



Rx Only

cobas[®] SARS-CoV-2

Ensayo cualitativo para uso en los cobas[®] 6800/8800 Systems

Para diagnóstico *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

Tabla de contenido

Uso previsto	4
Resumen y explicación de la prueba.....	4
Reactivos y materiales.....	6
Reactivos y controles de cobas® SARS-CoV-2.....	6
Reactivos cobas omni para la preparación de muestras	8
Requisitos de almacenamiento y manipulación.....	9
Material adicional necesario	10
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
Obtención in situ de muestra de exudado nasal (fosas nasales anteriores) por personal médico o mediante auto-toma.....	14
Transporte y almacenamiento	15
Instrucciones de uso	16
Notas sobre el procedimiento.....	16
Ejecución de la prueba cobas® SARS-CoV-2.....	16
Muestras obtenidas en cobas® PCR Media, suero salino al 0,9 %, UTM-RT o UVT	16
Muestras obtenidas mediante el cobas® PCR Media Uni, el Dual Swab Sample Kit o el cobas® PCR Media junto con el cobas® Uni Swab 100 Kit.....	17
Agrupación de muestras para las pruebas de SARS-CoV-2.....	18
Métodos de agrupación.....	18
Comunicación de los resultados del pool y pruebas de seguimiento	19
Procedimiento de la prueba cobas® SARS-CoV-2.....	20

Resultados	21
Control de calidad y validez de los resultados	21
Interpretación de los resultados	22
cobas ® SARS-CoV-2 para el software del sistema v1.2	22
cobas ® SARS-CoV-2 para el software del sistema v1.3 o superior	22
Interpretación de los resultados	23
Limitaciones del procedimiento	25
Utilización del agrupamiento en función de la prevalencia.....	26
Evaluación no clínica del rendimiento	27
Características clave de rendimiento	27
Sensibilidad analítica	27
Reactividad cruzada.....	28
Equivalencia entre tipos de muestras	31
Equivalencia de matrices: UTM-RT y cobas ® PCR Media.....	31
Equivalencia de matrices: UTM-RT y suero salino al 0,9 %.....	32
Rendimiento en los pools de muestras	33
Evaluación clínica del rendimiento	35
Rendimiento clínico con muestras de pacientes con sospecha de COVID-19	35
Rendimiento clínico de muestras de sujetos sin síntomas u otros motivos de sospecha de COVID-19.....	36
Información adicional	37
Características principales de la prueba	37
Símbolos	38
Asistencia técnica	40
Fabricante y distribuidores	40
Marcas registradas y patentes	40
Copyright.....	40
Bibliografía	41
Revisión del documento	42

Uso previsto

El ensayo **cobas**® SARS-CoV-2 para uso en los **cobas**® 6800/8800 Systems es una prueba de RT-PCR en tiempo real para la detección cualitativa de los ácidos nucleicos del SARS-CoV-2 en muestras de exudado nasal anterior obtenidas por el propio paciente según las instrucciones del personal médico (recogidas *in situ*) y en muestras de exudado nasal, nasofaríngeo y orofaríngeo obtenidas de todo tipo de pacientes, tanto aquellos con sospecha de COVID-19 por parte del personal sanitario como aquellos sin síntomas u otros motivos de sospecha de COVID-19.

Esta prueba también está diseñada para la detección cualitativa de ácidos nucleicos del SARS-CoV-2 en muestras agrupadas con hasta seis muestras individuales de exudado nasal obtenidas por el propio paciente con ayuda del personal médico (recogidas *in situ*) o de exudado nasal, nasofaríngeo y orofaríngeo obtenidas por el personal médico. Los resultados negativos de las muestras agrupadas deben tratarse como presuntamente negativos y, si no concuerdan con los signos y síntomas clínicos o si es necesario para el tratamiento del paciente, las muestras agrupadas deberán analizarse de forma individual. Las muestras incluidas en pools con un resultado positivo o presuntamente positivo deberán analizarse individualmente antes de la comunicación de un resultado. En las muestras agrupadas, es posible que no se detecten muestras con concentraciones bajas de ARN de SARS-CoV-2 a causa de la menor sensibilidad de las pruebas conjuntas.

Los resultados se utilizan para la detección de ARN del SARS-CoV-2. El ARN del SARS-CoV-2 generalmente es detectable en muestras respiratorias durante la fase aguda de la infección. Los resultados positivos indican la detección de ARN del SARS-CoV-2, aunque puede que no representen la presencia de ARN de SARS-CoV-2; para determinar el estado de infección del paciente, es necesario realizar la correlación clínica con el historial del paciente y otra información de diagnóstico. Los resultados positivos no descartan infecciones bacterianas o la coinfección con otros virus.

Los resultados negativos no excluyen la infección por SARS-CoV-2 y no deberían utilizarse como fundamento único para la toma de decisiones relativas al tratamiento de los pacientes. Los resultados negativos deben combinarse con las observaciones clínicas, el historial del paciente y la información epidemiológica.

El ensayo **cobas**® SARS-CoV-2 se ha diseñado para su uso por parte de personal de laboratorio clínico con la formación pertinente en las técnicas de PCR a tiempo real y procedimientos de diagnóstico *in vitro*.

Resumen y explicación de la prueba

Explicación de la prueba

El ensayo **cobas**® SARS-CoV-2 es una prueba cualitativa para uso en el **cobas**® 6800 System y el **cobas**® 8800 System para la detección del ARN del nuevo coronavirus de 2019 (SARS-CoV-2) en muestras individuales o agrupadas de exudado nasal, nasofaríngeo y orofaríngeo obtenidas en sistema de medio de transporte universal (UTM-RT) de Copan, en medio de transporte universal de virus (UVT) de BD™, **cobas**® PCR Media o en suero salino al 0,9 %. 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® SARS-CoV-2 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, 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® SARS-CoV-2.

La amplificación selectiva de los ácidos nucleicos de la diana de la muestra se consigue mediante cebadores que van en un sentido y en sentido contrario específicos para la diana en una región no estructural ORF1 a/b exclusiva del SARS-CoV-2. Para la detección del pan-sarbecovirus se ha seleccionado además una región conservada en la cubierta de proteínas estructurales del gen E. Los conjuntos de detección para el pan-sarbecovirus también detectan el virus SARS-CoV-2.

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 el genoma del coronavirus. Para el proceso de amplificación se utiliza una enzima ADN polimerasa termoestable.

El reactivo de Master Mix de cobas® SARS-CoV-2 contiene sondas de detección específicas para el tipo de coronavirus SARS-CoV-2, miembros del subgénero del sarbecovirus, y el ácido nucleico del control interno de ARN. Las sondas de detección del coronavirus 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 del coronavirus 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, no se destruyen los amplicones nuevos porque la enzima AmpErase se inactiva cuando se expone a temperaturas superiores a los 55 °C.

Reactivos y materiales

Los materiales suministrados para el ensayo cobas® SARS-CoV-2 se detallan en la Tabla 1. Los materiales necesarios no proporcionados se indican en la Tabla 2, la Tabla 3, la Tabla 4, la Tabla 7, la Tabla 8 y la Tabla 9.

Consulte los apartados **Reactivos y materiales** y **Precauciones y requisitos de manipulación** para obtener información sobre los peligros del producto.

Reactivos y controles de cobas® SARS-CoV-2

Todos los reactivos y controles sin abrir deben almacenarse como se recomienda desde la Tabla 1 hasta la Tabla 4.

Tabla 1 cobas® SARS-CoV-2

cobas® SARS-CoV-2			
Almacenar a 2-8 °C			
Casete para 192 pruebas (P/N 09175431190)			
Casete para 480 pruebas (P/N 09343733190)			
Componentes del kit	Composición del reactivo	Cantidad por kit	
		192 pruebas	480 pruebas
Solución de proteinasa (PASE)	Buffer Tris, < 0,05 % de EDTA, cloruro de calcio, acetato de calcio, 8 % de proteinasa, glicerol EUH210: Puede solicitarse la ficha de datos de seguridad. EUH208: Contiene subtilisina. Puede provocar una reacción alérgica.	22,3 ml	38 ml
Control interno de ARN (RNA IC)	Buffer Tris, < 0,05 % de EDTA, < 0,001 % de constructo de Armored RNA diferente del sarbecovirus 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	38 ml
Buffer de elución (EB)	Buffer Tris, 0,2 % de metil-4-hidroxibenzoato	21,2 ml	38 ml
Reactivo 1 de Master Mix (MMX-R1)	Acetato de manganeso, hidróxido potásico, < 0,1 % de azida sódica	7,5 ml	14,5 ml
Reactivo 2 de Master Mix SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2 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 sentido contrario para los cebadores del SARS-CoV-2 y del sarbecovirus, < 0,01 % de cebadores que van en un sentido y en sentido contrario para el control interno, < 0,01 % de sondas oligonucleótidas marcadas con fluorescente específicas para SARS-CoV-2, sarbecovirus y el control interno de ARN, < 0,01 % de aptámero oligonucleótido, < 0,1 % de ADN polimerasa Z05D, < 0,10 % de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana), < 0,1 % de azida sódica	9,7 ml	17,5 ml

Tabla 2 cobas® SARS-CoV-2 Control Kit

cobas® SARS-CoV-2 Control Kit		
Almacenar a 2-8 °C (P/N: 09175440190)		
Componentes del kit	Composición del reactivo	Cantidad por kit
Control positivo para SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2 (+)C)	Buffer Tris, < 0,05 % de azida sódica, < 0,005 % de EDTA, < 0,003 % de poli Ar, < 0,01 % de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano) con secuencia de SARS-CoV-2, < 0,01 % de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano) con secuencia de pan-sarbecovirus	16 ml (16 × 1 ml)

Tabla 3 cobas® Buffer Negative Control Kit

cobas® Buffer Negative Control Kit		
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 4 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 ditiotreitolo***, citrato de sodio dihidratado	4 × 875 ml	<p>PELIGRO</p> <p>H302 + H332: Nocivo en caso de ingestión o inhalación. H314: Provoca quemaduras graves y lesiones oculares graves. H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. EUH032: En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos. P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/ los vapores/el aerosol. P273: Evítase su liberación al medio ambiente. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. 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. 593-84-0 Tiocianato de guanidina 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol</p>
cobas omni Wash Reagent (WASH) Almacenar a 15-30 °C (P/N: 06997503190)	Citrato de sodio dihidratado, 0,1 % de metil-4-hidroxibenzoato	4,2 l	No aplicable

* Estos reactivos no están incluidos en los kits de la prueba **cobas®** SARS-CoV-2. Consulte el listado de material adicional necesario (Tabla 7).

** 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 5 y la Tabla 6.

Cuando los reactivos no están cargados en los cobas® 6800/8800 Systems, almacénelos a la temperatura correspondiente especificada en la Tabla 5.

Tabla 5 Almacenamiento de reactivos (cuando el reactivo no está cargado en el sistema)

Reactivo	Temperatura de almacenamiento
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

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 6. El sistema evita automáticamente el uso de reactivos caducados. La Tabla 6 ayuda al usuario a entender las condiciones de manipulación de los reactivos de los cobas® 6800/8800 Systems.

Tabla 6 Condiciones de caducidad de los reactivos de los cobas® 6800/8800 Systems

Reactivo	Fecha de caducidad del kit	Estabilidad del kit abierto	Procesos en los que se puede utilizar el kit	Periodo de estabilidad (horas acumuladas de carga fuera de la nevera)
cobas® SARS-CoV-2 – 192T	No caducado ¹	90 días desde el primer uso ¹	Máx. 40 series ¹	Máx. 40 horas ¹
cobas® SARS-CoV-2 – 480T	No caducado ¹	90 días desde el primer uso ¹	Máx. 20 series ¹	Máx. 20 horas ¹
cobas® SARS-CoV-2 Control Kit	No caducado ¹	No aplicable ²	No aplicable	Máx. 8 horas ¹
cobas® Buffer Negative Control Kit	No caducado	No aplicable ²	No aplicable	Máx. 10 horas
cobas omni Lysis Reagent	No caducado	30 días desde la carga ³	No aplicable	No aplicable
cobas omni MGP Reagent	No caducado	30 días desde la carga ³	No aplicable	No aplicable
cobas omni Specimen Diluent	No caducado	30 días desde la carga ³	No aplicable	No aplicable
cobas omni Wash Reagent	No caducado	30 días desde la carga ³	No aplicable	No aplicable

¹ No se ha determinado el rendimiento para los ciclos y tiempos de uso sugeridos, pero se basa en reactivos similares que se utilizan en el mismo sistema.

² Reactivos de un solo uso.

³ El tiempo se calcula a partir del primer momento en que se carga el reactivo en los cobas® 6800/8800 Systems.

Material adicional necesario

Tabla 7 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 kit del cajón	07435967001 y 07094361001 o 08030073001 y 08387281001
Tubos secundarios cobas omni 13 × 75 (opcional)	06438776001
cobas® PCR Media Tube Replacement Cap Kit	07958056190
cobas® PCR Media Disposable Tube Stand (opcional)	07958064190
MPA RACK 16 MM LIGHT GREEN 7001-7050*. **	03143449001
RD5 RACK – RD Standard rack 0001-0050 LR*. **	11902997001

* Se necesitan racks MPA de 16 mm y racks RD5 para la prueba **cobas®** SARS-CoV-2. 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.

** El rack MPA de 16 mm es el rack preferido para su uso con muestras recogidas en tubos **cobas®** PCR Media. Si se utilizan racks RD5, asegúrese de rellenar los tubos de muestras al menos con el volumen de entrada de muestra mínimo recomendado. Los tubos están más elevados en un rack RD5 debido a la junta de goma situada en el fondo de cada posición para tubo. Por lo tanto, es posible que al utilizar racks RD5, el sistema acepte tubos por debajo del volumen de entrada de muestra mínimo y provoque errores de pipeteo posteriores en la serie.

Tabla 8 Kits de obtención de muestras alternativos utilizados con **cobas®** SARS-CoV-2

Kit para la obtención de muestras	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

Instrumentos y software necesarios

Es necesario instalar el software **cobas**® 6800/8800 y el paquete de análisis **cobas**® SARS-CoV-2 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

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*.
- Los resultados positivos indican la presencia de ARN del SARS-CoV-2.
- Todas las muestras deben tratarse como si fueran infecciosas, utilizando los procedimientos de laboratorio recomendados que se describen en la publicación Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories y en el documento M29-A4 del CLSI.^{1,2} Este procedimiento solamente debería llevarlo a cabo personal experto en la manipulación de material biopeligroso y en el uso de la prueba cobas® SARS-CoV-2 y los cobas® 6800/8800 Systems.
- 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.
- **Es posible que algunas muestras positivas no sean detectadas cuando están diluidas y se analizan en pools.** La concentración de ARN del SARS-CoV-2 se reduce cuando una muestra positiva se agrupa con otras muestras y esta reducción se corresponde de forma inversamente proporcional con el tamaño del pool. Por ejemplo, si solo hay una muestra positiva en un pool de 6, la concentración de la muestra original debería ser 6 veces mayor que el límite de detección del ensayo para que la concentración del pool esté dentro del límite de detección.

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, 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**® SARS-CoV-2, el **cobas**® SARS-CoV-2 Control Kit, el **cobas**® Buffer Negative Control Kit, el **cobas** **omni** MGP Reagent y el **cobas** **omni** Specimen Diluent contienen azida sódica como conservante. Evite el contacto de reactivos con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua para evitar quemaduras. Si se producen salpicaduras de reactivos, diluya las manchas con agua antes de secarlas con un paño.
- No permita que el **cobas** **omni** Lysis Reagent, 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 el kit **cobas**® SARS-CoV-2, el **cobas**® SARS-CoV-2 Control Kit, el **cobas**® Buffer Negative Control Kit y los reactivos **cobas** **omni** para evitar la contaminación. Evite la contaminación de los guantes durante la manipulación de las muestras y de los controles.
- Lávese bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos del kit, y cuando se saque los guantes.
- Limpie y desinfecte minuciosamente todas las superficies de trabajo del laboratorio usando una solución recién preparada de hipoclorito de sodio 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.

Recogida de muestras

Asegúrese de utilizar el dispositivo de recogida correcto con el tipo de muestra adecuado según la tabla siguiente:

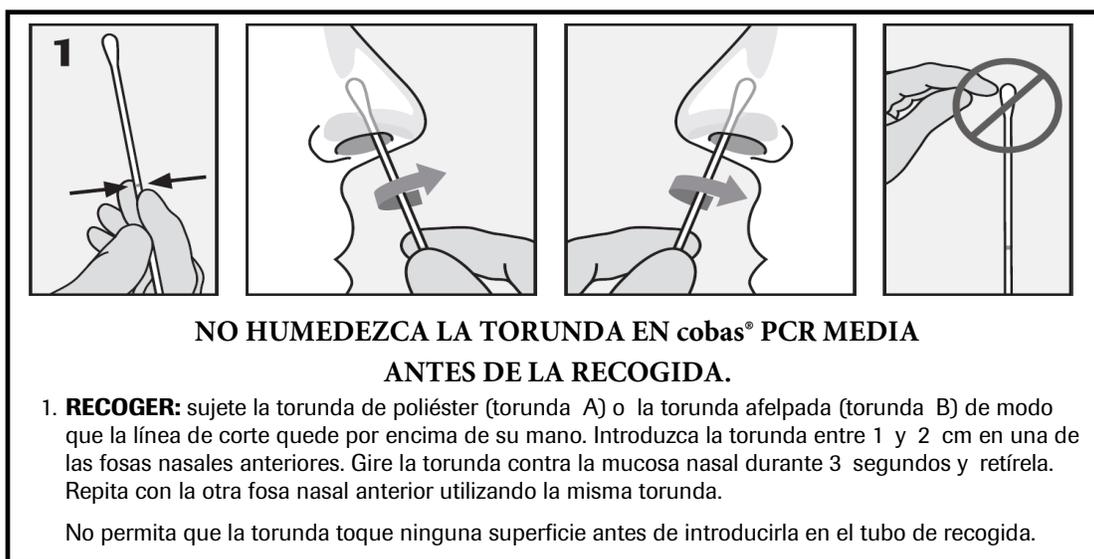
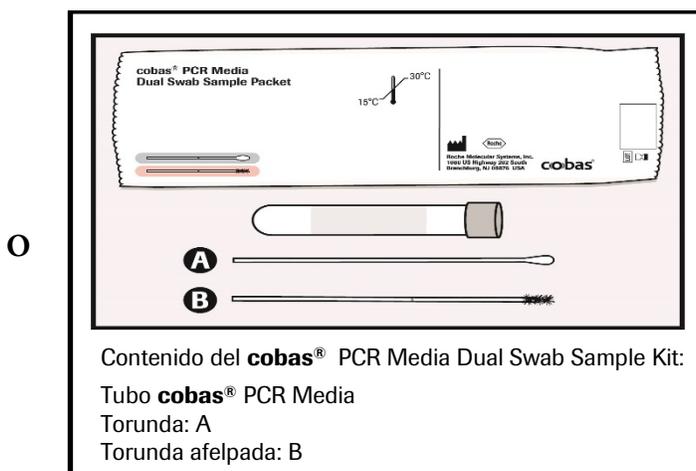
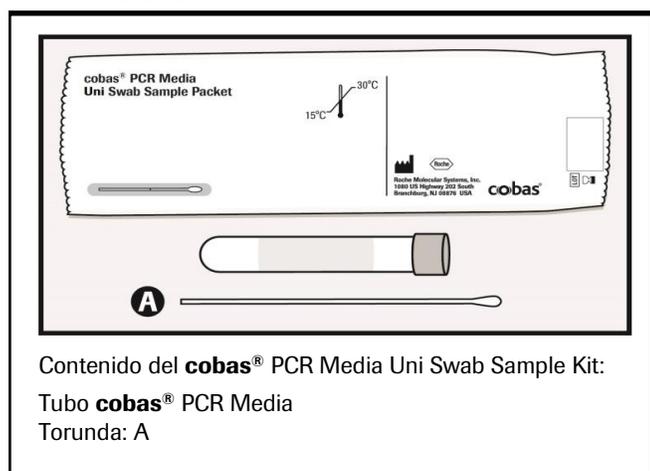
Tabla 10 Resumen de dispositivos de recogida y tipos de muestra

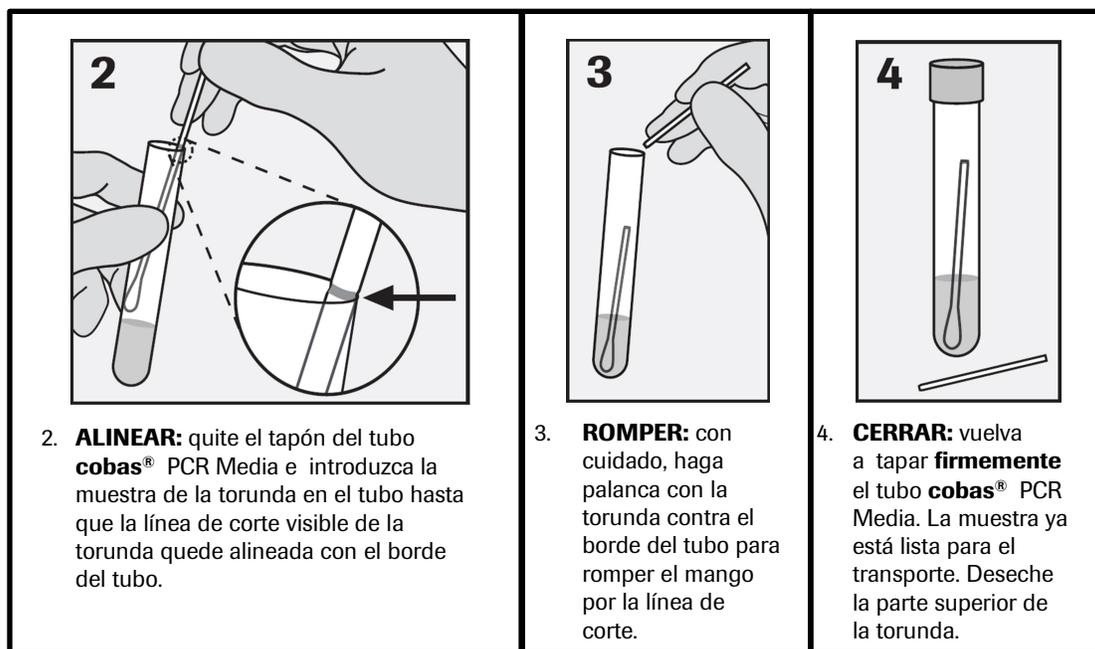
Dispositivo de recogida	Tipo de muestra		
	Nasofaríngea	Orofaringea	Nasal
Medio de transporte universal de Copan (UTM-RT)	√	√	√
Medio de transporte universal de virus (UVT) de BD™	√	√	√
cobas ® PCR Media Uni Swab Sample Kit			√
cobas ® Uni Swab 100 Kit			√
cobas ® PCR Media Dual Swab Sample Kit			√
cobas ® PCR Media Kit (y PCR Media Kit de 100 tubos)			√
Suero salino al 0,9 %			√

- Recoja las muestras de exudado nasal, nasofaríngeo y orofaríngeo de acuerdo con la técnica de recogida estándar mediante torundas afelpadas o con punta de poliéster y colóquelas inmediatamente en 3 ml de medio de transporte universal (UTM-RT) de Copan o de transporte universal de virus (UVT) de BD™.
- Recoja muestras de exudado nasal de acuerdo con la técnica de recogida estándar mediante torundas afelpadas o con punta de poliéster y colóquelas inmediatamente en el tubo **cobas® PCR Media** del **cobas® PCR Media Kit** (P/N 06466281190).
- Recoja muestras de exudado nasal mediante el **cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit** (P/N 07958030190) o el **cobas® PCR Media Dual Swab Sample Kit** (P/N 07958021190) conforme a las instrucciones que se muestran abajo.
- Consulte las instrucciones de uso de los dispositivos de recogida para conocer la información sobre peligros.

Obtención in situ de muestra de exudado nasal (fosas nasales anteriores) por personal médico o mediante auto-toma

ADVERTENCIA: NO HUMEDEZCA LA TORUNDA EN cobas® PCR MEDIA ANTES DE LA RECOGIDA.





2. **ALINEAR:** quite el tapón del tubo **cobas®** PCR Media e introduzca la muestra de la torunda en el tubo hasta que la línea de corte visible de la torunda quede alineada con el borde del tubo.

3. **ROMPER:** con cuidado, haga palanca con la torunda contra el borde del tubo para romper el mango por la línea de corte.

4. **CERRAR:** vuelva a tapar **firmemente** el tubo **cobas®** PCR Media. La muestra ya está lista para el transporte. Deseche la parte superior de la torunda.

- Recoja las muestras de exudado nasal de acuerdo con la técnica de recogida estándar mediante torundas afelpadas o con punta de poliéster y colóquelas inmediatamente en 3 ml de suero salino al 0,9 %.

Transporte y almacenamiento

- El transporte de las muestras recogidas debe cumplir todas las normativas aplicables para el transporte de agentes etiológicos.
- Transporte y almacene las muestras recogidas en **cobas®** PCR Media o en suero salino al 0,9 % como se indica a continuación:
 - Después de la obtención, las muestras deben conservarse en **cobas®** PCR Media o en suero salino al 0,9 % a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C y procesarse durante las 48 horas siguientes.
- No se ha establecido la estabilidad de las muestras con el ensayo **cobas®** SARS-CoV-2 para las temperaturas y los tiempos sugeridos, pero se basa en los datos de viabilidad obtenidos del análisis de otros virus similares en los sistemas UTM-RT o UVT tal como se establece en las Instrucciones de uso para UTM-RT de Copan y como se especifica a continuación:
 - Después de la obtención, la muestra debe conservarse a una temperatura comprendida entre 2 y 25 °C y procesarse durante las 48 horas siguientes.
 - Si la entrega y el procesamiento superan las 48 horas, las muestras deberían transportarse en hielo seco y congelarse a -70 °C como mínimo cuando lleguen al laboratorio.

Instrucciones de uso

Notas sobre el procedimiento

- No utilice los reactivos cobas® SARS-CoV-2, el cobas® SARS-CoV-2 Control Kit, el cobas® Buffer Negative Control Kit ni ningún reactivo cobas omni después de la fecha de caducidad.
- No reutilice el material fungible. Son de un solo uso.
- 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® SARS-CoV-2

La prueba cobas® SARS-CoV-2 puede realizarse con un volumen de muestra mínimo de 0,6 ml en un tubo secundario cobas omni para muestras obtenidas en el medio de transporte universal (UTM-RT) de Copan, el medio de transporte universal de virus (UVT) de BD™, cobas® PCR Media o en suero salino al 0,9 %. Las muestras obtenidas mediante el cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit o el cobas® PCR Media Dual Swab Sample Kit pueden analizarse en su tubo de recogida primario con un volumen de muestra mínimo de 1,0 ml.

Muestras obtenidas en cobas® PCR Media, suero salino al 0,9 %, UTM-RT o UVT

Las muestras obtenidas en el medio de transporte universal (UTM-RT) de Copan, el medio de transporte universal de virus (UVT) de BD™, cobas® PCR Media o en suero salino al 0,9 % deben transferirse a un tubo secundario cobas omni antes de su procesamiento en los cobas® 6800/8800 Systems. Las muestras transferidas a tubos secundarios cobas omni deben procesarse seleccionando el tipo de muestra “Swab” en la interfaz de usuario de la prueba cobas® SARS-CoV-2, tal como se describe en la Tabla 11.

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.
- Levante el tapón y las torundas que haya a fin de poder introducir una pipeta en el tubo de la 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.

Muestras obtenidas mediante el cobas® PCR Media Uni, el Dual Swab Sample Kit o el cobas® PCR Media junto con el cobas® Uni Swab 100 Kit

Las muestras obtenidas mediante el **cobas®** PCR Media Uni Swab Sample Kit o el **cobas®** PCR Media Dual Swab Sample Kit o el **cobas®** PCR Media junto con el **cobas®** Uni Swab 100 Kit deben estar destapadas y pueden cargarse directamente en los **cobas®** 6800/8800 Systems para su procesamiento. No es necesario transferir la muestra a un tubo secundario. Los tubos **cobas®** PCR Media están adaptados para el MPA RACK 16 MM LIGHT GREEN 70017050 (P/N 03143449001) y pueden procesarse con la torunda dentro del tubo. Las muestras obtenidas mediante el **cobas®** PCR Media Uni Swab Sample Kit o el **cobas®** PCR Media Dual Swab Sample Kits o el **cobas®** PCR Media junto con el **cobas®** Uni Swab 100 Kit deben procesarse seleccionando el tipo de muestra “**cobas®** PCR Media swab” en la interfaz de usuario de la prueba **cobas®** SARS-CoV-2, tal como se describe en la Tabla 11.

Una muestra en torunda recogida correctamente debe tener una sola torunda con el mango partido por la línea de corte. Si el mango se parte por encima de la línea de corte será más largo de lo normal y es posible que se tenga que doblar para que quepa en el tubo **cobas®** PCR Media. Esto podría obstruir el sistema de pipeteo y causar la pérdida de la muestra, de los resultados de la prueba y/o daños mecánicos en el instrumento. En el caso de que una muestra recogida en torunda presente un mango mal partido, extraiga la torunda antes de procesar la muestra en los **cobas®** 6800/8800 Systems. Extreme la precaución a la hora de eliminar las torundas de muestras; para prevenir la contaminación, evite las salpicaduras o tocar otras superficies con las torundas durante su eliminación.

La existencia de tubos primarios de muestras en torunda **cobas®** PCR Media sin torunda o con dos torundas significa que no han sido recogidos de acuerdo con las instrucciones de uso de su respectivo kit de obtención de muestras y, por lo tanto, no deberían analizarse. Si resulta imprescindible analizar la muestra que contiene dos torundas en los tubos primarios **cobas®** PCR Media, transfiera 0,6 ml al tubo secundario preparado con código de barras.

En ocasiones, las muestras en torunda entrantes contienen demasiado moco, lo que puede causar errores de pipeteo en los **cobas®** 6800/8800 Systems (p. ej., un coágulo u otras obstrucciones). Antes de volver a analizar las muestras que presentaron coágulos durante el procesamiento inicial, extraiga y deseche la torunda y luego vuelva a tapar y agitar estas muestras durante 30 segundos para dispersar el exceso de moco.

Las muestras recogidas en torunda se pueden procesar dos veces en los **cobas®** 6800/8800 Systems siempre y cuando la torunda permanezca dentro del tubo de recogida. Si se debe realizar un análisis adicional, o si la primera prueba falla a causa de un error de pipeteo de la muestra (p. ej., un coágulo u otra obstrucción), se debe extraer la torunda y el volumen de fluido restante ha de ser de al menos 1,0 ml.

Tabla 11 Selección del tipo de muestra en la interfaz de usuario de la prueba **cobas®** SARS-CoV-2

Tipo de kit de recogida/matriz	Volumen mínimo (ml) Tubo de procesamiento	Procesar como tipo de muestra
Medio de transporte universal de Copan Medio de transporte universal de virus de BD™ Suero salino al 0,9 % cobas® PCR Media Kit	0,6 ml Tubo secundario cobas omni	Swab
cobas® PCR Media Uni o Dual Swab Sample Kit cobas® PCR Media Kit junto con el cobas® Uni Swab 100 Kit	1,0 ml Tubo primario	cobas® PCR Media swab

Agrupación de muestras para las pruebas de SARS-CoV-2

Con la prueba cobas® SARS-CoV-2 pueden analizarse pooles de hasta 6 muestras. El tamaño del pool utilizado por el laboratorio debe basarse en las ganancias de eficiencia requeridas, la tasa de positividad del SARS-CoV-2 en la población analizada y en los posibles riesgos del análisis en pooles. No se ha validado la combinación de varios tipos de muestra en un pool.

Cuando la disponibilidad de recursos sea suficiente para satisfacer la demanda de pruebas, se recomienda a los laboratorios considerar si los riesgos de una sensibilidad reducida de la prueba para los pooles superan los beneficios de la conservación de recursos.

- Emplee un procedimiento que garantice la trazabilidad entre los ID de las muestras individuales y los ID de los pooles.
- Para reducir la posible contaminación de los cobas® 6800/8800 Systems, no transfiera las muestras a los tubos secundarios mientras que las muestras se encuentren en los racks de 5 posiciones de Roche (RD5 y/o MPA).
- Asegúrese de utilizar las técnicas de manipulación de muestras adecuadas para reducir el riesgo de contaminación cruzada de los pooles y las muestras de paciente originales.

Métodos de agrupación

1. Identifique un tubo secundario con etiqueta exclusiva para la agrupación.
2. Asocie las muestras que se agruparán a la identificación del tubo del pool mediante una hoja de trabajo de agrupación o un sistema de rastreo de muestras validado.
3. Roche recomienda la utilización de una cabina de seguridad biológica u otra medida de seguridad aprobada durante la manipulación (p. ej., transferencia de la muestra al tubo secundario).
4. Para realizar una agrupación de forma manual, es recomendable trabajar únicamente con las muestras de un solo pool a la vez.
5. Asegúrese de que cada muestra tiene el volumen suficiente para la construcción del pool y cualquier prueba de resolución (deconvolución del pool) que pueda ser necesaria. Ejemplo: para pooles de 6, se requiere un volumen mínimo de 100 µl (para el pool) más 600 µl (para la resolución) para un volumen de muestra mínimo de 700 µl antes de realizar la agrupación (Tabla 12).

Tabla 12 Volúmenes de muestra mínimos para la agrupación

Tamaño del pool	Volumen requerido para el pool (ml)	Volumen requerido para la prueba de resolución (ml)	Volumen mínimo requerido antes de la agrupación (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. Para preparar el pool, utilice una micropipeta calibrada con una punta de pipeta nueva para cada muestra y pipetee con cuidado cada una de las muestras asociadas a ese pool en el tubo secundario adecuado.
7. Asegúrese de mezclar bien después de añadir todas las muestras al tubo secundario (p. ej., pipeteando hacia arriba y hacia abajo). Preste atención para no crear burbujas, espuma o aerosoles durante la mezcla.

8. Para realizar el pool de forma manual, se recomienda realizar una comparación visual del volumen de muestra agrupado en el tubo secundario con un tubo secundario que contenga el volumen diana de pool. Si el nivel del tubo del pool es inferior o superior a volumen del pool estándar, descarte el pool preparado manualmente y vuelva a prepararlo.
9. Procese las muestras agrupadas tal como se describe en la ilustración 1.

Comunicación de los resultados del pool y pruebas de seguimiento

La interpretación de los resultados del pool es la misma que para los resultados individuales que se describe en el apartado **Interpretación de los resultados**.

- Si el resultado del pool es negativo, cada una de las muestras integrantes se comunicará como negativa. El informe de resultados debería incluir un comentario sobre la utilización de un agrupamiento durante el análisis. Consulte el apartado **Advertencias y precauciones** para obtener información adicional sobre la sensibilidad disminuida de las pruebas de agrupaciones.
- Si el resultado del pool es positivo o presuntamente positivo, deberá repetirse el análisis de cada una de las muestras integrantes como una muestra individual independiente. Utilice el sistema de rastreo definido por el laboratorio para garantizar que se analizan las muestras individuales correctas. Los resultados de las pruebas individuales sustituyen al resultado del pool.

Procedimiento de la prueba cobas® SARS-CoV-2

El procedimiento de la prueba se describe con detalle en la Asistencia al usuario o la Guía del usuario de los cobas® 6800/8800 Systems. En la Ilustración 1 se resume el procedimiento.

Ilustración 1 Procedimiento de la prueba cobas® SARS-CoV-2

1	<p>Inicio de sesión en el sistema. Pulse el botón “Iniciar” para preparar el sistema. Solicite las pruebas</p>
2	<p>Carga de reactivos y material fungible según las indicaciones del sistema:</p> <ul style="list-style-type: none">• 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	<p>Carga de las muestras en el sistema:</p> <ul style="list-style-type: none">• 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	<p>Inicio manual de la serie analítica mediante el botón “Iniciar manualmente” de la interfaz de usuario o inicio automático después de 120 minutos o cuando la serie esté llena</p>
5	<p>Revisión y exportación de los resultados</p>
6	<p>Retire y tape todos los tubos de muestra que cumplan los requisitos de volumen mínimo para utilizarlos en el futuro, en caso necesario.</p> <p>Limpieza del instrumento:</p> <ul style="list-style-type: none">• Descargue los casetes de control vacíos• Vacíe el cajón de placas de amplificación.• Vacíe los residuos líquidos.• Vacíe los residuos sólidos.

Resultados

Los **cobas**® 6800/8800 Systems detectan el SARS-CoV-2 automáticamente para cada muestra y control procesados individualmente o agrupado, además de mostrar los resultados individuales para cada diana, la validez de la prueba y los resultados globales de los controles.

Control de calidad y validez de los resultados

- En cada serie se procesa un control negativo para el buffer de **cobas**® [(-) Ctrl] y uno positivo [SARS-CoV-2 (+)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 ninguno de los controles. Si la serie no es válida, repita las pruebas para toda la serie.

El software **cobas**® 6800/8800 valida automáticamente los resultados según el resultado del control negativo y del control positivo.

Interpretación de los resultados

cobas® SARS-CoV-2 para el software del sistema v1.2

En la Ilustración 2 se muestran ejemplos de visualización de la prueba cobas® SARS-CoV-2 para el software del sistema v1.2.

Ilustración 2 Ejemplo de visualización de resultados de la prueba cobas® SARS-CoV-2 para el software del sistema v1.2

Prueba	ID muestra	Válido*	Avisos	Tipo de muestra	Resultado general*	Diana 1	Diana 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

* Las columnas "Válido" y "Resultado general" no son aplicables a los resultados de las muestras de la prueba cobas® SARS-CoV-2. Los valores indicados en estas columnas no son aplicables y no influyen en la validez de los resultados comunicados en las columnas de resultados de cada una de las dianas. Consulte la Tabla 13, Interpretación de los resultados de la prueba cobas® SARS-CoV-2, para obtener instrucciones específicas sobre la interpretación de los resultados de la prueba.

cobas® SARS-CoV-2 para el software del sistema v1.3 o superior

En la Ilustración 3 se muestran ejemplos de visualización de la prueba cobas® SARS-CoV-2 para el software del sistema v1.3 o superior.

Ilustración 3 Ejemplo de visualización de resultados de la prueba cobas® SARS-CoV-2 para el software del sistema v1.3 o superior

Prueba	ID muestra	Válido*	Avisos	Tipo de muestra	Resultado general*	Diana 1	Diana 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

* Las columnas "Válido" y "Resultado general" no son aplicables a los resultados de las muestras de la prueba cobas® SARS-CoV-2. Los valores indicados en estas columnas no son aplicables y no influyen en la validez de los resultados comunicados en las columnas de resultados de cada una de las dianas. Consulte la Tabla 13, Interpretación de los resultados de la prueba cobas® SARS-CoV-2, para obtener instrucciones específicas sobre la interpretación de los resultados de la prueba.

Interpretación de los resultados

La siguiente interpretación de los resultados es aplicable tanto para el software **cobas**® 6800/8800 versión 1.2 como para el software **cobas**® 6800/8800 versión 1.3 y superior.

En las series válidas, compruebe cada muestra para detectar avisos en el software **cobas**® 6800/8800 y/o en el informe. La interpretación de resultados se debe realizar del siguiente modo:

- Una serie válida puede incluir resultados de muestras tanto válidos como no válidos.
- **Las columnas “Válido” y “Resultado general” no son aplicables a los resultados de las muestras de la prueba cobas® SARS-CoV-2. Los valores indicados en estas columnas no son aplicables y no influyen en la validez de los resultados comunicados en las columnas de resultados de cada una de las dianas.**
- Los resultados no válidos para una o varias combinaciones de dianas son posibles y se comunican específicamente para cada canal.
- los resultados de esta prueba solo deben interpretarse junto con la información disponible de la evaluación clínica del paciente y de su historial.

Los resultados y sus interpretaciones correspondientes para la detección del SARS-CoV-2 se muestran a continuación (Tabla 13).

Tabla 13 Interpretación de los resultados de la prueba cobas® SARS-CoV-2

Diana 1	Diana 2	Interpretación
Positive	Positive	Todos los resultados de las dianas son válidos. Se ha detectado un resultado para ARN de SARS-CoV-2.
Positive	Negative	Todos los resultados de las dianas son válidos. Se ha detectado un resultado para ARN de SARS-CoV-2. Un resultado positivo para la diana 1 y un resultado negativo para la diana 2 sugiere 1) una muestra en concentraciones cercanas o inferiores al límite de detección de la prueba, 2) una mutación en la región de la diana 2 o 3) otros factores.
Negative	Positive	Todos los resultados de las dianas son válidos. El resultado para ARN de SARS-CoV-2 es presuntamente positivo. Un resultado negativo para la diana 1 y un resultado positivo para la diana 2 sugiere 1) una muestra en concentraciones cercanas o inferiores al límite de detección de la prueba, 2) una mutación en la región de la diana 1 en las regiones de unión de los oligonucleótidos, 3) una infección con algún otro sarbecovirus (p. ej., SARS-CoV u otro sarbecovirus anteriormente desconocido por infectar a seres humanos) o 4) otros factores. Para las muestras con un resultado presuntamente positivo, puede realizarse una prueba de confirmación adicional si es necesario diferenciar entre SARS-CoV-2 y SARS-CoV-1 u otro sarbecovirus actualmente desconocido por infectar a seres humanos, por motivos epidemiológicos o para la gestión clínica.
Negative	Negative	Todos los resultados de las dianas son válidos. No se ha detectado un resultado para ARN de SARS-CoV-2.
Positive	Invalid	No todos los resultados de las dianas son válidos. Se ha detectado un resultado para ARN de SARS-CoV-2.
Invalid	Positive	No todos los resultados de las dianas son válidos. El resultado para ARN de SARS-CoV-2 es presuntamente positivo. Para las muestras con un resultado presuntamente positivo, puede realizarse una prueba de confirmación adicional si es necesario diferenciar entre SARS-CoV-2 y SARS-CoV-1 u otro sarbecovirus actualmente desconocido por infectar a seres humanos, por motivos epidemiológicos o para la gestión clínica.
Negative	Invalid	No todos los resultados de las dianas son válidos. La muestra se debe volver a analizar. Si el resultado sigue siendo no válido, deberá obtenerse una nueva muestra.
Invalid	Negative	No todos los resultados de las dianas son válidos. La muestra se debe volver a analizar. Si el resultado sigue siendo no válido, deberá obtenerse una nueva muestra.
Invalid	Invalid	Todos los resultados de las dianas son inválidos. 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**® SARS-CoV-2 se ha evaluado para ser utilizada únicamente en combinación con el **cobas**® SARS-CoV-2 Control Kit, el **cobas**® Buffer Negative Control Kit, el **cobas omni** MGP Reagent, el **cobas omni** Lysis Reagent, el **cobas omni** Specimen Diluent y el **cobas omni** Wash Reagent en los **cobas**® 6800/8800 Systems.
- 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 del ARN de SARS-CoV-2 en muestras de exudado nasal, nasofaríngeo y orofaríngeo obtenidas en un sistema de medio de transporte universal (UTM-RT) de Copan o un sistema de transporte universal de virus (UVT) de BD™, y en muestras de exudado nasal recogidas en **cobas**® PCR Media y suero salino al 0,9 %. La realización de la prueba **cobas**® SARS-CoV-2 con otros tipos de muestras puede dar lugar a resultados inexactos.
- La detección del ARN de SARS-CoV-2 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**® SARS-CoV-2 pueden afectar a la unión de cebadores y/o sondas e impedir la detección de la presencia del virus.
- Debido a las diferencias específicas entre tecnologías, se recomienda a los usuarios que realicen estudios de correlación en el laboratorio para determinar las diferencias tecnológicas antes de cambiar de una a otra. No cabe esperar un porcentaje de concordancia del 100 % entre los resultados debido a las diferencias entre tecnologías indicadas anteriormente. Los usuarios deberán adherirse a las políticas y los procedimientos específicos.
- Pueden obtenerse resultados falsos negativos o no válidos debido a la interferencia. La prueba **cobas**® SARS-CoV-2 incluye el control interno para permitir la identificación de muestras que contienen sustancias que podrían interferir con el aislamiento de ácidos nucleicos y la amplificación mediante PCR.
- La incorporación de la enzima AmpErase al reactivo de Master Mix de la prueba **cobas**® SARS-CoV-2 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.

Utilización del agrupamiento en función de la prevalencia

El agrupamiento puede aumentar el rendimiento de los laboratorios de análisis de muestras de poblaciones con una prevalencia baja del SARS-CoV-2. En poblaciones con una prevalencia mayor, puede resultar indicado el uso de tamaños de pool más reducidos o el análisis de muestras individuales.

Cuando se consideren la aplicación de una estrategia de agrupamiento, los laboratorios deben considerar su idoneidad en función de la tasa de positividad en la población analizada y la eficiencia del flujo de trabajo de agrupamiento. Además, los laboratorios deberían evaluar la sensibilidad del análisis de pools en función del límite de detección del ensayo.

Tabla 14 La Tabla 14 ofrece una estimación de la ganancia de eficiencia máxima basada en el agrupamiento de N muestras y en el porcentaje de muestras positivas para el SARS-CoV-2 en una población.

Tabla 14 Eficiencia del agrupamiento en función de la prevalencia

P, porcentaje de sujetos positivos en la población analizada	n_{eficiencia máx.} (n se corresponde con la eficiencia máxima)	Eficiencia (F) de un pool de n muestras (aumento máximo del número de pacientes analizados si se usa la estrategia de agrupamiento n de 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

Dado que un pool positivo requiere la repetición del análisis de cada muestra integrante individualmente, la eficiencia de cualquier estrategia de agrupamiento depende de la tasa de positividad. La eficiencia (F) del agrupamiento de n muestras para la tasa de positividad (P) puede calcularse con la fórmula $F=1/(1+1/n-(1-P)n)$. La eficiencia (F) indica cuántas muestras más pueden analizarse con pools de n muestras en comparación con el análisis individual. Por ejemplo, una estrategia de agrupamiento de 6 muestras aumenta el número de muestras analizadas en 2,10 veces para una tasa de positividad P del 6 % (F = 2,10). Con una F = 2,10, la realización de 1.000 pruebas puede cubrir el análisis de 2.100 muestras como media.

Evaluación no clínica del rendimiento

Características clave de rendimiento

Sensibilidad analítica

Los estudios del límite de detección (LoD) determinan la concentración detectable más abajo del SARS-CoV-2 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, un cultivo de virus de un aislado de un paciente de EE. UU. (USA-WA1/2020, número de catálogo NR-52281, número de lote 70033175, 2,8E+05 TCID₅₀/ml[§]) se diluyó en serie en una matriz clínica simulada. Se analizó un total de 7 niveles de concentración, con diluciones en serie tres veces mayores entre los niveles, con un total de 21 réplicas por concentración y 10 réplicas adicionales de una muestra de blanco (es decir, una matriz clínica simulada).

Tal como se muestra en la Tabla 15, el nivel de concentración con las tasas de positividad observadas iguales o superiores al 95 % fue de 0,009 y 0,003 TCID₅₀/ml para SARS-CoV-2 (diana 1) y pan-sarbecovirus (diana 2), respectivamente. Tal como se muestra en la tabla 16, las tasas de positividad del 95 % esperadas según el análisis Probit fueron de 0,007 y 0,004 TCID₅₀/ml para SARS-CoV-2 (diana 1) y pan-sarbecovirus (diana 2), respectivamente.

Tabla 15 Determinación del LoD mediante la cepa USA-WA1/2020

Cepa	Concentración [TCID ₅₀ /ml]	Total de resultados válidos	Tasa de positividad [%] [^]		Ct medio*	
			Diana 1	Diana 2	Diana 1	Diana 2
USA-WA1/2020 [§] (concentración de 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/A	37,9
	0,0003	21	0	14,3	N/A	37,2
	0,0001	21	0	9,5	N/A	38,5
	0 (blanco)	10	0	0	N/A	N/A

[§] El reactivo siguiente fue depositado por los centros para el control y la prevención de enfermedades y obtenido a través de recursos del BEI, NIAID, NIH: coronavirus 2 relacionado con SARS, aislado USA-WA1/2020, NR-52281

[^] Todas las réplicas positivas para la diana 1 fueron también positivas para la diana 2.

* Los cálculos solo incluyen resultados positivos.

Tabla 16 Tasas de positividad del 95 % esperadas según el análisis Probit con la cepa USA-WA1/2020

Cepa	Tasa de positividad del 95 % esperada según el análisis Probit [TCID ₅₀ /ml]	
	Diana 1	Diana 2
USA-WA1/2020 (concentración de stock 2,8E+05 TCID ₅₀ /ml)	0,007 (IC del 95 %: 0,005-0,036)	0,004 (IC del 95 %: 0,002-0,009)

La sensibilidad analítica del ensayo se analizó con AccuPlex SARS-CoV-2 (n.º de lote 105324), un material de referencia cuantificado, una partícula del virus Sindbis recombinante con secuencias diana del genoma del SARS-CoV-2. El nivel de concentración en una serie de dilución con tasas de positividad observadas superiores o iguales al 95 % fue de 46 copias/ml tanto para la diana 1 como para la diana 2. Las estimaciones de LoD del 95 % por el modelo Probit basadas en estos datos fueron de 25 copias/ml (IC del 95 %: 17-58 copias/ml) para la diana 1 y 32 copias/ml (IC del 95 %: 21-73 copias/ml) para la diana 2.

Reactividad cruzada

Análisis *in silico*

El análisis *in silico* para determinar las posibles reacciones cruzadas con todos los microorganismos incluidos en la Tabla 17 se llevó a cabo asignando cebadores de la prueba cobas® SARS-CoV-2 individualmente a las secuencias descargadas de las bases de datos de NCBI y GISAID. Si alguno de los dos cebadores se había asignado a una secuencia de cadenas opuestas no muy alejadas, se marcaron las posibles amplificaciones. Según las condiciones de este análisis *in silico*, no se prevé reactividad cruzada inesperada.

Tabla 17 Análisis *in silico* para SARS-CoV-2

Cepa	Análisis <i>in silico</i> del % de identidad para la diana 1 (nCoV)	Análisis <i>in silico</i> del % de identidad para la diana 2 (pan-sarbecovirus 1)
CoV 229E	74,47	Ninguna alineación detectada*
CoV OC43	72,26	Ninguna alineación detectada*
CoV HKU1	76,52	Ninguna alineación detectada*
CoV NL63	71,32	Ninguna alineación detectada*
SARS-CoV	95,04	100
MERS	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
AdV	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
HMPV	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
HPIV1	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
HPIV2	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
HPIV3	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
HPIV4	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
Inf A	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
Inf B	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
EV	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
RSV	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
RV	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
<i>Haemophilus influenzae</i>	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
<i>Legionella pneumophila</i>	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
<i>MTB Mycobacterium bovis subsp. Bovis</i>	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
<i>Bordetella pertussis</i>	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*

Cepa	Análisis <i>in silico</i> del % de identidad para la diana 1 (nCoV)	Análisis <i>in silico</i> del % de identidad para la diana 2 (pan-sarbecovirus 1)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
Influenza C	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
Parechovirus	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
<i>Candida albicans</i>	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
<i>Legionella non-pneumophila</i>	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
<i>Bacillus anthracis (carbunco)</i>	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
<i>Moraxella catarrhalis</i>	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
<i>Neisseria elongate y meningitides</i>	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
<i>Staphylococcus salivarius</i>	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
<i>Leptospira</i>	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
<i>Chlamydia psittaci</i>	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
<i>Coxiella burnetii (fiebre Q)</i>	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ninguna alineación detectada*	Ninguna alineación detectada*

Nota: * Las secuencias de amplicón se sometieron al análisis BLAST con relación a todas las secuencias exclusivas con un valor de corte de muy baja exigencia (50 % y 100 bp). No se detectó ninguna alineación más allá del valor de corte y no se detectaron signos indicadores de una posible reactividad cruzada.

Análisis de la reactividad cruzada

La reactividad cruzada de cobas® SARS-CoV-2 se evaluó mediante el análisis de todos los organismos. Como se indica en la Tabla 18, se analizó un panel de múltiples subespecies únicas de microorganismos. Se añadieron cultivos de títulos elevados de los microorganismos que podrían presentar reactividad cruzada a la matriz clínica simulada negativa con un nivel de concentración de 1,0E+05 unidades/ml para los virus y de 1,0E+06 unidades/ml para el resto de los microorganismos, salvo indicación en contrario.

Ninguno de los organismos analizados interfirió con el rendimiento de cobas® SARS-CoV-2 generando resultados falsos positivos.

Tabla 18 Resultados de la prueba de reactividad cruzada

Microorganismo	Concentración	Resultado de la diana 1	Resultado de la diana 2
Coronavirus humano 229E	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Coronavirus humano OC43	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Coronavirus humano HKU1	1,0E+05 cp/ml	Negativo	Negativo
Coronavirus humano NL63	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Coronavirus MERS	1,0E+05 equivalente genómico/ml	Negativo	Negativo
Coronavirus SARS	1,0E+05 UFP/ml	Negativo	Positivo
Adenovirus B (tipo 34)	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Metapneumovirus humano (hMPV)	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Virus de la parainfluenza tipo 1	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Virus de la parainfluenza tipo 2	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Virus de la parainfluenza tipo 3	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Virus de la parainfluenza 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 sincitial respiratorio	1,0E+05 UFP/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 UFC/ml	Negativo	Negativo
<i>Legionella pneumophila</i>	1,0E+06 UFC/ml	Negativo	Negativo
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1,0E+06 células/ml	Negativo	Negativo
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,0E+06 UFC/ml	Negativo	Negativo
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,0E+06 UFC/ml	Negativo	Negativo
<i>Bordetella pertussis</i>	1,0E+06 UFC/ml	Negativo	Negativo
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,0E+06 UFC/ml	Negativo	Negativo
Pool de lavado nasal humano	5-50 %	Negativo	Negativo

Equivalencia entre tipos de muestras

La equivalencia entre los tipos de muestras de exudado nasofaríngeo y orofaríngeo se evaluó mediante un cultivo de virus (cepa USA-WA1/2020) añadido a pares de muestras negativas (muestras individuales, no en pool) para preparar muestras artificiales positivas bajas (aproximadamente $1,5 \times$ el LoD de la diana 1) y positivas moderadas (aproximadamente $4 \times$ el LoD de la diana 1) para cada tipo de muestra. En total, se analizaron 21 pares de muestras positivas bajas, 11 pares de muestras positivas moderadas y 11 pares de muestras negativas.

Tal como se muestra en la Tabla 19, todos los pares de muestras positivas bajas y positivas moderadas resultaron positivas en ambas matrices de muestras. Todos los pares de muestras negativas resultaron negativas en ambos tipos de muestras. Los valores de Ct observados para las muestras positivas artificiales fueron comparables en ambos tipos de muestras.

Tabla 19 Comparación de resultados entre los tipos de muestras de exudado nasofaríngeo y orofaríngeo

Tipo de muestra	Concentración de la muestra	N	Diana 1		Diana 2	
			% de positivos	Ct medio (IC al 95 %)	% de positivos	Ct medio (IC al 95 %)
NPS	~1,5 × LoD (Diana 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	~4 × LoD (Diana 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/A	0	N/A
OPS			0	N/A	0	N/A

Equivalencia de matrices: UTM-RT y cobas® PCR Media

La equivalencia entre las muestras recogidas en UTM-RT y en cobas® PCR Media (CPM) se evaluó mediante un cultivo de virus (cepa USA-WA1/2020) añadido a pares de muestras negativas de exudado nasofaríngeo de pacientes con signos y síntomas de una infección respiratoria del tracto superior (muestras individuales, no en pool) para preparar muestras artificiales positivas bajas (aproximadamente $1,5 \times$ LoD) y positivas moderadas (aproximadamente $4 \times$ LoD) para cada medio de recogida. En total, se analizaron 21 pares de muestras positivas bajas, 11 pares de muestras positivas moderadas y 11 pares de muestras negativas.

Tal como se muestra en la Tabla 20, todos los pares de muestras positivas bajas y positivas moderadas resultaron positivas en ambas matrices de muestras. Todos los pares de muestras negativas resultaron negativas en ambas matrices de muestras. Los valores de Ct observados para las muestras positivas artificiales fueron comparables en ambas matrices de muestras.

Tabla 20 Comparación de resultados entre UTM-RT y cobas® PCR Media

Medio de recogida	Concentración de la muestra	N	Diana 1		Diana 2	
			% de positivos	Ct medio (IC al 95 %)	% de positivos	Ct medio (IC al 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/A	0	N/A
CPM			0	N/A	0	N/A

Equivalencia de matrices: UTM-RT y suero salino al 0,9 %

La equivalencia entre las muestras recogidas en UTM-RT y suero salino al 0,9 % se evaluó mediante un cultivo de virus (cepa USA-WA1/2020) añadido a pares de muestras negativas (muestras individuales, no en pool) para preparar muestras artificiales positivas bajas (aproximadamente 1,5 × LoD) y positivas moderadas (aproximadamente 4 × LoD) para cada medio de recogida. Se obtuvieron tres muestras de cada uno de los 45 donantes sanos mediante torundas del cobas® PCR Media Dual Swab Sample Kit; dos muestras nasales (NS) recogidas mediante torundas afelpadas duales o de poliéster almacenadas en UTM y una muestra nasal (del otro orificio nasal) recogida mediante una torunda de poliéster almacenada en suero salino al 0,9 %. En total, se analizaron 17 pares de muestras positivas bajas, 11 pares de muestras positivas moderadas y 45 pares de muestras negativas.

Tal como se muestra en la Tabla 21, todos los pares de muestras positivas bajas y positivas moderadas resultaron positivas en ambas matrices de muestras. Todos los pares de muestras negativas resultaron negativas en ambas matrices de muestras. Los valores de Ct observados para las muestras positivas artificiales fueron comparables en ambas matrices de muestras.

Tabla 21 Comparación de resultados entre UTM-RT y suero salino al 0,9 %

Dispositivo de recogida	Concentración de la muestra	N	Diana 1		Diana 2	
			% de positivos	Ct medio (IC al 95 %)	% de positivos	Ct medio (IC al 95 %)
Torunda afelpada en UTM-RT	~1,5 × LoD	17	100	32,2 (32,0-32,4)	100	33,6 (33,6-33,7)
Torunda de poliéster en UTM-RT		16	100	31,6 (31,1-32,1)	100	33,2 (32,7-33,8)
Torunda de poliéster en suero		17	100	31,7 (31,4-32,0)	100	33,5 (33,2-33,8)
Torunda afelpada en UTM-RT	~4 × LoD	11	100	31,2 (31,1-31,4)	100	32,6 (32,4-32,7)
Torunda de poliéster en UTM-RT			100	30,9 (30,4-31,4)	100	32,4 (31,9-33,0)
Torunda de poliéster en suero			100	31,0 (30,8-31,3)	100	32,6 (32,5-32,7)
Torunda afelpada en UTM-RT	Negativo	45	0	N/A	0	N/A
Torunda de poliéster en UTM-RT			0	N/A	0	N/A
Torunda de poliéster en suero			0	N/A	0	N/A

Rendimiento en los pools de muestras

Se evaluó el rendimiento de la prueba cobas® SARS-CoV-2 durante el análisis de muestras nasofaríngeas recogidas en UTM o UVT utilizando un cobas® 6800 System y un cobas® 8800 System. Se analizaron 30 muestras positivas individualmente y en pools de 6 con 1 muestra positiva y 5 negativas así como en pools de 3 con 1 muestra positiva y 2 negativas. Además, se analizaron muestras negativas de forma individual, en 20 pools negativos de 6 y en 20 pools negativos de 2.

Las 30 muestras positivas individuales presentaban valores de Ct de la diana 2 de pan-sarbecovirus de 15,1-35,3, incluido un subconjunto de 8 muestras positivas bajas (~27 % de las muestras) con valores de Ct de la diana 2 de 33,4-35,3. El subconjunto de muestras positivas bajas obtuvo un valor de Ct de 2-3 (valor real de 1,1-3) del valor de Ct medio para la diana 2 y el límite de detección.

El rendimiento del análisis de pools de muestras de 6 y de 3 con una muestra positiva en cada pool, comparado con el análisis de las muestras individuales, se muestra en la Tabla 22 y en la Tabla 23, respectivamente. Los resultados positivos y presuntamente positivos (tal como se describe en la Tabla 13) se utilizaron para los cálculos del porcentaje de concordancia de positivos (pools frente a muestras individuales), puesto que todas las muestras integrantes necesitarían una repetición del análisis como muestras individuales independientes. Los resultados se resumen para todas las muestras y se resumen de forma separada para el subconjunto de muestras positivas bajas para cada tamaño del pool analizado.

Tabla 22 Reactividad en muestras positivas de pooles de 6

Muestras en pooles de 6	Resultados del pool negativos	Resultados del pool no válidos	Resultados del pool positivos o presuntamente positivos	N total de resultados válidos del pool	Concordancia de porcentaje de positivos (pooles frente a muestras individuales)
Positiva (incluida positiva baja)	0	0	30*	30	100 % (30/30) (IC del 95 %: 88,6-100 %)
Positiva baja	0	0	8*	8	100 % (8/8) (IC del 95 %: 67,6-100 %)

* Nota: una muestra positiva baja fue presuntamente positiva cuando se analizó en un pool de 6.

Tabla 23 Reactividad en muestras positivas de pooles de 3

Muestras en pooles de 3	Resultados del pool negativos	Resultados del pool no válidos	Resultados del pool positivos o presuntamente positivos	N total de resultados válidos del pool	Concordancia de porcentaje de positivos (pooles frente a muestras individuales)
Positiva (incluida positiva baja)	0	0	30	30	100 % (30/30) (IC del 95 %: 88,6-100 %)
Positiva baja	0	0	8	8	100 % (8/8) (IC del 95 %: 67,6-100 %)

El rendimiento del análisis de pooles de muestras de 6 y de 2 que contengan solo muestras negativas, comparado con el análisis de las muestras individuales, se muestra en la Tabla 24.

Tabla 24 Especificidad en pooles de 6 y pooles de 2 de muestras negativas

Tamaño del pool	Resultados del pool negativos	Resultados del pool no válidos	Resultados del pool positivos o presuntamente positivos	N total de resultados válidos del pool	Tasa de negatividad observada
Pooles de 6	20	0	0	20	100 % (20/20) (IC del 95 %: 83,9-100 %)
Pooles de 2	20	0	0	20	100 % (20/20) (IC del 95 %: 83,9-100 %)

Nota: es posible que algunas muestras positivas no sean detectadas cuando están diluidas y se analizan en pooles. Las estimaciones de rendimiento anteriores pueden infravalorar la pérdida de detección del análisis por agrupaciones. Los laboratorios también deberían considerar el límite de detección del ensayo para la evaluación del análisis por agrupaciones (consulte el apartado **Advertencias y precauciones**).

Evaluación clínica del rendimiento

El rendimiento de cobas® SARS-CoV-2 con muestras clínicas de exudado nasofaríngeo obtenidas prospectivamente se evaluó con 100 muestras clínicas negativas individuales y 50 muestras clínicas positivas artificiales de pacientes con muestras y síntomas de una infección respiratoria del tracto superior.

Las muestras clínicas fueron obtenidas por personal cualificado de acuerdo con el boletín técnico del dispositivo de obtención. La manipulación de las muestras se efectuó según las indicaciones del boletín técnico del dispositivo de obtención y se almacenaron congeladas hasta su uso. Las muestras resultaron negativas cuando se analizaron con una prueba de ácidos nucleicos disponible comercialmente para la detección cualitativa de microorganismos asociados a infecciones habituales del tracto respiratorio superior.

Las muestras clínicas positivas artificiales positivas bajas y positivas moderadas se prepararon añadiendo cultivo de virus (cepa USA-WA1/2020) a muestras clínicas negativas individuales con concentraciones aproximadas de $\sim 1,5 \times \text{LoD}$ (Diana 1) (25 muestras) y $\sim 4 \times \text{LoD}$ (Diana 1) (25 muestras), respectivamente.

Como refleja la Tabla 25, todas las muestras positivas bajas y positivas moderadas resultaron positivas y todas las muestras negativas resultaron negativas en el fondo de la matriz de muestras clínicas individuales.

Tabla 25 Evaluación clínica con muestras de exudado nasofaríngeo

Concentración de la muestra	N	Diana 1		Diana 2	
		% de positivos (IC bilateral al 95 %)	Ct medio	% de positivos (IC bilateral 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/A)	N/A	0 (N/A)	N/A

Rendimiento según los resultados esperados:

Concordancia de porcentaje de positivos 50/50 = 100 % (IC al 95 %: 92,9-100 %)

Concordancia de porcentaje de negativos 100/100 = 100 % (IC al 95 %: 96,3-100 %)

Rendimiento clínico con muestras de pacientes con sospecha de COVID-19

Se comparó el rendimiento del ensayo cobas® SARS-CoV-2 con el de una prueba de RT-PCR para EUA de SARS-CoV-2 (prueba de comparación) mediante muestras nasofaríngeas obtenidas en UTM de sujetos con sospecha de COVID-19.

El estudio incluyó un total de 162 muestras nasofaríngeas individuales nuevas archivadas, no identificables, obtenidas prospectivamente de sujetos con sospecha de COVID-19. Treinta de estos exudados nasofaríngeos almacenados en medio de transporte de virus (Copan UTM, BD™ UVT) resultaron positivos y 132 resultaron negativos para SARS-CoV-2 con la prueba de comparación. El estudio incluía un 33,3 % de muestras positivas bajas (LP) con valores de Ct de comparación comprendidos dentro de los 3 Ct del valor de Ct medio establecido para los valores LoD de la prueba de comparación según las instrucciones de uso correspondientes. Los valores de Ct de otras muestras positivas se distribuyeron en un amplio espectro. Los resultados se muestran en la Tabla 26.

09343784001-04ES

Doc Rev. 4.0

35

Tabla 26 Evaluación clínica con muestras de exudado nasofaríngeo de sujetos con sospecha de COVID-19

		Prueba comparativa de RT-PCR para EUA de gran sensibilidad			Porcentaje de concordancia	Resultado (%)	Intervalo de confianza del 95 % (%)
		Positiva	Negativa	Total			
cobas® SARS-CoV-2	Positiva	30	6*	36	CPP	100,0 (30/30)	88,6-100,0
	Negativa	0	126	126			
	Total	30	132	162			

* Confirmadas como positivos verdaderos mediante un análisis posterior a la amplificación del amplicón.

Rendimiento según los resultados de la prueba de comparación:

Porcentaje de concordancia de positivos $30/30 = 100\%$ (IC al 95 %: 88,6-100 %)

Porcentaje de concordancia de negativos $126/132 = 95,5\%$ (IC al 95 %: 90,4-97,9 %)

Se observaron resultados discordantes entre el ensayo cobas® SARS-CoV-2 y el método comparativo para 6 muestras. Dichas muestras presentaron valores de Ct tardíos, lo que sugiere que se trata de muestras de pacientes con cargas virales próximas o inferiores a límite de detección tanto del ensayo cobas® SARS-CoV-2 como de la prueba comparativa. El análisis posterior a la PCR del amplicón de todas las muestras discordantes confirmó la presencia de SARS-CoV-2.

Rendimiento clínico de muestras de sujetos sin síntomas u otros motivos de sospecha de COVID-19

Se comparó el rendimiento del ensayo cobas® SARS-CoV-2 con el de una prueba de RT-PCR para EUA de SARS-CoV-2 (prueba de comparación) mediante muestras nasofaríngeas obtenidas en UTM de sujetos sin síntomas u otros motivos de sospecha de COVID-19.

El estudio incluyó un total de 143 muestras nasofaríngeas individuales almacenadas, no identificables, obtenidas consecutivamente de sujetos sin síntomas o con otros motivos de sospecha de una infección por COVID-19. Veintidós de las muestras de exudado nasofaríngeo resultaron positivas y 121 resultaron negativas para SARS-CoV-2 según la prueba de comparación. Los resultados se muestran en la Tabla 27.

Tabla 27 Evaluación clínica de muestras de exudado nasofaríngeo de sujetos sin síntomas o con otros motivos de sospecha de COVID-19

		Prueba comparativa de RT-PCR para EUA de gran sensibilidad			Porcentaje de concordancia	Resultado (%)	Intervalo de confianza del 95 % (%)
		Positiva	Negativa	Total			
cobas® SARS-CoV-2	Positiva	21	0	21	CPP	95,5 (21/22)	78,2-99,2
	Negativa	1	121	122			
	Total	22	121	143			

Rendimiento según los resultados de la prueba de comparación:

Porcentaje de concordancia de positivos $21/22 = 95,5\%$ (IC al 95 %: 78,2-99,2 %)

Porcentaje de concordancia de negativos $121/121 = 100\%$ (IC al 95 %: 96,9-100 %)

Se observaron resultados discordantes entre el ensayo cobas® SARS-CoV-2 y el método comparativo para 1 muestra. Dicha muestra presentó un valor de Ct tardío, lo que sugiere que se trata de una muestra de paciente con una carga viral próxima o inferior a límite de detección tanto del ensayo cobas® SARS-CoV-2 como de la prueba comparativa.

Información adicional

Características principales de la prueba

Tipo de muestra	Muestras de exudado nasofaríngeo y orofaríngeo obtenidas en un sistema de medio de transporte universal (UTM-RT) de Copan o un sistema de transporte universal de virus (UVT) de BD™. Muestras de exudado nasal obtenidas en un sistema de medio de transporte universal (UTM-RT) de Copan, un sistema de transporte universal de virus (UVT) de BD™, cobas ® PCR Media y en suero salino al 0,9 %.
Cantidad mínima de muestra necesaria	0,6 o 1,0 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**. Volumen muerto de 0,6 ml identificado para los tubos primarios **cobas**® PCR Media. 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.

** Se requiere volumen adicional en caso de agrupamiento.

Símbolos

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

Tabla 28 Símbolos utilizados en las etiquetas de los productos de PCR para diagnóstico de Roche

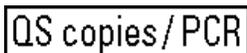
	Edad o fecha de nacimiento		Fecha de fabricación
	Software auxiliar		Distribuido por
	Intervalo asignado (copias/ml)		No deben reutilizarse
	Intervalo asignado (UI/ml)		Mujeres
	Representante autorizado en la Comunidad Europea		Para evaluación del rendimiento IVD únicamente
	Hoja de datos del código de barras		Global Trade Item Number (número mundial de un artículo comercial)
	Código de serie		Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Riesgo biológico		Límite inferior del intervalo asignado
	Número de catálogo		Hombres
	Fecha de recogida		Fabricante
	Consulte las instrucciones de uso		Control negativo
	Suficiente para $\langle n \rangle$ pruebas		Sin esterilizar
	Contenido del kit		Número del paciente
	Control		Nombre del paciente



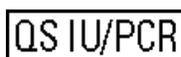
Abrir aquí



Control positivo



Copias QS por reacción de PCR, utilice copias QS por reacción de PCR para el cálculo de los resultados.



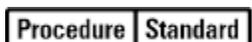
UI de QS por reacción de PCR, utilice las unidades internacionales (UI) de QS por reacción de PCR para el cálculo de los resultados.



Número de serie



Centro



Procedimiento estándar



Esterilizado con óxido de etileno



Almacenar en la oscuridad



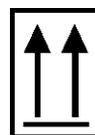
Límite de temperatura



Archivo de definición de pruebas



Marcado CE de conformidad; este dispositivo cumple con los requisitos aplicables para el marcado CE de un producto sanitario para diagnóstico *in vitro*



Este lado hacia arriba



Identificación exclusiva del dispositivo



Procedimiento ultrasensible



Límite superior del intervalo asignado



Línea de llenado de orina

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.



Fecha de caducidad



Dispositivo para pruebas cerca del paciente



Dispositivo no apto para pruebas cerca del paciente



Dispositivo para autoexamen



Dispositivo no apto para autoexamen

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 29 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 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)

Marcas registradas y patentes

Este producto está cubierto por una o más patentes de EE. UU. con n.º 8962293, 9102924, 8609340, 9234250, 8097717, 8192958, 10059993, 10358675, 8129118 y 6727067, y por las patentes equivalentes extranjeras.

COBAS, COBAS OMNI y AMPERASE son marcas comerciales de Roche.

La marca comercial “Armored RNA®” es propiedad de Asuragen, Inc. y Cenetron Diagnostics, Ltd.

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

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

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

Copyright

©2021 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Str. 116
 68305 Mannheim
 Germany



Bibliografía

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.

Revisión del documento

Información de revisión del documento	
Doc Rev. 1.0 10/2020	Primera publicación.
Doc Rev. 2.0 02/2021	<p>Se ha eliminado la marca de verificación de la tabla 10 correspondiente a la obtención de tipos de muestra nasofaríngeas con el cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit.</p> <p>Se ha incluido la declaración "Fabricado en".</p> <p>Póngase en contacto con su representante local de Roche para cualquier consulta.</p>
Doc Rev. 3.0 05/2021	<p>Se ha añadido texto que remite a las instrucciones de uso de los kits de recogida de muestras para obtener la información sobre peligros: "Consulte las instrucciones de uso de los dispositivos de recogida para conocer la información sobre peligros."</p> <p>Se ha actualizado el apartado Marcas registradas y patentes.</p> <p>Póngase en contacto con su representante local de Roche para cualquier consulta.</p>
Doc Rev. 4.0 05/2021	<p>Se ha cambiado la explicación del Uso previsto para incluir el cribado de sujetos asintomáticos.</p> <p>Se han añadido datos clínicos al apartado Evaluación del rendimiento clínico.</p> <p>Póngase en contacto con su representante local de Roche para cualquier consulta.</p>