA-WA1/2020 (concentrazione stock 2,8E+05 TCID ₅₀ /ml)	0,007 (IC 95%: 0,005-0,036)	0,004 (IC 95%: 0,002-0,009)

La sensibilità analitica del test è stata verificata con AccuPlex SARS-CoV-2 (lotto n° 105324), un materiale di riferimento quantificato, costituito da particelle di virus Sindbis ricombinante contenenti le sequenze target del genoma SARS-CoV-2. Il livello di concentrazione in una serie di diluizioni con tassi di successo osservati maggiori o uguali al 95% è stato di 46 copie/ml, sia per il Target 1 che per il Target 2. Le stime del valore LoD 95% con modello Probit, basate su questi dati, indicavano 25 copie/ml (IC 95%: 17-58 copie/ml) per il Target 1 e 32 copie/ml (IC 95%: 21-73 copie/ml) per il Target 2.

Reattività crociata

Analisi *in silico*

L'analisi *in silico* per le possibili reazioni crociate con tutti gli organismi elencati nella Tabella 17 è stata svolta mappando individualmente i primer del test cobas® SARS-CoV-2 rispetto alle sequenze scaricate dai database NCBI e GISAID. Se due dei primer venivano mappati a una sequenza su filamenti opposti a breve distanza l'uno dall'altro, le potenziali amplificazioni venivano contrassegnate con un flag. Sulla base di questa analisi *in silico* non è attesa nessuna potenziale reattività crociata non voluta.

Tabella 17 Analisi *in silico* per SARS-CoV-2

Ceppo	Analisi <i>in silico</i> per identità % al Target 1 (nCoV)	Analisi <i>in silico</i> per identità % al Target 2 (Pan-Sarbecovirus 1)
CoV 229E	74,47	Nessun allineamento trovato*
CoV OC43	72,26	Nessun allineamento trovato*
CoV HKU1	76,52	Nessun allineamento trovato*
CoV NL63	71,32	Nessun allineamento trovato*
SARS-CoV	95,04	100
MERS	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
AdV	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
HMPV	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
HPIV1	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
HPIV2	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
HPIV3	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
HPIV4	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
Inf A	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
Inf B	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
EV	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
RSV	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
RV	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
<i>Haemophilus influenzae</i>	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
<i>Legionella pneumophila</i>	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
<i>MTB Mycobacterium bovis subsp. Bovis</i>	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
<i>Bordetella pertussis</i>	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*

Ceppo	Analisi <i>in silico</i> per identità % al Target 1 (nCoV)	Analisi <i>in silico</i> per identità % al Target 2 (Pan-Sarbecovirus 1)
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
Influenza C	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
Parechovirus	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
<i>Candida albicans</i>	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
<i>Legionella non-pneumophila</i>	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
<i>Bacillus anthracis (Antrace)</i>	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
<i>Moraxella catarrhalis</i>	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
<i>Neisseria elongate e meningitides</i>	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
<i>Staphylococcus salivarius</i>	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
<i>Leptospira</i>	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
<i>Chlamydia psittaci</i>	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
<i>Coxiella burnetii (Febbre Q)</i>	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*
<i>Staphylococcus aureus</i>	Nessun allineamento trovato*	Nessun allineamento trovato*

Nota: * è stata eseguita una ricerca su BLAST delle sequenze dell'amplicone rispetto a tutte le sequenze esclusive, con un cutoff di severità molto basso (50% e 100 bp). Non è stato trovato nessun allineamento al di sopra del valore di cutoff e non sono state rilevati problemi di reattività crociata.

Test di reattività crociata

La reattività crociata del test **cobas**® SARS-CoV-2 è stata analizzata eseguendo i test su organismi completi. Come elencato nella Tabella 18, è stato analizzato un pannello costituito da più sottospecie univoche di microrganismi. Alcuni stock con titolazione elevata di microrganismi che potrebbero avere reattività crociata sono stati aggiunti a una matrice clinica simulata negativa, fino a un livello di concentrazione di 1,0E+05 unità/ml per i virus e di 1,0E+06 unità/ml per altri microrganismi, se non diversamente specificato.

Nessuno degli organismi analizzati ha interferito con le prestazioni del test **cobas**® SARS-CoV-2 generando risultati falsi positivi.

Tabella 18 Risultati del test di reattività crociata

Microrganismo	Concentrazione	Risultato Target 1	Risultato Target 2
Coronavirus umano 229E	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Coronavirus umano OC43	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Coronavirus umano HKU1	1,0E+05 cp/ml	Negativo	Negativo
Coronavirus umano NL63	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Coronavirus MERS	1,0E+05 equivalente genomico/ml	Negativo	Negativo
Coronavirus SARS	1,0E+05 PFU/ml	Negativo	Positivo
Adenovirus B (tipo 34)	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Metapneumovirus umano (hMPV)	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Virus parainfluenzale tipo 1	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Virus parainfluenzale tipo 2	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Virus parainfluenzale tipo 3	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Virus parainfluenzale tipo 4	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Influenza A (H1N1)	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Influenza B	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Enterovirus E (tipo 1)	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Virus respiratorio sinciziale	1,0E+05 PFU/ml	Negativo	Negativo
Rinovirus	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
<i>Chlamydia pneumonia</i>	1,0E+06 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,0E+06 CFU/ml	Negativo	Negativo
<i>Legionella pneumophila</i>	1,0E+06 CFU/ml	Negativo	Negativo
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1,0E+06 cellule/ml	Negativo	Negativo
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,0E+06 CFU/ml	Negativo	Negativo
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,0E+06 CFU/ml	Negativo	Negativo
<i>Bordetella pertussis</i>	1,0E+06 CFU/ml	Negativo	Negativo
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,0E+06 CFU/ml	Negativo	Negativo
Lavaggio nasale umano in pool	5-50%	Negativo	Negativo

Equivalenza dei tipi di campioni

L'equivalenza tra i tipi di campioni prelevati con tampone rinofaringeo (NPS) e con tampone orofaringeo (OPS) è stata valutata aggiungendo il virus coltivato (ceppo USA-WA1/2020) a coppie di campioni negativi (campioni individuali, non pool) al fine di preparare artificialmente campioni positivi a bassa carica virale (circa $1,5 \times \text{LoD Target 1}$) e moderata carica virale (circa $4 \times \text{LoD Target 1}$) per ciascun tipo di campione. In totale sono state analizzate 21 coppie di campioni positivi a bassa carica virale, 11 coppie di campioni positivi a moderata carica virale e 11 coppie di campioni negativi.

Come illustrato nella Tabella 19, tutte le coppie di campioni positivi a bassa e moderata carica virale sono risultate positive in entrambe le matrici di campioni. Tutte le coppie di campioni negativi sono risultate negative per entrambi i tipi di campioni. I valori Ct osservati per i campioni positivi creati artificialmente sono equiparabili per entrambi i tipi di campioni.

Tabella 19 Confronto tra i risultati dei tipi di campioni rinofaringei e orofaringei

Tipo di campione	Concentrazione del campione	N	Target 1		Target 2	
			% di positivi	Ct medio (IC 95%)	% di positivi	Ct medio (IC 95%)
NPS	$\sim 1,5 \times \text{LoD (Target 1)}$	21	100	31,9 (31,7-32,0)	100	33,6 (33,5-33,7)
OPS			100	32,2 (31,8-32,6)	100	33,7 (33,4-34,1)
NPS	$\sim 4 \times \text{LoD (Target 1)}$	11	100	30,9 (30,3-31,5)	100	32,2 (31,6-32,9)
OPS			100	31,5 (31,2-31,9)	100	32,7 (32,4-33,0)
NPS	Negativo	11	0	n/d	0	n/d
OPS			0	n/d	0	n/d

Equivalenza delle matrici - UTM-RT e cobas® PCR Media

L'equivalenza tra i campioni raccolti in UTM-RT e in cobas® PCR Media (CPM) è stata valutata aggiungendo il virus coltivato (ceppo USA-WA1/2020) a coppie di campioni rinofaringei negativi, prelevati a soggetti con segni e sintomi di un'infezione delle alte vie respiratorie. Questi campioni individuali (non pool) sono stati utilizzati per preparare artificialmente campioni positivi a bassa carica virale (circa $1,5 \times \text{LoD}$) e moderata carica virale (circa $4 \times \text{LoD}$) per ogni terreno di trasporto. In totale sono state analizzate 21 coppie di campioni positivi a bassa carica virale, 11 coppie di campioni positivi a moderata carica virale e 11 coppie di campioni negativi.

Come illustrato nella Tabella 20, tutte le coppie di campioni positivi a bassa e moderata carica virale sono risultate positive in entrambe le matrici di campioni. Tutte le coppie di campioni negativi sono risultate negative in entrambe le matrici di campioni. I valori Ct osservati per i campioni positivi creati artificialmente sono equiparabili per entrambe le matrici di campioni.

Tabella 20 Confronto dei risultati tra UTM-RT e cobas® PCR Media

Terreno di trasporto	Concentrazione del campione	N	Target 1		Target 2	
			% di positivi	Ct medio (IC 95%)	% di positivi	Ct medio (IC 95%)
UTM	~1,5 × LoD	21	100	31,8 (31,6-32,0)	100	34,0 (33,8-34,2)
CPM			100	32,2 (31,9-32,4)	100	34,7 (34,4-35,0)
UTM	~4 × LoD	11	100	30,7 (30,1-31,2)	100	32,4 (31,7-33,1)
CPM			100	31,6 (31,0-32,1)	100	33,7 (32,9-34,5)
UTM	Negativo	11	0	n/d	0	n/d
CPM			0	n/d	0	n/d

Equivalenza delle matrici - UTM-RT e soluzione fisiologica 0,9%

L'equivalenza tra i campioni raccolti in UTM-RT e in soluzione fisiologica 0,9% è stata valutata aggiungendo il virus coltivato (ceppo USA-WA1/2020) a coppie di campioni negativi (campioni individuali, non pool) al fine di preparare artificialmente campioni positivi a bassa carica virale (circa 1,5 × LoD) e moderata carica virale (circa 4 × LoD) per ogni terreno di trasporto. È stato utilizzato cobas® PCR Media Dual Swab Sample Kit per prelevare 3 campioni di ciascun tipo da 45 donatori sani: 2 campioni nasali sono stati prelevati con doppio tampone floccato/ovattato in poliestere e conservati in UTM; 1 tampone nasale è stato prelevato dall'altra narice con un tampone ovattato in poliestere e conservato in soluzione fisiologica 0,9%. In totale sono state analizzate 17 coppie di campioni positivi a bassa carica virale, 11 coppie di campioni positivi a moderata carica virale e 45 coppie di campioni negativi.

Come illustrato nella Tabella 21, tutte le coppie di campioni positivi a bassa e moderata carica virale sono risultate positive in entrambe le matrici di campioni. Tutte le coppie di campioni negativi sono risultate negative in entrambe le matrici di campioni. I valori Ct osservati per i campioni positivi creati artificialmente sono equiparabili per entrambe le matrici di campioni.

Tabella 21 Confronto dei risultati tra UTM-RT e soluzione fisiologica 0,9%

Dispositivo per il prelievo	Concentrazione del campione	N	Target 1		Target 2	
			% di positivi	Ct medio (IC 95%)	% di positivi	Ct medio (IC 95%)
Tampone floccato in UTM-RT	~1,5 × LoD	17	100	32,2 (32,0-32,4)	100	33,6 (33,6-33,7)
Tampone ovattato in UTM-RT		16	100	31,6 (31,1-32,1)	100	33,2 (32,7-33,8)
Tampone ovattato in fisiologica		17	100	31,7 (31,4-32,0)	100	33,5 (33,2-33,8)
Tampone floccato in UTM-RT	~4 × LoD	11	100	31,2 (31,1-31,4)	100	32,6 (32,4-32,7)
Tampone ovattato in UTM-RT			100	30,9 (30,4-31,4)	100	32,4 (31,9-33,0)
Tampone ovattato in fisiologica			100	31,0 (30,8-31,3)	100	32,6 (32,5-32,7)
Tampone floccato in UTM-RT	Negativo	45	0	n/d	0	n/d
Tampone ovattato in UTM-RT			0	n/d	0	n/d
Tampone ovattato in fisiologica			0	n/d	0	n/d

Prestazioni con i pool di campioni

Sono state valutate le prestazioni del test **cobas**® SARS-CoV-2 quando si analizzano campioni nasofaringei raccolti in UTM o UVT su un **cobas**® 6800 System e un **cobas**® 8800 System. Sono stati analizzati 30 campioni positivi, sia individualmente, sia in pool composti da 6 campioni (1 positivo e 5 negativi), sia in pool composti da 3 campioni (1 positivo e 2 negativi). Inoltre i campioni negativi sono stati analizzati sia individualmente, sia in 20 pool negativi composti da 6 campioni, sia in 20 pool negativi composti da 2 campioni.

I 30 campioni individuali positivi presentavano valori Ct per il Target 2 pan-Sarbecovirus compresi fra 15,1 e 35,3, incluso un sottoinsieme di 8 campioni con bassa positività (circa il 27% del totale) che presentavano valori Ct per il Target 2 compresi fra 33,4 e 35,3. Il sottoinsieme di campioni positivi bassi rientravano nel target Ct 2-3 (effettivo 1,1-3) del Ct medio per il Target 2 al limite di sensibilità.

Nella Tabella 22 e nella Tabella 23 sono riportate rispettivamente le prestazioni ottenute analizzando i pool composti da 6 campioni e i pool composti da 3 campioni (ciascuno contenente un campione positivo) e le prestazioni ottenute analizzando i campioni individuali. I risultati positivi e presunti positivi (vedere la definizione fornita nella Tabella 13) sono stati utilizzati per calcolare la concordanza percentuale positiva (confronto tra pool e campioni individuali), in quanto tutti i campioni che compongono il pool dovrebbero essere sottoposti nuovamente al test individualmente. Per ogni dimensione del pool analizzata, viene fornito un riepilogo dei risultati di tutti i campioni e, a parte, un riepilogo dei risultati del sottoinsieme di campioni con bassa positività.

Tabella 22 Reattività nei pool positivi composti da 6 campioni

Campioni nei pool di 6	Risultati negativi per il pool	Risultati non validi per il pool	Risultati positivi o presunti positivi per il pool	Totale N risultati validi per il pool	Concordanza percentuale positiva (confronto tra pool e campioni individuali)
Positivi (inclusi i positivi bassi)	0	0	30*	30	100% (30/30) (IC 95%: 88,6-100%)
Positivi bassi	0	0	8*	8	100% (8/8) (IC 95%: 67,6-100%)

* Nota: un campione con bassa positività è risultato “presunto positivo” quando è stato analizzato in un pool di 6 campioni.

Tabella 23 Reattività nei pool positivi composti da 3 campioni

Campioni nei pool di 3	Risultati negativi per il pool	Risultati non validi per il pool	Risultati positivi o presunti positivi per il pool	Totale N risultati validi per il pool	Concordanza percentuale positiva (confronto tra pool e campioni individuali)
Positivi (inclusi i positivi bassi)	0	0	30	30	100% (30/30) (IC 95%: 88,6-100%)
Positivi bassi	0	0	8	8	100% (8/8) (IC 95%: 67,6-100%)

Nella Tabella 24 sono riportate le prestazioni ottenute analizzando pool composti da 6 campioni e pool composti da 2 campioni solo negativi, in confronto alle prestazioni ottenute analizzando i campioni individuali.

Tabella 24 Specificità nei pool negativi composti da 6 campioni e da 2 campioni

Dimensioni pool	Risultati negativi per il pool	Risultati non validi per il pool	Risultati positivi o presunti positivi per il pool	Totale N risultati validi per il pool	Percentuale di negativi osservati
Pool di 6	20	0	0	20	100% (20/20) (IC 95%: 83,9-100%)
Pool di 2	20	0	0	20	100% (20/20) (IC 95%: 83,9-100%)

Nota: è possibile che alcuni campioni positivi non vengano rilevati, se diluiti e analizzati in pool. Nei dati relativi alle prestazioni potrebbe essere sottostimata l'eventuale perdita di sensibilità del pool testing. Nel valutare se il pool testing sia o meno valido, il laboratorio dovrebbe tenere anche conto del limite di sensibilità del test (vedere **Avvertimenti e precauzioni**).

Valutazione delle prestazioni cliniche

Le prestazioni del test cobas® SARS-CoV-2 sono state valutate con campioni clinici prelevati tramite tampone rinofaringeo in modo prospettico, utilizzando 100 campioni clinici individuali negativi e 50 campioni clinici positivi preparati artificialmente, prelevati da soggetti con segni e sintomi di un'infezione delle alte vie respiratorie.

I campioni clinici sono stati prelevati da personale qualificato che ha seguito le istruzioni per l'uso del dispositivo utilizzato per il prelievo. La manipolazione dei campioni è avvenuta secondo le istruzioni contenute nel foglio illustrativo del dispositivo utilizzato per il prelievo. I campioni sono stati congelati fino al momento dell'uso. I campioni sono stati sottoposti ai test degli acidi nucleici disponibili in commercio per la rilevazione qualitativa dei microrganismi associati alle più comuni infezioni delle alte vie respiratorie e sono risultati negativi.

Sono stati preparati artificialmente campioni clinici con bassa e moderata carica virale, arricchendo i singoli campioni clinici negativi con il virus coltivato (ceppo USA-WA1/2020) fino a concentrazioni di circa $1,5 \times \text{LoD}$ (Target 1) (25 campioni) e $4 \times \text{LoD}$ (Target 1) (25 campioni).

Come illustrato nella Tabella 25, tutti i campioni con bassa e moderata carica virale sono risultati positivi e tutti i campioni negativi sono risultati negativi nel fondo della matrice di singoli campioni clinici.

Tabella 25 Valutazione clinica con campioni rinofaringei

Concentrazione del campione	N	Target 1		Target 2	
		% di positivi (IC bilaterale al 95%)	Ct medio	% di positivi (IC bilaterale al 95%)	Ct medio
$\sim 1,5 \times \text{LoD}$	25	100 (86,7-100)	31,6	100 (86,7-100)	33,2
$\sim 4 \times \text{LoD}$	25	100 (86,7-100)	31,1	100 (86,7-100)	32,4
Negativo	100	0 (n/d)	n/d	0 (n/d)	n/d

Le prestazioni rispetto ai risultati attesi sono:

Concordanza percentuale positiva $50/50 = 100\%$ (IC 95%: 92,9%-100%)

Concordanza percentuale negativa $100/100 = 100\%$ (IC 95%: 96,3%-100%)

Informazioni supplementari

Caratteristiche del test

Tipo di campione	Campioni prelevati con tampone rinofaringeo e orofaringeo in Copan UTM-RT System o BD™ UVT System Campioni prelevati con tampone nasale in Copan UTM-RT System, BD™ UVT System, cobas ® PCR Media e soluzione fisiologica 0,9%
Quantità minima di campione richiesta	0,6 o 1,0 ml* **
Volume di analisi del campione	0,4 ml
Durata del test	I risultati sono disponibili in meno di 3 ore e 30 minuti dal caricamento del campione sul sistema.





























* Il volume morto per le provette secondarie **cobas omni** è di 0,2 ml. Il volume morto per i tubi primari **cobas**® PCR Media è di 0,6 ml. Altre provette compatibili con i **cobas**® 6800/8800 Systems (vedere l'Assistenza Utente) potrebbero prevedere un volume morto diverso e necessitare di un volume minimo maggiore o minore.

** È richiesto un volume aggiuntivo per la creazione dei pool.

Simboli

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

Tabella 26 Simboli utilizzati sulle etichette dei prodotti diagnostici PCR di Roche

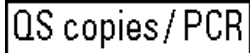
	Età o data di nascita		Data di produzione
	Software ausiliario		Distribuito da
	Intervallo assegnato (copie/ml)		Non riutilizzare
	Intervallo assegnato (UI/ml)		Femmina
	Mandatario nella Comunità Europea		Solo per valutazione delle prestazioni IVD
	Foglio di dati del barcode		Global Trade Item Number
	Codice del batch		Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>
	Rischio biologico		Limite inferiore dell'intervallo assegnato
	Numero di catalogo		Maschio
	Data di raccolta		Fabbricante
	Consultare le istruzioni per l'uso		Controllo negativo
	Contenuto sufficiente per <n> test		Non sterile
	Contenuto del kit		Numero del paziente
	Controllo		Nome del paziente



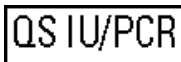
Staccare qui



Controllo positivo



Copie QS per reazione PCR; usare le copie QS per reazione PCR nel calcolo dei risultati.



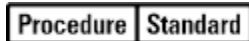
UI QS per reazione PCR; utilizzare le unità internazionali (UI) QS per la reazione PCR nel calcolo dei risultati.



Numero di serie



Sito



Procedura standard



Sterilizzazione con ossido di etilene



Conservare al buio



Limiti di temperatura



File di definizione del test



Contrassegno di conformità CE: questo dispositivo è conforme ai requisiti pertinenti del marchio CE relativamente ai dispositivi medico-diagnostici *in vitro*



Alto



Identificazione univoca del dispositivo



Procedura ultrasensibile



Limite superiore dell'intervallo assegnato



Riga di riempimento urina

Rx Only

Solo USA: la legge federale statunitense limita la vendita di questo dispositivo ai medici o su presentazione di prescrizione medica.



Utilizzare entro la data



Dispositivo idoneo ai test POC



Dispositivo non idoneo ai test POC



Dispositivo idoneo all'autodiagnosi



Dispositivo non idoneo all'autodiagnosi

Assistenza tecnica

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

Produttore e distributori

Tabella 27 Produttore e distributori



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

Made in USA

Distributed by

Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Strasse 116
 68305 Mannheim, Germany

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

Marchi e brevetti

Questo prodotto è coperto da uno o più brevetti statunitensi (n. 8962293, 9102924, 8609340, 9234250, 8097717, 8192958, 10059993, 10358675, 8129118 e 6727067) e dagli omologhi stranieri di ognuno.

COBAS, COBAS OMNI e AMPERASE sono marchi di Roche.

Il marchio “Armored RNA” è di proprietà di Asuragen, Inc. e Cenetron Diagnostics, Ltd.

Tutti gli altri nomi di prodotti e marchi appartengono ai rispettivi proprietari.

La tecnologia per la prevenzione del carryover nell'enzima AmpErase® è protetta dal Brevetto USA n. 7,687,247 di proprietà di Life Technologies, concesso in licenza a Roche Molecular Systems, Inc.

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

Copyright

©2021 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Str. 116
 68305 Mannheim
 Germany



Bibliografia

1. 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.
2. 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.

Revisione del documento

Informazioni sulla revisione del documento	
Doc Rev. 1.0 10/2020	Prima pubblicazione.
Doc Rev. 2.0 02/2021	Nella Tabella 10 è stato rimosso il segno di spunta corrispondente alla raccolta dei tipi di campioni rinofaringei con il cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit. Aggiunta della dichiarazione "Made in". Per ulteriori domande e chiarimenti, è possibile rivolgersi al rappresentante Roche locale.
Doc Rev. 3.0 05/2021	Aggiunto un riferimento alle istruzioni per l'uso dei kit per il prelievo dei campioni con riferimento alle informazioni sui rischi: "Per informazioni sui rischi, consultare le istruzioni per l'uso dei dispositivi per il prelievo". Aggiornamento della sezione Marchi e brevetti . Per ulteriori domande e chiarimenti, è possibile rivolgersi al rappresentante Roche locale.