

Prot. 39631 del 15/07/2020

From: rochediagnostics
Sent: 14/07/2020 14:50
To: abs.asl.rieti
Subject: Vs Prot.38779_Manifestazione Interesse:Fornitura reagenti e consumabili test della clamidia
Attachments: Documentazione Tecnica.pdf.p7m, Preventivo di Spesa.pdf.p7m, 79845 LT Istanza.pdf.p7m

Buona sera,
la presente per manifestare il nostro interesse alla procedura in oggetto.

Cordiali Saluti

Roche Diagnostics S.p.A.



Spettabile
AZIENDA UNITA SANITARIA LOCALE RIETI
VIA DEL TEMINILLO, 42
02100 RIETI RI

Monza, 14/07/2020

Cod. **3685628800** Offerta N. **79845/79846/O1034172/PG**
(da citare per qualsiasi comunicazione relativa)

AVVISO D'INDAGINE DI MERCATO FINALIZZATA ALL'AFFIDAMENTO DELLA FORNITURA DI REAGENTI E CONSUMABILI PER L'EFFETTUAZIONE DEL TEST DELLA CLAMIDIA CON METODICA IN BIOLOGIA MOLECOLARE (ESTRAZIONE ED AMPLIFICAZIONE PCR REAL TIME)

PREVENTIVO DI SPESA

La sottoscritta ROCHE DIAGNOSTICS S.p.A., società unipersonale, con sede legale ed uffici amministrativi in Monza (MB), Viale G.B. Stucchi 110 - telefono n. 039/2817.1 e telefax n. 039/2817670 e 039/2817678 - iscritta presso la C.C.I.A.A. Metropolitana di Milano-Monza/Brianza-Lodi - data di iscrizione 05/10/2016 - iscritta nella sezione ordinaria il 19/02/1996 con C.F., P.I. e Registro Imprese al n. 10181220152 - iscritta al R.E.A. di Monza e Brianza n. MB1350535 il 05/10/2016 - Codice attività n. 46.90.00 - Ufficio delle Imposte Dirette in Milano, Via Manin 25 Presidente Consiglio di Amministrazione, Amministratore Delegato e Rappresentante Legale Lars Håkan JOHANSSON nato a Södertälje - Stoccolma (Svezia) il 02/08/1968, codice fiscale JHNL68M02Z132B, domiciliato per la carica in Monza, Viale G.B. Stucchi 110 - rappresentata da Noemi Maria Brambilla, nata a Inzago (MI) il 04/11/1972, domiciliata per la carica in Monza (MB), Viale G.B. Stucchi 110, codice fiscale BRMNMR72S44E317A, in qualità di Procuratore nominato con atto del 17/07/2012 e Giuseppa Novara nata a Mazzarino (CL) il 26/02/1962, domiciliata per la carica in Monza (MB), Viale G.B. Stucchi 110, codice fiscale NVRGPP62B66F065G, in qualità di Procuratore nominato con atto del 19/09/2016

sottopone alla Vostra attenzione la propria migliore offerta come da tabella allegata.

Condizioni di fornitura

- Porto franco
- Imballo gratis
- IVA a Vs. carico: 22% (ventiduepercento)
- Consegna reagenti entro e non oltre 7 giorni dal ricevimento del regolare buono di ordinazione, salvo urgenze
- Pagamento: Rimessa diretta a 60 giorni
- Validità dell'offerta: minimo 180 giorni, prorogabile

Spedizione e trasporto prodotti

Roche Diagnostics utilizza mezzi di trasporto idonei per il mantenimento costante della temperatura prevista per ogni dispositivo diagnostico. I prodotti ordinati dalla Clientela sono spediti utilizzando corrieri espressi di provata affidabilità, che impiegano mezzi a temperatura controllata, garantendo la consegna in perfette condizioni ed in tempi compatibili. Roche Diagnostics utilizza vettori certificati ISO 9001 il cui servizio di trasporto a temperatura controllata è stato convalidato e costantemente monitorato. Tutti i vettori utilizzati sono conformi ai requisiti cogenti in materia di autotrasporto di merci.

Roche Diagnostics S.p.A.
- società unipersonale

Sede Legale: 20900 Monza MB
Viale G.B. Stucchi, 110
Capitale sociale EUR 18.060.000 i.v.
C.F./P.IVA/Registro Imprese Milano -
Monza/Brianza - Lodi 10181220152

Finance, IT & Business
Operations Tenders
Management

Tel. +39 0392817255
Numero verde 800-650651
Fax +039/2817670 - 039/2817678
www.roche.it
paola.grillo@roche.com

“Ai sensi e per gli effetti dell'art. 3 della L. 136/2010, si comunicano gli estremi del conto corrente dedicato, nonché generalità e codice fiscale delle persone delegate ad operarvi:

Deutsche Bank S.p.A. - Via Italia, 44 - 20900 Monza (MB)

C/C 54404 - ABI 03104 - CAB 20400 - CIN W

IBAN IT83W031042040000000054404 - Swift Code DEUTITM1106

1. *Patera Concetta, nata a Monza (MB) il 06/04/1976, PTRCCT76D46F704G*
2. *Ferrari Arnaldo, nato a Pavia il 17/09/1962, FRRRLD62P17G388K*
3. *Johansson Lars Håkan, nato a Södertälje - Stoccolma (Svezia) il 02/08/1968, JHNL5H68M02Z132B*
4. *Feo Francisco Alberto, nato a Buenos Aires (Argentina) il 16/11/1975, FEOFNC75S16Z600Q*

Accessi telefonici - fax - mail riservati alla Clientela

UFFICIO GARE

(GARE e COMUNICAZIONI RELATIVE - RICHIESTA PREVENTIVI - CHIARIMENTI - APERTURE BUSTE)

Tel.	039.28171	N. Verde	800-650651
Mail:	monza.ufficiogare@roche.com	Fax	039.2817670-678
PEC:	rochediagnostics@legalmail.it		

UFFICIO CONTRATTI

(AGGIUDICAZIONI - COMUNICAZIONI POST AGGIUDICAZIONE - PROROGHE - CONTRATTI - ORDINI STRUMENTI)

Tel.	039.28171	N. Verde	800-108077
Mail:	monza.contratti@roche.com	Fax	039.2817670-678
PEC:	contract.diagnostics@roche.legalmail.it		

Sono a disposizione dei nostri Clienti, dalle ore 08.30 alle 17.30 (dal lunedì al venerdì) i seguenti numeri verdi per gli accessi telefonici dedicati:

UFFICIO EVASIONE ORDINI

(ORDINI REAGENTI)

	Mail:	monza.labdia@roche.com
	PEC:	ordini.diagnostics@roche.legalmail.it
SISTEMI DIAGNOSTICI DI LABORATORIO	Tel. 800-620621	Fax 800-640641
PRODOTTI PER RICERCA	Tel. 800-620622	Fax 800-640642
SISTEMI PER ANATOMIA PATOLOGICA	Tel. 800-620624	Fax 800-012583

CUSTOMER SUPPORT CENTER

SISTEMI DIAGNOSTICI DI LABORATORIO	Tel. 800-610619
PRODOTTI PER RICERCA	Tel. 800-620627
SISTEMI PER ANATOMIA PATOLOGICA	Tel. 800-620628

Distinti Saluti

ROCHE DIAGNOSTICS S.P.A.

Noemi Maria Brambilla Giuseppa Novara

DOCUMENTO FIRMATO DIGITALMENTE

REAGENTI

<i>Descrizione Prodotto</i>	Cod. Prod.	CND	REP.	CONF.	Unità misura	Prezzo a Conf.
KIT COBAS PCR MEDIA DUAL SWB 100 PKT IVD	07958021190	W0105010199	vedi Nota *	100	tubi	0,00 zero/00
KIT COBAS PCR MEDIA UNI SWB 100 PKT IVD	07958030190	W0105010199	vedi Nota *	100	tubi	0,00 zero/00
KIT COBAS 4800 CT/NG AMP DET 240T IVD	05235952190	W0105010106	1175192	240	Determinazioni	2.880,00 duemilaottocentottanta/00
KIT COBAS 4800 SYS CTL DIL 10 SETS IVD	05235847190	W0105010106	vedi Nota *	10	set	80,00 ottanta/00

CONSUMABILI

<i>Descrizione Prodotto</i>	Cod. Prod.	CND	REP.	CONF.	Unità misura	Prezzo a Conf.
KIT COBAS PCR URINE 100 PKT IVD	05170486190	W0105010106	vedi Nota *	100	Pz	0,00 zero/00
KIT COBAS 4800 SYS SAMPLE PREP 240T IVD	05235782190	W0105040599	vedi Nota *	240	Determinazioni	0,00 zero/00
KIT COBAS 4800 SYS WASH BUFFER 240T IVD	05235863190	W0105040599	vedi Nota *	240	Determinazioni	0,00 zero/00

CONTROLLI

<i>Descrizione Prodotto</i>	Cod. Prod.	CND	REP.	CONF.	Unità misura	Prezzo a Conf.
KIT COBAS 4800 CT/NG CTL 10 SETS IVD	05235928190	W0105011699	1175194	10	set	332,00 trecentotrentadue/00

*Nota - In base a quanto previsto dal Decreto Legge del Ministero Della Salute del 23 Dicembre 2013, pubblicato sulla Gazzetta Ufficiale del 06/05/2014, per i prodotti indicati si ricade nell'articolo 10 comma 6 del D.Lgs. 332/2000 per i quali i Fabbricanti e i Mandatari non stabiliti in Italia provvedono alla registrazione solo per i dispositivi dell'allegato II del suddetto D.Lgs. e per gli autodiagnostici. I prodotti indicati non rientrano nell'allegato II della Direttiva 98/79/CE, di conseguenza il codice di repertorio non risulta applicabile.

cobas[®] 4800 CT/NG Test

cobas[®]

PER USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*.

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

AVVISO: acquistando il presente prodotto si acquisisce il diritto all'uso dello stesso per le finalità di amplificazione e rilevazione delle sequenze di acido nucleico tramite PCR (polymerase chain reaction, reazione a catena della polimerasi) e per le procedure correlate di diagnostica umana *in vitro*. Non si acquisisce tuttavia nessun'altra licenza di nessun tipo, ad eccezione del suddetto diritto specifico all'uso derivante dall'acquisto.

USO PREVISTO

Il test cobas[®] 4800 CT/NG è un test di amplificazione *in vitro* degli acidi nucleici destinato alla rilevazione qualitativa di *Chlamydia trachomatis* (CT) e/o *Neisseria gonorrhoeae* (NG) nei campioni dei pazienti. Il test utilizza l'amplificazione del DNA target tramite reazione a catena della polimerasi (polymerase chain reaction, PCR) e l'ibridazione dell'acido nucleico per la rilevazione del DNA di *Chlamydia trachomatis* e di *Neisseria gonorrhoeae* in campioni su tamponi endocervicali, in campioni su tamponi vaginali prelevati dal medico, in campioni su tamponi vaginali autoprelevati seguendo le indicazioni del medico e in campioni maschili e femminili di urina raccolti in cobas[®] PCR Media (Roche Molecular Systems, Inc.), oltre che in campioni cervicali raccolti in PreservCyt[®] Solution (Hologic, Inc.). Questo test è destinato all'uso come strumento diagnostico e di screening nelle popolazioni sintomatiche e asintomatiche.

RIASSUNTO E SPIEGAZIONE DEL TEST

Le clamidie (*Chlamydia*) sono batteri Gram-negativi non motili che esistono sotto forma di parassiti intracellulari obbligati delle cellule eucariotiche. Il genere *Chlamydia* è costituito da quattro specie note: *C. trachomatis*, *C. psittaci*, *C. pecorum* e *C. pneumoniae* (TWAR). La specie *C. psittaci* è essenzialmente un agente patogeno animale, mentre il ruolo patogenico della specie *C. pecorum* non è ancora del tutto chiaro¹. La specie *C. trachomatis* è composta da quindici sierovarianti principali, che sono causa di patologie umane.

La *Chlamydia trachomatis* (CT) è la malattia a trasmissione sessuale (sexually transmitted disease, STD) di origine batterica più diffusa negli Stati Uniti^{1,2}, nonché la seconda causa di malattie a trasmissione sessuale nel mondo, con circa 89,1 milioni di nuovi casi ogni anno.² Nei 50 stati americani, i casi di infezione da CT sarebbero 1.210.523 (fonte: Sexually Transmitted Disease Surveillance 2008 Supplement, a cura dei Centers for Disease Control, CDC).³ I cittadini statunitensi di età compresa tra 14 e 39 anni portatori di CT sarebbero 2.291.000 (fonte: rapporto dello U.S. National Health and Nutrition Examination).⁴

La CT è l'agente infettivo causativo di molteplici patologie nell'uomo: uretrite, proctite, congiuntivite, epididimite e Sindrome di Reiter. Nelle donne le infezioni da clamidia, se trascurate, possono avere conseguenze gravi. Circa la metà di queste infezioni è asintomatica, pertanto molti casi non vengono alla luce e non vengono curati. I problemi che ne derivano possono essere seri, in particolare per le donne in stato di gravidanza. Inoltre, le reinfezioni sono frequenti se i partner sessuali non si sottopongono a terapia.⁵ Le infezioni da CT possono causare uretriti, cerviciti, proctiti, congiuntiviti, endometriti, salpingiti (con conseguente infertilità o gravidanza ectopica) e periepatiti. I neonati di madri infette possono sviluppare congiuntiviti, faringiti o polmoniti.⁶

Neisseria gonorrhoeae (gonococchi) è l'agente causativo della gonorrea. I batteri *N. gonorrhoeae* sono diplococchi Gram-negativi, positivi alla citocromo-ossidasi, non motili e che non formano spore. Nel 2008 il CDC ha segnalato complessivamente 336.742 casi di infezioni da NG,⁷ mentre si stima che oltre 700.000 persone contraggano l'infezione ogni anno. I tassi di infezione sono rimasti stabili per alcuni anni, dopodiché a partire dal 2007 negli Stati Uniti si è registrato un calo del 5,4% nel numero di infezioni segnalate, con 111,5 casi ogni 100.000 persone.⁸

Le manifestazioni cliniche delle infezioni da NG sono molteplici. Negli uomini l'uretrite acuta si presenta dopo un periodo di incubazione di 1-10 giorni con secrezioni uretrali e disuria.⁹ Solo una minima percentuale di individui rimane asintomatica senza segni di uretrite.¹⁰ L'epididimite acuta è la complicazione più comune, specialmente nei soggetti giovani. Nelle donne il sito principale di infezione è l'endocervice. Vi è un'alta prevalenza di co-infezioni con CT, *Trichomonas vaginalis* e vaginosi batterica; molte donne rimangono asintomatiche e pertanto non si sottopongono a terapia medica. I sintomi predominanti sono un aumento delle perdite, disuria e sanguinamento intermestruale.¹¹ Nel 10%-20% delle donne si possono verificare malattie infiammatorie pelviche, unitamente a endometrite, salpingiti, ascessi tubo-ovarici, peritoniti pelviche e periepatiti.¹² Altri siti di infezione da gonococco possono essere retto, faringe e congiuntiva; sporadicamente l'infezione può presentarsi sotto forma di infezione gonococcica disseminata.¹³ I neonati di madri infette possono sviluppare congiuntiviti.¹³

La diagnosi presunta della gonorrea è basata su: (1) osservazione di diplococchi intracellulari Gram-negativi in strisci con colorazione Gram di secrezioni uretrali maschili e di perdite endocervicali femminili; (2) crescita della *N. gonorrhoeae* dall'uretra (uomini) o dalla endocervice su terreni di coltura selettivi, seguita dalla dimostrazione di una morfologia tipica delle colonie, dall'attività di ossidasi positiva e da una morfologia tipica dei diplococchi Gram-negativi; e/o (3) rilevazione della *N. gonorrhoeae* con test non colturali in laboratorio. Per una diagnosi definitiva di gonorrea occorre: (1) l'isolamento del batterio *Neisseria gonorrhoeae* nei siti di esposizione tramite coltura (colture di 48-72 ore su terreno selettivo), dimostrazione della morfologia tipica della colonia, test dell'ossidasi positivo, morfologia tipica dei batteri gram-negativi; (2) la conferma degli isolati della coltura di *N. gonorrhoeae* tramite particolari metodi di identificazione (produzione di acidi dai carboidrati, test enzimatici rapidi, saggi sierologici, test per alcuni acidi nucleici).¹⁴⁻¹⁷ La coltura è necessaria per la determinazione della suscettibilità batterica.

I target previsti del test **cobas**[®] 4800 CT/NG includono tutte le quindici principali sierovarianti di *Chlamydia trachomatis*, la mutante svedese nvCT di *C. trachomatis* ed entrambe le sequenze DR-9 (wild type e variante) di *Neisseria gonorrhoeae*.

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il test **cobas**[®] 4800 CT/NG per *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae* si basa su 2 procedure principali: (1) preparazione automatica dei campioni per isolare gli acidi nucleici, incluso il DNA di CT e di NG; (2) amplificazione PCR delle sequenze di DNA target mediante coppie complementari di primer CT/NG-specifici e simultanea rilevazione real-time delle sonde oligonucleotidiche con marcatori fluorescenti CT/NG-specifiche scisse. Durante la preparazione automatica viene aggiunto a tutti i campioni un Controllo Interno contenente DNA di CT e NG, che viene sottoposto ad amplificazione e rilevazione contestualmente ad ogni campione per monitorare l'intera procedura.

La preparazione dei campioni per il test **cobas**[®] 4800 CT/NG è automatizzata grazie all'uso dello strumento **cobas x 480**. I campioni vengono lisi nel dispositivo di prelievo o durante la preparazione del campione dall'agente caotropico contenuto nel terreno **cobas**[®] PCR Media e nel tampone di lisi rispettivamente. Prima di essere sottoposti ad amplificazione PCR e rilevazione, gli acidi nucleici rilasciati e il DNA del Controllo Interno CT/NG aggiunto vengono purificati tramite assorbimento sulle biglie magnetiche, lavaggio e separazione finale dalle biglie.

La soluzione Master Mix contiene coppie di primer e sonde specifiche del DNA plasmide criptico della CT, il DNA genomico del gene *ompA* della CT, il DNA target della NG di tipo wild-type e variante nella regione DR-9 e il DNA dei Controlli Interni di CT e NG.

Amplificazione PCR

Selezione del target

Oltre al DNA cromosomico, *C. trachomatis* contiene un plasmide criptico di circa 7.500 bp (coppie di basi) che è comune a tutte le sierovarianti di *C. trachomatis*.^{18,19} Il test **cobas**[®] 4800 CT/NG utilizza i primer di CT denominati CP102 e CP103 per definire una sequenza di circa 206 nucleotidi all'interno del DNA plasmide criptico di *C. trachomatis*. Inoltre il test **cobas**[®] 4800 CT/NG utilizza i primer di CT denominati CTMP101 e CTMP102 per definire una sequenza di circa 182 nucleotidi all'interno del DNA cromosomico di *C. trachomatis*.

Il sito target della *N. gonorrhoeae* è una regione a ripetizione diretta (direct repeat region) altamente conservata, denominata DR-9. Il test **cobas**[®] 4800 CT/NG utilizza i primer di NG denominati NG514 e NG519 per definire una sequenza di circa 190 nucleotidi in questa regione. Inoltre il test **cobas**[®] 4800 CT/NG utilizza un altro set di primer di NG, denominati NG552 e NG579, per definire una seconda sequenza di circa 215 nucleotidi identificata come variante della sequenza conservata di questa regione.

Amplificazione del target

I campioni estratti vengono aggiunti alla miscela di amplificazione in una piastra per PCR, dove avviene l'amplificazione PCR. La miscela di reazione viene riscaldata per separare il DNA isolato a doppio filamento ed esporre le sequenze target dei primer. A mano a mano che la miscela si raffredda, i primer si appaiano con il DNA target (fase di annealing). In presenza di Mn²⁺ e di un eccesso di dNTP, la DNA polimerasi Z05 estende i primer sottoposti ad annealing lungo gli amplificati target, producendo una molecola di DNA a doppio filamento. Si completa così il primo ciclo della PCR, che produce una copia di DNA a doppio filamento delle regioni target del DNA di CT e NG e del DNA dei Controlli Interni di CT/NG. La ripetizione di questo processo si conclude con l'amplificazione del DNA tra le sequenze target del primer, producendo una molecola di DNA a doppio filamento definita amplicone. L'analizzatore **cobas z 480** ripete automaticamente questo processo per un preciso numero di cicli, raddoppiando ad ogni ciclo la quantità di DNA amplicone. Il numero di cicli necessari è preimpostato nel software **cobas**[®] 4800. L'amplificazione interessa esclusivamente la regione dei target di CT e/o NG che è compresa tra i primer; l'intero plasmide criptico di CT e i genomi di CT e/o NG non vengono amplificati.

Amplificazione del Controllo Interno

Il Controllo Interno CT/NG è una combinazione di due DNA plasmidi ricombinanti non infettivi, ognuno con regioni di legame ai primer identiche a quelle delle sequenze target genomiche di *C. trachomatis* e di *N. gonorrhoeae*. I due DNA plasmidi ricombinanti hanno una sequenza target interna randomizzata e una regione di legame alle sonde univoca, che differenzia quindi il Controllo Interno CT/NG dall'amplicone target. Queste caratteristiche sono state selezionate per garantire un'amplificazione indipendente sia per il Controllo Interno CT/NG, sia per i DNA target di *C. trachomatis* e *N. gonorrhoeae*. Il reagente Controllo Interno CT/NG, incluso nel test **cobas**[®] 4800 CT/NG, viene introdotto in ogni campione sullo strumento **cobas x 480** durante la preparazione dei campioni.

Amplificazione selettiva

Il test **cobas**[®] 4800 CT/NG consente l'amplificazione selettiva dell'acido nucleico target nei campioni attraverso l'azione dell'enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasi) e del trifosfato di deossiridina (dUTP). L'enzima AmpErase riconosce e catalizza la distruzione dei filamenti di DNA contenenti deossiridina²⁰, ma non del DNA contenente deossitimidina. La deossiridina non è presente nel DNA naturale, ma è sempre presente nell'amplicone perché il trifosfato di deossiridina viene utilizzato al posto del trifosfato di timidina come uno dei dNTP nel reagente Master Mix, pertanto solo l'amplicone contiene deossiridina. Proprio la presenza della deossiridina rende l'amplicone contaminante suscettibile alla distruzione da parte dell'enzima AmpErase prima dell'amplificazione del DNA target. L'enzima AmpErase contenuto nel reagente Master Mix catalizza la scissione del DNA contenente deossiridina nei residui di deossiridina, aprendo la catena di deossiribosio nella posizione C1. Quando viene riscaldata nella prima fase del ciclo termico (pH alcalino del reagente Master Mix), la catena del DNA amplicone si spezza in corrispondenza della posizione della deossiridina, rendendo il DNA non amplificabile. L'enzima AmpErase è inattivo a temperature superiori ai 55°C (quindi durante tutte le fasi del ciclo termico), di conseguenza non distrugge l'amplicone target. È dimostrato che il test **cobas**[®] 4800 CT/NG rende inattive almeno 10⁹ copie dell'amplicone di CT/NG contenente deossiridina per ogni ciclo di PCR.

Rilevazione dei prodotti della PCR nel test **cobas**[®] 4800 CT/NG

Il test **cobas**[®] 4800 CT/NG si basa sulla tecnologia Real-time^{21,22} PCR. L'uso di sonde fluorescenti consente di identificare in tempo reale l'accumulo dei prodotti della PCR, grazie al monitoraggio dell'intensità delle emissioni dei fluorocromi rilasciati durante l'amplificazione. Le sonde includono plasmide criptico di CT, oligonucleotidi specifici per *ompA* di CT, per NG DR-9, per NG DR-9var e per il Controllo Interno CT/NG, tutte marcate con un fluorocromo reporter e un fluorocromo quencher. Quando le sonde marcate con fluorocromo sono intatte, la fluorescenza del reporter è soppressa a causa della vicinanza del fluorocromo quencher (effetti del trasferimento di energia di tipo Förster). Durante la PCR, le sonde ibridizzano alla rispettiva sequenza target e vengono scisse dall'attività della 5'-3' nucleasi della DNA polimerasi Z05 termostabile. Dopo che i fluorocromi reporter e quencher si separano, l'effetto di soppressione (quenching) cessa e l'emissione fluorescente dei fluorocromi reporter si intensifica. L'amplificazione dei target CT, dei target NG e del Controllo Interno CT/NG viene misurata in modo indipendente e a lunghezze d'onda diverse. Questo processo viene ripetuto per il numero di cicli stabilito, aumentando ad ogni ciclo l'intensità delle emissioni dei singoli fluorocromi reporter.

REAGENTI

cobas[®] 4800 System Sample Preparation Kit

Kit di preparazione dei campioni per il sistema **cobas**[®] 4800
(P/N: 05235782190)

c4800 SMPL PREP

240 test

MGP

(Biglie magnetiche per il sistema **cobas**[®] 4800)
Biglie magnetiche
93% Isopropanolo

10 x 4,5 ml

EB

(Buffer di eluizione per il sistema **cobas**[®] 4800)
Tris Buffer
0,09% Sodio azide

10 x 18 ml

cobas[®] 4800 System Sample Preparation Kit

Kit di preparazione dei campioni per il sistema **cobas**[®] 4800
(P/N: 05235804190)

c4800 SMPL PREP

960 test

MGP

(Biglie magnetiche per il sistema **cobas**[®] 4800)
Biglie magnetiche
93% Isopropanolo

10 x 13,5 ml

EB

(Buffer di eluizione per il sistema **cobas**[®] 4800)
Tris Buffer
0,09% Sodio azide

10 x 18 ml

cobas[®] 4800 System Wash Buffer Kit

Kit del buffer di lavaggio per il sistema **cobas**[®] 4800
(P/N: 05235863190)

c4800 WB

240 test

WB

(Buffer di lavaggio per il sistema **cobas**[®] 4800)
Diidrato di citrato di sodio
0,05% N-Metilisotiazolone-HCl

10 x 55 ml

cobas[®] 4800 System Wash Buffer Kit

Kit del buffer di lavaggio per il sistema **cobas**[®] 4800
(P/N: 05235871190)

c4800 WB

960 test

WB

(Buffer di lavaggio per il sistema **cobas**[®] 4800)
Diidrato di citrato di sodio
0,05% N-Metilisotiazolone-HCl

10 x 200 ml

cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit
Kit di preparazione di citologia liquida per il sistema **cobas® 4800**
(P/N: 05235812190)

c4800 LIQ CYT

240 test

PK
(Proteinasi K **cobas® 4800**)

Tris Buffer
EDTA
Glicerolo
Cloruro di calcio
Acetato di calcio
< 2% Proteinasi K

10 x 0,9 ml

SDS
(Reagente SDS per il sistema **cobas® 4800**)

Tris Buffer
0,2% SDS
0,09% Sodio azide

10 x 3 ml

LYS
(Buffer di lisi per il sistema **cobas® 4800**)

Tris Buffer
37% (p/p) Guanidina-HCl
< 5% Polidocanolo

10 x 10 ml

cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit
Kit di preparazione di citologia liquida per il sistema **cobas® 4800**
(P/N: 05235839190)

c4800 LIQ CYT

960 test

PK
(Proteinasi K **cobas® 4800**)

Tris Buffer
EDTA
Glicerolo
Cloruro di calcio
Acetato di calcio
< 2% Proteinasi K

20 x 1,2 ml

SDS
(Reagente SDS per il sistema **cobas® 4800**)

Tris Buffer
0,2% Dodecil solfato di sodio
0,09% Sodio azide

10 x 9 ml

LYS
(Buffer di lisi per il sistema **cobas® 4800**)

Tris Buffer
37% (p/p) Guanidina HCl
< 5% Polidocanolo

10 x 36 ml

cobas® 4800 CT/NG Amplification/Detection Kit
Kit di amplificazione/rilevazione CT/NG per il sistema **cobas® 4800**
(P/N: 05235952190)

c4800 CT/NG AMP/DET

240 test

CT/NG MMX
(Master Mix per il test **cobas® 4800 CT/NG**)

Buffer tricina
Acetato di potassio
Idrossido di potassio
Glicerolo
< 0,01% dATP, dCTP, dGTP, dUTP
< 0,01% Primer upstream e downstream per CT e NG
< 0,01% Sonde a fluorescenza specifiche per CT e NG
< 0,01% Sonde a fluorescenza specifiche per Controllo Interno
< 0,01% Aptamero oligonucleotidico
< 0,10% DNA Polimerasi Z05 (batterica)
< 0,10% Enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasi) (batterico)
0,09% Sodio azide

10 x 0,5 ml

CT/NG Mn
(Soluzione di manganese per il test **cobas® 4800 CT/NG**)

< 1,0% Acetato di manganese
< 0,02% Acido acetico glaciale
0,09% Sodio azide

10 x 1,5 ml

cobas® 4800 CT/NG Amplification/Detection Kit

Kit di amplificazione/rilevazione CT/NG per il sistema **cobas® 4800**
(P/N: 05235979190)

c4800 CT/NG AMP/DET**960 test****CT/NG MMX**

(Master Mix per il test **cobas® 4800 CT/NG**)

Buffer tricina

Acetato di potassio

Idrossido di potassio

Glicerolo

< 0,01% dATP, dCTP, dGTP, dUTP

< 0,01% Primer upstream e downstream per CT e NG

< 0,01% Sonda a fluorescenza specifiche per CT e NG

< 0,01% Sonda a fluorescenza specifiche per Controllo Interno

< 0,01% Aptamero oligonucleotidico

< 0,10% DNA Polimerasi Z05 (batterica)

< 0,10% Enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasi) (batterico)

0,09% Sodio azide

20 x 1,0 ml

CT/NG Mn

(Soluzione di manganese per il test **cobas® 4800 CT/NG**)

< 1,0% Acetato di manganese

< 0,02% Acido acetico glaciale

0,09% Sodio azide

10 x 1,5 ml

cobas® 4800 System Control Diluent Kit

Kit di diluente di controllo per il sistema **cobas® 4800**
(P/N: 05235847190)

c4800 CDIL**10 set****CDIL**

(Diluente di controllo del sistema **cobas® 4800**)

Tris Buffer

37% Guanidina-HCl

10 x 4,3 ml

cobas® 4800 CT/NG Controls Kit

Kit di controlli per il sistema **cobas® 4800 CT/NG**
(P/N: 05235928190)

c4800 CT/NG CTLS**10 set****CT/NG (+) C**

(Controllo Positivo **cobas® 4800 CT/NG**)

Tris Buffer

EDTA

0,05% Sodio azide

< 0,002% Poly rA RNA (sintetico)

< 0,01% DNA plasmide non infettivo (batterico) contenente sequenze di *C. trachomatis*< 0,01% DNA plasmide non infettivo (batterico) contenente sequenze di *N. gonorrhoeae*

10 x 0,5 ml

(-) C

(Controllo Negativo per il sistema **cobas® 4800**)

Tris Buffer

EDTA

0,05% Sodio azide

< 0,002% Poly rA RNA (sintetico)

10 x 0,5 ml

CT/NG IC

(Controllo Interno **cobas® 4800 CT/NG**)

Tris Buffer

EDTA

0,05% Sodio azide

< 0,002% Poly rA RNA (sintetico)

< 0,01% DNA plasmide non infettivo (batterico) contenente sequenze di legame al primer di *C. trachomatis* e una regione di legame esclusiva alla sonda< 0,01% DNA plasmide non infettivo (batterico) contenente sequenze di legame al primer di *N. gonorrhoeae* e una regione di legame esclusiva alla sonda

10 x 0,3 ml

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

A. PER USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*.

- B. Questo test è destinato all'uso con campioni su tamponi endocervicali e vaginali raccolti utilizzando **cobas**[®] PCR Media Uni Swab Sample Kit e **cobas**[®] PCR Media Dual Swab Sample Kit; con campioni maschili e femminili di urina raccolti utilizzando **cobas**[®] PCR Urine Sample Kit; e con campioni cervicali raccolti in PreservCyt[®] Solution.
- C. Non pipettare con la bocca.
- D. Evitare di mangiare, bere e fumare nelle aree di lavoro del laboratorio. Durante la manipolazione dei campioni e dei reagenti del kit, indossare guanti monouso protettivi, camici da laboratorio e protezioni per gli occhi. Dopo avere manipolato i campioni e i reagenti del test, lavarsi accuratamente le mani.
- E. Evitare la contaminazione dei reagenti con batteri e DNA.
- F. Smaltire i reagenti inutilizzati e il materiale di scarto nel rispetto delle leggi vigenti a livello locale, regionale e nazionale.
- G. Non utilizzare i reagenti dopo le date di scadenza.
- H. Non combinare i reagenti.
- I. Le schede di sicurezza (Safety Data Sheets, SDS) sono disponibili su richiesta presso la sede Roche locale.
- J. Per evitare contaminazioni è necessario indossare i guanti, che dovranno essere sostituiti dopo avere manipolato i campioni e prima di utilizzare i reagenti **cobas**[®] 4800.
- K. I campioni devono essere manipolati come se fossero infettivi, adottando le procedure di sicurezza del laboratorio delineate nella pubblicazione *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*²³ e nel documento CLSI M29-A3²⁴.
- L. Il terreno di trasporto **cobas**[®] PCR Media (dal contenitore per campione primario) e i reagenti **LYS** e **CDIL** contengono guanidina idrocloruro. **Impedire il contatto diretto tra la guanidina idrocloruro e l'ipoclorito di sodio (candeggina) o altri reagenti fortemente reattivi, ad esempio acidi o basici. Queste miscele possono rilasciare un gas nocivo.** In caso di fuoriuscita di liquido contenente guanidina idrocloruro, pulire con acqua e un detergente da laboratorio idoneo. Se il liquido fuoriuscito contiene agenti potenzialmente infettivi, **PRIMA** pulire la superficie interessata con acqua e un detergente da laboratorio, poi con ipoclorito di sodio allo 0,5%.
- M. Il prodotto **MGP** contiene isopropanolo ed è facilmente infiammabile. Tenere al riparo da fiamme libere e da ambienti dove si possono verificare scintille.
- N. I reagenti **EB**, **SDS**, **CT/NG MMX**, **CT/NG Mn**, **(-) C**, **CT/NG (+) C** e **CT/NG IC** contengono sodio azide. La sodio azide può reagire con le tubature di piombo e rame formando azidi metalliche fortemente esplosive. Quando le soluzioni contenenti sodio azide vengono smaltite nei lavelli del laboratorio, è necessario sciacquare gli scarichi con abbondante acqua fredda per impedire l'accumulo di azidi.
- O. Durante la manipolazione dei reagenti, indossare camici da laboratorio, guanti monouso e una protezione adeguata per gli occhi. Evitare il contatto di questi materiali con la cute, gli occhi o le membrane mucose. In caso di contatto accidentale, lavare immediatamente con abbondante acqua. Intervenire tempestivamente per prevenire possibili ustioni. In caso di fuoriuscita del reagente, diluire con acqua prima di asciugare.
- P. Tutti i materiali monouso possono essere utilizzati una sola volta. Non riutilizzare.
- Q. Non utilizzare una soluzione di ipoclorito di sodio (candeggina) per pulire lo strumento **cobas x 480** o l'analizzatore **cobas z 480**. Pulire il **cobas x 480** instrument o il **cobas z 480** analyzer attenendosi alle procedure descritte nell'Assistenza Utente del **cobas**[®] 4800 System.
- R. Per ulteriori avvertimenti, precauzioni e procedure volte a ridurre il rischio di contaminazione per il **cobas x 480** instrument o il **cobas z 480** analyzer, consultare l'Assistenza Utente del **cobas**[®] 4800 System.

REQUISITI PER LA MANIPOLAZIONE E LA CONSERVAZIONE

A. **Non congelare i reagenti.**

- B. Conservare a 2-8°C il kit di preparazione dei campioni (**MGP**, **EB**), il kit di preparazione di citologia liquida (**PK**, **SDS**, **LYS**), il kit di amplificazione/rilevazione CT/NG (**CT/NG MMX**, **CT/NG Mn**) e il kit di controlli CT/NG (**CT/NG (+) C**, **(-) C** e **CT/NG IC**). Questi reagenti sono stabili fino alla data di scadenza indicata.
- C. Conservare a 15-25°C il kit del buffer di lavaggio (**WB**) e il kit di diluente di controllo (**CDIL**). Questi reagenti sono stabili fino alla data di scadenza indicata.

MATERIALI FORNITI

A. cobas® 4800 System Sample Preparation Kit Kit di preparazione dei campioni per il sistema cobas® 4800 (P/N: 05235782190) MGP (Biglie magnetiche per il sistema cobas® 4800) EB (Buffer di eluizione per il sistema cobas® 4800)	c4800 SMPL PREP	240 test
B. cobas® 4800 System Sample Preparation Kit Kit di preparazione dei campioni per il sistema cobas® 4800 (P/N: 05235804190) MGP (Biglie magnetiche per il sistema cobas® 4800) EB (Buffer di eluizione per il sistema cobas® 4800)	c4800 SMPL PREP	960 test
C. cobas® 4800 System Wash Buffer Kit Kit del buffer di lavaggio per il sistema cobas® 4800 (P/N: 05235863190) WB (Buffer di lavaggio per il sistema cobas® 4800)	c4800 WB	240 test
D. cobas® 4800 System Wash Buffer Kit Kit del buffer di lavaggio per il sistema cobas® 4800 (P/N: 05235871190) WB (Buffer di lavaggio per il sistema cobas® 4800)	c4800 WB	960 test
E. cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit Kit di preparazione di citologia liquida per il sistema cobas® 4800 (P/N: 05235812190) PK (Proteinasi K cobas® 4800) SDS (Reagente SDS per il sistema cobas® 4800) LYS (Buffer di lisi per il sistema cobas® 4800)	c4800 LIQ CYT	240 test
F. cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit Kit di preparazione di citologia liquida per il sistema cobas® 4800 (P/N: 05235839190) PK (Proteinasi K cobas® 4800) SDS (Reagente SDS per il sistema cobas® 4800) LYS (Buffer di lisi per il sistema cobas® 4800)	c4800 LIQ CYT	960 test
G. cobas® 4800 CT/NG Amplification/Detection Kit Kit di amplificazione/rilevazione CT/NG per il sistema cobas® 4800 (P/N: 05235952190) CT/NG MMX (Master Mix per il test cobas® 4800 CT/NG) CT/NG Mn (Soluzione di manganese per il test cobas® 4800 CT/NG)	c4800 CT/NG AMP/DET	240 test
H. cobas® 4800 CT/NG Amplification/Detection Kit Kit di amplificazione/rilevazione CT/NG per il sistema cobas® 4800 (P/N: 05235979190) CT/NG MMX (Master Mix per il test cobas® 4800 CT/NG) CT/NG Mn (Soluzione di manganese per il test cobas® 4800 CT/NG)	c4800 CT/NG AMP/DET	960 test
I. cobas® 4800 System Control Diluent Kit Kit di diluente di controllo per il sistema cobas® 4800 (P/N: 05235847190) CDIL (Diluente di controllo del sistema cobas® 4800)	c4800 CDIL	10 set

J. cobas® 4800 CT/NG Controls Kit
Kit di controlli per il sistema **cobas® 4800 CT/NG**
(P/N: 05235928190)

c4800 CT/NG CTL5

10 set

CT/NG (+) C

(Controllo Positivo **cobas® 4800 CT/NG**)

(-) C

(Controllo Negativo per il sistema **cobas® 4800**)

CT/NG IC

(Controllo Interno **cobas® 4800 CT/NG**)

MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Manipolazione di campioni e reagenti

- **cobas®** PCR Media Uni Swab Sample Kit (Roche P/N 07958030190)
- **cobas®** PCR Media Dual Swab Sample Kit (Roche P/N 07958021190)
- **cobas®** PCR Media Disposable Tube Stand Kit (Roche P/N 07958064190) (opzionale)
- **cobas®** PCR Urine Sample Kit (Roche P/N 05170486190)
- Puntali CO-RE, 1000 µl, rack da 96 (Roche P/N 04639642001 o Hamilton P/N 235905)
- Vaschetta per reagenti da 50 ml (Roche P/N 05232732001)
- Vaschetta per reagenti da 200 ml (Roche P/N 05232759001)
- Piastra di estrazione (a pozzetti profondi) per il sistema **cobas® 4800** (Roche P/N 05232716001)
- Piastra per PCR (micropozzetti) da 0,3 ml e pellicola adesiva per il sistema **cobas® 4800** (Roche P/N 05232724001)
- Sacchetto per rifiuti solidi [Roche P/N 05530873001 (piccolo) o 04691989001 (grande)]
- Manica di smaltimento in plastica Hamilton STAR (Roche P/N 04639669001)
- Provette da 13 ml a fondo tondo (Roche P/N 07958048190) da usare come contenitori per campioni secondari
- Tappi, colore neutro (Roche P/N 07958056190) per ritappare dopo l'analisi i campioni contenuti nelle provette da 13 ml a fondo tondo
- Guanti monouso, senza talco

Strumentazione e software

- Strumento **cobas x 480**
- Analizzatore **cobas z 480**
- Unità di controllo del sistema **cobas® 4800** con software di sistema versione 2.2 o successiva
- Software di sistema **cobas® 4800** con **cobas® CT/NG AP** versione 2.0.0 o successiva

MATERIALI E STRUMENTI OPZIONALI

- Pipette: capaci di erogare 1000 µl
- Puntali privi di DNasi con barriera antiaerosol: capaci di erogare 1000 µl
- Centrifuga dotata di cestello basculante con RCF minimo di 1500
- Piastra magnetica indipendente (Roche P/N 05440777001)
- Miscelatore vortex (monoprovetta)
- Miscelatore vortex multiprovetta [ad esempio, VWR P/N 58816-116]

PRELIEVO, TRASPORTO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

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

A. Prelievo dei campioni

Tamponi endocervicali e vaginali raccolti con **cobas®** PCR Media Dual Swab Sample Kit e **cobas®** PCR Media Uni Swab Sample Kit, campioni maschili e femminili di urina raccolti con **cobas®** PCR Urine Sample Kit e campioni cervicali raccolti in PreservCyt® Solution sono stati validati per l'uso con il test **cobas® 4800 CT/NG**. Attenersi alle istruzioni del produttore per la raccolta dei tamponi endocervicali e vaginali rispettivamente con **cobas®** PCR Media Dual Swab Sample Kit e **cobas®** PCR Media Uni Swab Sample Kit e dei campioni di urina con **cobas®** PCR Urine Sample Kit. Attenersi alle istruzioni del produttore per la raccolta dei campioni cervicali in PreservCyt® Solution.

B. Trasporto dei campioni

Tamponi endocervicali e vaginali raccolti con **cobas®** PCR Media Dual Swab Sample Kit e **cobas®** PCR Media Uni Swab Sample Kit, campioni maschili e femminili di urina raccolti con **cobas®** PCR Urine Sample Kit e campioni cervicali raccolti in PreservCyt® Solution possono essere trasportati a 2-30°C. Il trasporto dei campioni CT/NG in terreno **cobas®** PCR Media e in PreservCyt® Solution deve avvenire nel rispetto delle leggi locali, regionali, nazionali e comunitarie per il trasporto degli agenti eziologici.²⁵

C. Conservazione dei campioni

Tamponi endocervicali e vaginali raccolti con **cobas®** PCR Media Dual Swab Sample Kit e **cobas®** PCR Media Uni Swab Sample Kit e campioni maschili e femminili di urina raccolti con **cobas®** PCR Urine Sample Kit possono essere conservati a 2-30°C per un massimo di 12 mesi dopo essere stati stabilizzati in **cobas®** PCR Media. I campioni cervicali raccolti in PreservCyt® Solution possono essere conservati a 2-30°C per un massimo di 12 mesi.

ISTRUZIONI PER L'USO

NOTA: tutti i reagenti, ad eccezione di CT/NG MMX e CT/NG Mn, devono raggiungere la temperatura ambiente prima di poter essere caricati sullo strumento cobas x 480. I reagenti CT/NG MMX e CT/NG Mn dovranno essere prelevati direttamente dal luogo in cui sono conservati a 2-8°C e dovranno raggiungere la temperatura ambiente direttamente sullo strumento cobas x 480 prima dell'uso.

NOTA: i campioni raccolti in terreno cobas® PCR Media e in PreservCyt® Solution devono essere equilibrati a temperatura ambiente per almeno 30 minuti prima di essere caricati sullo strumento cobas® x 480.

NOTA: se è necessario trasferire i campioni dalle provette di prelievo primarie contenenti cobas® PCR Media ai tubi secondari provvisti di codice a barre valido, utilizzare pipettatori con barriera antiaerosol o puntali a spostamento positivo. Prestare la massima attenzione per evitare contaminazioni.

NOTA: per istruzioni operative dettagliate, consultare l'Assistenza Utente del cobas® 4800 System.

Dimensioni della seduta:

Il sistema cobas® 4800 supporta l'esecuzione del test cobas® 4800 CT/NG con sedute costituite da un minimo di 1 e un massimo di 94 campioni, più i controlli (massimo 96 test per seduta). Ogni confezione di cobas® 4800 System Sample Preparation Kit, cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit e cobas® 4800 System Wash Buffer Kit contiene reagenti sufficienti per 10 sedute costituite da 24 test (240 test per kit) o da 96 test (960 test per kit). La confezione di cobas® 4800 CT/NG Amplification/Detection Kit contiene reagenti sufficienti per eseguire 10 sedute da 24 test (240 test per kit) o da 96 test (960 test per kit). È possibile utilizzare più kit di test da 240 per ottimizzare l'uso dei reagenti per 48 o 72 test. Le confezioni di cobas® 4800 System Control Diluent Kit e cobas® 4800 CT/NG Controls Kit contengono reagenti sufficienti per eseguire 10 sedute (10 set per kit) in totale. La dimensione minima di una seduta sul sistema cobas® 4800 è di 1 campione più i controlli. Per eseguire ogni seduta di analisi occorrono: un controllo negativo cobas® 4800 System Negative Control [(-) C] e un controllo positivo cobas® 4800 CT/NG Positive Control [CT/NG (+) C] (vedere la sezione "Controllo di qualità").

Flusso di lavoro

NOTA: sebbene non rappresenti un uso ottimale dei reagenti, è possibile utilizzare un System Sample Preparation 960 Test Kit per una seduta composta da 24 campioni e un CT/NG Amplification/Detection 960 Test Kit per una seduta composta da 24, 48 o 72 campioni.

È possibile eseguire il test cobas® 4800 CT/NG scegliendo uno dei due flussi di lavoro disponibili nel software cobas® 4800: "Full workflow" o "Recovery workflow".

Flusso di lavoro completo per CT/NG (Full Workflow):

Il flusso di lavoro completo per CT/NG (Full Workflow) prevede la preparazione dei campioni sullo strumento cobas x 480 e, a seguire, l'amplificazione/rilevazione sull'analizzatore cobas z 480. Per ulteriori informazioni fare riferimento alla sezione "Esecuzione di un flusso di lavoro completo", più avanti, e all'Assistenza Utente del cobas® 4800 System.

Flusso di lavoro di recupero per CT/NG (Recovery Workflow):

Il flusso di lavoro di recupero per CT/NG (Recovery Workflow) prevede l'allestimento manuale della piastra per PCR utilizzando l'eluato ottenuto dalla piastra a pozzetti profondi processata e, a seguire, l'amplificazione/rilevazione sull'analizzatore cobas z 480. Per ulteriori informazioni fare riferimento alla sezione "Esecuzione di un flusso di lavoro di recupero", più avanti, e all'Assistenza Utente del cobas® 4800 System.

Campioni

I tipi di campioni elencati di seguito sono stati approvati per l'uso con il test cobas® 4800 CT/NG: a) campioni su tamponi endocervicali in terreno di trasporto cobas® PCR Media (tamponi), b) campioni su tamponi vaginali prelevati dal medico o autoprelevati seguendo le indicazioni del medico, in terreno di trasporto cobas® PCR Media (tamponi), c) campioni di urina maschili e femminili stabilizzati in terreno di trasporto cobas® PCR Media (urina) e d) campioni cervicali raccolti in PreservCyt® Solution (PC). Raccogliere i campioni di tamponi endocervicali, tamponi vaginali e urina nei contenitori con il terreno di trasporto cobas® PCR Media, dotati di codice a barre valido, oppure nelle provette da 13 ml a fondo tondo, dotate di codice a barre valido, per poterli trattare sullo strumento cobas x 480. Raccogliere i campioni cervicali in un contenitore primario con PreservCyt® Solution, dotato di codice a barre valido, o nelle provette da 13 ml a fondo tondo, dotate di codice a barre valido, per poterli trattare sullo strumento cobas x 480. Fare riferimento all'Assistenza Utente del cobas® 4800 System per conoscere le corrette procedure per i codici a barre e consultare un elenco dei codici a barre supportati dal cobas® 4800 System.

Campioni su tamponi endocervicali e tamponi vaginali:

NOTA: i kit di reagenti necessari per il trattamento dei campioni su tamponi endocervicali e vaginali con lo strumento cobas x 480 sono cobas® 4800 System Sample Preparation Kit, cobas® 4800 System Control Diluent Kit, cobas® 4800 System Wash Buffer Kit, cobas® 4800 CT/NG Amplification/Detection Kit e cobas® 4800 CT/NG Controls Kit.

NOTA: utilizzare esclusivamente cobas® PCR Media Dual Swab Sample Kit o cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit per la raccolta dei tamponi endocervicali e vaginali da sottoporre al test cobas® 4800 CT/NG. Il test cobas® 4800 CT/NG non è stato valutato con altri dispositivi per il prelievo dei campioni o altri tipi di terreno di trasporto.

NOTA: per prevenire la contaminazione crociata dei campioni trattati, dopo il trattamento è necessario ritappare i campioni utilizzando altri tappi per provette cobas® PCR Media di un colore alternativo (neutro, vedere "Materiali necessari ma non forniti").

NOTA: i campioni endocervicali e vaginali che contengono un solo tampone nella provetta di cobas® PCR Media, possono essere trattati direttamente sul cobas® 4800 System. Se necessario, è possibile rimuovere il tampone prima di caricare la provetta campione sullo strumento (per istruzioni dettagliate, fare riferimento all'Assistenza Utente del cobas® 4800 System).

NOTA: un campione endocervicale o vaginale prelevato correttamente avrà un solo tampone con l'asticella spezzata in corrispondenza del segno di demarcazione. Le asticelle dei tamponi che sono spezzate al di sopra del segno di demarcazione sono più lunghe del normale e potrebbero piegarsi per entrare nella provetta di cobas® PCR Media e ostruire così il sistema, provocando la perdita dei risultati dei test. Se un tampone ha un'asticella spezzata in modo errato, rimuovere il tampone prima di avviare il trattamento dei campioni sullo strumento cobas x 480.

NOTA: se le provette primarie che arrivano in laboratorio non contengono nessun tampone o ne contengono due, significa che i campioni endocervicali e vaginali non sono stati raccolti rispettando le istruzioni fornite nel cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit o nel cobas® PCR Media Dual Swab Sample Kit, pertanto non dovrebbero essere analizzati.

NOTA: non analizzare i campioni su tamponi endocervicali e vaginali contenenti tracce di sangue o di colore marrone scuro.

NOTA: talvolta i campioni su tamponi endocervicali o vaginali stabilizzati inviati al laboratorio possono contenere una quantità eccessiva di muco, che potrebbe causare errori di pipettamento (ad esempio, per un coagulo o un'ostruzione) sullo strumento cobas x 480. 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.

NOTA: i campioni su tamponi endocervicali e vaginali possono essere analizzati due volte sullo strumento cobas x 480 mentre il tampone è all'interno della provetta di 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), il tampone dovrà essere rimosso e il fluido restante dovrà avere un volume minimo di 1,0 ml.

È possibile stappare la provetta di cobas® PCR Media che contiene il tampone al suo interno e caricarla direttamente sullo strumento cobas x 480 oppure, in alternativa, è possibile trasferire un'aliquota di almeno 1,0 ml di campione in una provetta da 13 ml a fondo tondo, dotata di codice a barre valido, quindi caricare la provetta sullo strumento cobas x 480.

NOTA: prestare attenzione durante il trasferimento dei campioni dai contenitori primari ai tubi da 13 ml a fondo tondo. Miscelare i campioni primari prima di trasferirli. Sostituire i puntali delle pipette per ogni campione.

Campioni di urina maschili e femminili

NOTA: i kit di reagenti necessari per il trattamento dei campioni di urina con lo strumento cobas x 480 sono cobas® 4800 System Sample Preparation Kit, cobas® 4800 System Control Diluent Kit, cobas® 4800 System Wash Buffer Kit, cobas® 4800 CT/NG Amplification/Detection Kit e cobas® 4800 CT/NG Controls Kit.

NOTA: per la raccolta dei campioni di urina da utilizzare per il test cobas® 4800 CT/NG, utilizzare esclusivamente cobas® PCR Urine Sample Kit. Il test cobas® 4800 CT/NG non è stato valutato con altri dispositivi di raccolta dei campioni di urina o con altri tipi di terreno di trasporto.

NOTA: per prevenire la contaminazione crociata dei campioni trattati, dopo il trattamento è necessario ritappare i campioni utilizzando altri tappi per provette cobas® PCR Media di un colore alternativo (neutro, vedere "Materiali necessari ma non forniti").

NOTA: per i campioni di urina non analizzati, il livello di liquido della superficie deve essere compreso tra le due linee nere visibili sulla finestrella della provetta cobas® PCR Media. Se il livello di liquido è superiore o inferiore a queste linee, significa che il campione non è stato raccolto correttamente e non può essere utilizzato per il test.

NOTA: non analizzare i campioni di urina che contengono tracce di sangue o di colore marrone scuro.

È possibile stappare la provetta cobas® PCR Media contenente il campione di urina e caricarla direttamente sullo strumento cobas x 480 oppure, in alternativa, è possibile trasferire un'aliquota di almeno 1,5 ml di campione in una provetta da 13 ml a fondo tondo, dotata di codice a barre valido, e quindi caricare la provetta sullo strumento cobas x 480.

NOTA: prestare attenzione durante il trasferimento dei campioni dai contenitori primari ai tubi da 13 ml a fondo tondo. Miscelare i campioni primari prima di trasferirli. Sostituire i puntali delle pipette per ogni campione.

In un'unica seduta è possibile includere qualsiasi combinazione di campioni (endocervicali, vaginali e di urina) e sottoporre ogni campione al solo test CT, al solo test NG o ad entrambi i test CT e NG.

Campioni cervicali:

NOTA: i kit di reagenti necessari per il trattamento dei campioni cervicali con lo strumento cobas x 480 sono cobas® 4800 System Sample Preparation Kit, cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit, cobas® 4800 System Wash Buffer Kit, cobas® 4800 CT/NG Amplification/Detection Kit e cobas® 4800 CT/NG Controls Kit.

NOTA: il test cobas® 4800 CT/NG è approvato per l'uso con campioni cervicali raccolti in PreservCyt® Solution. Il test cobas® 4800 CT/NG non è stato valutato per l'uso con campioni cervicali raccolti in altri tipi di terreno. L'uso del test cobas® 4800 CT/NG con altri tipi di terreno potrebbe causare risultati falsi negativi, falsi positivi e/o non validi.

NOTA: il sistema cobas® 4800 è in grado di analizzare i campioni cervicali sia nei contenitori primari che nei contenitori secondari. Per aliquotare i campioni dai contenitori primari ai tubi da 13 ml a fondo tondo con codice a barre valido e analizzarli sullo strumento cobas x 480, utilizzare pipettatori con puntali dotati di barriera anti-aerosol o a spostamento positivo per trasferire i campioni. Per prevenire la contaminazione crociata, è necessario ritappare i campioni dopo il trattamento utilizzando altri tappi di colore alternativo per queste provette (neutro, vedere "Materiali necessari ma non forniti").

NOTA: prestare attenzione durante il trasferimento dei campioni dai contenitori primari ai tubi da 13 ml a fondo tondo. Miscelare i campioni primari in vortex prima di trasferirli. Sostituire i puntali delle pipette dopo ogni campione.

NOTA: non analizzare i campioni raccolti in PreservCyt® Solution se contengono tracce di sangue o sono di colore marrone scuro.

Nel caso dei campioni cervicali, il volume minimo richiesto per i contenitori primari con PreservCyt® Solution è di 3,0 ml. Quando si utilizzano provette secondarie da 13 ml a fondo tondo, il volume minimo è di 1,0 ml e il volume massimo è di 10 ml.

In una stessa seduta per campioni cervicali è possibile includere una combinazione qualsiasi di rack per contenitori primari o secondari e per ogni campione è possibile eseguire solo il test CT, solo il test NG o entrambi i test CT e NG.

NOTA: non è possibile analizzare nella stessa seduta i campioni cervicali insieme a campioni endocervicali, vaginali o di urina. Per ottimizzare l'uso dei reagenti, in ogni seduta analizzare batch di 22 test per campioni cervicali (più un controllo negativo del sistema cobas® 4800 System e un controllo positivo cobas® 4800 CT/NG) utilizzando il kit da 240 test oppure batch di 94 test per campioni cervicali (più un controllo negativo del sistema cobas® 4800 e un controllo positivo cobas® 4800 CT/NG) utilizzando il kit da 960 test.

Flussi di lavoro

Esecuzione di un flusso di lavoro completo

- A. Il test cobas® 4800 CT/NG può essere utilizzato per sedute costituite da 1-94 campioni più un controllo negativo del sistema cobas® 4800 e un controllo positivo cobas® 4800 CT/NG.
- B. Eseguire l'avvio del sistema e le procedure di manutenzione seguendo le istruzioni contenute nell'Assistenza Utente del cobas® 4800 System.
- C. Avviare una nuova seduta facendo clic sul pulsante "New run".
- D. Nella finestra "Select test" selezionare il tipo di flusso di lavoro "Full" e il test "CT/NG".
- E. Specificare il nome della seduta o accettare il nome predefinito, quindi fare clic su "OK" per proseguire.
- F. Seguire la procedura guidata per caricare i campioni.

NOTA: è possibile caricare i campioni endocervicali, vaginali e di urina in provette primarie o secondarie provviste di codice a barre seguendo qualsiasi ordine.

NOTA: nella stessa seduta è possibile analizzare i campioni cervicali in PreservCyt® Solution sia nei rack per contenitori di campioni primari, sia nelle provette secondarie. Se per l'analisi si utilizzano i flaconi PreservCyt, miscelare ogni flacone in vortex prima di caricarlo.

- G. Selezionare un tipo per ogni campione.
 - Scegliere "Swab" per analizzare campioni raccolti su tampone endocervicale o tampone vaginale.
 - Scegliere "Urine" per analizzare campioni di urina.
 - Scegliere "PC" per analizzare campioni raccolti in PreservCyt.
- H. Selezionare il risultato richiesto per ogni campione.
 - Come risultato richiesto scegliere "CT/NG" per ottenere i risultati sia per il test CT che per il test NG.
 - Come risultato richiesto scegliere "CT" per ottenere soltanto i risultati per il test CT.
 - Come risultato richiesto scegliere "NG" per ottenere soltanto i risultati per il test NG.
- I. Seguire la procedura guidata per caricare tutto il materiale di consumo.
- J. Seguire la procedura guidata per caricare tutti i reagenti.

NOTA: i controlli [CT/NG (+) C, CT/NG IC e (-) C] non vengono caricati insieme ai campioni, bensì vengono caricati sul rack per reagenti durante il caricamento dei reagenti. Due posizioni (A1 e B1) sia sulla piastra di estrazione che sulla piastra per PCR sono riservate rispettivamente ai controlli CT/NG (+) e (-).

NOTA: il sistema cobas® 4800 ha un orologio interno che calcola il tempo di permanenza dei reagenti sullo strumento. Dopo la scansione del buffer di lavaggio (WB), è necessario completare la fase di caricamento e fare clic sul pulsante "Start" entro 1 ora. Nella scheda "Workplace" compare un cronometro del tempo residuo. Il sistema impedisce l'avvio di una seduta se il tempo è scaduto.

NOTA: per garantire un trasferimento accurato delle biglie magnetiche (MGP), miscelare in vortex o agitare vigorosamente il flacone delle biglie magnetiche prima di versarlo nella vaschetta per reagenti.

- K. Caricare i reagenti per la preparazione dei campioni (WB, MGP, EB, SDS e LYS) nelle vaschette per reagenti provviste di codice a barre utilizzando il metodo "scan-scan-pour-place":
 - "Scan": scansionare il codice a barre dei flaconi di reagente.
 - "Scan": scansionare il codice a barre delle vaschette per reagenti.
 - "Pour": versare il reagente nella vaschetta.
 - "Place": posizionare la vaschetta piena sul rack per reagenti.
- L. Le vaschette per reagenti sono disponibili in due formati: 200 ml e 50 ml. Seguire la procedura guidata per selezionare la vaschetta per reagenti del formato appropriato. Il codice a barre delle vaschette per reagenti deve essere rivolto verso il lato destro del rack.

NOTA: i reagenti di amplificazione/rilevazione (CT/NG MMX e CT/NG Mn), i controlli [CT/NG (+) C, CT/NG IC e (-) C] e il diluente dei controlli (CDIL) vengono caricati direttamente sul rack per reagenti e il loro codice a barre viene acquisito automaticamente dallo strumento cobas x 480.

NOTA: tutti i reagenti e tutte le vaschette per reagenti sono monouso e sono provvisti di codice a barre. Il software cobas® 4800 tiene traccia dell'uso dei reagenti e delle vaschette e rifiuta i reagenti e le vaschette già utilizzati. Inoltre il software verifica che i reagenti caricati sullo strumento siano sufficienti.

NOTA: il software cobas® 4800 tiene traccia della data di scadenza di tutti i reagenti. I reagenti che hanno superato la data di scadenza non saranno accettati per l'uso sul sistema cobas® 4800.

- M. Avviare la preparazione dei campioni facendo clic su "Start Run".

- N. Al termine della preparazione dei campioni**, fare clic su "Unload" per scaricare il rack per piastre.

** A questo punto è possibile verificare lo stato di preparazione dei campioni prima di fare clic su "Unload". Consultare l'Assistenza Utente del cobas® 4800 System.

O. Seguire le istruzioni contenute nell'Assistenza Utente del **cobas**[®] 4800 System per sigillare la piastra per PCR, trasferirla sull'analizzatore **cobas z** 480 e avviare la seduta di amplificazione e rilevazione.

NOTA: il cobas[®] 4800 System ha un orologio interno che conta il tempo trascorso dall'aggiunta dei campioni preparati nella soluzione di lavoro Master Mix. L'amplificazione e la rilevazione devono iniziare il prima possibile e comunque entro e non oltre 90 minuti dalla fine della seduta sul cobas x 480 instrument. Nella scheda "Workplace" viene visualizzato un cronometro del tempo residuo. Il sistema annullerà la seduta allo scadere del tempo.

P. Al termine della seduta di amplificazione e rilevazione, rimuovere la piastra per PCR dall'analizzatore **cobas z** 480.

Q. Seguire le istruzioni contenute nell'Assistenza Utente del **cobas**[®] 4800 System per rivedere e accettare i risultati.

Esecuzione di un flusso di lavoro di recupero:

NOTA: il flusso di lavoro di recupero è disponibile come opzione di emergenza qualora non sia possibile eseguire un flusso di lavoro completo per circostanze al di fuori del controllo dell'utente (ad esempio, un'interruzione della corrente durante una seduta di amplificazione/rilevazione).

NOTA: in una seduta di recupero possono essere amplificati/rilevati soltanto i campioni che sono stati preparati correttamente sullo strumento cobas x 480. Il monitoraggio dei reagenti e del materiale di consumo è limitato durante la seduta di recupero. Poiché la posizione dei campioni non viene registrata durante la seduta di recupero, l'utente dovrà verificare che ogni campione nella piastra per PCR occupi effettivamente la posizione assegnata dal file Recovery Plate Layout Report Work Order. Durante la preparazione della piastra per PCR, prestare la massima attenzione per garantire un allestimento corretto e prevenire eventuali contaminazioni.

NOTA: i campioni processati sullo strumento cobas x 480 hanno una stabilità limitata. Devono essere sottoposti ad amplificazione/rilevazione con il flusso di lavoro di recupero entro 24 ore, se conservati tra 2°C e 30°C.

A. Avviare una seduta di recupero facendo clic sul pulsante "New run".

B. Nella finestra "Select test" selezionare il tipo di flusso di lavoro "Recovery" e il test "CT/NG".

C. Specificare il nome della seduta o accettare il nome predefinito, quindi fare clic su "OK" per proseguire.

D. Selezionare una seduta da recuperare.

E. Se si utilizza il software CT/NG AP versione 2.1 o successiva, eseguire la scansione dell'ID della piastra di preparazione dal flusso di lavoro completo.

F. Specificare il ID della nuova piastra per PCR.

G. Specificare gli ID relativi a Master Mix e **CT/NG Mn** per tutti i flaconi dei reagenti di amplificazione/rilevazione contenuti nel kit.

H. Preparare la soluzione di lavoro Master Mix per il test **cobas**[®] 4800 CT/NG:

1. Per un kit da 240 test, aggiungere 240 µl di **CT/NG Mn** in un flacone di **CT/NG MMX** (flacone da 0,5 ml nel kit da 240 test).

2. Per un kit da 960 test, aggiungere 450 µl di **CT/NG Mn** in ciascuno dei due flaconi di **CT/NG MMX** (flaconi da 1,0 ml nel kit da 960 test).

NOTA: le sedute di recupero devono essere avviate entro 90 minuti dall'aggiunta di CT/NG Mn alla soluzione CT/NG MMX. Nel flusso di lavoro di recupero, il sistema non tiene conto del tempo trascorso dopo l'aggiunta dei campioni preparati alla soluzione di lavoro Master Mix. L'utente finale deve quindi assicurarsi che l'amplificazione e la rilevazione abbiano inizio entro il tempo stabilito.

I. Miscelare con cura la soluzione di lavoro Master Mix capovolgendo il flacone. Non miscelare in vortex la soluzione di lavoro Master Mix.

J. Trasferire 25 µl di soluzione di lavoro Master Mix nei pozzetti appropriati della piastra per PCR.

K. Posizionare la piastra di estrazione della seduta da ripetere sulla piastra magnetica indipendente.

L. Trasferire manualmente 25 µl di eluato dai pozzetti della piastra di estrazione ai pozzetti corrispondenti della piastra per PCR. Accertarsi che le posizioni dei pozzetti siano le stesse (ad esempio, l'eluato nel pozzetto A1 della piastra di estrazione deve essere trasferito nel pozzetto A1 della piastra per PCR). Evitare il trascinarsi (carryover) delle biglie magnetiche (MGP) sulla piastra per PCR.

M. Seguire le istruzioni contenute nell'Assistenza Utente del **cobas**[®] 4800 System per sigillare la piastra per PCR.

N. Centrifugare la piastra per PCR su un rotore con cestello basculante per almeno 5 secondi a 1500 RCF.

O. Trasportare la piastra sull'analizzatore **cobas z** 480 e avviare la seduta di amplificazione e rilevazione.

P. Al termine della seduta di amplificazione e rilevazione, rimuovere la piastra per PCR dall'analizzatore **cobas z** 480.

Q. Seguire le istruzioni contenute nell'Assistenza Utente del **cobas**[®] 4800 System per rivedere e accettare i risultati.

Interpretazione dei risultati

NOTA: la validazione dei saggi e delle sedute è determinata dal software **cobas[®] 4800.**

NOTA: una seduta valida può includere sia risultati validi che risultati non validi.

Nel caso di una seduta valida, i risultati dei campioni vengono interpretati nel modo illustrato nella Tabella 1:

Tabella 1
Interpretazione dei risultati del test cobas® 4800 CT/NG

cobas® 4800 CT/NG Test	Risultato e interpretazione
Risultato richiesto "CT/NG":	
POS CT, POS NG	CT positivo, NG positivo. Il campione è positivo per la presenza dei DNA di CT e NG.
NEG CT, NEG NG	CT negativo*, NG negativo*. I DNA di CT e NG, se presenti, non sono stati rilevati.
POS CT, NEG NG	CT positivo, NG negativo*. Il campione è positivo per la presenza di DNA di CT. Il DNA di NG, se presente, non è stato rilevato.
POS CT, Invalid NG	CT positivo, NG non valido. Il campione è positivo per la presenza di DNA di CT. Il risultato per NG non è valido. Il campione originale deve essere analizzato di nuovo, ma non più di due volte, per ottenere risultati validi per NG. Se i risultati continuano a non essere validi, è opportuno reperire un nuovo campione.
NEG CT, POS NG	CT negativo*, NG positivo. Il DNA di CT, se presente, non è stato rilevato. Il campione è positivo per la presenza di DNA di NG.
Invalid CT, POS NG	CT non valido, NG positivo. Il risultato per CT non è valido. Il campione originale deve essere analizzato di nuovo, ma non più di due volte, per ottenere risultati validi per CT. Se i risultati continuano a non essere validi, è opportuno reperire un nuovo campione. Il campione è positivo per la presenza di DNA di NG.
Invalid CT, NEG NG	CT non valido, NG negativo*. Il risultato per CT non è valido. Il campione originale deve essere analizzato di nuovo, ma non più di due volte, per ottenere risultati validi per CT. Se i risultati continuano a non essere validi, è opportuno reperire un nuovo campione. Il DNA di NG, se presente, non è stato rilevato.
NEG CT, Invalid NG	CT negativo*, NG non valido. Il DNA di CT, se presente, non è stato rilevato. Il risultato per NG non è valido. Il campione originale deve essere analizzato di nuovo, ma non più di due volte, per ottenere risultati validi per NG. Se i risultati continuano a non essere validi, è opportuno reperire un nuovo campione.
Invalid	CT non valido, NG non valido. I risultati non sono validi né per CT, né per NG. Il campione originale deve essere analizzato di nuovo, ma non più di due volte, per ottenere risultati validi per CT e NG. Se i risultati continuano a non essere validi, è opportuno reperire un nuovo campione.
Failed	Nessun risultato per il campione Consultare l'Assistenza Utente del cobas® 4800 System per istruzioni sull'interpretazione dei flag e le azioni consigliate.
Risultato richiesto "CT":	
POS CT	CT positivo. Il campione è positivo per la presenza di DNA di CT.
NEG CT	CT negativo*. Il DNA di CT, se presente, non è stato rilevato.
Invalid	CT non valido. Il risultato per CT non è valido. Il campione originale deve essere analizzato di nuovo, ma non più di due volte, per ottenere risultati validi per CT. Se i risultati continuano a non essere validi, è opportuno reperire un nuovo campione.
Failed	Nessun risultato per il campione Consultare l'Assistenza Utente del cobas® 4800 System per istruzioni sull'interpretazione dei flag e le azioni consigliate. È necessario ripetere il test sul campione di origine per ottenere risultati validi per CT.

cobas® 4800 CT/NG Test	Risultato e interpretazione
Risultato richiesto "NG":	
POS NG	NG positivo. Il campione è positivo per la presenza di DNA di NG.
NEG NG	NG negativo*. Il DNA di NG, se presente, non è stato rilevato.
Invalid	NG non valido. Il risultato per NG non è valido. Il campione originale deve essere analizzato di nuovo, ma non più di due volte, per ottenere risultati validi per NG. Se i risultati continuano a non essere validi, è opportuno reperire un nuovo campione.
Failed	Nessun risultato per il campione Consultare l'Assistenza Utente del cobas® 4800 System per istruzioni sull'interpretazione dei flag e le azioni consigliate. È necessario ripetere il test sul campione di origine per ottenere risultati validi per NG.

* Un risultato negativo non preclude la presenza di un'infezione da CT e/o NG, dal momento che i risultati dipendono dalla precisione del prelievo del campione, dall'assenza di inibitori e dalla quantità di DNA rilevabile.

ELENCO DEI FLAG DEI RISULTATI

La tabella seguente riporta gli avvisi (flag) rilevanti ai fini dell'interpretazione dei risultati.

Tabella 2
Elenco di flag per il test cobas® 4800 CT/NG

Codice flag	Descrizione	Azione consigliata
R20	Il controllo positivo non è valido.	I valori del controllo positivo non sono validi. 1. Ripetere l'intera seduta utilizzando reagenti nuovi. 2. Se il problema persiste, contattare l'assistenza tecnica Roche.
R21	Il controllo negativo non è valido.	I valori del controllo negativo non sono validi. Per evitare il carryover, seguire le buone pratiche di laboratorio. 1. Ripetere l'intera seduta utilizzando reagenti nuovi. 2. Se il problema persiste, contattare l'assistenza tecnica Roche.
X3	Errore: rilevato coagulo. Il campione non è stato analizzato.	Verificare che i campioni siano stati manipolati conformemente alla descrizione del flusso di lavoro. 1. Verificare se il campione contiene coaguli. 2. Se è presente un dispositivo per il prelievo, rimuoverlo dalla provetta. Ritappare e miscelare in vortex. 3. Ripetere l'analisi del campione.
X4	Errore: errore di pipettamento. Il campione non è stato analizzato.	La causa più probabile è che il volume del campione è insufficiente oppure si è verificato un errore meccanico durante il pipettamento. 1. Verificare che il volume del campione sia sufficiente. 2. Se è presente un dispositivo per il prelievo, rimuoverlo dalla provetta. 3. Verificare che la piastra di espulsione puntali sia nella posizione corretta. 4. Ripetere l'analisi del campione.

CONTROLLO DI QUALITÀ

In ogni seduta viene incluso un set di controlli positivi e negativi per il test **cobas® 4800 CT/NG**. Ogni seduta deve generare risultati validi sia per il controllo positivo che per il controllo negativo, affinché il software **cobas® 4800** possa visualizzare i risultati del test **cobas® 4800 CT/NG** ottenuti dalla seduta.

Controllo Positivo

Il risultato del controllo CT/NG (+) deve essere "Valid". Se i risultati del controllo positivo CT/NG (+) sono costantemente non validi, rivolgersi all'ufficio Roche locale per richiedere assistenza tecnica.

Controllo Negativo

Il risultato del controllo (-) deve essere "Valid". Se i risultati del controllo (-) sono costantemente non validi, rivolgersi all'ufficio Roche locale per richiedere assistenza tecnica.

PRECAUZIONI PROCEDURALI

Per qualsiasi procedura di analisi è importante eseguire i test attenendosi alla buona prassi di laboratorio. Data l'elevata sensibilità analitica di questo test, prestare attenzione per evitare la contaminazione di reagenti e miscele di amplificazione.

LIMITAZIONI PROCEDURALI

1. Analizzare soltanto i tipi di campioni indicati. Il test **cobas**[®] 4800 CT/NG è stato validato soltanto per l'uso con campioni su tamponi endocervicali femminili o su tamponi vaginali prelevati dal medico o autoprelevati seguendo le indicazioni del medico raccolti in **cobas**[®] PCR Media (UT), con campioni maschili e femminili di urina stabilizzati in **cobas**[®] PCR Media (UUT) e con campioni cervicali raccolti in PreservCyt[®] Solution (PC).
2. Con riferimento alle sostanze interferenti, tenere presente quanto segue:
 - Il muco presente nei campioni endocervicali e cervicali potrebbe inibire la PCR e causare risultati falsi negativi. Per un rendimento ottimale del test, è richiesto l'uso di campioni privi di muco. Prima di prelevare il campione, rimuovere le perdite e le secrezioni cervicali con una spugna o un altro tampone.
 - I campioni di urina stabilizzati in **cobas**[®] PCR Media che contengono più dello 0,35% (v/v) di sangue possono generare risultati falsi negativi.
 - Non sono state riscontrate interferenze con i campioni su tamponi endocervicali, con i campioni su tamponi vaginali e con i campioni cervicali contenenti fino al 5% (v/v) ciascuno di sangue intero. A livelli superiori al 5% (v/v) non è escluso che il sangue intero possa generare risultati non validi o falsi negativi.
 - Tutti i campioni (tamponi endocervicali femminili, tamponi vaginali e urina) stabilizzati in **cobas**[®] PCR Media e contenenti più di 1×10^5 cellule PBMC/ml e i campioni cervicali contenenti più di 1×10^7 cellule PBMC/ml possono generare risultati non validi o falsi negativi.
 - I campioni di urina prelevati dalle pazienti che hanno fatto uso di un umidificatore vaginale della linea di prodotti da banco Replens[®] possono generare risultati non validi o falsi negativi.
 - I campioni di urina prelevati dalle pazienti che hanno fatto uso dei prodotti da banco RepHresh[™] Odor Eliminating Vaginal Gel e RepHresh[™] Clean Balance possono generare risultati non validi o falsi negativi.
3. La rilevazione dei batteri *C. trachomatis* e *N. gonorrhoeae* dipende dal numero di organismi presenti nel campione e può essere condizionata dai metodi di prelievo dei campioni, da fattori legati al paziente (ad esempio età, storia di malattie sessualmente trasmesse e presenza di sintomi), dallo stadio dell'infezione e/o dai ceppi di *C. trachomatis* e di *N. gonorrhoeae* all'origine dell'infezione.
4. Un'altra causa di risultati falsi negativi potrebbe essere l'inibizione della polimerasi. Il Controllo Interno CT/NG è incluso nel test **cobas**[®] 4800 CT/NG per contribuire all'identificazione dei campioni che contengono sostanze potenzialmente interferenti con l'isolamento degli acidi nucleici e con l'amplificazione PCR.
5. La prevalenza delle infezioni in una popolazione potrebbe condizionare il rendimento del test. I valori predittivi positivi tendono a diminuire quando si sottopongono al test popolazioni con una prevalenza particolarmente bassa, oppure individui che sono considerati al riparo dal rischio di infezione. Poiché la prevalenza della *C. trachomatis* e della *N. gonorrhoeae* potrebbe essere bassa in alcune popolazioni o in alcuni gruppi di pazienti, la percentuale di falsi positivi potrebbe superare la reale percentuale di casi positivi, tanto da abbassare considerevolmente il valore predittivo di un test positivo. Poiché alcuni pazienti che hanno contratto realmente l'infezione non possono essere identificati eseguendo il test su un unico campione, la reale percentuale di falsi positivi non può essere determinata o desunta dai soli dati clinici. La percentuale di falsi positivi può variare da un laboratorio all'altro in base all'esperienza e alla competenza dell'operatore, in base alla modalità di manipolazione dei reagenti e dei campioni e in base ad altri fattori.
6. L'affidabilità dei risultati dipende dall'adeguatezza delle procedure di prelievo, trasporto, conservazione e trattamento dei campioni. Seguire le procedure descritte in questo foglio illustrativo, nei fogli illustrativi dei kit per il prelievo **cobas**[®] PCR Media e nell'Assistenza Utente del **cobas**[®] 4800 System.
7. Sebbene l'aggiunta dell'enzima AmpErase alla soluzione Master Mix per il test **cobas**[®] 4800 CT/NG garantisca l'amplificazione selettiva del DNA target, è necessario evitare la contaminazione dei reagenti attenendosi scrupolosamente alla buona prassi di laboratorio e alle procedure descritte nel presente foglio illustrativo.
8. Questo prodotto deve essere utilizzato solo da personale adeguatamente addestrato nelle tecniche PCR e nell'uso del sistema **cobas**[®] 4800.
9. Soltanto lo strumento **cobas x** 480 e l'analizzatore **cobas z** 480 sono stati validati per l'uso con questo prodotto. Non è possibile utilizzare altri strumenti per la preparazione dei campioni o sistemi PCR con questo prodotto.
10. A causa delle differenze intrinseche tra le tecnologie, è consigliabile che gli utenti, prima di passare da una tecnologia a un'altra, svolgano studi sulla correlazione tra i metodi nei propri laboratori allo scopo di qualificare tali differenze. Non è dunque prevedibile una concordanza percentuale del 100% tra i risultati, proprio a causa delle differenze descritte tra le tecnologie.
11. Il test **cobas**[®] 4800 CT/NG non è idoneo all'uso per la valutazione di sospetti abusi sessuali né per altre perizie medico-legali.
12. Il test **cobas**[®] 4800 CT/NG produce risultati di tipo qualitativo. Non è possibile trarre una correlazione tra il valore del Ct ottenuto con un test **cobas**[®] 4800 CT/NG positivo e il numero di cellule di *C. trachomatis* e *N. gonorrhoeae* presenti nel campione infetto.
13. È consigliabile eseguire il test **cobas**[®] 4800 CT/NG su campioni maschili e femminili del primo mitto urinario (cioè sul primo getto di urina, tra 10 e 50 ml). Non sono stati studiati gli effetti di altre variabili, come l'uso del primo mitto rispetto al mitto intermedio, il prelievo dopo un lavaggio e così via.
14. Un prelievo improprio dei campioni su tamponi endocervicali può determinare la presenza di una quantità eccessiva di muco nei campioni, con la conseguente formazione di coaguli nel sistema **cobas**[®] 4800. Se questo problema è ricorrente, provare a disperdere il muco in eccesso agitando i campioni dei tamponi endocervicali in vortex prima di caricarli sullo strumento **cobas x** 480. Agitare i campioni in vortex per 30 secondi a una velocità di 1.700 – 1.800 RPM. Per una maggiore efficacia, utilizzare un agitatore vortex multiprovetta [vedere la sezione "Materiali e strumenti opzionali"].
15. Non sono stati studiati gli effetti di altre potenziali variabili, ad esempio perdite vaginali, uso di tamponi, lavande vaginali e altri fattori inerenti il prelievo dei campioni.

16. Il test **cobas**[®] 4800 CT/NG non può essere utilizzato al posto dell'esame della cervice e del campionamento endocervicale per la diagnosi di infezioni urogenitali. Vi sono pazienti che contraggono cervicitì, uretriti, infezioni del tratto urinario (UTI) o infezioni vaginali per altre cause o per infezioni concomitanti dovute ad altri agenti.
17. È possibile che eventuali mutazioni, seppure rare, all'interno delle regioni altamente conservate del DNA plasmide criptico o genomico della *C. trachomatis* o del DNA genomico della *N. gonorrhoeae* interessate dai primer e/o dalle sonde del test **cobas**[®] 4800 CT/NG provochino la mancata identificazione del batterio in questa circostanza.
18. La presenza di inibitori della PCR potrebbe causare risultati non validi o falsi negativi.

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Studi correlazionali

Studio correlazionale con campioni su tamponi endocervicali e con campioni maschili e femminili di urina

Le prestazioni del test **cobas**[®] 4800 CT/NG e dei test comparativi con marchio CE sono state confrontate attraverso l'analisi di campioni su tamponi endocervicali e di campioni di urina (maschili e femminili) prelevati sia da pazienti infetti da CT e/o NG, sia da pazienti sani. Tutti i campioni su tamponi endocervicali sono stati co-prelevati utilizzando **cobas**[®] PCR Female Swab Sample Kit per il test **cobas**[®] 4800 CT/NG e i kit di prelievo specifici dei test comparativi. I campioni sono stati raccolti in Europa e in Nord America e analizzati negli Stati Uniti e nei Paesi Bassi.

Sono stati analizzati in totale 1.318 campioni di urina con il test **cobas**[®] 4800 CT/NG successivamente allo svolgimento di test standard di cura in laboratorio con i test comparativi. 37 campioni sono stati eliminati dall'analisi. Trenta campioni sono stati etichettati erroneamente durante i test NAT 1, due campioni non hanno superato il test **cobas**[®] 4800 CT/NG per la presenza di coaguli generati durante il trattamento dei campioni e cinque campioni sono stati interessati da inibizione ripetuta (quattro campioni ripetutamente non validi con il test NAT 1 e 1 campione ripetutamente non valido con il test **cobas**[®] 4800 CT/NG). In totale 656 campioni su tamponi endocervicali co-prelevati sono stati analizzati con il test **cobas**[®] 4800 CT/NG e con i test comparativi. In totale 1 solo campione è stato scartato dall'analisi perché interessato da inibizione ripetuta per il test NAT 1. Tutti i risultati sono riportati nelle Tabelle 3-11, comprese le percentuali di concordanza per i campioni positivi, negativi e totali, insieme ai rispettivi limiti inferiori (LI) dell'intervallo di confidenza al 95%.

I risultati per i test della *Chlamydia trachomatis* nei campioni di urina sono riportati nelle Tabelle 3-5. La percentuale di concordanza positiva per tutti i campioni di urina è stata del 100,0%. La percentuale di concordanza negativa per tutti i campioni di urina è stata del 99,7% e la percentuale di concordanza totale (Tabella 3) per tutti i campioni di urina è stata del 99,7% tra il test **cobas**[®] 4800 CT/NG e il test comparativo. Quando i risultati dei campioni di urina sono stati separati in base al genere (Tabelle 4 e 5), la percentuale di concordanza positiva è stata del 100,0% per i campioni maschili e del 100,0% per i campioni femminili [metodo esatto di Fisher (valore $p \sim 1,0$)], la percentuale di concordanza negativa è stata del 99,8% per i campioni maschili e del 99,4% per i campioni femminili [metodo esatto di Fisher (valore $p = 0,9668$)] e la percentuale di concordanza totale è stata del 99,9% per i campioni maschili e del 99,5% per i campioni femminili [metodo esatto di Fisher (valore $p = 0,9683$)]. Il metodo esatto di Fisher non rivela differenze statisticamente rilevanti nella correlazione tra i due metodi analitici rispetto ai campioni di urina maschili, femminili e totali.

I risultati per i test della *Chlamydia trachomatis* nei campioni su tamponi endocervicali sono riportati nella Tabella 6. La percentuale di concordanza positiva per i campioni su tamponi endocervicali è stata del 96,2%. La percentuale di concordanza negativa per i campioni su tamponi endocervicali è stata del 100,0% e la percentuale di concordanza totale per i campioni su tamponi endocervicali è stata del 99,5% tra il test **cobas**[®] 4800 CT/NG e il test comparativo.

I risultati per i test della *Neisseria gonorrhoeae* nei campioni di urina sono riportati nelle Tabelle 7-9. La percentuale di concordanza positiva per tutti i campioni di urina è stata del 100,0%. La percentuale di concordanza negativa per tutti i campioni di urina è stata del 99,8% e la percentuale di concordanza totale (Tabella 7) per tutti i campioni di urina è stata del 99,8% tra il test **cobas**[®] 4800 CT/NG e il test comparativo. Quando i risultati dei campioni di urina sono stati separati in base al genere (Tabelle 8 e 9), la percentuale di concordanza positiva è stata del 100,0% per i campioni maschili e del 100,0% per i campioni femminili [metodo esatto di Fisher (valore $p \sim 1,0$)], la percentuale di concordanza negativa è stata del 99,9% per i campioni di urina maschili e del 99,8% per i campioni di urina femminili [metodo esatto di Fisher (valore $p = 1,0$)] e la percentuale di concordanza totale è stata del 99,9% per i campioni di urina maschili e del 99,8% per i campioni di urina femminili [metodo esatto di Fisher (valore $p = 1,0$)]. Il metodo esatto di Fisher non rivela differenze statisticamente rilevanti nella correlazione tra i due metodi analitici rispetto ai campioni di urina maschili, femminili e totali.

Il test della *Neisseria gonorrhoeae* con campioni su tamponi endocervicali è stato confrontato con due test comparativi con marchio CE (NAT 1 e NAT 2) e i risultati sono riportati nelle Tabelle 10 e 11. Dal confronto con il test NAT 1 è risultata una percentuale di concordanza positiva del 100,0% per i campioni su tamponi endocervicali. La percentuale di concordanza negativa per i campioni su tamponi endocervicali è stata del 99,3% e la percentuale di concordanza totale è stata del 99,3% tra il test **cobas**[®] 4800 CT/NG e il test comparativo NAT 1. Dal confronto con il test NAT 2 è risultata una percentuale di concordanza positiva del 100,0% per i campioni su tamponi endocervicali. La percentuale di concordanza negativa per i campioni su tamponi endocervicali è stata del 100,0% e la percentuale di concordanza totale è stata del 100,0% tra il test **cobas**[®] 4800 CT/NG e il test comparativo NAT 2.

Tabella 3
Riepilogo dei risultati del test cobas® 4800 CT/NG per CT a confronto con un test comparativo con marchio CE (NAT 1)
per campioni di urina da donatori sani e infetti da CT

Urina totale N = 1281		Test comparativo (NAT 1)		
		Positivo	Negativo	Totale
Test cobas ® 4800 CT/NG	Positivo	115	4*	119
	Negativo	0	1162	1162
	Totale	115	1166	1281

Concordanza positiva = $115/115 = 100,0\%$ (LI IC 95%[§] = 97%)

Concordanza negativa = $1162/1166 = 99,7\%$ (LI IC 95%[§] = 99%)

Concordanza totale = $1277/1281 = 99,7\%$ (LI IC 95%[§] = 99%)

*I successivi risultati dell'amplificazione CT indicano che 2 dei 4 campioni di urina discrepanti erano positivi.

§Limite inferiore (LI) dell'intervallo di confidenza (IC) al 95%

Tabella 4
Riepilogo dei risultati del test cobas® 4800 CT/NG per CT a confronto con un test comparativo con marchio CE (NAT 1)
per campioni di urina da donatori maschi sani e infetti da CT

Urina maschile N = 700		Test comparativo (NAT 1)		
		Positivo	Negativo	Totale
Test cobas ® 4800 CT/NG	Positivo	70	1*	71
	Negativo	0	629	629
	Totale	70	630	700

Concordanza positiva = $70/70 = 100,0\%$ (LI IC 95%[§] = 95%)

Concordanza negativa = $629/630 = 99,8\%$ (LI IC 95%[§] = 99%)

Concordanza totale = $699/700 = 99,9\%$ (LI IC 95%[§] = 99%)

*Il campione discrepante si è confermato discrepante anche dopo ulteriori test.

§Limite inferiore (LI) dell'intervallo di confidenza (IC) al 95%

Tabella 5
Riepilogo dei risultati del test cobas® 4800 CT/NG per CT a confronto con un test comparativo con marchio CE (NAT 1)
per campioni di urina da donatrici sane e infette da CT

Urina femminile N = 581		Test comparativo (NAT 1)		
		Positivo	Negativo	Totale
Test cobas ® 4800 CT/NG	Positivo	45	3*	48
	Negativo	0	533	533
	Totale	45	536	581

Concordanza positiva = $45/45 = 100,0\%$ (LI IC 95%[§] = 92%)

Concordanza negativa = $533/536 = 99,4\%$ (LI IC 95%[§] = 98%)

Concordanza totale = $578/581 = 99,5\%$ (LI IC 95%[§] = 99%)

*I successivi risultati dell'amplificazione CT indicano che 2 dei 3 campioni femminili di urina discrepanti erano positivi.

§Limite inferiore (LI) dell'intervallo di confidenza (IC) al 95%

Tabella 6
Riepilogo dei risultati del test cobas® 4800 CT/NG per CT a confronto con un test comparativo con marchio CE (NAT 1)
per campioni su tamponi endocervicali da donatrici sane e infette da CT

Tampone endocervicale N = 399		Test comparativo (NAT 1)		
		Positivo	Negativo	Totale
Test cobas ® 4800 CT/NG	Positivo	50	0	50
	Negativo	2*	347	349
	Totale	52	347	399

Concordanza positiva = $50/52 = 96,2\%$ (LI IC 95%[§] = 87%)

Concordanza negativa = $347/347 = 100,0\%$ (LI IC 95%[§] = 99%)

Concordanza totale = $397/399 = 99,5\%$ (LI IC 95%[§] = 98%)

*Tutti i campioni discrepanti si sono confermati discrepanti anche dopo ulteriori test.

§Limite inferiore (LI) dell'intervallo di confidenza (IC) al 95%

Tabella 7
Riepilogo dei risultati del test cobas® 4800 CT/NG per NG a confronto con un test comparativo con marchio CE (NAT 1) per campioni di urina di pazienti sani e infetti da NG

Urina totale N = 1281		Test comparativo (NAT 1)		
		Positivo	Negativo	Totale
Test cobas ® 4800 CT/NG	Positivo	46	2*	48
	Negativo	0	1233	1233
	Totale	46	1235	1281

Concordanza positiva = 46/46 = 100,0% (LI IC 95%[§] = 92%)

Concordanza negativa = 1233/1235 = 99,8% (LI IC 95%[§] = 99%)

Concordanza totale = 1279/1281 = 99,8% (LI IC 95%[§] = 99%)

*Tutti i campioni discrepanti si sono confermati discrepanti anche dopo ulteriori test.

§Limite inferiore (LI) dell'intervallo di confidenza (IC) al 95%

Tabella 8
Riepilogo dei risultati del test cobas® 4800 CT/NG per NG a confronto con un test comparativo con marchio CE (NAT 1) per campioni di urina da donatori maschi sani e infetti da NG

Urina maschile N = 700		Test comparativo (NAT 1)		
		Positivo	Negativo	Totale
Test cobas ® 4800 CT/NG	Positivo	30	1*	31
	Negativo	0	669	669
	Totale	30	670	700

Concordanza positiva = 30/30 = 100,0% (LI IC 95%[§] = 88%)

Concordanza negativa = 669/670 = 99,9% (LI IC 95%[§] = 99%)

Concordanza totale = 699/700 = 99,9% (LI IC 95%[§] = 99%)

*Il campione discrepante si è confermato discrepante anche dopo ulteriori test.

§Limite inferiore (LI) dell'intervallo di confidenza (IC) al 95%

Tabella 9
Riepilogo dei risultati del test cobas® 4800 CT/NG per NG a confronto con un test comparativo con marchio CE (NAT 1) per campioni di urina da donatrici sane e infette da NG

Urina femminile N = 581		Test comparativo (NAT 1)		
		Positivo	Negativo	Totale
Test cobas ® 4800 CT/NG	Positivo	16	1*	17
	Negativo	0	564	564
	Totale	16	565	581

Concordanza positiva = 16/16 = 100,0% (LI IC 95%[§] = 79%)

Concordanza negativa = 564/565 = 99,8% (LI IC 95%[§] = 99%)

Concordanza totale = 580/581 = 99,8% (LI IC 95%[§] = 99%)

*Il campione discrepante si è confermato discrepante anche dopo ulteriori test.

§Limite inferiore (LI) dell'intervallo di confidenza (IC) al 95%

Tabella 10
Riepilogo dei risultati del test cobas® 4800 CT/NG per NG a confronto con un test comparativo con marchio CE (NAT 1) per campioni su tamponi endocervicali da pazienti sane e infette da NG

Tamponi endocervicali N = 445		Test comparativo (NAT 1)		
		Positivo	Negativo	Totale
Test cobas ® 4800 CT/NG	Positivo	15	3*	18
	Negativo	0	427	427
	Totale	15	430	445

Concordanza positiva = 15/15 = 100,0% (LI IC 95%[§] = 78%)

Concordanza negativa = 427/430 = 99,3% (LI IC 95%[§] = 98%)

Concordanza totale = 442/445 = 99,3% (LI IC 95%[§] = 98%)

*I successivi risultati dell'amplificazione NG indicano che 2 dei 3 campioni su tamponi endocervicali discrepanti erano positivi.

§Limite inferiore (LI) dell'intervallo di confidenza (IC) al 95%

Tabella 11
Riepilogo dei risultati del test cobas® 4800 CT/NG per NG a confronto con un test comparativo con marchio CE (NAT 2)
per campioni su tamponi endocervicali da pazienti sane e infette da NG

Tampone endocervicale N = 210		Test comparativo (NAT 2)		
		Positivo	Negativo	Totale
Test cobas ® 4800 CT/NG	Positivo	11	0	11
	Negativo	0	199	199
	Totale	11	199	210

Concordanza positiva = 11/11 = 100,0% (LI IC 95%[§] = 72%)

Concordanza negativa = 199/199 = 100,0% (LI IC 95%[§] = 98%)

Concordanza totale = 210/210 = 100,0% (LI IC 95%[§] = 98%)

[§]Limite inferiore (LI) dell'intervallo di confidenza (IC) al 95%

Studio correlazionale con campioni su tamponi vaginali e campioni cervicali raccolti in PreservCyt® Solution

I campioni su tamponi vaginali prelevati da medici e autoprelevati con il **cobas**® PCR Female Swab Sample Kit e i campioni in soluzione PreservCyt sono stati raccolti tra donatrici sintomatiche e asintomatiche visitate presso i reparti di ostetricia e ginecologia, le cliniche per malattie sessualmente trasmesse e i consultori familiari di 12 centri geograficamente diversificati negli Stati Uniti. Oltre ai campioni vaginali e in soluzione PreservCyt, ogni donatrice ha fornito 3 campioni su tamponi endocervicali prelevati con **cobas**® PCR Female Swab Sample Kit e con due dispositivi di prelievo di riferimento NAAT (Nucleic Acid Amplification Test). Uno di questi test NAAT è stato usato inoltre per la valutazione dei campioni in soluzione PreservCyt. Tutti i tipi di campioni sono stati analizzati con il test **cobas**® 4800 CT/NG.

Le prestazioni dei campioni su tamponi vaginali e dei campioni in PreservCyt® Solution sono basate sul numero totale di risultati del test **cobas**® 4800 CT/NG con questi tipi di campioni rispetto alle prestazioni ottenute dal test **cobas**® 4800 CT/NG con campioni su tamponi endocervicali precedentemente approvati con marchio CE. I risultati dei due test di riferimento NAAT con i campioni su tamponi endocervicali e con i campioni in PreservCyt® Solution sono stati usati per risolvere i campioni vaginali e PreservCyt discrepanti nello studio correlazionale.

In totale 3.238 donatrici hanno fornito i campioni su tamponi vaginali prelevati dai medici o autoprelevati e i campioni su tamponi endocervicali che sono stati analizzati con il test **cobas**® 4800 CT/NG. Sessantacinque campioni (28 tamponi endocervicali, 37 tamponi vaginali) sono stati scartati dall'analisi per volume insufficiente, coaguli generati durante il trattamento dei campioni o altri errori di sistema non conosciuti. Non sono stati osservati risultati non validi nell'analisi. In totale le donatrici coinvolte nell'analisi sono state complessivamente 3.173¹. I risultati dei test per la *Chlamydia trachomatis* e per la *Neisseria gonorrhoeae* con tutti i campioni su tamponi vaginali sono riportati rispettivamente nelle Tabelle 12 e 13. Nel caso della *Chlamydia trachomatis*, la percentuale di concordanza positiva per tutti i campioni vaginali è stata del 94,6%. La percentuale di concordanza negativa per tutti i campioni vaginali è stata del 99,6% e la percentuale di concordanza totale (Tabella 12) per tutti i campioni vaginali è stata del 99,3% a confronto con i risultati dei campioni su tamponi endocervicali analizzati con il test **cobas**® 4800 CT/NG. Nel caso della *Neisseria gonorrhoeae*, la percentuale di concordanza positiva per tutti i campioni vaginali è stata del 97,7%. La percentuale di concordanza negativa per tutti i campioni vaginali è stata del 99,9% e la percentuale di concordanza totale (Tabella 13) per tutti i campioni vaginali è stata del 99,9% a confronto con i risultati dei campioni su tamponi endocervicali analizzati con il test **cobas**® 4800 CT/NG.

I campioni in PreservCyt sono stati analizzati usando un'aliquota di 1 ml in provette secondarie prima del trattamento citologico (pre-quot) e usando il contenitore originale del campione primario in PreservCyt dopo il trattamento citologico (post-quot). I risultati dei test pre-quot e post-quot con i campioni in PreservCyt sono stati confrontati ai risultati dei test con i campioni su tamponi endocervicali prelevati dalle stesse donatrici e analizzati con il test **cobas**® 4800 CT/NG. In totale 3.235 donatrici hanno fornito i campioni pre-quot in PreservCyt e i campioni su tamponi endocervicali. Ottanta campioni (29 tamponi endocervicali, 51 campioni pre-quot in PreservCyt) sono stati scartati dall'analisi per volume insufficiente, coaguli generati durante il trattamento dei campioni o altri errori di sistema non conosciuti, riducendo quindi il totale a 3.155 donatrici. Non sono stati osservati risultati non validi nell'analisi. Per i test post-quot, in totale 3.228 donatrici hanno fornito i campioni post-quot in PreservCyt e i campioni su tamponi endocervicali. Novantasette campioni (28 tamponi endocervicali, 69 campioni post-quot in PreservCyt) sono stati scartati dall'analisi per volume insufficiente, coaguli generati durante il trattamento dei campioni o altri errori di sistema non conosciuti, riducendo quindi il totale a 3.131 donatrici. Non sono stati osservati risultati non validi nell'analisi.

I risultati dei test per la *Chlamydia trachomatis* e per la *Neisseria gonorrhoeae* con i campioni pre-quot in PreservCyt sono riportati rispettivamente nelle Tabelle 14 e 15. Nel caso della *Chlamydia trachomatis*, la percentuale di concordanza positiva per i campioni pre-quot in PreservCyt è stata del 95,2%. La percentuale di concordanza negativa per tutti i campioni pre-quot in PreservCyt è stata del 99,5% e la percentuale di concordanza totale (Tabella 14) per tutti i campioni pre-quot in PreservCyt è stata del 99,3% a confronto con i risultati dei campioni su tamponi endocervicali analizzati con il test **cobas**® 4800 CT/NG. Nel caso della *Neisseria gonorrhoeae*, la percentuale di concordanza positiva per tutti i campioni pre-quot in PreservCyt è stata del 95,6%. La percentuale di concordanza negativa per tutti i campioni pre-quot in PreservCyt è stata del 99,9% e la percentuale di concordanza totale (Tabella 15) per tutti i campioni pre-quot in PreservCyt è stata del 99,8% a confronto con i risultati dei campioni su tamponi endocervicali analizzati con il test **cobas**® 4800 CT/NG. I risultati dei test per la *Chlamydia trachomatis* e per la *Neisseria gonorrhoeae* con i campioni post-quot in PreservCyt sono riportati rispettivamente nelle Tabelle 16 e 17.

Nel caso della *Chlamydia trachomatis*, la percentuale di concordanza positiva per i campioni post-quot in PreservCyt è stata del 94,5%. La percentuale di concordanza negativa per tutti i campioni post-quot in PreservCyt è stata del 99,7% e la percentuale di concordanza totale (Tabella 16) per tutti i campioni post-quot in PreservCyt è stata del 99,5% a confronto con i risultati dei campioni su tamponi endocervicali analizzati con il test **cobas**® 4800 CT/NG. Nel caso della *Neisseria gonorrhoeae*, la percentuale di concordanza positiva per

¹ Dei 3.173 campioni su tamponi vaginali analizzati, il 51,4% era stato prelevato da un medico e il 48,6% era stato autoprelevato dalle pazienti.

tutti i campioni post-quot in PreservCyt è stata del 95,6%. La percentuale di concordanza negativa per tutti i campioni post-quot in PreservCyt è stata del 99,9% e la percentuale di concordanza totale (Tabella 17) per tutti i campioni post-quot in PreservCyt è stata del 99,9% a confronto con i risultati dei campioni su tamponi endocervicali analizzati con il test **cobas**[®] 4800 CT/NG. Tutti i risultati sono riportati nelle Tabelle 12-17, compresi i valori relativi al limite inferiore (LI) dell'intervallo di confidenza (IC) al 95%.

I risultati ottenuti dai campioni su tamponi endocervicali eseguendo i test di riferimento NAAT1 e NAAT2 sono stati usati per l'analisi di risoluzione dei campioni vaginali. Un risultato positivo di un campione su tampone endocervicale ottenuto con uno dei due test di riferimento è stato considerato indicativo di un vero risultato positivo per il campione su tampone vaginale discrepante.

I risultati ottenuti dai campioni su tamponi endocervicali eseguendo il test di riferimento NAAT1 e i risultati ottenuti dai campioni su tamponi endocervicali e dai campioni in PreservCyt eseguendo il test di riferimento NAAT2 sono stati usati per l'analisi di risoluzione dei campioni in PreservCyt (pre-quot e post-quot). Almeno due risultati positivi sui tre possibili ottenuti con i test NAAT1 e NAAT2 sono stati considerati indicativi di un vero risultato positivo per il campione in PreservCyt (pre-quot o post-quot) discrepante.

Tabella 12
Riepilogo dei risultati del test cobas[®] 4800 CT/NG per CT in un confronto tra campioni su tamponi vaginali e campioni su tamponi endocervicali da donatrici sane e infette da CT

Test cobas [®] 4800 CT/NG Infezione da CT N = 3173		Tampone endocervicale		
		Positivo	Negativo	Totale
Tampone vaginale	Positivo	158	13**	171
	Negativo	9*	2993	3002
	Totale	167	3006	3173

Concordanza positiva = $158/167 = 94,6\%$ (LI IC 95%[§] = 90%)

Concordanza negativa = $2993/3006 = 99,6\%$ (LI IC 95%[§] = 99%)

Concordanza totale = $3151/3173 = 99,3\%$ (LI IC 95%[§] = 99%)

*La risoluzione dei risultati discrepanti tramite i test NAAT1 e NAAT2 indica che 6 risultati su 9 sono veri positivi

**La risoluzione dei risultati discrepanti tramite i test NAAT1 e NAAT2 indica che 8 risultati su 13 sono veri positivi

§Limite inferiore (LI) dell'intervallo di confidenza (IC) al 95%

Tabella 13
Riepilogo dei risultati del test cobas[®] 4800 CT/NG per NG in un confronto tra campioni su tamponi vaginali e campioni su tamponi endocervicali da donatrici sane e infette da NG

Test cobas [®] 4800 CT/NG Infezione da NG N = 3173		Tampone endocervicale		
		Positivo	Negativo	Totale
Tampone vaginale	Positivo	42	2**	44
	Negativo	1*	3128	3129
	Totale	43	3130	3173

Concordanza positiva = $42/43 = 97,7\%$ (LI IC 95%[§] = 88%)

Concordanza negativa = $3128/3130 = 99,9\%$ (LI IC 95%[§] = 99%)

Concordanza totale = $3170/3173 = 99,9\%$ (LI IC 95%[§] = 99%)

*La risoluzione del risultato discrepante tramite i test NAAT1 e NAAT2 indica un vero positivo

**La risoluzione dei risultati discrepanti tramite i test NAAT1 e NAAT2 indica che 1 risultato su 2 è un vero positivo

§Limite inferiore (LI) dell'intervallo di confidenza (IC) al 95%

Tabella 14
Riepilogo dei risultati del test cobas[®] 4800 CT/NG per CT in un confronto tra campioni (pre-quot) in PreservCyt e campioni su tamponi endocervicali da donatrici sane e infette da CT

Test cobas [®] 4800 CT/NG Infezione da CT N = 3155		Tampone endocervicale		
		Positivo	Negativo	Totale
PreservCyt (pre-quot)	Positivo	159	15**	174
	Negativo	8*	2973	2981
	Totale	167	2988	3155

Concordanza positiva = $159/167 = 95,2\%$ (LI IC 95%[§] = 91%)

Concordanza negativa = $2973/2988 = 99,5\%$ (LI IC 95%[§] = 99%)

Concordanza totale = $3132/3155 = 99,3\%$ (LI IC 95%[§] = 99%)

*La risoluzione dei risultati discrepanti tramite i test NAAT1 e NAAT2 indica che 4 risultati su 8 sono veri positivi

**La risoluzione dei risultati discrepanti tramite i test NAAT1 e NAAT2 indica che 6 risultati su 15 sono veri positivi

§Limite inferiore (LI) dell'intervallo di confidenza (IC) al 95%

Tabella 15
Riepilogo dei risultati del test cobas® 4800 CT/NG per NG in un confronto tra campioni (pre-quot) in PreservCyt e campioni su tamponi endocervicali da donatrici sane e infette da NG

Test cobas® 4800 CT/NG Infezione da NG N = 3155		Tampone endocervicale		
		Positivo	Negativo	Totale
PreservCyt (pre-quot)	Positivo	43	3**	46
	Negativo	2*	3107	3109
	Totale	45	3110	3155

Concordanza positiva = $43/45 = 95,6\%$ (LI IC 95%[§] = 85%)

Concordanza negativa = $3107/3110 = 99,9\%$ (LI IC 95%[§] = 99%)

Concordanza totale = $3150/3155 = 99,8\%$ (LI IC 95%[§] = 99%)

*La risoluzione dei risultati discrepanti tramite i test NAAT1 e NAAT2 indica che 1 risultato su 2 è un vero positivo

**La risoluzione dei risultati discrepanti tramite i test NAAT1 e NAAT2 indica che 1 risultato su 3 è un vero positivo

§Limite inferiore (LI) dell'intervallo di confidenza (IC) al 95%

Tabella 16
Riepilogo dei risultati del test cobas® 4800 CT/NG per CT in un confronto tra campioni (post-quot) in PreservCyt e campioni su tamponi endocervicali da donatrici sane e infette da CT

Test cobas® 4800 CT/NG Infezione da CT N = 3131		Tampone endocervicale		
		Positivo	Negativo	Totale
PreservCyt (post-quot)	Positivo	155	8**	163
	Negativo	9*	2959	2968
	Totale	164	2967	3131

Concordanza positiva = $155/164 = 94,5\%$ (LI IC 95%[§] = 90%)

Concordanza negativa = $2959/2967 = 99,7\%$ (LI IC 95%[§] = 99%)

Concordanza totale = $3114/3131 = 99,5\%$ (LI IC 95%[§] = 99%)

*La risoluzione dei risultati discrepanti tramite i test NAAT1 e NAAT2 indica che 6 risultati su 9 sono veri positivi

**La risoluzione dei risultati discrepanti tramite i test NAAT1 e NAAT2 indica che 2 risultati su 8 sono veri positivi

§Limite inferiore (LI) dell'intervallo di confidenza (IC) al 95%

Tabella 17
Riepilogo dei risultati del test cobas® 4800 CT/NG per NG in un confronto tra campioni (post-quot) in PreservCyt e campioni su tamponi endocervicali da donatrici sane e infette da NG

Test cobas® 4800 CT/NG Infezione da NG N = 3131		Tampone endocervicale		
		Positivo	Negativo	Totale
PreservCyt (post-quot)	Positivo	43	1**	44
	Negativo	2*	3085	3087
	Totale	45	3086	3131

Concordanza positiva = $43/45 = 95,6\%$ (LI IC 95%[§] = 85%)

Concordanza negativa = $3085/3086 = 99,9\%$ (LI IC 95%[§] = 99%)

Concordanza totale = $3128/3131 = 99,9\%$ (LI IC 95%[§] = 99%)

*La risoluzione dei risultati discrepanti tramite i test NAAT1 e NAAT2 indica che 1 risultato su 2 è un vero positivo

**La risoluzione del risultato discrepante tramite i test NAAT1 e NAAT2 indica un vero negativo

§Limite inferiore (LI) dell'intervallo di confidenza (IC) al 95%

Riproducibilità

Per il test **cobas**[®] 4800 CT/NG destinato alla rilevazione dei batteri *Chlamydia trachomatis* (CT) e *Neisseria gonorrhoeae* (NG) è stato condotto uno studio sulla riproducibilità tra lotti, laboratori, operatori, sedute e giorni utilizzando 3 pannelli di campioni (tamponi e urina) raccolti in **cobas**[®] PCR Media e in PreservCyt[®] Solution. Una seduta per **cobas**[®] PCR Media (urina oppure tampone) includeva 3 replicati di uno dei 5 membri del pannello, più 1 controllo positivo e 1 controllo negativo (17 test in totale). Una seduta per **cobas**[®] PCR Media (tutti i pannelli combinati) includeva soltanto 1 controllo positivo e 1 controllo negativo (32 test in totale). Una seduta per il pannello di campioni in PreservCyt includeva 6 replicati di uno dei 5 membri del pannello, più 1 controllo positivo e 1 controllo negativo (32 test in totale). I 2 operatori in ogni laboratorio hanno eseguito 2 sedute al giorno, per un totale di 3 giorni di analisi per operatore e per tipo di pannello (in totale 6 giorni di analisi per ogni tipo di pannello e lotto di reagenti). Per il pannello PCR Media/urina e per il pannello **cobas**[®] PCR Media/tampone i test sono stati eseguiti con 2 lotti di reagenti (6 giorni di analisi per lotto); il pannello PreservCyt è stato analizzato con un 1 lotto di reagenti.

Complessivamente sono state eseguite 74 sedute, di cui 72 sedute sono state considerate valide per i tipi di pannelli urina e tampone. Le 2 sedute non valide sono imputabili ad errori degli strumenti. Per PreservCyt sono state eseguite 36 sedute, tutte valide. In totale sono stati eseguiti 1.080 test sui 5 membri del pannello per ogni tipo di pannello nelle sedute valide. Hanno generato risultati non validi 1 test relativo al tipo di pannello urina, 2 test relativi al tipo di pannello tampone e 0 test relativi al tipo di pannello PreservCyt. Questi test non validi sono imputabili ad errori degli strumenti.

Tutti i risultati validi dei test sono stati inclusi nelle analisi che hanno prodotto la percentuale di concordanza per *C. trachomatis* e *N. gonorrhoeae* per ogni tipo di pannello individualmente. Non sono stati generati risultati falsi positivi con nessuno dei due analiti (CT e NG) per tutti i 3 tipi di pannelli per i membri negativi del pannello, pertanto per ogni analisi si è ottenuta una percentuale di concordanza negativa (negative percent agreement, NPA) del 100%.

C. trachomatis (Tabelle 18, 19, 20)

La percentuale di concordanza per i membri positivi del pannello è stata eccellente per tutti i tipi di pannelli e i membri. La percentuale di concordanza positiva (positive percent agreement, PPA) più bassa è stata del 98,1% per il membro "1 X LOD CT, NG negativo" nel tipo di pannello PreservCyt.

L'analisi delle componenti della varianza dei valori Ct dai test validi che è stata eseguita sui membri positivi del pannello ha prodotto in generale i seguenti intervalli CV (%): tra l'1,1% e l'1,5% per il tipo di pannello urina; tra l'1,6% e l'1,8% per il tipo di pannello tampone; tra l'1,7% e il 2,6% per il tipo di pannello PreservCyt.

Tabella 18
C. trachomatis: percentuale di concordanza in base al membro del pannello per lotto, laboratorio/strumento e giorno - PCR Media/Urina

Membro del pannello	Ct SD	Ct CV %	Percentuale di concordanza*								
			Lotto			Laboratorio/strumento			Giorno		
CT negativo, NG negativo	n/a	n/a	2	100,0	108/108	1	100,0	71/71	1	100,0	72/72
			3	100,0	107/107	2	100,0	72/72	2	100,0	71/71
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
1 X LOD CT, NG negativo	0,54	1,5	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
CT negativo, 1 X LOD NG	n/a	n/a	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
1 X LOD CT, 2,5 X LOD NG	0,48	1,3	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
2,5 X LOD CT, 1 X LOD NG	0,40	1,1	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72

* Per i campioni negativi, percentuale di concordanza = (numero di risultati negativi/totale risultati validi);
per i campioni positivi, percentuale di concordanza = (numero di risultati positivi/totale risultati validi)

Tabella 19
C. trachomatis: percentuale di concordanza in base al membro del pannello
per lotto, laboratorio/strumento e giorno - PCR Media/Tampone

Membro del pannello	Ct SD	Ct CV %	Percentuale di concordanza*								
			Lotto			Laboratorio/strumento			Giorno		
CT negativo, NG negativo	n/a	n/a	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
1 X LOD CT, NG negativo	0,61	1,6	2	100,0	107/107	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	71/71	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	71/71
CT negativo, 1 X LOD NG	n/a	n/a	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	107/107	2	100,0	71/71	2	100,0	71/71
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
1 X LOD CT, 2,5 X LOD NG	0,66	1,8	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
2,5 X LOD CT, 1 X LOD NG	0,59	1,6	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72

* Per i campioni negativi, percentuale di concordanza = (numero di risultati negativi/totale risultati validi);
per i campioni positivi, percentuale di concordanza = (numero di risultati positivi/totale risultati validi)

Tabella 20
C. trachomatis: percentuale di concordanza in base al membro del pannello
per lotto, laboratorio/strumento e giorno - PreservCyt

Membro del pannello	Ct SD	Ct CV %	Percentuale di concordanza*								
			Lotto			Laboratorio/strumento			Giorno		
CT negativo, NG negativo	n/a	n/a	1	100,0	216/216	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
						2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
1 X LOD CT, NG negativo	0,96	2,6	1	98,1	212/216	1	100,0	72/72	1	98,6	71/72
						2	95,8	69/72	2	97,2	70/72
						3	98,6	71/72	3	98,6	71/72
CT negativo, 1 X LOD NG	n/a	n/a	1	100,0	216/216	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
						2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
1 X LOD CT, 2,5 X LOD NG	0,86	2,4	1	99,5	215/216	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
						2	98,6	71/72	2	98,6	71/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
2,5 X LOD CT, 1 X LOD NG	0,59	1,7	1	100,0	216/216	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
						2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72

* Per i campioni negativi, percentuale di concordanza = (numero di risultati negativi/totale risultati validi);
per i campioni positivi, percentuale di concordanza = (numero di risultati positivi/totale risultati validi)

N. gonorrhoeae (Tabelle 21, 22, 23)

La percentuale di concordanza per i membri positivi del pannello è stata eccellente per tutti i tipi di pannelli e i membri. La percentuale di concordanza positiva più bassa è stata del 97,2% per il membro "CT negativo, 1 x LOD NG" nel tipo di pannello PreservCyt.

L'analisi delle componenti della varianza dei valori Ct dai test validi che è stata eseguita sui membri positivi del pannello ha prodotto in generale i seguenti intervalli CV (%): tra l'1,2% e l'1,5% per il tipo di pannello urina; tra l'1,4% e l'1,9% per il tipo di pannello tampone; tra l'1,9% e il 4,1% per il tipo di pannello PreservCyt.

Tabella 21
N. gonorrhoeae: percentuale di concordanza in base al membro del pannello per lotto, laboratorio/strumento e giorno - PCR Media/Urina

Membro del pannello	Ct SD	Ct CV %	Percentuale di concordanza ¹								
			Lotto			Laboratorio/strumento			Giorno		
CT negativo, NG negativo	n/a	n/a	2	100,0	108/108	1	100,0	71/71	1	100,0	72/72
			3	100,0	107/107	2	100,0	72/72	2	100,0	71/71
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
1 X LOD CT, NG negativo	n/a	n/a	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
CT negativo, 1 X LOD NG	0,53	1,5	2	99,1	107/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	72/72	2	98,6	71/72
						3	98,6	71/72	3	100,0	72/72
1 X LOD CT, 2,5 X LOD NG	0,41	1,2	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
2,5 X LOD CT, 1 X LOD NG	0,54	1,5	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72

¹ Per i campioni negativi, percentuale di concordanza = (numero di risultati negativi/totale risultati validi); per i campioni positivi, percentuale di concordanza = (numero di risultati positivi/totale risultati validi)

Tabella 22
N. gonorrhoeae: percentuale di concordanza in base al membro del pannello per lotto, laboratorio/strumento e giorno - PCR Media/Tampone

Membro del pannello	Ct SD	Ct CV %	Percentuale di concordanza ¹								
			Lotto			Laboratorio/strumento			Giorno		
CT negativo, NG negativo	n/a	n/a	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
1 X LOD CT, NG negativo	n/a	n/a	2	100,0	107/107	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	71/71	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	71/71
CT negativo, 1 X LOD NG	0,68	1,8	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	107/107	2	100,0	71/71	2	100,0	71/71
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
1 X LOD CT, 2,5 X LOD NG	0,49	1,4	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
2,5 X LOD CT, 1 X LOD NG	0,71	1,9	2	100,0	108/108	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			3	100,0	108/108	2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
						3	100,0	72/72	3	100,0	72/72

¹ Per i campioni negativi, percentuale di concordanza = (numero di risultati negativi/totale risultati validi); per i campioni positivi, percentuale di concordanza = (numero di risultati positivi/totale risultati validi)

Tabella 23
N. gonorrhoeae: percentuale di concordanza in base al membro del pannello per lotto, laboratorio/strumento e giorno - PreservCyt

Membro del pannello	Ct SD	Ct CV %	Percentuale di concordanza*								
			Lotto			Laboratorio/strumento			Giorno		
CT negativo, NG negativo	n/a	n/a	1	100,0	216/216	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			2			2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
			3			3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
1 X LOD CT, NG negativo	n/a	n/a	1	100,0	216/216	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			2			2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
			3			3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
CT negativo, 1 X LOD NG	0,94	2,5	1	97,2	210/216	1	100,0	72/72	1	95,8	69/72
			2			2	93,1	67/72	2	97,2	70/72
			3			3	98,6	71/72	3	98,6	71/72
1 X LOD CT, 2,5 X LOD NG	0,69	1,9	1	100,0	216/216	1	100,0	72/72	1	100,0	72/72
			2			2	100,0	72/72	2	100,0	72/72
			3			3	100,0	72/72	3	100,0	72/72
2,5 X LOD CT, 1 X LOD NG	1,52	4,1	1	98,6	213/216	1	98,6	71/72	1	98,6	71/72
			2			2	98,6	71/72	2	100,0	72/72
			3			3	98,6	71/72	3	97,2	70/72

* Per i campioni negativi, percentuale di concordanza = (numero di risultati negativi/totale risultati validi);
per i campioni positivi, percentuale di concordanza = (numero di risultati positivi/totale risultati validi)

Prestazioni analitiche

Sensibilità analitica

La sensibilità analitica del test **cobas**[®] 4800 CT/NG, definita come limite di rilevazione (Limit of Detection, LOD), è stata determinata analizzando le diluizioni di colture quantificate di *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae*. Le colture di CT e NG sono state diluite in **cobas**[®] PCR Media, nei campioni su tamponi vaginali negativi in **cobas**[®] PCR Media, nei campioni di urina negativi in **cobas**[®] PCR Media e nei campioni negativi raccolti in PreservCyt. L'obiettivo era determinare il valore LOD rispettivamente per i campioni su tamponi endocervicali, per i campioni su tamponi vaginali, per i campioni di urina e per i campioni in PreservCyt. Sono stati analizzati tutti i livelli di diluizione usando il flusso di lavoro completo del test **cobas**[®] 4800 CT/NG con 3 lotti univoci di reagenti del test **cobas**[®] 4800 CT/NG. La definizione del valore LOD per questo test è: concentrazione del target rilevabile come positiva in un numero di replicati ≥ 95% dei replicati analizzati. Dal momento che la valutazione del valore LOD viene effettuata con campioni stabilizzati in **cobas**[®] PCR Media, il valore LOD per l'urina non trattata sarà il doppio del livello riportato nella Tabella 24.

Nella Tabella 24 sono riportati i valori LOD per la coltura CT della sierovariante D e il ceppo NG 19424 in **cobas**[®] PCR Media, per i campioni su tamponi vaginali stabilizzati in **cobas**[®] PCR Media, per i campioni di urina diluiti in **cobas**[®] PCR Media e per i campioni in PreservCyt. Quando sono stati analizzati separatamente, i risultati relativi ai campioni maschili e femminili di urina sono stati equivalenti per entrambe le colture CT e NG.

Tabella 24
Limite di rilevazione (LOD) del test cobas[®] 4800 CT/NG

Tipi di campioni	<i>C. trachomatis</i>			<i>N. gonorrhoeae</i>		
	Livelli analizzati	Replicati/Livello	LOD (IFU/ml)	Livelli analizzati	Replicati/Livello	LOD (CFU/ml)
cobas [®] PCR Media (tamponi endocervicali)	7	192*	3,00	7	192*	9,00
Tamponi vaginali	5	192**	10,00	5	192**	100,00
Urina	7	192*	0,75	7	192*	2,25
PreservCyt	5	189-192**	0,60	5	189-192**	3,50

*I test includevano un livello negativo con 167-168 replicati

**I test includevano un livello negativo con 82-84 replicati

Verifica di inclusività

La sensibilità del test **cobas**[®] 4800 CT/NG è stata determinata per altre 14 sierovarianti di *Chlamydia trachomatis*, per il nuovo ceppo svedese (variante nvCT) e per altri 44 ceppi di *Neisseria gonorrhoeae* isolati in modo indipendente. I pannelli sono stati preparati con la procedura descritta per lo studio sul limite di rilevazione, con il numero di livelli dei pannelli variabili tra 1 e 5, in base alle esigenze. Sono stati analizzati almeno 49 replicati per ogni livello del pannello utilizzando un lotto di reagenti del test **cobas**[®] 4800 CT/NG. I risultati sono riportati nelle Tabelle 25 e 26. Nella Tabella 26 tutti i ceppi NG con risultati LOD identici sono stati raggruppati e inseriti nelle colonne "Numero di ceppi NG". Dal momento che la valutazione del valore LOD viene effettuata con campioni stabilizzati in **cobas**[®] PCR Media, il valore LOD per l'urina non trattata sarà il doppio del livello riportato nelle Tabelle 25 e 26.

Gli intervalli di valori relativi alla sensibilità analitica per tutte le 14 sierovarianti di CT più la variante nvCT (Tabella 25) sono stati: tra 0,2 IFU/ml e 5,0 IFU/ml in **cobas**[®] PCR Media; tra 0,13 IFU/ml e 0,75 IFU/ml in **cobas**[®] PCR Media più urina negativa; tra 0,2 IFU/ml e 2,0 IFU/ml nei campioni negativi in PreservCyt. Tutte le sierovarianti di CT e la variante nvCT sono state analizzate soltanto ad una concentrazione di 10 IFU/ml in campioni vaginali negativi stabilizzati. Tutte hanno generato tassi di successo del 100% a 10 IFU/ml (IFU = Inclusion Forming Units, unità formanti di inclusione).

Gli intervalli di valori relativi alla sensibilità analitica per tutti i 44 ceppi di NG sono stati: tra 3,0 CFU/ml e 20 CFU/ml in **cobas**[®] PCR Media; 3,75 CFU/ml in **cobas**[®] PCR Media più urina; tra 1,5 CFU/ml e 10 CFU/ml nei campioni negativi in PreservCyt. Tutti i ceppi di NG sono stati analizzati soltanto ad una concentrazione di 100 CFU/ml in campioni vaginali negativi stabilizzati. Tutti hanno generato tassi di successo del 100% a 100 CFU/ml (CFU = Colony Forming Units, unità formanti colonie).

Tabella 25
Riepilogo dei risultati della verifica di inclusività per le sierovarianti/la variante di CT

Tipo di sierovariante o variante	Risultati LOD per <i>C. trachomatis</i>							
	cobas [®] PCR Media (tamponi endocervicali)		Tamponi vaginali*		Urina		PreservCyt (Campioni cervicali)	
	IFU/ml	% pos	IFU/ml	% pos	IFU/ml	% pos	IFU/ml	% pos
A	3,0	100%	10,0	100%	0,13	98%	0,2	100%
B	3,0	100%	10,0	100%	0,75	100%	0,6	100%
Ba	3,0	100%	10,0	100%	0,75	100%	0,6	100%
C	3,0	100%	10,0	100%	0,75	100%	0,2	98%
E	3,0	100%	10,0	100%	0,75	100%	0,2	99%
F	3,0	100%	10,0	100%	0,75	100%	0,6	100%
G	3,0	100%	10,0	100%	0,75	100%	0,6	100%
H	3,0	100%	10,0	100%	0,75	100%	0,6	100%
I	3,0	100%	10,0	100%	0,75	98%	0,6	100%
J	3,0	100%	10,0	100%	0,13	96%	0,2	98%
K	3,0	100%	10,0	100%	0,75	100%	0,2	100%
LV tipo 1	0,2	100%	10,0	100%	0,13	100%	0,2	98%
LV tipo 2	0,2	96%	10,0	100%	0,13	100%	0,2	98%
LV tipo 3	3,0	100%	10,0	100%	0,13	100%	0,6	100%
nvCT	5,0	96%	10,0	100%	0,75	100%	2,0	100%

*Inclusività dei tamponi vaginali verificata soltanto al livello di concentrazione di 10 IFU/ml

Tabella 26
Riepilogo dei risultati della verifica di inclusività per i ceppi di NG

Numero di ceppi di NG	LOD cobas [®] PCR Media (tamponi endocervicali)		Numero di ceppi di NG	LOD urina	
	CFU/ml	Tasso di successo (%)		CFU/ml	Tasso di successo (%)
2	3,0	96%	3	3,75	96%
2	3,0	98%	4	3,75	98%
3	15,0	96%	37	3,75	100%
3	15,0	98%	Totale = 44		
33	15,0	100%			
1	20,0	100%			
Totale = 44					
Numero di ceppi di NG	LOD tamponi vaginali*		Numero di ceppi di NG	LOD PreservCyt	
	CFU/ml	Tasso di successo (%)		CFU/ml	Tasso di successo (%)
Totale = 44	100	100%	3	1,5	96%
			6	1,5	98%
			16	1,5	100%
			1	3,5	96%
			3	3,5	98%
			11	3,5	100%
			1	10	96%
			1	10	98%
			2	10	100%
			Totale = 44		

*Inclusività dei tamponi vaginali verificata soltanto al livello di concentrazione di 100 CFU/ml

Precisione

La precisione nell'ambito dello stesso laboratorio è stata esaminata utilizzando pannelli composti da colture di CT e NG diluite in **cobas**[®] PCR Media; in una miscela di **cobas**[®] PCR Media e urina negativa; in PreservCyt[®] Solution. Il pannello dello studio della precisione doveva includere membri con concentrazioni di CT oppure di NG approssimativamente uguali al valore LOD per la matrice del pannello, membri con concentrazioni di CT e di NG approssimativamente uguali al valore LOD e 2,5 x LOD per la matrice del pannello e un livello negativo. I test sono stati eseguiti con tre lotti distinti di reagenti del test **cobas**[®] 4800 CT/NG e tre strumenti, per un totale di 24 sedute. La Tabella 27 mostra una descrizione dei pannelli dello studio della precisione e le prestazioni dello studio (esprese in tasso di successo percentuale). Tutti i livelli del pannello positivo hanno generato i tassi di successo attesi. Tutti i livelli del pannello negativo hanno generato risultati negativi in questo studio.

Tabella 27
Analisi del tasso di successo dello studio della precisione

N. pannello	Matrice pannello	Concentr. target		N. test	N. CT pos	N. NG pos	Tasso di successo	IC 95%	
		CT	NG					Inferiore	Superiore
1	cobas [®] PCR Media	Neg	Neg	144	0	0	0%	0,0	2,5
2	cobas [®] PCR Media	1 X LOD	Neg	144	144	0	100%	97,5	100,0
3	cobas [®] PCR Media	Neg	1 X LOD	144	0	144	100%	97,5	100,0
4	cobas [®] PCR Media	1 X LOD	2,5 X LOD	144	144	144	100%	97,5	100,0
5	cobas [®] PCR Media	2,5 X LOD	1 X LOD	144	144	144	100%	97,5	100,0
1	cobas [®] PCR Media + Urina	Neg	Neg	144	0	0	0%	0,0	2,5
2	cobas [®] PCR Media + Urina	1 X LOD	Neg	144	144	0	100%	97,5	100,0
3	cobas [®] PCR Media + Urina	Neg	1 X LOD	144	0	144	100%	97,5	100,0
4	cobas [®] PCR Media + Urina	1 X LOD	2,5 X LOD	144	144	144	100%	97,5	100,0
5	cobas [®] PCR Media + Urina	2,5 X LOD	1 X LOD	144	144	144	100%	97,5	100,0
1	PreservCyt [®] Solution	Neg	Neg	144	0	0	0%	0,0	2,5
2	PreservCyt [®] Solution	1 X LOD	Neg	144	144	0	100%	97,5	100,0
3	PreservCyt [®] Solution	Neg	1 X LOD	144	0	141	97,9%	97,5	100,0
4	PreservCyt [®] Solution	1 X LOD	2,5 X LOD	144	144	144	100%	97,5	100,0
5	PreservCyt [®] Solution	2,5 X LOD	1 X LOD	144	144	143	*99,3%	96,2	99,9

*Tasso di successo del 99,3% per NG. Tasso di successo del 100% per CT.

Specificità analitica

Per valutare la specificità analitica del test **cobas**[®] 4800 CT/NG è stato analizzato un pannello costituito da 184 batteri, funghi e virus tra quelli più comunemente presenti nel tratto urogenitale femminile, nonché da esemplari di *N. cineria*, *flava*, *lactamica*, *perflava* e di *subflava* e da altri organismi non correlati filogeneticamente. Gli organismi elencati nella Tabella 28 (i microorganismi analizzati a meno di 1×10^6 copie/ml sono elencati nella Tabella 29) sono stati aggiunti a concentrazioni elevate a campioni CT/NG negativi in **cobas**[®] PCR Media; a pool di campioni vaginali negativi e a pool di campioni negativi in PreservCyt[®] Solution; a campioni CT/NG negativi in **cobas**[®] PCR Media; a pool di campioni vaginali negativi e a pool di campioni negativi in PreservCyt[®] Solution arricchiti con colture di CT e NG a concentrazioni 3 volte superiori al limite di rilevazione (3 x LOD). In base ai risultati ottenuti, nessuno di questi organismi ha interferito con la rilevazione di CT e NG o ha prodotto un risultato falso positivo nelle matrici negative di CT/NG.

Tabella 28
Test della specificità analitica per alcuni microrganismi

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

Tabella 29
Elenco di microrganismi analizzati a meno di 1×10^6 copie/ml per determinare la specificità analitica

Microorganismo analizzato	Concentrazione analizzata in matrice indicata*		
	cobas® PCR Media	Campioni vaginali negativi	Campioni in PreservCyt negativi
Adenovirus		8 x 10 ⁵ copie/ml	8 x 10 ⁵ copie/ml
Citomegalovirus (CMV)	1 x 10 ⁴ copie/ml		
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	1 x 10 ⁵ copie/ml	1,1 x 10 ⁴ copie/ml	1,1 x 10 ⁴ copie/ml
<i>Gemella morbillorum</i>		4,5 x 10 ⁴ copie/ml	4,5 x 10 ⁴ copie/ml
Virus dell'epatite C (HCV)		5,6 x 10 ⁴ copie/ml	5,6 x 10 ⁴ copie/ml
Papillomavirus umano (HPV) tipo 16 (cellule SiHa)		1 x 10 ⁴ copie/ml	1 x 10 ⁴ copie/ml
Papillomavirus umano (HPV) tipo 18 (cellule HeLa)		1 x 10 ⁴ copie/ml	1 x 10 ⁴ copie/ml
<i>Neisseria cinerea 3307</i>		4 x 10 ⁵ copie/ml	4 x 10 ⁵ copie/ml
<i>Prevotella bivia</i>		9 x 10 ⁴ copie/ml	9 x 10 ⁴ copie/ml
<i>Prevotella corporis</i>		1,4 x 10 ⁵ copie/ml	1,4 x 10 ⁵ copie/ml
<i>Treponema pallidum</i>	Nessun Test	1 x 10 ⁵ copie/ml	1 x 10 ⁵ copie/ml
<i>Trichomonas vaginalis</i>		6,5 x 10 ⁵ copie/ml	6,5 x 10 ⁵ copie/ml

*Le celle grigie indicano che la concentrazione analizzata è stata di $\geq 1 \times 10^6$ copie/ml in quella matrice

Errore generale del sistema (Whole System Failure)

Il tasso di errore generale del sistema (Whole System Failure) per il test **cobas®** 4800 CT/NG è stato determinato utilizzando **cobas®** PCR Media, **cobas®** PCR Media più urina negativa, campioni vaginali negativi (stabilizzati in **cobas®** PCR Media) e campioni in PreservCyt negativi arricchiti con colture di CT e di NG a $\sim 3 \times$ LOD per ogni target. Almeno cento replicati rappresentativi di ognuna delle matrici di cui sopra sono stati analizzati sul sistema **cobas®** 4800 con il test **cobas®** 4800 CT/NG. Sono stati ottenuti tutti risultati positivi, di conseguenza il tasso di errore generale del sistema è dello 0,0% stanti le condizioni usate per il trattamento dei campioni su tamponi endocervicali, dei campioni su tamponi vaginali, dei campioni di urina e dei campioni in PreservCyt.

Interferenze

I test dell'interferenza sono stati eseguiti utilizzando campioni su tamponi endocervicali negativi (stabilizzati in **cobas®** PCR Media), **cobas®** PCR Media più urina negativa, campioni su tamponi vaginali negativi (stabilizzati in **cobas®** PCR Media) e campioni in PreservCyt negativi arricchiti con colture di CT e di NG a $\sim 3 \times$ LOD per ogni target. Sono stati eseguiti i test dell'interferenza con diciotto (18) prodotti da banco, tra i quali gel contraccettivi, lubrificanti, spray femminili, creme antimicotiche e creme antiprurito, oltre a sangue intero, muco cervicale e cellule PBMC. Dei 18 prodotti da banco testati, solo l'umidificatore vaginale Replens® ha generato risultati non validi e/o falsi negativi con il terreno **cobas®** PCR Media più i campioni del pannello di urina negativo. I prodotti RepHresh™ Odor Eliminating Vaginal Gel e RepHresh™ Clean Balance contengono una formulazione analoga all'umidificatore vaginale Replens® e potrebbero determinare risultati non validi e/o falsi negativi nei campioni di urina. Non è stata osservata nessuna interferenza dell'umidificatore vaginale Replens® con le altre matrici di campioni analizzate.

I livelli di sangue intero, muco e cellule PBMC riportati nella Tabella 30 rappresentano le concentrazioni massime consentite che non interferiranno con le prestazioni del test **cobas®** 4800 CT/NG. Le concentrazioni nei campioni di urina sono state determinate utilizzando il volume totale del campione, incluso il terreno stabilizzante.

Tabella 30
Risultati dei test dell'interferenza endogena

	Sangue (v/v)		PBMC (cellule/ml)		Muco	
	Concentr. analizzata	Interferenza osservata	Concentr. analizzata	Interferenza osservata	Concentr. analizzata	Interferenza osservata
Campioni endocervicali stabilizzati in cobas® PCR Media	0, 1%, 3%, 5%	Nessuna	0, 1,0E+05, 1,0E+06, 1,0E+07	$> 1 \times 10^5$	0,25%, 0,35%, Livello routine*	$> 0,35\%$ (p/v)
cobas® PCR Media + Urina	0, 0,25%, 0,35%, 0,5%, 1%, 3%	$> 0,35\%$	0, 1,0E+05, 1,0E+06, 1,0E+07	$> 1 \times 10^5$	NT	NT
Campioni vaginali stabilizzati in cobas® PCR Media	0, 1%, 3%, 5%	Nessuna	0, 1,0E+05, 1,0E+06, 1,0E+07	$> 1 \times 10^5$	Livello routine *	Nessuna
Campioni in PreservCyt	0, 1%, 3%, 5%	Nessuna	0, 1,0E+05, 1,0E+06, 1,0E+07	Nessuna	Livello routine*	Nessuna

NT = nessun test

*Livello routine = quantità di muco cervicale equivalente alla quantità normalmente rimossa prima del campionamento

BIBLIOGRAFIA

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

Revisione del documento	
Doc Rev. 16.0 02/2019	<p>Aggiornato il numero dell'organismo notificato sotto la marcatura CE.</p> <p>Per ulteriori domande e chiarimenti, è possibile rivolgersi al rappresentante Roche locale.</p>
Doc Rev. 17.0 03/2019	<p>Sono stati aggiunti riferimenti all'Assistenza Utente del cobas[®] 4800 System.</p> <p>È stato rimosso il riferimento al Manuale Operativo del cobas[®] 4800 System.</p> <p>È stato rimosso il riferimento al Manuale Operativo del test cobas[®] CT/NG.</p> <p>Sono stati rimossi i riferimenti al prodotto Female Swab Sample Kit (Roche P/N 05170516190), tranne che nella sezione Studi correlazionali.</p> <p>“Tampone Tris-HCl” è stato sostituito con “Tris Buffer” come componente dei reagenti.</p> <p>È stata inserita una tabella con i flag dei risultati.</p> <p>Aggiunta di un limite procedurale, in base al quale non è prevedibile una concordanza del 100% tra i risultati negli studi sulla correlazione.</p> <p>Aggiunta di un limite procedurale e di una nota nella sezione Interferenze in cui si segnala che i prodotti RepHresh™ Odor Eliminating Vaginal Gel e RepHresh™ Clean Balance possono determinare risultati non validi o falsi negativi.</p> <p>Aggiornamento del riferimento al regolamento IATA Dangerous Goods.</p> <p>Aggiornamento delle descrizioni e aggiunta del simbolo Rx Only e della relativa descrizione nella pagina dei simboli armonizzati al termine del foglio illustrativo.</p> <p>Per ulteriori domande e chiarimenti, è possibile rivolgersi al rappresentante Roche locale.</p>



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



Distributed by

Roche Diagnostics (Schweiz) AG
Industriestrasse 7
6343 Rotkreuz, Switzerland

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Roche Diagnostics, SL
Avda. Generalitat, 171-173
E-08174 Sant Cugat del Vallès
Barcelona, Spain

Roche Diagnostics
201, boulevard Armand-Frappier
H7V 4A2 Laval, Québec, Canada
(For Technical Assistance call:
Pour toute assistance technique,
appeler le: 1-877-273-3433)

Roche Diagnostics
2, Avenue du Vercors
38240 Meylan, France

Distributore in Italia:
Roche Diagnostics S.p.A.
Viale G. B. Stucchi 110
20052 Monza, Milano, Italy

Distribuidor em Portugal:
Roche Sistemas de Diagnósticos Lda.
Estrada Nacional, 249-1
2720-413 Amadora, Portugal

Roche Diagnostica Brasil Ltda.
Av. Engenheiro Billings, 1729
Jaguará, Building 10
05321-010 São Paulo, SP Brazil

Marchi e brevetti

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

©2019 Roche Molecular Systems, Inc.
03/2019
Doc Rev. 17.0

05641233001-18

Per il test **cobas**[®] 4800 CT:



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Per il test **cobas**[®] 4800 NG:



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



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



Software ausiliario



Distribuito da



Mandatario nella Comunità Europea



Dispositivo medico-diagnostico *in vitro*



Codice del lotto



Fabbricante



Rischio biologico



Conservare al buio



Numero di catalogo



Limiti di temperatura



Consultare le istruzioni per l'uso



File di definizione del test



Contenuto sufficiente per <n> test



Utilizzare entro



Contenuto del kit



Global Trade Item Number

Rx Only

Solo USA: la legge federale degli Stati Uniti limita la vendita di questo dispositivo a personale medico abilitato o provvisto di prescrizione medica.



Questo prodotto è conforme ai requisiti della Direttiva Europea 98/79/CE relativa ai dispositivi medico-diagnostici *in vitro*.

Assistenza Tecnica ai clienti USA 1-800-526-1247



Spettabile
AZIENDA UNITA SANITARIA LOCALE RIETI
VIA DEL TEMINILLO 42
02100 RIETI RI

Monza, 14/07/2020

DICHIARAZIONE MARCATURA CE REAGENTI

La sottoscritta ROCHE DIAGNOSTICS S.p.A., società unipersonale, con sede legale ed uffici amministrativi in Monza (MB), Viale G.B. Stucchi 110 - telefono n. 039/2817.1 e telefax n. 039/2817670 e 039/2817678 - iscritta presso la C.C.I.A.A. Metropolitana di Milano-Monza/Brianza-Lodi - data di iscrizione 05/10/2016 - iscritta nella sezione ordinaria il 19/02/1996 con C.F., P.I. e Registro Imprese al n. 10181220152 - iscritta al R.E.A. di Monza e Brianza n. MB1350535 il 05/10/2016 - Codice attività n. 46.90.00 - Ufficio delle Imposte Dirette in Milano, Via Manin 25 Presidente Consiglio di Amministrazione, Amministratore Delegato e Rappresentante Legale Lars Håkan JOHANSSON nato a Södertälje - Stoccolma (Svezia) il 02/08/1968, codice fiscale JHNL68M02Z132B, domiciliato per la carica in Monza, Viale G.B. Stucchi 110 - rappresentata da:

Noemi Maria Brambilla, nata a Inzago (MI) il 04/11/1972, domiciliata per la carica in Monza (MB), Viale G.B. Stucchi 110, codice fiscale BRMNMR72S44E317A, in qualità di Procuratore nominato con atto del 17/07/2012

Giuseppa Novara nata a Mazzarino (CL) il 26/02/1962, domiciliata per la carica in Monza (MB), Viale G.B. Stucchi 110, codice fiscale NVRGPP62B66F065G, in qualità di Procuratore nominato con atto del 19/09/2016

DICHIARA

che i propri reagenti per uso diagnostico in vitro riportano la marcatura CE e sono conformi alla Direttiva 98/79/CE attuata con D.Lgs. 8 settembre 2000, n. 332.

Si allegano dichiarazioni di conformità dei prodotti offerti.

In fede

ROCHE DIAGNOSTICS S.P.A.

Noemi Maria Brambilla

Giuseppa Novara

DOCUMENTO FIRMATO DIGITALMENTE

Roche Diagnostics S.p.A.
- società unipersonale

Sede Legale: 20900 Monza MB
Viale G.B. Stucchi, 110
Capitale sociale EUR 18.060.000 i.v.
C.F./P.IVA/Registro Imprese Milano -
Monza/Brianza - Lodi 10181220152

Finance, IT & Business
Operations Tenders
Management

Tel. +39 0392817255
Numero verde 800-650651
Fax +039/2817670 - 039/2817678
www.roche.it
paola.grillo@roche.com



Declaration of Conformity

as per Annex IV of the Directive 98/79/EC of the European Parliament and the Council of 27 October 1998
via BSI-NL as the Notified Body (registration no. 2797)

Document No.: **DOC-2019-29**
Manufacturer: **Roche Molecular Systems, Inc.**
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876
USA
Authorized Representative: **Roche Diagnostics GmbH**
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim
Germany

Roche Molecular Systems, Inc. declares that the in vitro diagnostic medical device:

Product Name: **cobas® 4800 CT/NG Test**
P/N: 05235979190: **cobas® 4800 CT/NG Amplification/Detection Kit, 960 Tests**
05235952190: **cobas® 4800 CT/NG Amplification/Detection Kit, 240 Tests**
05235928190: **cobas® 4800 CT/NG Controls Kit**

Description:

The **cobas® 4800 CT/NG Test** is an in vitro nucleic acid amplification test for the qualitative detection of *Chlamydia trachomatis* (CT) and/or *Neisseria gonorrhoeae* (NG) in patient specimens.

The complete Intended Use is contained in the **cobas® 4800 CT/NG Test** package insert.

Complies with the requirements of the Directive 98/79/EC of the European Parliament and of the Council of 27 October 1998 on *in vitro* diagnostic medical devices.

The Manufacturer agrees to develop, implement, and maintain a documented post-production monitoring process, including the notification of reportable events, under the European Medical Device Vigilance System Guidelines. As legal manufacturer, Roche Molecular Systems, Inc. is solely responsible for the product. This declaration is issued under the sole responsibility of Roche Molecular Systems, Inc.

Pleasanton, CA

Date: 28-MAR-2019

Jeff Boone
VP, Quality Management
Roche Molecular Solutions

Declaration of Conformity

as per Annex III of the Directive 98/79/EC of the European Parliament and the Council of 27 October 1998



Document No.: **DOC-2016-112**
Manufacturer: **Roche Molecular Systems, Inc.**
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876
USA

Authorized Representative: **Roche Diagnostics GmbH**
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany

Roche Molecular Systems declares that the *in vitro* diagnostic medical device:

Product Name: cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit

P/N: 07958030190

Complies with the requirements of the Directive 98/79/EC of the European Parliament and of the Council of 27 October 1998 on *in vitro* diagnostic medical devices.

The Manufacturer agrees to develop, implement, and maintain a documented post-production monitoring process, including the notification of reportable events, under the European Medical Device Vigilance System Guidelines.

Branchburg, NJ

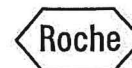
A handwritten signature in black ink, appearing to read "Nicholas M. Solimo".

2 Dec 2016

Nicholas M. Solimo
Vice President, RMD Quality Management

Declaration of Conformity

as per Annex III of the Directive 98/79/EC of the European Parliament and the Council of 27 October 1998



Document No.: **DOC-2016-49**

Manufacturer: **Roche Molecular Systems, Inc.**
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876
USA

Authorized Representative: **Roche Diagnostics GmbH**
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany

Roche Molecular Systems declares that the *in vitro* diagnostic medical device:

Product Name: **cobas® PCR Urine Sample Kit**

P/N: **05170486190**

Complies with the requirements of the Directive 98/79/EC of the European Parliament and of the Council of 27 October 1998 on *in vitro* diagnostic medical devices.

The Manufacturer agrees to develop, implement, and maintain a documented post-production monitoring process, including the notification of reportable events, under the European Medical Device Vigilance System Guidelines.

Branchburg, NJ

 13-Oct-2016
Nicholas M. Solimo
Vice President, RMD Quality Management

Declaration of Conformity

as per Annex III of the Directive 98/79/EC of the European Parliament and the Council of 27 October 1998



Document No.: **DOC-2016-113**
Manufacturer: **Roche Molecular Systems, Inc.**
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876
USA

Authorized Representative: **Roche Diagnostics GmbH**
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany

Roche Molecular Systems declares that the *in vitro* diagnostic medical device:

Product Name: cobas® PCR Media Dual Swab Sample Kit

P/N: 07958021190

Complies with the requirements of the Directive 98/79/EC of the European Parliament and of the Council of 27 October 1998 on *in vitro* diagnostic medical devices.

The Manufacturer agrees to develop, implement, and maintain a documented post-production monitoring process, including the notification of reportable events, under the European Medical Device Vigilance System Guidelines.

Branchburg, NJ



Nicholas M. Solimo 2 Dec 2016
Vice President, RMD Quality Management

Declaration of Conformity



as per Annex III of the Directive 98/79/EC of the European Parliament and the Council of 27 October 1998

Document No.: **DOC-2017-50**

Manufacturer: **Roche Molecular Systems, Inc.**
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876
USA

Authorized Representative: **Roche Diagnostics GmbH**
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany

Roche Molecular Systems declares that the in vitro diagnostic medical device:

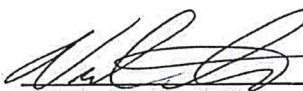
Product Name: cobas® 4800 System generic reagents

P/N: 05235804190: cobas® 4800 System Sample Preparation Kit, 960 Tests
05235782190: cobas® 4800 System Sample Preparation Kit, 240 Tests
05235847190: cobas® 4800 System Control Diluent Kit
05235871190: cobas® 4800 System Wash Buffer Kit, 960 Tests
05235863190: cobas® 4800 System Wash Buffer Kit, 240 Tests
05235839190: cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit, 960 Tests
05235812190: cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit, 240 Tests
06768318190: cobas® 4800 System Internal Control Kit 1, 20 Runs
06768253190: cobas® 4800 System Lysis Kit 1, 240 Tests
06768270190: cobas® 4800 System Lysis Kit 1, 960 Tests

Complies with the requirements of the Directive 98/79/EC of the European Parliament and of the Council of 27 October 1998 on in vitro diagnostic medical devices.

The Manufacturer agrees to develop, implement, and maintain a documented post-production monitoring process, including the notification of reportable events, under the European Medical Device Vigilance System Guidelines.

Branchburg, NJ

 20 March 2017
Nicholas M. Solimo
Vice President, RMD Quality Management



Spettabile
AZIENDA UNITA SANITARIA LOCALE RIETI
VIA DEL TEMINILLO 42
02100 RIETI RI

Monza, 14/07/2020

DICHIARAZIONE DI ESCLUSIVITA'

La sottoscritta ROCHE DIAGNOSTICS S.p.A., società unipersonale, con sede legale ed uffici amministrativi in Monza (MB), Viale G.B. Stucchi 110 - telefono n. 039/2817.1 e telefax n. 039/2817670 e 039/2817678 - iscritta presso la C.C.I.A.A. Metropolitana di Milano-Monza/Brianza-Lodi - data di iscrizione 05/10/2016 - iscritta nella sezione ordinaria il 19/02/1996 con C.F., P.I. e Registro Imprese al n. 10181220152 - iscritta al R.E.A. di Monza e Brianza n. MB1350535 il 05/10/2016 - Codice attività n. 46.90.00 - Ufficio delle Imposte Dirette in Milano, Via Manin 25 Presidente Consiglio di Amministrazione, Amministratore Delegato e Rappresentante Legale Lars Håkan JOHANSSON nato a Södertälje - Stoccolma (Svezia) il 02/08/1968, codice fiscale JHNL68M02Z132B, domiciliato per la carica in Monza, Viale G.B. Stucchi 110 - rappresentata da:

Noemi Maria Brambilla, nata a Inzago (MI) il 04/11/1972, domiciliata per la carica in Monza (MB), Viale G.B. Stucchi 110, codice fiscale BRMNMR72S44E317A, in qualità di Procuratore nominato con atto del 17/07/2012

Giuseppa Novara nata a Mazzarino (CL) il 26/02/1962, domiciliata per la carica in Monza (MB), Viale G.B. Stucchi 110, codice fiscale NVRGPP62B66F065G, in qualità di Procuratore nominato con atto del 19/09/2016

DICHIARA

che all'interno del Gruppo Roche, Roche Diagnostics Italia è stata nominata quale distributore esclusivo per l'Italia dei seguenti prodotti:

Cod. 07958021190 - Kit cobas pcr media dual swb 100 pkt ivd Cod. 07958030190 - Kit cobas pcr media uni swb 100 pkt ivd Cod. 05235952190 - Kit cobas 4800 ct/ng amp det 240t ivd Cod. 05235847190 - Kit cobas 4800 sys ct/dil 10 sets ivd

Inoltre lo strumento Cobas 4800 è uno strumento distribuito esclusivamente da Roche Diagnostics. Il Kit Chlamidia può essere utilizzato unicamente sullo strumento Cobas 4800.

.

In fede

ROCHE DIAGNOSTICS S.P.A.

Noemi Maria Brambilla

Giuseppa Novara

(Documento firmato digitalmente)

Roche Diagnostics S.p.A.
- società unipersonale

Sede Legale: 20900 Monza MB
Viale G.B. Stucchi, 110
Capitale sociale EUR 18.060.000 i.v.
C.F./P.IVA/Registro Imprese Milano -
Monza/Brianza - Lodi 10181220152

Finance, IT & Business
Operations Tenders
Management

Tel. +39 0392817255
Numero verde 800-650651
Fax +039/2817670 - 039/2817678
www.roche.it
paola.grillo@roche.com



For presentation to the Authorities of Italy

Declaration

Dear Sir / Madam,

We, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Federal Republic of Germany, herewith confirm that Roche Diagnostics S.p.A. is the exclusive distributor in Italy of Roche Diagnostics products.

Mannheim, November 10, 2008.

Roche Diagnostics GmbH
ppa.

i.V.

Dr. Michael Thein
Head of Quality Management
Centralized Diagnostics

Dr. Hubert Bayer
Director Global Regulatory Affairs

