

Xpert® Flu

REF GXFLU-CE-10

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®] and Xpert[®] are trademarks of Cepheid.

Armored RNA[®] is a trademark of Asuragen, Inc.

Windows[®] is a trademark of Microsoft Corporation.

Neo-Synephrine[®] is a trademark of Bayer HealthCare LLC.

Zicam[®] is a trademark of Matrixx Initiatives, Inc.

Tamiflu[®] is a trademark of Genentech USA.

Armored RNA[®] is a patented technology jointly developed by Asuragen Inc. and Cenetron Diagnostics, LLC under U.S. Patent Nos. 5,677,124, 5,919,625, 5,939,262 and other patents pending.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THIS PACKAGE INSERT. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

Copyright © Cepheid 2020. All rights reserved.

Dichiarazioni relative a marchi di fabbrica, brevetti e copyright

Cepheid[®], il logo Cepheid, GeneXpert[®] e Xpert[®] sono marchi di fabbrica di Cepheid.

Armored RNA[®] è un marchio di fabbrica di Asuragen, Inc.

Windows[®] è un marchio di fabbrica di Microsoft Corporation.

Neo-Synephrine[®] è un marchio di fabbrica di Bayer HealthCare LLC.

Zicam[®] è un marchio di fabbrica di Matrixx Initiatives, Inc.

Tamiflu[®] è un marchio di fabbrica di Genentech USA.

Armored RNA[®] è una tecnologia brevettata sviluppata congiuntamente da Asuragen Inc. e Cenetron Diagnostics, LLC sotto i numeri di brevetto U.S.A. 5,677,124, 5,919,625, 5,939,262; altri brevetti in corso di registrazione.

L'ACQUISTO DI QUESTO PRODOTTO CONCEDE ALL'ACQUIRENTE IL DIRITTO NON TRASFERIBILE DI UTILIZZARLO D'ACCORDO CON QUESTO FOGLIETTO ILLUSTRATIVO. NESSUN ALTRO DIRITTO VIENE CONCESSO ESPRESSAMENTE, IMPLICITAMENTE O PER PRECLUSIONE. INOLTRE, CON L'ACQUISTO DI QUESTO PRODOTTO NON VIENE CONCESSO NESSUN DIRITTO ALLA RIVENDITA.

Copyright © Cepheid 2020. Tutti i diritti riservati.



Cepheid AB

Rontgenvagen 5

SE-171 54 Solna

Sweden

Phone: + 46 8 6843 7000

Fax: + 46 8 6843 7010

Saggio Xpert® Flu

Solo per uso diagnostico *in vitro*.

1. Nome registrato

Xpert® Flu

2. Nome comune o usuale

Saggio Xpert Flu

3. Uso previsto

Il saggio Cepheid® Xpert Flu è un saggio automatizzato, eseguito sui sistemi dello strumento GeneXpert®, di RT-PCR multipla in tempo reale per il rilevamento qualitativo e la differenziazione *in vitro* dell'RNA virale dell'influenza A, dell'influenza B e dell'influenza H1N1 2009. Il saggio Xpert Flu utilizza campioni di analisi di aspirati/lavaggi nasali e tamponi nasofaringei raccolti da pazienti con segni e sintomi di infezione respiratoria concomitanti a fattori di rischio clinici ed epidemiologici. Il saggio Xpert Flu è stato concepito come ausilio nella diagnosi dell'influenza.

I risultati negativi non precludono la possibilità di infezione da virus influenzale e non devono essere usati come unica base per il trattamento o per le decisioni riguardanti la gestione di altri pazienti.

Le caratteristiche prestazionali per l'influenza A sono state stabilite durante la stagione influenzale 2012-2013. Con la comparsa di altri virus dell'influenza A, le prestazioni potrebbero variare.

Se in base agli attuali criteri di screening clinico ed epidemiologico raccomandati dalle autorità sanitarie pubbliche si sospetta l'infezione da un nuovo virus dell'influenza A, i campioni di analisi devono essere raccolti con le opportune precauzioni per il controllo delle infezioni per i nuovi virus influenzali virulenti e inviati ai distretti sanitari nazionali o locali per essere analizzati. In questi casi, la coltura virale deve essere allestita solo se una struttura con livello di biosicurezza (Biosafety Level, BSL) 3 o superiore è disponibile per ricevere e coltivare i campioni di analisi.

4. Riepilogo e spiegazione

L'influenza è un'infezione virale contagiosa del tratto respiratorio che si contrae spesso durante la stagione invernale. La trasmissione dell'influenza avviene principalmente per via aerea (*ossia* tramite tosse o starnuti). I sintomi generalmente includono febbre, brividi, cefalea, malessere, tosse e congestione dei seni nasali. Anche se sono meno comuni, possono essere presenti sintomi gastrointestinali (*ossia* nausea, vomito o diarrea), specialmente nei bambini. La comparsa dei sintomi, in genere, avviene entro due giorni dall'esposizione a una persona infetta. Come complicanza dell'influenza può svilupparsi una polmonite, che è causa di un aumento della morbilità e della mortalità nelle popolazioni pediatriche, anziane e immunocompromesse.

I virus dell'influenza sono classificati nei tipi A, B e C, di cui i primi due causano la maggior parte delle infezioni nell'uomo. Il virus dell'influenza A è il tipo più comune nell'uomo, generalmente è responsabile delle epidemie di influenza stagionale e può causare pandemie. I virus dell'influenza A possono infettare anche gli animali, ad esempio volatili, suini ed equini. Le infezioni dovute al virus dell'influenza B sono limitate per lo più all'uomo e raramente sono causa di epidemie. I virus dell'influenza A si suddividono in sottotipi in base a due proteine di superficie: l'emoagglutinina (H) e la neuraminidasi (N). L'influenza stagionale è causata normalmente da virus dei sottotipi H1, H2, o H3 portatori di emoagglutinina, uniti ai sottotipi di N1 o N2 di neuraminidasi, per es. il tipo H3N1. Oltre ai virus dell'influenza stagionale già circolanti, all'inizio del 2009 è stato identificato negli uomini un nuovo ceppo H1N1, emerso in Messico.

Programmi di sorveglianza attiva e precauzioni per il controllo dell'infezione sono essenziali per prevenire la trasmissione dell'influenza.

5. Principio della procedura


Il saggio Xpert Flu è un test diagnostico automatizzato *in vitro* per il rilevamento qualitativo dell'influenza A, dell'influenza B e del sottotipo H1N1 2009 dell'influenza A. Il saggio viene effettuato con i sistemi dello strumento Cepheid GeneXpert.

I sistemi dello strumento GeneXpert consentono di automatizzare e integrare il trattamento e la lisi dei campioni, la purificazione, l'amplificazione degli acidi nucleici e il rilevamento della sequenza bersaglio in campioni semplici o complessi utilizzando i saggi RT-PCR e PCR in tempo reale. I sistemi comprendono uno strumento, un computer e un software già installato per l'esecuzione dei test e la visualizzazione dei risultati. I sistemi richiedono l'uso di cartucce GeneXpert monouso che contengono i reagenti per RT-PCR e PCR e dove si svolgono i processi RT-PCR e PCR. Essendo le cartucce chiuse, il rischio di contaminazione crociata tra i campioni è ridotto al minimo. Per una descrizione completa dei sistemi, vedere il Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx o il Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Infinity, come appropriato.

Il saggio Xpert Flu comprende reagenti per l'identificazione e la differenziazione dell'influenza A, dell'influenza B e del sottotipo H1N1 2009 dell'influenza A direttamente da campioni di analisi di aspirati/lavaggi nasali (nasal aspirates/washes, NA/W) e tamponi nasofaringei (nasopharyngeal, NP) di pazienti con segni e sintomi di infezione respiratoria. La cartuccia include anche un controllo per il trattamento dei campioni (Sample Processing Control, SPC) e un controllo per la verifica della sonda (Probe Check Control, PCC). L'SPC serve a controllare l'idoneità del trattamento dei virus bersaglio e a monitorare la presenza di inibitori nella reazione della PCR. Il PCC verifica la reidratazione dei reagenti, il riempimento della provetta per PCR nella cartuccia, l'integrità della sonda e la stabilità del colorante.

6. Reagenti e strumenti

6.1 Materiale fornito

 Il kit per il saggio Xpert Flu contiene reagenti sufficienti per il trattamento di 10 campioni di analisi o campioni di controllo qualità.

Il contenuto del kit è il seguente:

| | |
|---|----------------------------------|
| Cartucce del saggio Xpert Flu con provette di reazione integrate | 10 |
| • Microsfera 1, Microsfera 2 e Microsfera 3 (liofilizzato) | 1 di ciascuna per cartuccia |
| • Reagente di lisi | 2,0 mL per cartuccia |
| • Guanidina tiocianato | |
| • Reagente legante | 1,5 mL per cartuccia |
| • Reagente di eluizione | 2,0 mL per cartuccia |
| Monouso 300 µL Pipette di trasferimento | 2 sacchetti di 12 per kit |
| CD | 1 per kit |
| • File di definizione del saggio (Assay definition file, ADF) | |
| • Istruzioni per l'importazione dell'ADF nel software GeneXpert | |
| • Istruzioni per l'uso (foglietto illustrativo) | |

Nota

Le schede di sicurezza (Safety Data Sheets, SDS) sono disponibili sui siti www.cepheid.com o www.cepheidinternational.com nella scheda **ASSISTENZA (SUPPORT)**.

Nota

L'albumina di siero bovino (BSA) presente nelle microsferi di questo prodotto è stata prodotta esclusivamente da plasma bovino di origine statunitense. Anche la produzione della BSA avviene negli USA. Gli animali non sono stati nutriti con proteine di ruminanti o altre proteine animali; gli animali hanno superato i test ante mortem e post mortem. Durante la lavorazione, il materiale non è stato miscelato con altro materiale animale.

6.2 Conservazione e manipolazione



- Conservare le cartucce e i reagenti del saggio Xpert Flu a 2 °C-28 °C fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta.
- Non utilizzare i reagenti se appaiono torbidi o scoloriti.
- Non utilizzare cartucce che presentano perdite.

6.3 Materiali necessari ma non forniti

- Sistemi di strumentazione GeneXpert Dx o GeneXpert Infinity (il numero di catalogo varia in base alla configurazione): strumento GeneXpert, computer, lettore di codici a barre e Manuale dell'operatore.
 - Per il sistema GeneXpert Dx: software GeneXpert Dx versione 4.3 o successiva
- Stampante: qualora fosse necessario l'uso di una stampante, contattare l'Assistenza Tecnica di Cepheid per predisporre l'acquisto di una stampante convalidata.

6.4 Materiali disponibili non in dotazione

- Kit per prelievo nasale, n. di catalogo Cepheid NASL-100N-100 oppure kit Xpert per la raccolta di campioni nasofaringei, n. di catalogo Cepheid SWAB/B-100.
- Controlli di virus inattivato di ZeptoMetrix:
 - Numero di catalogo NATFLUA/B-6MC e NATFLUAH1N1-6MC come controlli positivi esterni.
 - Numero di catalogo NATCXVA9-6MC (virus Coxsackie) come controllo negativo esterno.

7. Avvertenze e precauzioni



- Tutti i campioni biologici di analisi, comprese le cartucce usate, devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi. Poiché, nella maggior parte dei casi, è impossibile distinguere i potenziali veicoli di infezione, tutti i campioni biologici di analisi devono essere trattati attenendosi alle precauzioni standard. Le linee guida per il trattamento dei campioni di analisi sono disponibili presso i Centri per la prevenzione e il controllo delle malattie (Centers for Disease Control and Prevention) e l'Istituto per gli standard chimici e di laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute) statunitensi.
- Attenersi alle procedure di sicurezza del proprio istituto per l'utilizzo e la manipolazione di sostanze chimiche e campioni biologici.
- Non sostituire i reagenti del saggio Xpert Flu con altri reagenti.
- Aprire il coperchio della cartuccia del saggio Xpert Flu solo quando viene aggiunto il campione.
- Non utilizzare le cartucce dopo averle fatte cadere o agitate in seguito all'aggiunta del campione.
- Non utilizzare una cartuccia la cui provetta di reazione sia danneggiata.
- ② • Ogni cartuccia monouso del saggio Xpert Flu deve essere adoperata per l'esecuzione di un solo test. Non riutilizzare le cartucce usate.
- I campioni biologici di analisi, i dispositivi di trasferimento e le cartucce usate devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi adottando le precauzioni standard. Attenersi alle procedure di smaltimento dei rifiuti ambientali della propria struttura sanitaria per il corretto smaltimento delle cartucce usate e dei reagenti non utilizzati. Questi materiali potrebbero essere considerati rifiuti chimici pericolosi per il cui smaltimento sarà necessario attenersi a specifiche procedure nazionali o regionali. Se i regolamenti nazionali o regionali non forniscono istruzioni chiare sul corretto smaltimento, i campioni biologici di analisi e le cartucce usate devono essere smaltiti in base alle linee guida dell'OMS (Organizzazione mondiale della sanità) sulla manipolazione e lo smaltimento dei rifiuti medici.
- Per evitare la contaminazione dei campioni di analisi dei pazienti durante la manipolazione si consiglia di osservare le buone pratiche di laboratorio e cambiarsi i guanti tra un campione e l'altro.



- Conservare il kit del saggio Xpert Flu a 2 °C-28 °C.


8. Pericoli chimici^{8,9}

- Avvertenza: ATTENZIONE
- **Indicazioni di pericolo UN GHS**
 - Può essere nocivo se ingerito
 - Provoca lieve irritazione cutanea
 - Provoca irritazione oculare
- **Frase di prudenza**
 - **Prevenzione**
 - Lavare accuratamente dopo l'uso
 - **Risposta**
 - In caso di irritazione della pelle: Consultare un medico
 - IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.
 - Se l'irritazione degli occhi persiste: consultare un medico.

- In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico.

9. Raccolta, trasporto e conservazione dei campioni di analisi

I campioni di analisi di aspirati/lavaggi nasali o tamponi nasofaringei (NA/W o NP) possono essere raccolti seguendo le procedure standard del proprio istituto e collocati in un terreno di trasporto universale (Universal Transport Medium, UTM) (provette UTM da 3 mL).

-  Trasportare i campioni a 2 °C-8 °C. Prima del trattamento, i campioni possono essere conservati fino a 72 ore a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C.

10. Procedura

10.1 Preparazione della cartuccia

Importante Iniziare il test entro 60 minuti dall'aggiunta del campione del reagente nella cartuccia.

Per i campioni di analisi di tamponi nasofaringei

1. Mescolare il campione da analizzare capovolgendo cinque volte la provetta UTM.
2. Rimuovere la cartuccia dalla confezione.
3. Aprire il coperchio della cartuccia. Utilizzando la pipetta di trasferimento pulita da 300 µL (fornita), trasferire 300 µL di campione (una aspirazione) nella camera della cartuccia con l'apertura grande. Vedere Figura 1.
4. Chiudere il coperchio della cartuccia. Vedere Figura 1.

Per i campioni di analisi di NA/W

1. Utilizzando la pipetta di trasferimento pulita da 300 µL (fornita), trasferire 600 µL di campione (due aspirazioni) nella provetta UTM da 3 mL e quindi tappare la provetta.
2. Mescolare il campione da analizzare capovolgendo cinque volte la provetta.
3. Rimuovere la cartuccia dalla confezione.
4. Aprire il coperchio della cartuccia. Adoperando la pipetta di trasferimento pulita da 300 µL (fornita), trasferire 300 µL di campione di analisi diluito (una aspirazione) nella camera della cartuccia con l'apertura grande. Vedere Figura 1.
5. Chiudere il coperchio della cartuccia. Vedere Figura 1.

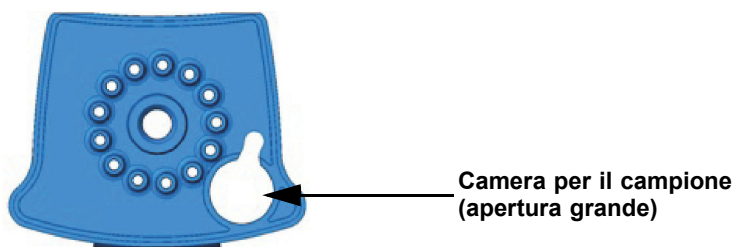


Figura 1. Cartuccia del saggio Xpert Flu (vista dall'alto)

10.2 Avvio del test

Nota Prima di iniziare il test, accertarsi che il file di definizione del saggio Xpert Flu sia stato importato nel software GeneXpert.

Questa sezione elenca i passaggi fondamentali per l'esecuzione del test. Per istruzioni dettagliate, vedere il *Manuale per l'operatore del sistema GeneXpert Dx* o il *Manuale per l'operatore del sistema GeneXpert Infinity* secondo modello utilizzato.

1. Accendere lo strumento GeneXpert:
 - Se si usa lo strumento GeneXpert Dx, accendere prima lo strumento GX Dx, e poi accendere il computer. Il software GeneXpert si avvierà automaticamente o potrà essere necessario fare doppio clic sull'icona del software GeneXpert Dx sul desktop di Windows®.
 - oppure
 - Se si utilizza lo strumento GeneXpert Infinity, accendere lo strumento. Il software GeneXpert si avvierà automaticamente, oppure potrà essere necessario fare doppio clic sull'icona del software Xpertise sul desktop di Windows.

2. Connettersi al software di GeneXpert Instrument System con il proprio nome utente e la password.
3. Nella finestra del sistema GeneXpert, fare clic su **Crea test (Create Test)** (GeneXpert Dx) o **Ordini (Orders)** e **Ordina test (Order Test)** (Infinity).
4. Eseguire la scansione o digitare l'ID del paziente (Patient ID) (opzionale). Se l'ID del paziente (Patient ID) viene digitato, assicurarsi che sia stato digitato correttamente. Sul lato sinistro della finestra Visualizza risultati (View Results) compare l'ID del paziente (Patient ID), che è associato al risultato del test.
5. Eseguire la scansione o digitare l'ID del campione (Sample ID). Se l'ID del campione (Sample ID) viene digitato, assicurarsi che sia stato digitato correttamente. Sul lato sinistro della finestra Visualizza risultati (View Results) compare l'ID del campione (Sample ID), che è associato al risultato del test.
6. Eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia del saggio Xpert Flu. Utilizzando le informazioni del codice a barre, il software completa automaticamente le caselle dei campi seguenti: ID lotto reagente (Reagent Lot ID), Numero di serie della cartuccia (Cartridge SN), Data di scadenza (Expiration Date) e Saggio selezionato (Selected Assay).
7. Fare clic su **Avvia test (Start Test)** (GeneXpert Dx) oppure su **Invia (Submit)** (Infinity). Digitare la password nella casella di dialogo che compare.
8. Per il sistema GeneXpert Infinity, posizionare la cartuccia sul nastro trasportatore. La cartuccia si caricherà automaticamente, il test verrà eseguito e la cartuccia usata sarà inserita nel contenitore dei rifiuti.

oppure

Per lo strumento GeneXpert Dx :

- A. Aprire lo sportello del modulo dello strumento con la spia lampeggiante verde e caricare la cartuccia.
- B. Chiudere lo sportello. Quando il test si avvia la spia smette di lampeggiare. Quando il test è finito, la spia si spegne.
- C. Attendere finché il sistema sblocca lo sportello prima di aprire lo sportello del modulo e togliere la cartuccia.
- D. Smaltire le cartucce usate in un contenitore adatto per rifiuti di campioni di analisi secondo le prassi standard del proprio istituto.

11. Visualizzazione e stampa dei risultati

Questa sezione elenca i passaggi fondamentali per la visualizzazione e la stampa dei risultati. Per istruzioni più dettagliate su come visualizzare e stampare i risultati, vedere il *Manuale per l'operatore del sistema GeneXpert Dx* o il *Manuale per l'operatore del sistema GeneXpert Infinity*, secondo lo strumento utilizzato.

- Per visualizzare i risultati, fare clic sull'icona **Visualizza risultati (View Results)**.
- A completamento del test, fare clic sul pulsante **Rapporto (Report)** nella schermata Visualizza risultati (View Results) per visualizzare e/o generare un file del rapporto in formato pdf.

12. Controllo qualità

CONTROL Ciascun test comprende un controllo per il trattamento dei campioni (SPC) e un controllo per la verifica della sonda (PCC).

- **Controllo per il trattamento dei campioni (SPC)** – Consente di accertarsi che il campione sia stato trattato correttamente. L'SPC è un Armored RNA[®] sotto forma di microsfera essiccata, è incluso in ciascuna cartuccia e serve per verificare che il virus del campione venga trattato correttamente. L'SPC consente di verificare che la lisi del virus dell'influenza sia avvenuta, se l'organismo è presente, e di verificare la correttezza del trattamento del campione di analisi. Questo controllo, inoltre, rileva l'inibizione associata al campione di analisi delle reazioni RT-PCR e PCR. L'SPC deve essere positivo in un campione negativo e può essere negativo o positivo in un campione positivo. L'SPC si considera superato se soddisfa i criteri di accettazione convalidati.
- **Controllo di verifica della sonda (PCC)** – Prima che inizi la reazione PCR, il sistema GeneXpert Dx misura il segnale di fluorescenza emesso dalle sonde, allo scopo di monitorare la reidratazione delle microsferi, il riempimento delle provette di reazione, l'integrità della sonda e la stabilità dei coloranti. Il PCC si considera superato se soddisfa i criteri di accettazione convalidati.
- **Controlli esterni** – I controlli esterni devono essere usati in conformità con i requisiti degli organismi di accreditamento locali, regionali e nazionali pertinenti.

13. Interpretazione dei risultati

I risultati vengono interpretati automaticamente dal sistema GeneXpert Instrument, utilizzando i segnali di fluorescenza misurati e gli algoritmi di calcolo integrati, e vengono visualizzati chiaramente nella finestra Visualizza risultati (View Results). I risultati possibili sono riportati nella tabella 1.

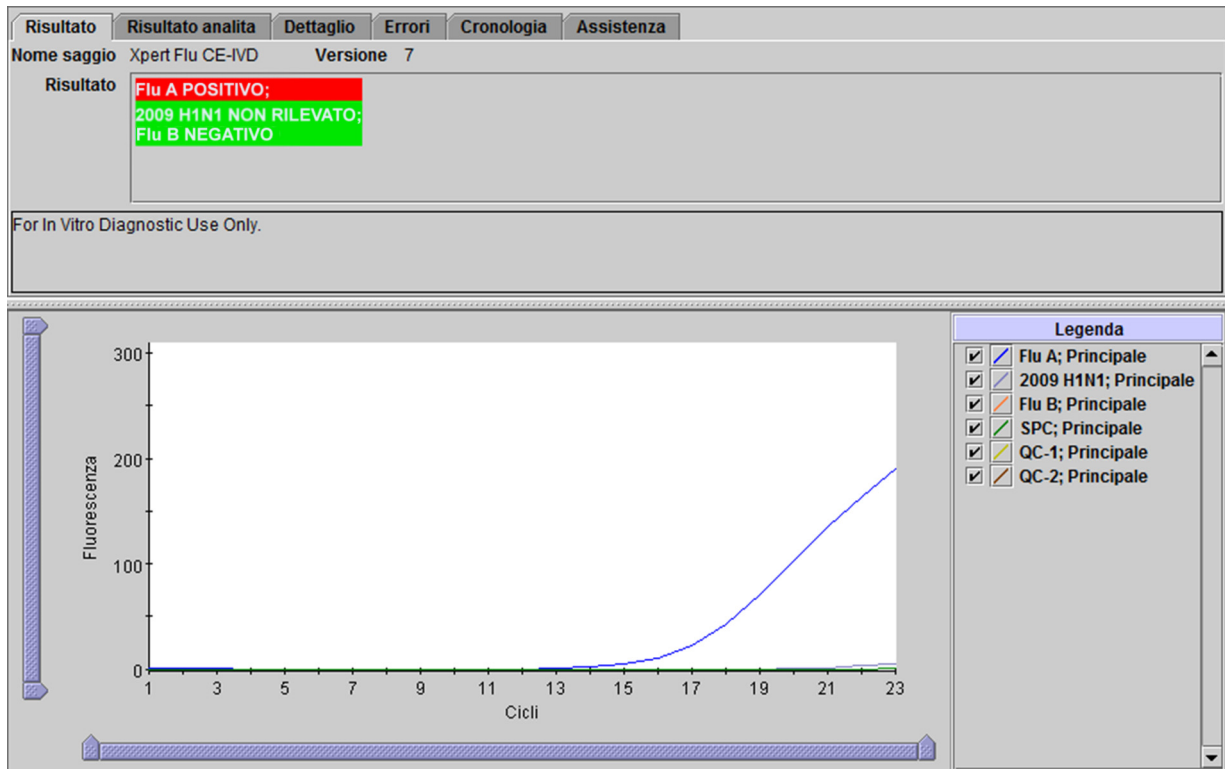


Figura 2. Finestra Visualizza risultati (View Results) di GeneXpert Dx: Esempio di risultato positivo all'influenza A

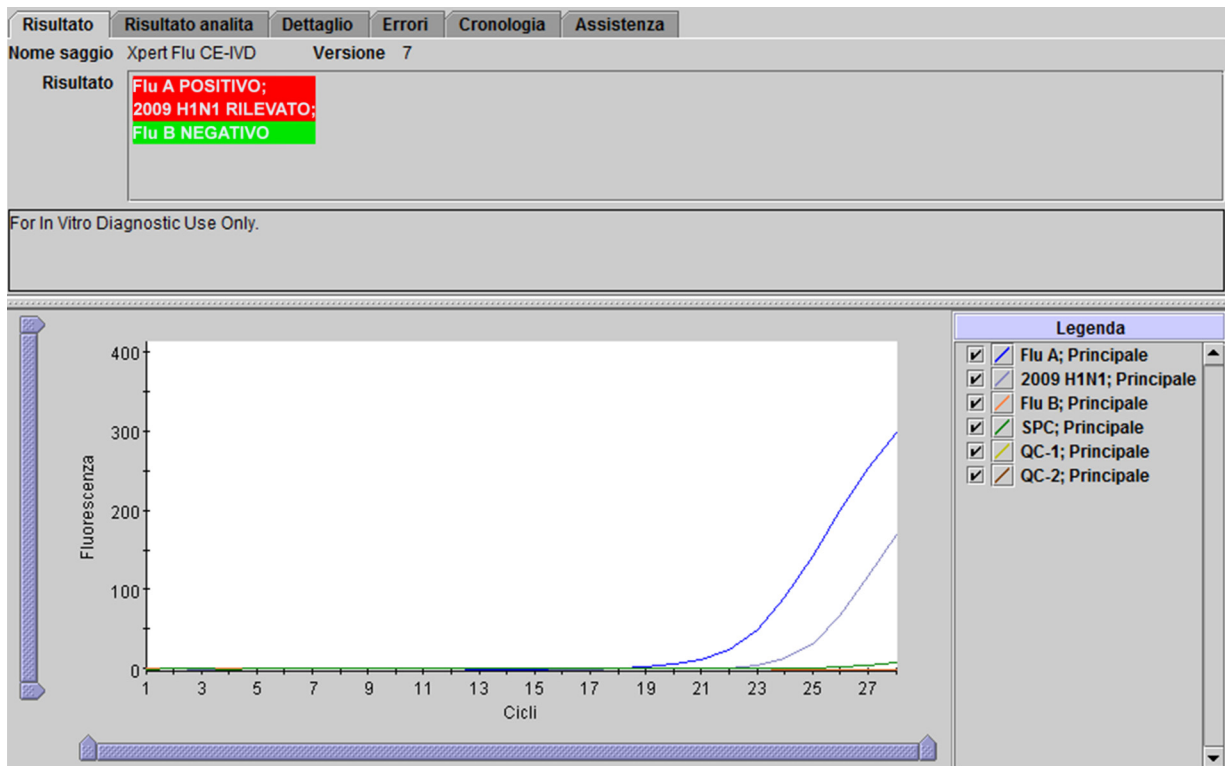


Figura 3. Finestra Visualizza risultati (View Results) di GeneXpert Dx: Esempio di risultato positivo all'H1N1 2009

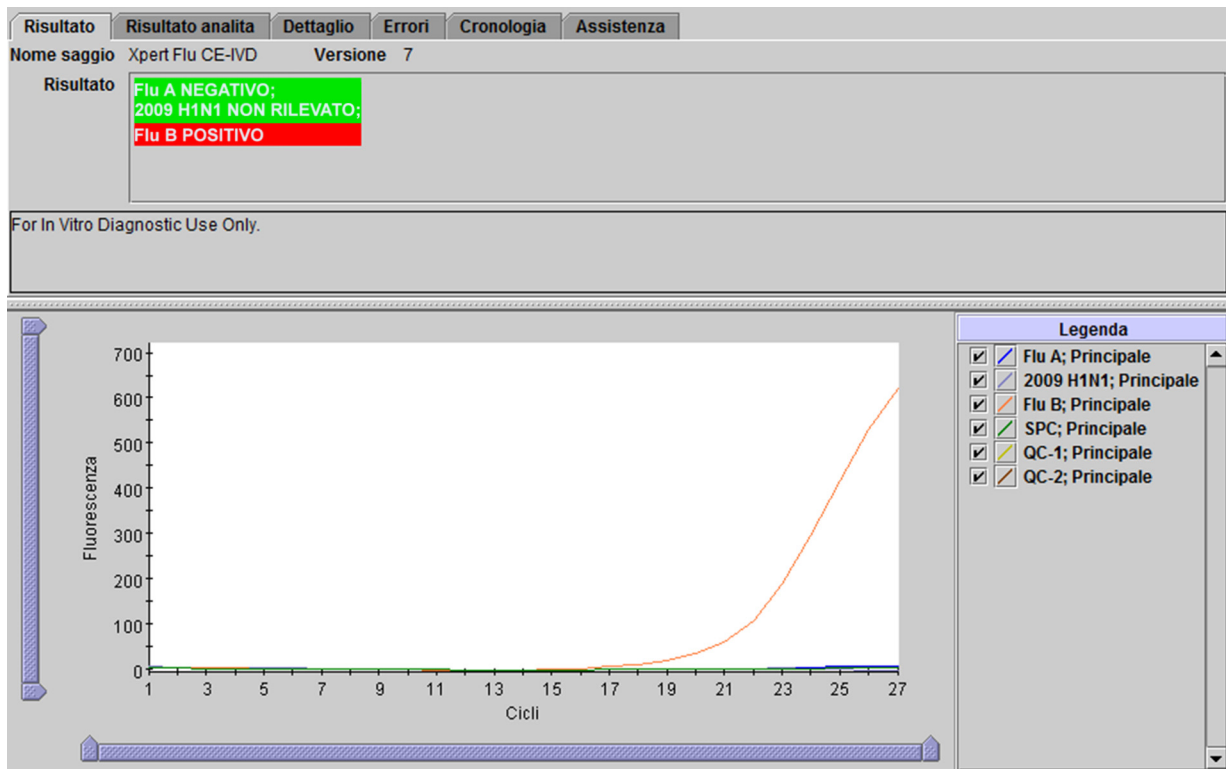


Figura 4. Finestra Visualizza risultati (View Results) di GeneXpert Dx: Esempio di risultato positivo all'influenza B

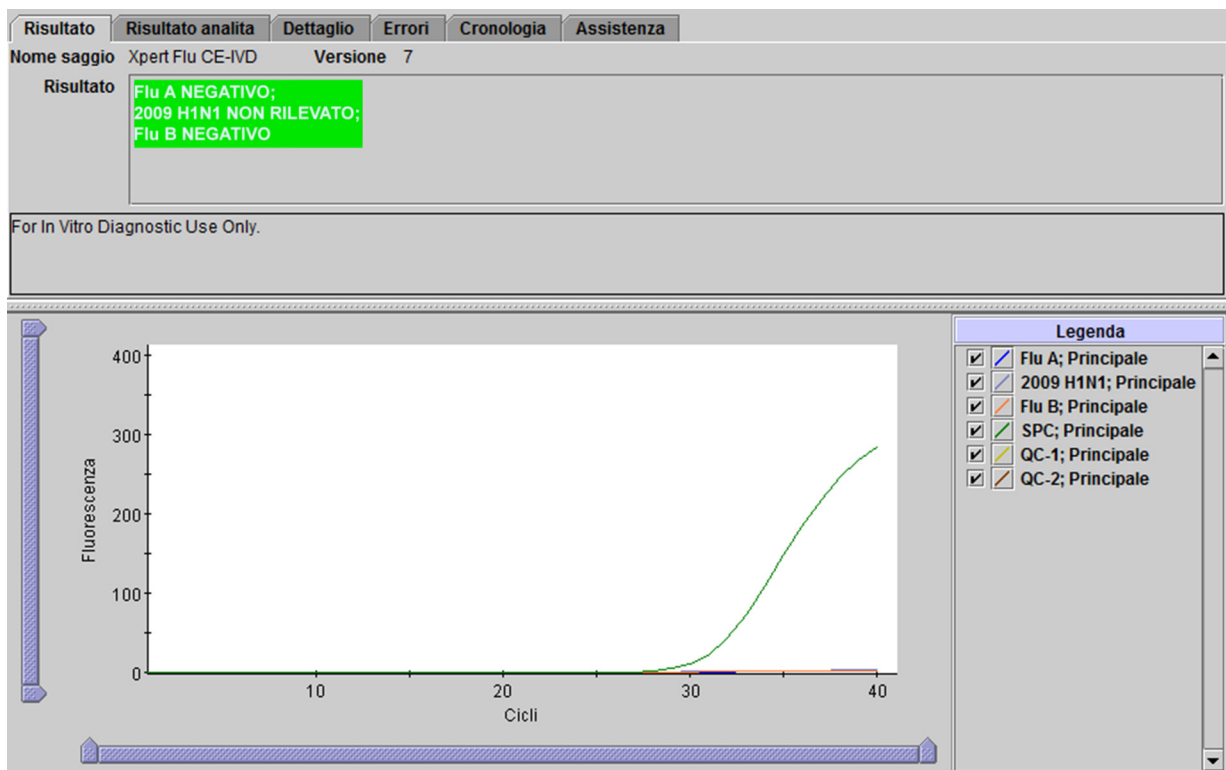


Figura 5. Finestra Visualizza risultati (View Results) di GeneXpert Dx: Esempio di risultato negativo

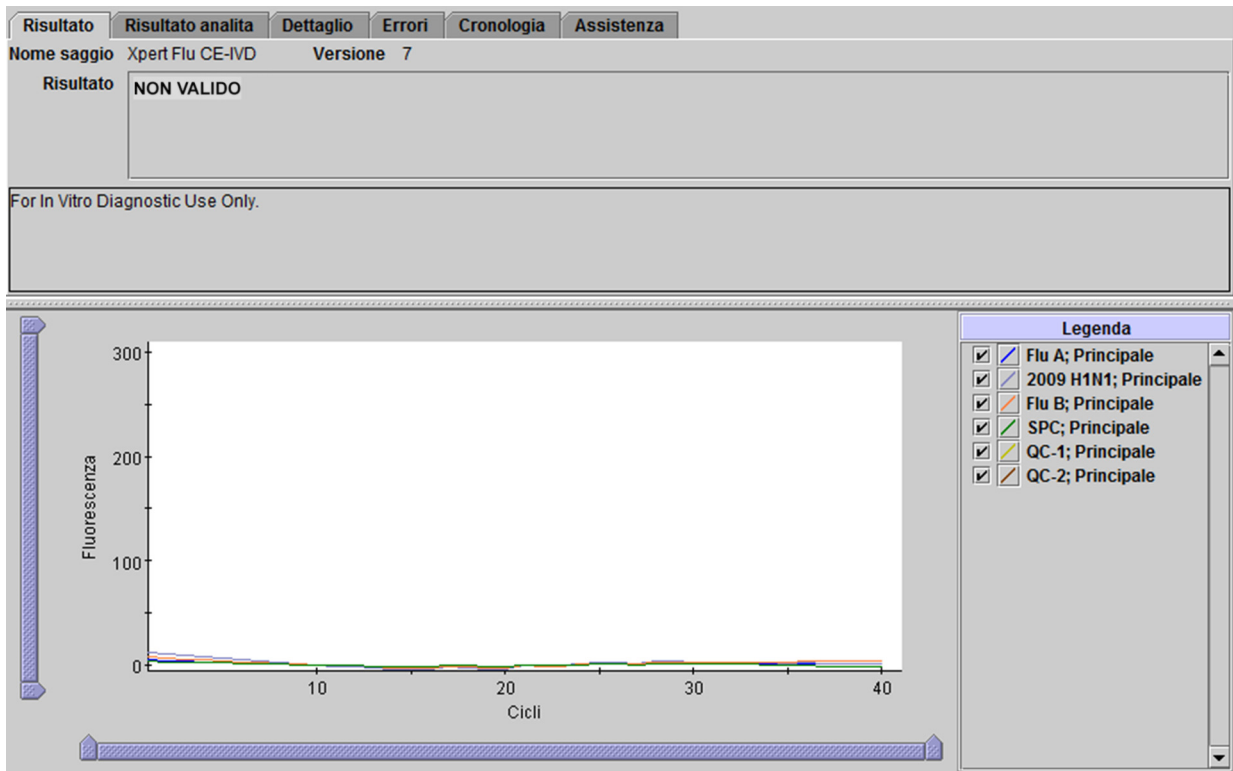


Figura 6. Finestra Visualizza risultati (View Results) di GeneXpert Dx:
Esempio di Risultato non valido (l'SPC non soddisfa i criteri di accettazione)

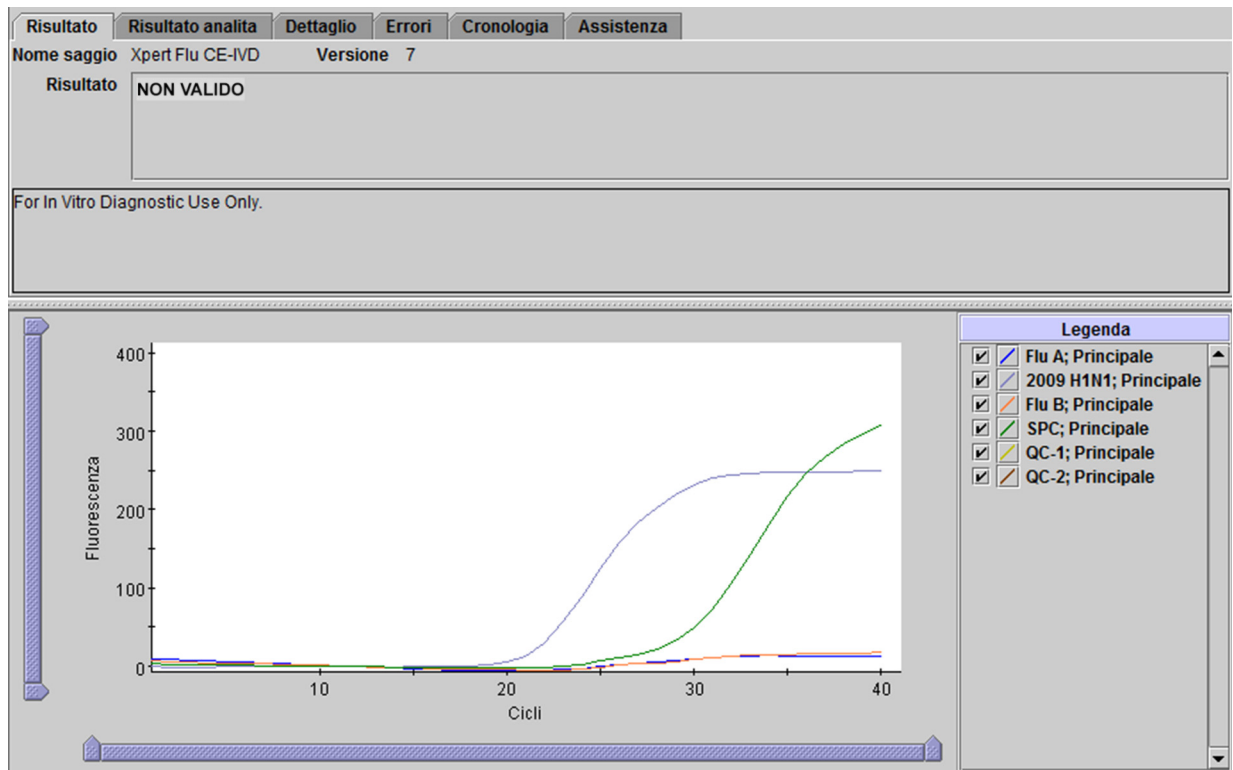


Figura 7. Finestra Visualizza risultati (View Results) di GeneXpert Dx:
Esempio di risultato non valido (Influenza A negativo e H1N1 2009 positivo)

Tabella 1. Risultati del saggio Xpert Flu e interpretazione

| Risultato | Interpretazione |
|--|--|
| POSITIVO all'influenza A (Flu A POSITIVE); 2009 H1N1 NON RILEVATO (2009 H1N1 NOT DETECTED); NEGATIVO all'influenza B (Flu B NEGATIVE) (Figura 2) | <p>RNA bersaglio dell'influenza A rilevato; 2009 RNA bersaglio dell'H1N1 non rilevato; RNA bersaglio dell'influenza B non rilevato.</p> <ul style="list-style-type: none"> Il bersaglio dell'influenza A ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima. SPC – non applicabile (NA); l'SPC viene ignorato poiché l'amplificazione del target dell'influenza A può interferire con questo controllo. Controllo sonda (Probe Check) – SUPERATO (PASS); tutti i risultati di verifica della sonda sono superati. |
| POSITIVO all'influenza A (Flu A POSITIVE); 2009 H1N1 RILEVATO (2009 H1N1 DETECTED); NEGATIVO all'influenza B (Flu B NEGATIVE) (Figura 3) | <p>RNA bersaglio dell'influenza A rilevato; 2009 RNA bersaglio dell'H1N1 rilevato; RNA bersaglio dell'influenza B non rilevato.</p> <ul style="list-style-type: none"> Il bersaglio dell'influenza A ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima. Il bersaglio dell'H1N1 2009 ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima. SPC – non applicabile (NA); l'SPC viene ignorato poiché l'amplificazione del target dell'influenza A e dell'H1N1 2009 può interferire con questo controllo. Controllo sonda (Probe Check) – SUPERATO (PASS); tutti i risultati di verifica della sonda sono superati. |
| NEGATIVO all'influenza A (Flu A NEGATIVE); 2009 H1N1 NON RILEVATO (2009 H1N1 NOT DETECTED); POSITIVO all'influenza B (Flu B POSITIVE) (Figura 4) | <p>RNA bersaglio dell'influenza A non rilevato; 2009 RNA bersaglio dell'H1N1 non rilevato; RNA bersaglio dell'influenza B rilevato.</p> <ul style="list-style-type: none"> Il bersaglio dell'influenza B ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima. SPC – non applicabile (NA); l'SPC viene ignorato poiché l'amplificazione del target dell'influenza B può interferire con questo controllo. Controllo sonda (Probe Check) – SUPERATO (PASS); tutti i risultati di verifica della sonda sono superati. |
| NEGATIVO all'influenza A (Flu A NEGATIVE); 2009 H1N1 NON RILEVATO (2009 H1N1 NOT DETECTED); NEGATIVO all'influenza B (Flu B NEGATIVE) (Figura 5) | <p>RNA bersaglio dell'influenza A non rilevato; 2009 RNA bersaglio dell'H1N1 non rilevato; RNA bersaglio dell'influenza B non rilevato. L'SPC soddisfa i criteri di accettazione.</p> <ul style="list-style-type: none"> RNA bersaglio dell'influenza A, dell'H1N1 2009 e dell'influenza B non rilevati. SPC – SUPERATO (PASS); l'SPC presenta un Ct entro l'intervallo di validità e un endpoint di al di sopra del valore minimo. Controllo sonda (Probe Check) – SUPERATO (PASS); tutti i risultati di verifica della sonda sono superati. |

Nota I due risultati seguenti, sebbene possibili, rappresentano rare infezioni miste.

| Risultato | Interpretazione |
|--|--|
| POSITIVO all'influenza A (Flu A POSITIVE); 2009 H1N1 NON RILEVATO (2009 H1N1 NOT DETECTED); POSITIVO all'influenza B (Flu B POSITIVE) | <p>RNA bersaglio dell'influenza A rilevato; 2009 RNA bersaglio dell'H1N1 non rilevato; RNA bersaglio dell'influenza B rilevato.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Il bersaglio dell'influenza A ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima. • Il bersaglio dell'influenza B ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima. • SPC – non applicabile (NA); l'SPC viene ignorato poiché l'amplificazione del target dell'influenza A e dell'H1N1 2009 può interferire con questo controllo. • Probe Check (Controllo sonda) – SUPERATO (PASS); tutti i risultati di verifica della sonda sono superati. |
| POSITIVO all'influenza A (Flu A POSITIVE); 2009 H1N1 RILEVATO (2009 H1N1 DETECTED); POSITIVO all'influenza B (Flu B POSITIVE) | <p>RNA bersaglio dell'influenza A rilevato; 2009 RNA bersaglio dell'H1N1 rilevato; RNA bersaglio dell'influenza B rilevato.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Il bersaglio dell'influenza A ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima. • Il bersaglio dell'H1N1 2009 ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima. • Il bersaglio dell'influenza B ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima. • SPC – non applicabile (NA); l'SPC viene ignorato poiché l'amplificazione del target dell'influenza A e dell'influenza B può interferire con questo controllo. • Probe Check (Controllo sonda) – SUPERATO (PASS); tutti i risultati di verifica della sonda sono superati. |
| NON VALIDO (INVALID) (Figura 6 e Figura 7) | <ol style="list-style-type: none"> 1. L'SPC non soddisfa i criteri di accettazione. Non è possibile determinare la presenza o l'assenza degli RNA bersaglio (Figura 6). Ripetere il test secondo le istruzioni riportate nella Sezione 14.2, Procedura di ripetizione del test. <ul style="list-style-type: none"> • SPC – NON SUPERATO (FAIL); il risultato SPC è negativo, il valore Ct dell'SPC non rientra nell'intervallo di validità e l'endpoint è inferiore all'impostazione minima. • Probe Check (Controllo sonda) – SUPERATO (PASS); tutti i risultati di verifica della sonda sono superati. <p style="text-align: center;">oppure</p> 2. Non è possibile determinare la presenza o l'assenza dell'RNA bersaglio dell'H1N1 2009 (Figura 7). Ripetere il test secondo le istruzioni riportate nella Sezione 14.2, Procedura di ripetizione del test. <ul style="list-style-type: none"> • RNA bersaglio dell'influenza A e dell'influenza B non rilevato e RNA bersaglio dell'H1N1 2009 rilevato. • SPC – non applicabile (NA); l'SPC viene ignorato poiché un target è amplificato. • Probe Check (Controllo sonda) – SUPERATO (PASS); tutti i risultati di verifica della sonda sono superati. |
| ERRORE (ERROR) | <p>Non è possibile determinare la presenza o l'assenza degli RNA bersaglio dell'influenza A, dell'H1N1 2009 e dell'influenza B. Ripetere il test secondo le istruzioni riportate nella Sezione 14.2, Procedura di ripetizione del test.</p> <ul style="list-style-type: none"> • 2009 H1N1 – NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • Influenza A – NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • Influenza B – NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • SPC – NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • Probe Check (Controllo sonda) – NON SUPERATO (FAIL)^a; tutti o uno dei risultati di verifica della sonda non sono superati. |

| Risultato | Interpretazione |
|-------------------------------------|---|
| NESSUN RISULTATO (NO RESULT) | <p>Non è possibile determinare la presenza o l'assenza degli RNA bersaglio dell'influenza A, dell'H1N1 2009 e dell'influenza B. Ripetere il test secondo le istruzioni riportate nella Sezione 14.2, Procedura di ripetizione del test. Un risultato NESSUN RISULTATO (NO RESULT) indica che sono stati raccolti dati insufficienti. Per esempio, l'operatore ha interrotto un'analisi mentre era in corso.</p> <ul style="list-style-type: none"> • 2009 H1N1 – NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • Influenza A – NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • Influenza B – NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • SPC – NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • Probe Check (Controllo sonda) – non applicabile (NA). |

- a. Se la verifica della sonda è riuscita, l'errore deriva dal superamento del limite massimo di pressione rispetto all'intervallo accettabile o dal guasto di un componente del sistema.

14. Ripetere il test

14.1 Motivi per ripetere il saggio

Se si ottiene uno dei risultati riportati di seguito, ripetere il test attenendosi le istruzioni della Sezione 14.2, Procedura di ripetizione del test.

- Un risultato **NON VALIDO (INVALID)** indica uno o più dei seguenti casi:
 - Controllo SPC non riuscito;
 - RNA bersaglio dell'influenza A non rilevato e RNA bersaglio dell'H1N1 2009 rilevato;
 - Il campione non è stato trattato correttamente o la PCR è stata inibita.
- Il risultato **ERRORE (ERROR)** indica che il saggio è stato interrotto. Le cause possibili comprendono: riempimento errato della provetta di reazione; rilevamento di un problema di integrità della provetta del reagente; oppure superamento del limite massimo di pressione.
- Un risultato **NESSUN RISULTATO (NO RESULT)** indica che sono stati raccolti dati insufficienti. L'operatore, ad esempio, ha interrotto l'esecuzione di un test oppure si è verificata un'interruzione di corrente.

14.2 Procedura di ripetizione del test

Per ripetere il test di un risultato non determinato, adoperare una nuova cartuccia (non riutilizzare la stessa cartuccia utilizzata in precedenza).

Per tamponi nasofaringei NP, utilizzare 300 µL di campione di analisi rimasto nella provetta UTM originale.

Per aspirati/lavaggi nasali NA/W, utilizzare 300 µL di campione di analisi diluito rimasto nella provetta UTM da 3 mL.

1. Togliere la nuova cartuccia dal kit.
2. Mescolare il campione di analisi capovolgendo cinque volte la provetta.
3. Aprire il coperchio della cartuccia. Adoperando una pipetta di trasferimento pulita da 300 µL (fornita), trasferire 300 µL di campione di analisi diluito (una aspirazione) nella camera della cartuccia con l'apertura grande (vedere Figura 1).
4. Chiudere il coperchio della cartuccia.

15. Limitazioni

- Le prestazioni del saggio Xpert Flu sono state convalidate solo tramite le procedure fornite in questo foglietto illustrativo. Le modifiche apportate a queste procedure possono alterare le prestazioni dell'analisi.
- Si consiglia di adottare le buone pratiche di laboratorio e di cambiare i guanti per maneggiare campioni di analisi diversi al fine di evitare la contaminazione di tali campioni o dei reagenti.
- I risultati del saggio Xpert Flu devono essere interpretati contestualmente agli altri dati clinici e di laboratorio a disposizione del medico.
- Si possono ottenere risultati del test erronei come conseguenza di una raccolta dei campioni di analisi inadeguata, della mancata osservanza delle procedure consigliate per la raccolta, la manipolazione e la conservazione dei campioni, di errori tecnici, di commistione dei campioni o a causa di una presenza di organismi nel campione di analisi troppo esigua per essere rilevata dal test. La stretta osservanza delle istruzioni del presente foglietto illustrativo è necessaria per evitare risultati erronei.
- I risultati negativi non precludono la possibilità di infezione da virus influenzale e non devono essere usati come unica base per il trattamento o per le decisioni riguardanti la gestione di altri pazienti.
- I risultati del saggio Xpert Flu devono essere correlati all'anamnesi, ai dati epidemiologici e agli altri dati a disposizione del medico che valuta il paziente.
- L'acido nucleico virale può persistere *in vivo*, indipendentemente dalla vitalità del virus. Il rilevamento del bersaglio o dei bersagli degli analiti non implica che il virus o i virus corrispondenti siano infettivi o siano gli agenti eziologici dei sintomi clinici.
- Questo test è stato valutato esclusivamente per l'uso con materiale derivante da campioni umani.
- Se il virus dell'influenza subisce una mutazione nella regione bersaglio, potrebbe non essere rilevato o potrebbe essere rilevato in modo meno prevedibile.
- Questo è un test qualitativo e non fornisce il valore quantitativo dell'organismo rilevato.
- Questo test non è stato valutato per pazienti che non mostrano segni e sintomi di infezione influenzale.
- Questo test non è stato valutato per il monitoraggio del trattamento dell'infezione influenzale.
- Questo test non è stato valutato per lo screening del sangue o dei prodotti ematici per il rilevamento della presenza di un'infezione influenzale.
- Questo test non è in grado di determinare malattie causate da altri agenti patogeni batterici o virali.
- L'effetto delle sostanze interferenti è stato valutato solo per le sostanze elencate nel presente documento. L'interferenza di sostanze diverse da quelle riportate nel presente documento può causare risultati erronei.
- La cross-reattività con gli organismi delle vie respiratorie diversi da quelli riportati nel presente documento può causare risultati erronei.
- Questo saggio non è stato valutato per pazienti che ricevono vaccini influenzali somministrati per via intranasale.
- Questo saggio non è stato valutato per individui immunocompromessi.

16. Caratteristiche prestazionali

16.1 Prestazioni cliniche

Le caratteristiche prestazionali del saggio Xpert Flu sono state valutate in quattro istituti negli Stati Uniti. A causa della bassa prevalenza dei virus influenzali e della difficoltà nell'ottenere campioni di analisi freschi positivi all'influenza, la popolazione di campioni di analisi per questo studio è stata incrementata con l'aggiunta di campioni di analisi congelati e conservati in archivio.

I soggetti comprendevano individui la cui terapia abituale prevedeva il prelievo di campioni di analisi di aspirati/lavaggi nasali o tamponi nasofaringei per l'analisi dell'influenza. Per i soggetti idonei allo studio, sono state ottenute aliquote di campioni residui da analizzare con il saggio Xpert Flu e con i test di riferimento, continuando la gestione dei pazienti presso il sito in base alle procedure standard.

Le prestazioni del saggio Xpert Flu (ai fini di questa sezione Prestazioni cliniche, esso viene chiamato nuovo saggio Xpert Flu) sono state confrontate a quelle del saggio Xpert Flu correntemente venduto negli Stati Uniti (ai fini di questa sezione Prestazioni cliniche, esso viene chiamato saggio Xpert Flu). Per risolvere eventuali discrepanze fra i saggi è stato eseguito il sequenziamento bi-direzionale.

16.2 Risultati complessivi

In totale sono stati analizzati 482 campioni (255 tamponi NP e 227 NA/W) con entrambi i saggi Xpert Flu.

Rispetto al precedente saggio Xpert Flu, il nuovo saggio Xpert Flu ha dimostrato una concordanza positiva e negativa per il rilevamento dell'influenza A in tamponi nasofaringei NP del 100% e del 98,6%, rispettivamente (tabella 2). La concordanza positiva e negativa del nuovo saggio Xpert Flu per il sottotipo H1N1 2009 dell'influenza A con tamponi nasofaringei NP è risultata pari al 100% e al 99,6% (tabella 3). La concordanza positiva e negativa del nuovo saggio Xpert Flu per l'influenza B con tamponi nasofaringei NP è risultata rispettivamente pari al 100% e al 95,7% (tabella 4).

Tabella 2. Prestazioni del nuovo saggio Xpert Flu su campioni di analisi di tamponi nasofaringei NP: Influenza A

| | | Xpert Flu | | |
|-----------------------|-----------------------|---------------------------|-------------------------|--------|
| | | Pos | Neg | Totale |
| Nuovo Xpert Flu | Pos | 48 | 3 ^a | 51 |
| | Neg | 0 | 204 | 204 |
| | Totale | 48 | 207 | 255 |
| | Concordanza positivi: | | 100% (95% IC: 94,7-100) | |
| Concordanza negativi: | | 98,6% (95% IC: 95,8-99,5) | | |

- a. Risultati discrepanti delle analisi per sequenziamento: 3 di 3 Influenza A positivo (1 di 3 è risultato a sua volta positivo all'H1N1).

Tabella 3. Prestazioni del nuovo saggio Xpert Flu su campioni di analisi di tamponi nasofaringei NP: Influenza A, 2009 H1N1

| | | Xpert Flu | | |
|-----------------------|-----------------------|---------------------------|-------------------------|--------|
| | | Pos | Neg | Totale |
| Nuovo Xpert Flu | Pos | 21 | 1 ^a | 22 |
| | Neg | 0 | 233 | 233 |
| | Totale | 21 | 234 | 255 |
| | Concordanza positiva: | | 100% (95% IC: 88,6-100) | |
| Concordanza negativa: | | 99,6% (95% IC: 97,6-99,9) | | |

- a. Risultati discrepanti delle analisi per sequenziamento: 1 di 1 H1N1 positivo.

Tabella 4. Prestazioni del nuovo saggio Xpert Flu su campioni di analisi di tamponi nasofaringei NP: influenza B

| | | Xpert Flu | | |
|-----------------------|-----------------------|---------------------------|-------------------------|--------|
| | | Pos | Neg | Totale |
| Nuovo Xpert Flu | Pos | 67 | 8 ^a | 75 |
| | Neg | 0 | 180 | 180 |
| | Totale | 67 | 188 | 255 |
| | Concordanza positiva: | | 100% (95% IC: 96,1-100) | |
| Concordanza negativa: | | 95,7% (95% IC: 91,8-97,8) | | |

- a. Risultati discrepanti delle analisi per sequenziamento: 8 di 8 Influenza B positivo.

Rispetto al precedente saggio Xpert Flu, il nuovo saggio Xpert Flu ha dimostrato una concordanza positiva e negativa per il rilevamento dell'influenza A in campioni di analisi di aspirati/lavaggi nasali NA/W del 100% e del 96,0%, rispettivamente (tabella 5). La concordanza positiva e negativa del nuovo saggio Xpert Flu per il sottotipo H1N1 2009 dell'influenza A con campioni di analisi di aspirati/lavaggi nasali NA/W è risultata 100% e 99,5% (tabella 6). La concordanza positiva e negativa del nuovo saggio Xpert Flu per l'influenza B con campioni di analisi di aspirati/lavaggi nasali NA/W è risultata pari al 100% e al 98%, rispettivamente (tabella 7).

Tabella 5. Prestazioni del nuovo saggio Xpert Flu su campioni di analisi di aspirati/lavaggi nasali NA/W: Influenza A

| Nuovo Xpert Flu | Xpert Flu | | |
|-----------------------|-----------|---------------------------|--------|
| | Pos | Neg | Totale |
| Pos | 101 | 5 ^a | 106 |
| Neg | 0 | 121 | 121 |
| Totale | 101 | 126 | 227 |
| Concordanza positiva: | | 100% (95% IC: 97,4-100) | |
| Concordanza negativa: | | 96,0% (95% IC: 91,1-98,3) | |

a. Risultati discrepanti delle analisi per sequenziamento: 5 di 5 Influenza A positivo (1 di il 5 è risultato a sua volta positivo all'H1N1).

Tabella 6. Prestazioni del nuovo saggio Xpert Flu su campioni di analisi di aspirati/lavaggi nasali NA/W: Influenza A, 2009 H1N1

| Nuovo Xpert Flu | Xpert Flu | | |
|-----------------------|-----------|---------------------------|--------|
| | Pos | Neg | Totale |
| Pos | 20 | 1 ^a | 21 |
| Neg | 0 | 206 | 206 |
| Totale | 20 | 207 | 227 |
| Concordanza positiva: | | 100% (95% IC: 88,1-100) | |
| Concordanza negativa: | | 99,5% (95% IC: 97,3-99,9) | |

a. Risultati discrepanti delle analisi per sequenziamento: 1 di 1 H1N1 positivo.

Tabella 7. Prestazioni del nuovo saggio Xpert Flu su campioni di analisi di aspirati/lavaggi nasali NA/W: influenza B

| Nuovo Xpert Flu | Xpert Flu | | |
|-----------------------|-----------|---------------------------|--------|
| | Pos | Neg | Totale |
| Pos | 47 | 2 ^a | 49 |
| Neg | 0 | 178 | 178 |
| Totale | 47 | 180 | 227 |
| Concordanza positiva: | | 100% (95% IC: 94,6-100) | |
| Concordanza negativa: | | 98,9% (95% IC: 96,0-99,7) | |

a. Risultati discrepanti delle analisi per sequenziamento: 2 di 2 Influenza B positivo.

17. Prestazioni analitiche

17.1 Sensibilità analitica (limite di rilevamento)

Sono stati eseguiti studi per determinare il limite di rilevamento (LoD) analitico di 2 ceppi di influenza A (H1N1) stagionale, 2 ceppi di influenza A (H3N2) stagionale, 2 ceppi di influenza A H1N1 2009 e 2 ceppi di influenza B diluiti in una matrice nasofaringea surrogata. Il limite di rilevamento (LoD) è definito come la concentrazione più bassa (dose infettante in coltura tissutale [TCID]₅₀/mL) per campione che è possibile distinguere in maniera riproducibile da campioni negativi con un intervallo di confidenza del 95% oppure la concentrazione più bassa alla quale 19 su 20 repliche sono risultate positive. Ogni ceppo è stato analizzato in repliche di 20 per concentrazione di virus.

Il limite di rilevamento è stato determinato in modo empirico come la prima concentrazione che ha prodotto 19 su 20 o 20 su 20 risultati positivi. I punti del limite di rilevamento (LoD) per ogni ceppo analizzato sono riepilogati dalla tabella 8 alla tabella 11.

Tabella 8. LoD (TCID₅₀/mL) – Influenza A stagionale H1N1

| ID ceppo - Sottotipo influenza A H1N1 | LoD confermato (TCID ₅₀ /mL) [almeno 19/20 positivi] | Regressione probit (TCID ₅₀ /mL) | | |
|---------------------------------------|---|---|------------------|------------------|
| | | LoD Stima puntuale | IC 95% inferiore | IC 95% superiore |
| A/Brisbane/59/07 | 0,2 (19/20) | 0,2 | 0,14 | 0,23 |
| A/New Caledonia/20/1999 | 30 (20/20) | 12,7 | 10,4 | 17,01 |

Tabella 9. LoD (TCID₅₀/mL) – Influenza A stagionale H3N2

| ID ceppo - Sottotipo influenza A H3N2 | LoD confermato (TCID ₅₀ /mL) [almeno 19/20 positivi] | Regressione probit (TCID ₅₀ /mL) | | |
|---------------------------------------|---|---|------------------|------------------|
| | | LoD Stima puntuale | IC 95% inferiore | IC 95% superiore |
| A/Perth/16/2009 | 1 (20/20) | 0,2 | 0,1 | 0,3 |
| A/Victoria/361/2011 | 0,5 (20/20) | 0,4 | 0,3 | 0,6 |

Tabella 10. LoD (TCID₅₀/mL) – Influenza A 2009 H1N1

| ID ceppo - Sottotipo influenza A 2009 H1N1 | LoD confermato (TCID ₅₀ /mL) [almeno 19/20 positivi] | Regressione probit (TCID ₅₀ /mL) | | |
|--|---|---|------------------|------------------|
| | | LoD Stima puntuale | IC 95% inferiore | IC 95% superiore |
| A/SwineNY/01/2009 | 0,5 (20/20) | 0,4 | 0,3 | 0,6 |
| A/SwineCanada/6294 | 100 (20/20) | 93,3 | 82,5 | 113,3 |

Tabella 11. LoD (TCID₅₀/mL) – Influenza B

| ID ceppo - influenza B | LoD confermato (TCID ₅₀ /mL) [almeno 19/20 positivi] | Regressione probit (TCID ₅₀ /mL) | | |
|------------------------|---|---|------------------|------------------|
| | | LoD Stima puntuale | IC 95% inferiore | IC 95% superiore |
| B/Florida/07/04 | 0,9 (20/20) | 0,4 | 0,3 | 0,5 |
| B/Wisconsin/01/10 | 25 (19/20) | 18,1 | 14,2 | 26,9 |

17.2 Specificità analitica (esclusività)

La specificità analitica del saggio Xpert Flu è stata valutata analizzando un pannello di 40 colture costituite da 18 ceppi virali, 21 ceppi batterici e 1 ceppo di lievito che rappresentano i patogeni respiratori comuni o quelli potenzialmente rilevati nel tratto nasofaringeo. Sono state analizzate tre repliche di tutti i ceppi batterici e di lievito a concentrazioni $\geq 10^6$ UFC/mL. Sono state analizzate tre repliche di tutti i virus a concentrazioni $\geq 10^4$ TCID₅₀/mL. Acidi nucleici purificati (copie/mL) sono stati analizzati per un ceppo virale (Cytomegalovirus) e per un ceppo batterico (*Bordetella pertussis*). La specificità analitica è stata del 100%. I risultati sono riportati nella tabella 12.

Tabella 12. Specificità analitica del saggio Xpert Flu^a

| Ceppo | Concentrazione (per cartuccia) | Influenza A | Influenza A 2009 H1N1 | Influenza B |
|-----------------------------------|--|-------------|-----------------------|-------------|
| Adenovirus tipo 7A | 1,1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL | - | - | - |
| Adenovirus tipo 1 | 1,0x10 ⁷ TCID ₅₀ /mL | - | - | - |
| Coronavirus umano 229E | 2,5x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL | - | - | - |
| Coronavirus umano OC43 | 5,6x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL | - | - | - |
| Cytomegalovirus ^b | 4,7x10 ⁷ Copie /mL | - | - | - |
| Enterovirus tipo 71 | 3,5x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL | - | - | - |
| Virus di Epstein-Barr | 7,1x10 ⁸ TCID ₅₀ /mL | - | - | - |
| Parainfluenzavirus tipo 1 | 1,1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL | - | - | - |
| Parainfluenzavirus tipo 2 | 3,1x10 ⁷ TCID ₅₀ /mL | - | - | - |
| Parainfluenzavirus tipo 3 | 1,9x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL | - | - | - |
| Virus del morbillo | 6,3x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL | - | - | - |
| Metapneumovirus umano | 3,8x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL | - | - | - |
| Virus della parotite | 6,3x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL | - | - | - |
| Virus respiratorio sinciziale A | 5,3x10 ⁷ TCID ₅₀ /mL | - | - | - |
| Virus respiratorio sinciziale B | 1,2x10 ⁷ TCID ₅₀ /mL | - | - | - |
| HSV umano tipo 1 | 3,1x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL | - | - | - |
| Rhinovirus umano tipo 4 | 1,2x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL | - | - | - |
| Echovirus 11 | 3,3x10 ⁸ TCID ₅₀ /mL | - | - | - |
| Bordetella pertussis ^c | 5000 ng/mL | - | - | - |
| Chlamydia pneumoniae | 5x10 ⁶ UFC/mL | - | - | - |
| Corynebacterium xerosis | 1x10 ⁶ UFC/mL | - | - | - |
| Escherichia coli | 1x10 ⁶ UFC/mL | - | - | - |
| Proteus vulgaris | 1x10 ⁶ UFC/mL | - | - | - |
| Proteus mirabilis | 1x10 ⁶ UFC/mL | - | - | - |
| Klebsiella pneumoniae | 1x10 ⁶ UFC/mL | - | - | - |
| Haemophilus influenzae | 1x10 ⁶ UFC/mL | - | - | - |
| Lactobacillus crispatus | 1x10 ⁶ UFC/mL | - | - | - |
| Legionella pneumophila | 1x10 ⁶ UFC/mL | - | - | - |

Tabella 12. Specificità analitica del saggio Xpert Flu^a (continua)

| Ceppo | Concentrazione (per cartuccia) | Influenza A | Influenza A 2009 H1N1 | Influenza B |
|--|--------------------------------|-------------|-----------------------|-------------|
| Moraxella catarrhalis | 1x10 ⁶ UFC/mL | - | - | - |
| Mycobacterium tuberculosis (ceppo BCG) | 1x10 ⁶ UFC/mL | - | - | - |
| Mycoplasma pneumoniae | 1x10 ⁶ UFC/mL | - | - | - |
| Neisseria meningitides | 1x10 ⁶ UFC/mL | - | - | - |
| Neisseria cinneria | 1x10 ⁶ UFC/mL | - | - | - |
| Pseudomonas aeruginosa | 1x10 ⁶ UFC/mL | - | - | - |
| Staphylococcus aureus | 1x10 ⁶ UFC/mL | - | - | - |
| Staphylococcus epidermidis | 1x10 ⁶ UFC/mL | - | - | - |
| Streptococcus pneumoniae | 1x10 ⁶ UFC/mL | - | - | - |
| Streptococcus pyogenes | 1x10 ⁶ UFC/mL | - | - | - |
| Streptococcus salivarius | 1x10 ⁶ UFC/mL | - | - | - |
| Candida albicans | 1x10 ⁶ UFC/mL | - | - | - |

- a. La reattività crociata con altri ceppi di origine suina non è stata analizzata.
 b. L'acido nucleico è stato analizzato per Cytomegalovirus.
 c. L'acido nucleico è stato testato per *Bordetella pertussis*.

17.3 Reattività analitica (inclusività)

La reattività analitica del saggio Xpert Flu è stata valutata rispetto a quarantuno (41) ceppi dell'influenza A (sottotipi H1N1, H3N2, H5N2, H5N1 e H7N3), dell'influenza A H1N1 2009 e dell'influenza B. Di questi, sono stati inclusi il sottotipo H1N1 dell'influenza A (10), il sottotipo H3N2 dell'influenza A (8), il sottotipo H3N2v (2) dell'influenza A, il sottotipo H1N1 dell'influenza A (6), il sottotipo H5N1 dell'influenza A (1), il sottotipo H5N2 dell'influenza A (1), il sottotipo H7N3 (1) dell'influenza A e l'influenza B (12). Otto dei quarantuno ceppi di influenza valutati in questo studio sono stati analizzati a concentrazioni LoD mentre tutti gli altri ceppi sono stati analizzati utilizzando stock virali a 5-250 TCID₅₀/mL. Per ciascun ceppo sono state analizzate tre (3) repliche. I risultati sono riportati nella tabella 13.

Tabella 13. Reattività analitica (inclusività) del saggio Xpert Flu

| Ceppo | TCID ₅₀ /mL | Influenza A | Influenza A 2009 H1N1 | Influenza B |
|--|------------------------|-------------|-----------------------|-------------|
| A/Swine/Iowa/15/30 (Swine H1N1) | 50 | + | - | - |
| A/Mal/302/54 (H1N1) | 50 | + | - | - |
| A/New Jersey/8/76 (H1N1) | 250 | + | - | - |
| A/New York/55/2004 (H1N1) | 50 | + | - | - |
| A/PR/8/34 (H1N1) | 100 | + | - | - |
| A/Denver/1/57 (H1N1) | 250 | + | - | - |
| A/Brisbane/59/07 ^a (H1N1) | 0,2 | + | - | - |
| A/New Calendonia/20/1999 ^a (H1N1) | 30 | + | - | - |
| A/WS/33 (H1N1) | 5 | + | - | - |
| A/Taiwan/42/06 (H1N1) | 50 | + | - | - |
| A/Aichi/2/68 (H3N2) | 100 | + | - | - |
| A/Hawaii/15/2001 (H3N2) | 50 | + | - | - |

Tabella 13. Reattività analitica (inclusività) del saggio Xpert Flu (continua)

| Ceppo | TCID ₅₀ /mL | Influenza A | Influenza A 2009 H1N1 | Influenza B |
|---|------------------------|-------------|-----------------------|-------------|
| A/Hong Kong/8/68 (H3N2) | 50 | + | - | - |
| A/Port Chalmers/1/73 (H3N2) | 50 | + | - | - |
| A/Wisconsin/67/05 (H3N2) | 50 | + | - | - |
| A/Perth/16/2009 ^a (H3N2) | 1 | + | - | - |
| A/Victoria/361/2011 ^a (H3N2) | 0,5 | + | - | - |
| A/Brisbane/10/07 (H3N2) | 25 | + | - | - |
| A/Indiana/08/2011 (H3N2v) | 5 | + | - | - |
| A/Minnesota/11/2010 (H3N2v) | 250 | + | - | - |
| A/California/7/2009 (09 H1N1) | 0,5 | + | + | - |
| A/SwineNY/03/2009 (09 H1N1) | 250 | + | + | - |
| A/WI/929-S1 (09 H1N1) | 50 | + | + | - |
| A/Canada/6294 ^a (09 H1N1) | 100 | + | + | - |
| A/SwineNY/01/2009 ^a (09 H1N1) | 0,5 | + | + | - |
| A/SwineNY/02/2009 (09 H1N1) | 100 | + | + | - |
| A/Anhui/02/2005/PR8-IBCDC-RG5 (H5N1) ^b | 1,2e-4 ^b | + | - | - |
| A/pollo/NJ/15086-3/94 (H7N3) ^b | 1,2e-4 ^b | + | - | - |
| A/Anatra selvatica/WI/34/75 (H5N2) ^b | 3,9e-4 ^b | + | - | - |
| B/Allen/45 | 50 | - | - | + |
| B/Florida/04/06 | 50 | - | - | + |
| B/Florida/02/06 | 25 | - | - | + |
| B/GL/1739/54 | 50 | - | - | + |
| B/Hong Kong/5/72 | 250 | - | - | + |
| B/Lee/40 | 50 | - | - | + |
| B/Malaysia/2506/04 | 50 | - | - | + |
| B/Taiwan/2/62 | 50 | - | - | + |
| B/Maryland/1/59 | 5 | - | - | + |
| B/Panama/45/90 | 5 | - | - | + |
| B/Florida/07/04 ^a | 0,9 | - | - | + |
| B/Wisconsin/01/2010 ^a | 25 | - | - | + |

a. Ceppi (n=8) usati nello studio LoD analitico (D16266) e analizzati alla concentrazione al limite di rilevamento.

b. Concentrazione espressa in picogrammi/μL.

17.4 Studio sulle sostanze interferenti

In uno studio non clinico, le sostanze potenzialmente interferenti che possono essere presenti nel tratto nasofaringeo sono state valutate direttamente in relazione alle prestazioni del saggio Xpert Flu. Le sostanze potenzialmente interferenti nel tratto nasofaringeo possono comprendere ma non esclusivamente: sangue, secrezioni nasali o muco e medicazioni nasali o faringee usate per alleviare congestione, secchezza nasale, irritazione o asma e sintomi allergici, nonché antibiotici e antivirali. Queste sostanze sono elencate nella tabella 11 insieme alle concentrazioni e ai principi attivi analizzati.

Campioni negativi (n=8) sono stati analizzati in ciascuna sostanza per determinare l'effetto sulle prestazioni del controllo per il trattamento dei campioni (SPC). Campioni positivi (n=8) sono stati analizzati per sostanze con 2 ceppi di influenza A H1N1 stagionale (A/Brisbane/59/07 e A/New Caledonia/20/1999), 2 ceppi di influenza A H3N2 stagionale (A/Perth/16/09 e A/Victoria/361/2011), 2 ceppi di influenza A 2009 H1N1 (A/SwineNY/01/2009 e A/SwineNY/02/2009) e 2 ceppi di influenza B (B/Wisconsin/01/2011 e B/Florida/07/04) con spike vicino al LoD analitico determinato per ciascun isolato.

Tutti i risultati sono stati confrontati con controlli positivi e negativi preparati in un terreno di trasporto universale (UTM). Tutti i campioni di analisi positivi e negativi sono stati correttamente referenziati utilizzando il saggio Xpert Flu.

Nessuna delle sostanze potenzialmente interferenti ha prodotto una differenza Ct di ≥ 1 ciclo rispetto ai controlli tampone e non è stato riportato alcun risultato falso-negativo.

Nessuna delle sostanze potenzialmente interferenti ha avuto un effetto inibitorio statisticamente significativo sulle prestazioni SPC nei campioni negativi (valore $p = >0,05$).

Tutti i campioni di analisi positivi all'influenza A sono stati correttamente referenziati "**POSITIVO all'influenza A (Flu A POSITIVE); 2009 H1N1 NON RILEVATO (2009 H1N1 NOT DETECTED); NEGATIVO all'influenza B (Flu B NEGATIVE)**" utilizzando il saggio Xpert Flu.

Tutti i campioni di analisi positivi all'influenza A H1N1 2009 sono stati correttamente referenziati "**POSITIVO all'influenza A (Flu A POSITIVE); 2009 H1N1 RILEVATO (2009 H1N1 DETECTED); NEGATIVO all'influenza B (Flu B NEGATIVE)**" utilizzando il saggio Xpert Flu.

Tutti i campioni di analisi positivi all'influenza B sono stati correttamente referenziati "**NEGATIVO all'influenza A (Flu A NEGATIVE); 2009 H1N1 NON RILEVATO (2009 H1N1 NOT DETECTED); POSITIVO all'influenza A (Flu B POSITIVE)**" utilizzando il saggio Xpert Flu.

Tabella 14. Sostanze potenzialmente interferenti nel saggio Xpert Flu

| Sostanza | Descrizione/Principio attivo | Concentrazione analizzata |
|--|--|---------------------------|
| Sangue (umano) | N/A | 1% (v/v) |
| Mucina | Proteina mucina purificata (ghiandola submandibolare bovina o suina) | 2,5% (p/v) |
| Gocce nasali Neo-Synephrine® | Fenilefrina cloridrato | 15% (v/v) |
| Spray nasale Anefrin | Oximetazolina cloridrato | 15% (v/v) |
| Zicam® Gel nasale | Luffa operculata, Galphimia glauca, Histaminum hydrochloricum, zolfo | 15% (v/v) |
| Spray nasale salino | Cloruro di sodio con conservanti | 15% (v/v) |
| Unguento nasale antibiotico | Mupirocina | 10 mg/mL |
| Antibatterico sistemico | Tobramicina | 4,0 µg/mL |
| Antivirale | Oseltamivir fosfato (Tamiflu®) | 7,5 mg/mL |
| Pasticche per la gola, analgesico e anestetico orale | Mentolo | 1,7 mg/mL |

17.5 Studio sulla contaminazione da carry-over

È stato condotto uno studio allo scopo di dimostrare che l'impiego delle cartucce chiuse monouso GeneXpert previene la contaminazione da trascinarsi nelle sessioni di campioni negativi, successive a sessioni con campioni caratterizzati da valori positivi molto elevati all'interno dello stesso modulo GeneXpert. Nello studio, un campione negativo è stato trattato nello stesso modulo GeneXpert subito dopo un campione con livello di positività molto elevato al sottotipo H1N1 2009 dell'influenza A (circa 10^6 TCID₅₀/test) o all'influenza B (circa 10^6 TCID₅₀/test). Questo schema di analisi è stato ripetuto 20 volte su un singolo modulo GeneXpert per un totale di 41 sessioni analitiche, che hanno prodotto 20 campioni di analisi positivi e 21 campioni di analisi negativi. Tutti i 20 campioni positivi sono stati referenziati correttamente **POSITIVO all'influenza A (Flu A POSITIVE); H1N1 RILEVATO (2009 H1N1 DETECTED); POSITIVO all'influenza B (Flu B POSITIVE)**. Tutti i 20 campioni negativi sono stati referenziati correttamente **NEGATIVO all'influenza A (Flu A NEGATIVE); H1N1 NON RILEVATO (2009 H1N1 NOT DETECTED); NEGATIVO all'influenza B (Flu B NEGATIVE)**.

18. Riferimenti bibliografici

1. Petric M, Comanor L, Petti CA. Role of the laboratory in diagnosis of influenza during seasonal epidemics and potential pandemics. *J Infect Dis.* 2006;194:S98-110.
2. Schweiger B, Zadow I, Heckler R, et al. Application of a fluorogenic PCR assay for typing and subtyping of influenza viruses in respiratory samples. *J Clin Micro.* 2000;38:1552-1558.
3. Center for Disease Control and Prevention, Seasonal Influenza. <http://www.cdc.gov>
4. Accessed on September 19, 2012.
5. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
6. Interim Biosafety Guidance for All Individuals Handling Clinical Specimens or Isolates Containing 2009-H1N1 influenza A Virus (Novel H1N1), including Vaccine Strains, August 15, 2009; (http://www.cdc.gov/h1n1flu/guidelines_labworkers.htm).
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
8. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
9. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

19. Localizzazione dei quartier generali Cepheid

Sede centrale globale

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
Stati Uniti
Telefono: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Sede centrale europea

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Francia
Telefono: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

20. Assistenza Tecnica

Prima di contattare l'Assistenza Tecnica di Cepheid, munirsi delle seguenti informazioni:

- Nome prodotto
- Numero di lotto
- Numero di serie dello strumento
- Messaggi di errore (se presenti)
- Versione del software e, se pertinente, codice riportato sull'etichetta di servizio del computer
















Informazioni di contatto

Stati Uniti
Telefono: + 1 888 838 3222
E-mail: techsupport@cepheid.com

Francia
Telefono: + 33 563 825 319
E-mail: support@cepheideurope.com

Le informazioni di contatto di tutti gli uffici di Assistenza Tecnica di Cepheid sono disponibili nel sito:
www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

21. Tabella dei simboli

| Simbolo | Significato |
|---|--|
|  | Numero di catalogo |
|  | Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i> |
|  | Marchio CE – Conformità europea |
|  | Non riutilizzare |
|  | Codice lotto |
|  | Consultare le istruzioni per l'uso |
|  | Attenzione |
|  | Produttore |
|  | Paese di produzione |
|  | Contenuto sufficiente per <n> test |
|  | Controllo |
|  | Data di scadenza |
|  | Limitazione della temperatura |
|  | Rischi biologici |
|  | Attenzione |



Cepheid AB
 Rontgenvagen 5
 SE-171 54 Solna
 Svezia
 Prodotto in Svezia

