

Xpert[®] Ebola

REF GXEBOLA-CE-10
GXEBOLA-CE-50

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries. All other trademarks are the property of their respective owners.

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

© 2015-2022 Cepheid.

Oświadczenia o znakach towarowych, patentach i prawach autorskich

Cepheid[®], logo Cepheid, GeneXpert[®] i Xpert[®] to znaki towarowe firmy Cepheid, zarejestrowane w USA i w innych krajach. Wszystkie inne znaki towarowe są własnością ich właścicieli.

NABYWCA TEGO PRODUKTU UZYSKUJE NIEZBYWALNE PRAWO DO UŻYWANIA TEGO PRODUKTU ZGODNIE Z NINIEJSZĄ INSTRUKCJĄ UŻYCIA. NABYWCA NIE UZYSKUJE ŻADNYCH INNYCH PRAW W SPOSÓB WYRAŹNY, DOROZUMIANY LUB PRZEZ ESTOPPEL. PONADTO NABYWCA TEGO PRODUKTU NIE UZYSKUJE ŻADNYCH PRAW DO ODSPRZEDAŻY TEGO PRODUKTU.

© 2015-2022 Cepheid.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden

Xpert[®] Ebola

Wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.

1 Nazwa zastrzeżona

Xpert[®] Ebola

2 Nazwa powszechna

Test Xpert Ebola

3 Przeznaczenie

Xpert Ebola to test wykorzystujący reakcję łańcuchową polimerazy z odwrotną transkrypcją (RT-PCR) w czasie rzeczywistym przeznaczony do wykrywania jakościowego RNA wirusa Ebola Zaire (wykrytego podczas epidemii w Afryce Zachodniej w 2014 roku) w próbkach żyłnej krwi pełnej EDTA, krwi obwodowej z opuszki palca lub wymazów policzkowych pobranych od osób z objawami przedmiotowymi i podmiotowymi choroby wywołanej przez wirus Ebola (EVD) z uwzględnieniem epidemiologicznych czynników ryzyka.

Badań przy pomocy testu Xpert Ebola nie należy wykonywać, chyba że pacjent spełnia kliniczne i epidemiologiczne kryteria badania podejrzewanych przypadków.

Wyniki umożliwiają domniemaną identyfikację wirusa Ebola Zaire. Ostateczna identyfikacja zakażenia wirusem Ebola Zaire wymaga wykonania dodatkowych badań i procedur potwierdzających w porozumieniu z organami zdrowia publicznego lub innymi władzami, którym należy zgłaszać tego typu przypadki. Diagnozę zakażenia wirusem Ebola Zaire należy postawić z uwzględnieniem wywiadu, objawów przedmiotowych, objawów podmiotowych, prawdopodobieństwa ekspozycji i innych danych laboratoryjnych, a także identyfikacji wirusa Ebola Zaire.

Wynik ujemny nie wyklucza zakażenia wirusem Ebola Zaire lub innym wirusem Ebola i nie powinien stanowić jedynej podstawy do podejmowania decyzji związanych z opieką nad pacjentem.

Miano wirusa Ebola w próbkach krwi i wymazów policzkowych pobranych od osób z wczesnym zakażeniem układowym jest nieznane. Z uwagi na trudności z uzyskaniem próbek klinicznych dodatnich pod kątem wirusa Ebola test Xpert Ebola oceniono z użyciem ograniczonej liczby próbek stworzonych na potrzeby testu z dodatkiem żywego wirusa Ebola Zaire lub RNA wirusa Ebola Zaire. Testu nie oceniono z użyciem próbek krwi ani wymazów policzkowych pobranych od osób z zakażeniem wirusem Ebola Zaire.

Powiadomienie organów zdrowia publicznego: o wszelkich przypadkach pacjentów z podejrzeniem EVD należy powiadomić lokalne i krajowe organy zdrowia publicznego. Badania potwierdzające wykonywane w laboratoriach organów zdrowia publicznego są konieczne w celu potwierdzenia wyników dodatnich i mogą być konieczne w celu potwierdzenia wyników ujemnych. Laboratoria powinny się konsultować z lokalnymi lub krajowymi organami zdrowia publicznego w sprawie wszelkich wyników dodatnich lub ujemnych testu Xpert Ebola, aby uzyskać informacje dotyczące konieczności wykonywania dodatkowych badań oraz odpowiedniego transportowania próbek.

4 Podsumowanie i objaśnienie

Choroba wywołana przez wirus Ebola (EVD) występowała sporadycznie na terenie Afryki Zachodniej przez dziesięciolecia w związku z epidemiami, jednak obecna epidemia jest jak dotąd największa. Do marca 2015 roku ponad 24 000 osób zostało zakażonych, a w wyniku zakażenia zmarło ponad 10 000 osób. EVD rozprzestrzeniła się z Afryki do USA i Europy. Obciążenie pracowników służby zdrowia w obszarach endemicznych jest również istotne z uwagi na współczynnik śmiertelności wynoszący ponad 50%.¹ Od momentu pierwszego wykrycia wirusa Ebola w 1976 roku opisano pięć gatunków wirusa Ebola: Zaire, Sudan, Côte d'Ivoire (Tai Forest), Bundibugyo i Reston. Spośród tych gatunków wirusa Ebola wirus Zaire Ebola rozprzestrzenił się na największym obszarze geograficznym i jest przyczyną ostatniej epidemii.

Test Xpert Ebola wykorzystuje technologię RT-PCR do uzyskania wysokiej czułości w celu wykrywania jakościowego w próbkach całkowitych kwasów nukleinowych wirusa Zaire Ebola.

Aby zapewnić dokładne wykrywanie, test Xpert Ebola wykrywa gen glikoproteiny (GP) i/lub gen nukleoproteiny (NP). Uważa się, że każda z sekwencji docelowych jest obecna w 100% znanego wirusa Ebola Zaire.

5 Zasada procedury

Xpert Ebola to szybki, zautomatyzowany test do wykrywania jakościowego wirusa Ebola Zaire. Test jest wykonywany na aparatach GeneXpert firmy Cepheid.

Aparaty GeneXpert automatyzują i integrują przygotowanie próbki, amplifikowanie kwasu nukleinowego oraz wykrywanie sekwencji docelowej w próbkach prostych lub złożonych przy pomocy reakcji PCR z odwrotną transkrypcją w czasie rzeczywistym. Systemy składają się z aparatu, komputera oraz wstępnie zainstalowanego oprogramowania umożliwiających wykonywanie badań i wyświetlanie wyników. Systemy wymagają stosowania jednorazowych kartridży GeneXpert, które zawierają odczynniki do reakcji PCR z odwrotną transkrypcją w czasie rzeczywistym oraz w których odbywają się reakcje odwrotnej transkrypcji w czasie rzeczywistym. Ponieważ kartridże są samowystarczalne, ryzyko zanieczyszczenia krzyżowego między próbkami jest zminimalizowane. Pełny opis systemów można znaleźć w odpowiedniej *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Dx* lub *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Infinity*.

Testu Xpert Ebola zawiera odczynniki umożliwiające wykrywanie całkowitych kwasów nukleinowych wirusa Zaire Ebola w próbkach, a także kontrolę adekwatności próbki i kontrolę wewnętrzną w celu zapewnienia odpowiedniego dodania próbki, przetwarzania sekwencji docelowych i monitorowania obecności substancji powodujących hamowanie reakcji odwrotnej transkrypcji i PCR. Kontrola sondy (PCC) weryfikuje nawadnianie odczynników, napełnienie próbki do PCR w kartridżu, integralność sondy i stabilność barwnika.

6 Odczynniki i aparaty

6.1 Materiały dostarczone



Zestawy testu Xpert Ebola zawierają odczynniki w ilości wystarczającej do przetworzenia 10 lub 50 próbek lub próbek kontroli jakości. Zestawy zawierają następujące elementy:

Kartridże testu GeneXpert Ebola ze zintegrowanymi komorami reakcyjnymi

- Kulka 1, kulka 2 i kulka 3 (liofilizowane)
- Odczynnik do płukania
- Odczynnik do elucji
- Odczynnik wiążący

10 na zestaw

- Po 1 na kartridż
- 0,5 ml na kartridż
- 2,0 ml na kartridż
- 2,0 ml na kartridż

50 na zestaw

- Po 1 na kartridż
- 0,5 ml na kartridż
- 2,0 ml na kartridż
- 2,0 ml na kartridż

Odczynnik do próbek Ebola (odczynnik do próbek)

- Odczynnik do lizy (tiocyanian guanidyny)

10 butelek na zestaw

- 10 × 2,5 ml na butelkę

50 butelek na zestaw

- 50 × 2,5 ml na butelkę

Jednorazowe pipety transferowe 1 ml

10 na zestaw

50 na zestaw

Płyta CD

1 na zestaw

1 na zestaw

Uwaga

Karty charakterystyki substancji niebezpiecznej (SDS) są dostępne na stronie internetowej www.cepheidinternational.com na karcie **WSPARCIE (SUPPORT)**.

Uwaga

Albumina surowicy bydłej (BSA) zawarta w kulkach w tym produkcie została uzyskana i wytworzona wyłącznie z osocza wołowego pochodzącego z USA. Zwierząt nie karmiono białkiem pochodzącym od przeżuwaczy ani białkiem pochodzącym od innych zwierząt; zwierzęta przebadano zarówno przed ubojem, jak i po nim. Podczas przetwarzania nie nastąpiło wymieszanie materiału z innymi materiałami pochodzącymi od zwierząt.

7 Przechowywanie i obsługa



- Kartridże i odczynniki testu Xpert Ebola należy przechowywać w temperaturze 2–28 °C.
- Nie używać żadnych odczynników, które uległy zmętnieniu lub przebarwieniu.
- Nie używać nieszczelnego kartridża, który przecieka.

8 Materiały wymagane, ale niedostarczone

- System GeneXpert Dx lub system GeneXpert Infinity (numer katalogowy zależy od konfiguracji): aparat GeneXpert, komputer z oprogramowaniem własnościowym GeneXpert w wersji 4.4a lub nowszej, Xpertise w wersji 6.2 lub nowszej, skaner kodów kreskowych i instrukcja obsługi.
- Drukarka: jeśli wymagana jest drukarka, informacji o zakupie zalecanej drukarki udzieli Centrum wsparcia klienta firmy Cepheid.
- Jednorazowe wymazówki (numer katalogowy SWAB/E-50)
- Wyrząsarka typu vortex
- Wybielacz chlorowy

9 Ostrzeżenia i środki ostrożności



- Wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.
- Wszystkie próbki biologiczne, w tym użyte kartridże, należy traktować jako mogące przenosić czynniki zakaźne. Ponieważ często niemożliwe jest określenie, która z próbek biologicznych może być zakaźna, wszystkie należy obsługiwać z zachowaniem standardowych środków ostrożności. Wytyczne dotyczące obsługi próbek można uzyskać w amerykańskiej agencji Centers for Disease Control and Prevention oraz w instytucie Clinical and Laboratory Standards Institute.
- O wszelkich przypadkach pacjentów z podejrzeniem choroby wywołanej przez wirus Ebola (EVD) należy powiadomić lokalne, regionalne i krajowe organy zdrowia publicznego. Badania potwierdzające wykonywane w laboratoriach organów zdrowia publicznego są konieczne w celu potwierdzenia wyników dodatnich i mogą być konieczne w celu potwierdzenia wyników ujemnych. Laboratoria powinny się konsultować z lokalnymi lub krajowymi organami zdrowia publicznego w sprawie wszelkich wyników dodatnich LUB ujemnych pod kątem EVD, aby uzyskać informacje dotyczące konieczności wykonywania dodatkowych badań oraz odpowiedniego transportowania próbek.
- Próbkę biologiczną, wyroby do przenoszenia i użyte kartridże należy traktować jako mogące przenosić czynniki zakaźne i wymagające zachowania standardowych środków ostrożności. Należy przestrzegać obowiązujących w placówce procedur dotyczących odpadów środowiskowych w zakresie odpowiedniego usuwania użytych kartridży i nieużytych odczynników. Te materiały mogą stanowić niebezpieczne odpady chemiczne, których usuwanie musi się odbywać zgodnie z krajowymi lub regionalnymi przepisami dotyczącymi usuwania. Jeśli krajowe lub regionalne przepisy nie regulują kwestii dotyczących odpowiedniego usuwania, wówczas próbki biologiczne i użyte kartridże należy usuwać zgodnie z wytycznymi Światowej Organizacji Zdrowia (World Health Organization, WHO) dotyczącymi obsługi i usuwania odpadów medycznych.
- Wszystkie wyniki powinny być interpretowane przez wyszkolonych profesjonalistów z uwzględnieniem klinicznych objawów przedmiotowych i podmiotowych oraz historii choroby pacjenta.
- Tego testu powinien używać wyłącznie wyszkolony personel.
- W przypadku jednoczesnego przetwarzania więcej niż jednej próbki należy otworzyć tylko jeden kartridż, dodać próbkę przygotowaną przy pomocy odczynnika do próbek i zamknąć kartridż, a następnie przejść do następnej próbki. Zmieniać rękawiczki między próbkami.
- Stosować jednorazowe rękawiczki ochronne, fartuchy laboratoryjne i ochronę oczu podczas obsługi próbek i odczynników. Dokładnie umyć ręce po użyciu próbek i odczynników testu.
- Przestrzegać procedur bezpieczeństwa obowiązujących w placówce w zakresie pracy z substancjami chemicznymi i obsługi próbek biologicznych.
- Nie wolno zastępować odczynników testu Xpert Ebola innymi odczynnikami.
- Nie wolno otwierać wieczka kartridża testu Xpert Ebola w celu innym niż dodanie próbki przygotowanej przy pomocy odczynnika do próbek.
- Nie używać kartridża, jeśli wygląda na mokry lub jeśli uszczelnienie wieczka wygląda na uszkodzone.
- Nie używać kartridża, który upadł po wyjęciu z opakowania.
- Nie wolno potrząsać kartridżem. Potrząsanie kartridżem lub jego upuszczenie po otwarciu wieczka kartridża może prowadzić do uzyskania nieważnych wyników.
- Nie używać kartridża, jeśli jego komora reakcyjna jest uszkodzona.
- Każdy jednorazowy kartridż testu Xpert Ebola służy do wykonania jednego badania. Nie używać ponownie zużytych kartridży.
- Jednorazowa pipeta służy do przeniesienia jednej próbki. Nie używać ponownie zużytych jednorazowych pipet.





- Jednorazowa wymazówka służy do pobrania i/lub przeniesienia jednej próbki. Nie używać ponownie zużytych jednorazowych wymazówek.
- Zestaw testu Xpert Ebola należy przechowywać w temperaturze 2–28 °C.

Uwaga

Przed rozpoczęciem wyjąć z zestawu butelkę zawierającą odczynnik do próbek i poczekać, aż osiągnie temperaturę pokojową. Patrz Ilustracja 1. Jeśli butelka nie była przechowywana w pozycji pionowej, upewnić się, że bufor znajduje się na dnie, mocno potrząsając butelkę.

Uwaga

Nosić jednorazowe rękawiczki. Oznaczyć butelkę z odczynnikami do próbek identyfikatorem próbki.

10 Zagrożenia chemiczne^{2,3}

- UN
- Hasło ostrzegawcze: OSTRZEŻENIE
- **Zwroty GHS ONZ wskazujące rodzaj zagrożenia**
 - Działa szkodliwie po połknięciu
 - Może działać szkodliwie w kontakcie ze skórą
 - Powoduje podrażnienie oczu
- **Zwroty GHS ONZ wskazujące środki ostrożności**
 - **Zapobieganie**
 - Dokładnie umyć po użyciu.
 - **Reagowanie**
 - W przypadku złego samopoczucia skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub z lekarzem.
 - W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
 - W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Kontynuować płukanie.
 - W przypadku utrzymywania się działania drażniącego na oczy: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.

11 Pobieranie, transportowanie i przechowywanie próbek**11.1 Krew pełna****Pobieranie**

Pobrać próbki krwi pełnej poprzez nakłucie żyły do probówek EDTA zgodnie z instrukcją użycia producenta. Do wykonania testu Xpert Ebola wymaganych jest co najmniej 100 µl krwi pełnej. Ewentualnie przy pomocy wymazówki (SWAB/E-50) pobrać próbki krwi z opuszki palca. Nasączyć krwią co najmniej 2/3 główki wymazówki. Niezwłocznie przenieść wymazówkę do butelki zawierającej odczynnik do próbek (patrz Ilustracja 1 oraz informacje dotyczące przygotowania próbki).

11.2 Wymaz policzkowy

Przy pomocy wymazówki (SWAB/E-50) pobrać próbki wymazów policzkowych zgodnie z wytycznymi WHO dotyczącymi pobierania wymazów z ust od pacjentów zakażonych wirusem Ebola.* Unikać dotykania końcówki wymazówki rękawiczkami lub dotykania nią jakichkolwiek powierzchni. W przypadku żywych pacjentów poprosić pacjenta o otwarcie ust i niezwłocznie przyłożyć końcówkę wymazówki do wewnętrznej strony policzka. Mocno pocierać, stosując okrężny ruch i stały nacisk, przez co najmniej 20 sekund całą główką wymazówki. W przypadku zmarłych pacjentów umieścić dłoń na podbródku i nacisnąć mocno w dół, aby nieznacznie otworzyć usta. Przyłożyć wymazówkę do wewnętrznej strony policzka i mocno pocierać, stosując okrężny ruch i stały nacisk, przez co najmniej 20 sekund całą główką wymazówki. Powtórzyć na drugim policzku, jeśli można uzyskać do niego dostęp.

* Numer referencyjny WHO: WHO/EVD/Guidance/Lab/14.2

Ważne Niezwłocznie rozpocząć przygotowywanie próbki, aby dezaktywować wirus Ebola.

Uwaga

Nosić jednorazowe rękawiczki. Oznaczyć butelkę z odczynnikami do próbek identyfikatorem próbki.

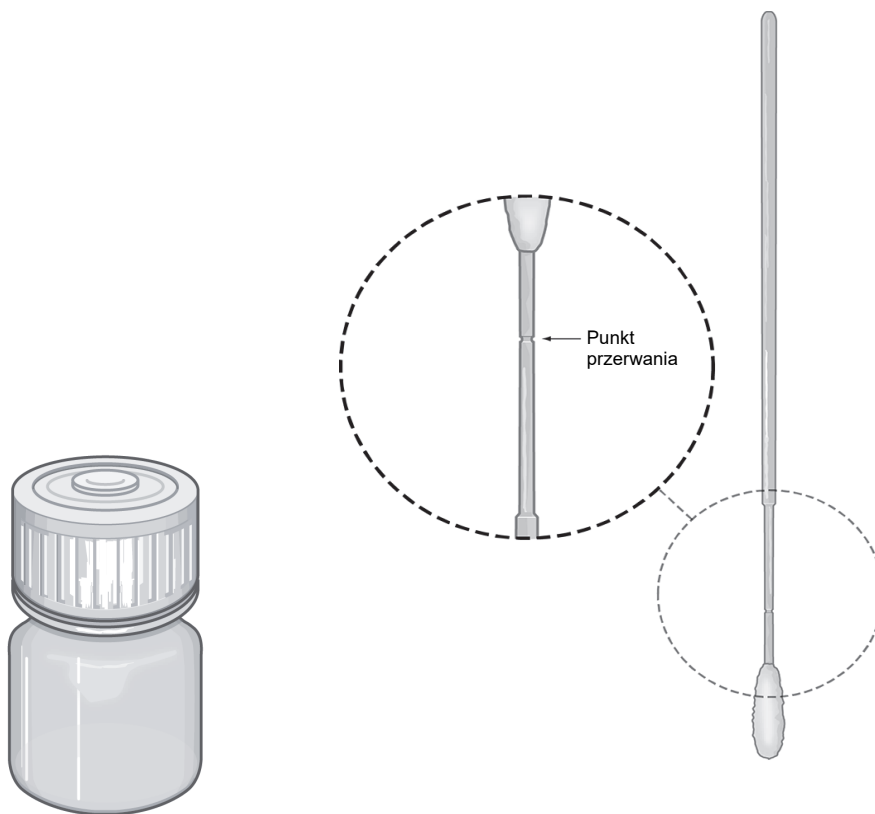
Przygotowanie próbki Żylna krew pełna pobrana do próbek EDTA: Otworzyć wieczko butelki z odczynnikami do próbek. Przenieść 0,1 ml krwi poprzez umieszczenie wymazówki (SWAB/E-50) w probówce EDTA i nasączenie jej krwią przez co najmniej 5 sekund, a następnie umieszczenie przygotowanej wymazówki w butelce z odczynnikami do próbek (patrz Ilustracja 1). Trzymając wymazówkę za trzon, ustawić w jednej linii niewielki rowek z krawędzią butelki. Złamać wymazówkę, wyginając ją w jedną stronę. Ewentualnie przy pomocy pipety automatycznej z końcówką z filtrem przenieść 0,1 ml krwi z próbki EDTA.

Wymaz policzkowy: Otworzyć wieczko butelki z odczynnikami do próbek. Umieścić przygotowaną wymazówkę w odczynniku do próbek (patrz Ilustracja 1). Trzymając wymazówkę za trzon, ustawić w jednej linii niewielki rowek z krawędzią butelki. Złamać wymazówkę, wyginając ją w jedną stronę.

Krew pobrana z opuszki palca: Przy pomocy wymazówki (SWAB/E-50) pobrać krew z opuszki palca i nasączyć ją 0,1 ml krwi. Upewnić się, że co najmniej 2/3 główki wymazówki jest pokryte krwią i przenieść próbkę, umieszczając przygotowaną wymazówkę w butelce z odczynnikami do próbek (patrz Ilustracja 1). Trzymając wymazówkę za trzon, ustawić w jednej linii niewielki rowek z krawędzią butelki. Złamać wymazówkę, wyginając ją w jedną stronę.

Uwaga Użyć sterylnej gazy w celu zminimalizowania ryzyka zanieczyszczenia.

Zamknąć wieczko butelki z odczynnikami do próbek i mieszać próbkę na wyrząsarce typu vortex przez 10 sekund. Inkubować w temperaturze pokojowej przez 20 minut.



Ilustracja 1. Butelka z odczynnikami do próbek testu Xpert Ebola i wymazówka do pobrania próbki wirusa Ebola

11.3 Transport i przechowywanie próbki



Próbki przygotowane przy pomocy odczynnika do próbek transportować do laboratoriów testowych w celu dalszego przetwarzania w pojedynczych, zamkniętych workach zgodnie z wytycznymi WHO dotyczącymi transportowania próbek wirusa Ebola pt. „How to safely collect blood samples from persons suspected to be infected with highly infectious blood-borne pathogens (e.g. Ebola)” (Bezpieczne pobieranie próbek krwi od osób z podejrzeniem zakażenia wysoce zakaźnymi patogenami krwiopochodnymi (np. wirusem Ebola)). Próbki przygotowane przy pomocy odczynnika do próbek można przechowywać przez maksymalnie 72 godziny w temperaturze 2–8 °C, przez maksymalnie 48 godzin w temperaturze maksymalnie 28 °C lub przez maksymalnie 24 godziny w temperaturze maksymalnie 35 °C. Próbki wymazów policzkowych przygotowane przy pomocy odczynnika do próbek można przechowywać przez maksymalnie 72 godziny w temperaturze 2–8 °C lub przez maksymalnie 24 godziny w temperaturze maksymalnie 28 °C.

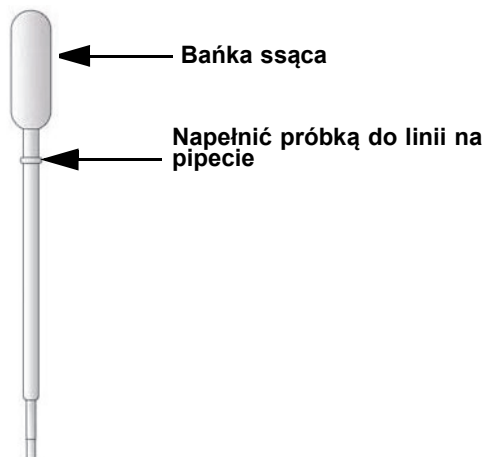
12 Procedura

12.1 Przygotowywanie kartridża

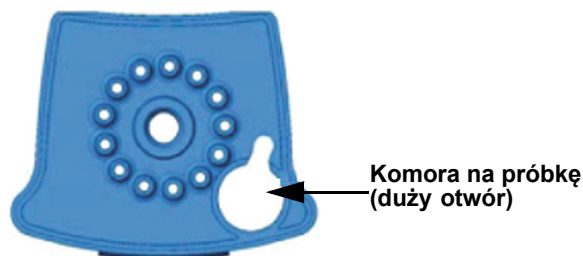
Uwaga Wewnętrzny pierścień kartridża testu składający się z portów jest zakryty cienką, plastikową folią. Tej folii nie należy usuwać.

Ważne Rozpocząć badanie w ciągu 30 minut od momentu dodania próbki do kartridża.

1. Stosować jednorazowe rękawice ochronne.
2. Sprawdzić kartridż testu pod kątem uszkodzeń. W razie zaobserwowania uszkodzenia nie używać.
3. Oznaczyć kartridż identyfikatorem próbki.
4. Otworzyć wieczko kartridża.
5. Przy pomocy pipety transferowej o pojemności 1 ml (patrz Ilustracja 2) lub pipety automatycznej z końcówką z filtrem przenieść 1 ml próbki przygotowanej przy pomocy odczynnika do próbek do komory na próbkę kartridża (patrz Ilustracja 3). **NIE** przelewać próbki do komory na próbkę.



Ilustracja 2. Pipeta transferowa o pojemności 1 ml testu Xpert Ebola



Ilustracja 3. Kartridż testu Xpert Ebola (widok z góry)

12.2 Rozpoczynanie badania

Ważne Przed rozpoczęciem badania należy się upewnić, że plik definicji testu (ADF) testu Xpert Ebola został zaimportowany do oprogramowania.

Niniejszy punkt zawiera opis podstawowych kroków umożliwiających wykonanie badania. Szczegółowe instrukcje można znaleźć w *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Dx* lub *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Infinity*, w zależności od używanego modelu.

1. Włączyć aparat GeneXpert:
 - W przypadku używania aparatu GeneXpert Dx najpierw włączyć aparat, a następnie włączyć komputer. Oprogramowanie GeneXpert zostanie uruchomione automatycznie lub może wymagać dwukrotnego kliknięcia ikony skrótu oprogramowania GeneXpert Dx na pulpicie systemu Windows®.
 - lub
 - W przypadku używania aparatu GeneXpert Infinity, włączyć aparat. Oprogramowanie Xpertise zostanie uruchomione automatycznie lub może wymagać dwukrotnego kliknięcia ikony skrótu oprogramowania Xpertise na pulpicie systemu Windows.
2. Zalogować się do oprogramowania aparatu GeneXpert, podając nazwę użytkownika i hasło.
3. W oknie systemu GeneXpert kliknąć **Nowe badanie (Create Test)** (GeneXpert Dx) lub kliknąć **Zlecenia (Orders) i Zleć badanie (Order Test)** (Infinity).
4. Zeskanować Identyfikator pacjenta (Patient ID) (opcjonalnie). W przypadku wpisywania Identyfikatora pacjenta (Patient ID) upewnić się, że Identyfikator pacjenta (Patient ID) jest wpisany poprawnie. Identyfikator pacjenta (Patient ID) jest powiązany z wynikami badania i wyświetlany w oknie Wyświetlanie wyników (View Results).
5. Zeskanować lub wpisać Identyfikator próbki (Sample ID). W przypadku wpisywania Identyfikatora próbki (Sample ID) upewnić się, że Identyfikator próbki (Sample ID) jest wpisany poprawnie. Identyfikator próbki (Sample ID) jest powiązany z wynikami badania i wyświetlany w oknie Wyświetlanie wyników (View Results) oraz na wszystkich raportach. Pojawi się okno dialogowe Skanowanie kartridża (Scan Cartridge).
6. Zeskanować kod kreskowy na kartridżu testu Xpert Ebola. Zostanie wyświetlone okno Nowe badanie (Create Test). Na podstawie informacji zawartych w kodzie kreskowym oprogramowanie automatycznie wypełni następujące pola: Wybór testu (Select Assay), Identyfikator partii odczynników (Reagent Lot ID) i Numer seryjny kartridża (Cartridge SN).
7. Kliknąć **Rozpocznij badanie (Start Test)** (GeneXpert Dx) lub **Prześlij (Submit)** (Infinity). W razie potrzeby wpisać hasło.
8. W przypadku systemu GeneXpert Infinity umieścić kartridż na taśmie transportowej. Kartridż zostanie załadowany automatycznie, rozpocznie się badanie, a użyty kartridż zostanie umieszczony w pojemniku na odpady.
- lub
- W przypadku aparatu GeneXpert Dx:
 - A. Otworzyć drzwiczki modułu aparatu z migającą zieloną kontrolką i załadować kartridż.
 - B. Zamknąć drzwiczki. Badanie zostanie rozpoczęte, a zielona kontrolka przestanie migać. Po zakończeniu badania kontrolka przestanie świecić.
 - C. Poczekać, aż system zwolni blokadę drzwiczek, a następnie otworzyć drzwiczki modułu. Wyjąć kartridż.
 - D. Wyrzucić użyte kartridże do odpowiedniego pojemnika na odpady, zgodnie ze standardową praktyką obowiązującą w placówce.

13 Wyświetlanie i drukowanie wyników

Niniejszy punkt zawiera opis podstawowych kroków umożliwiających wyświetlanie i drukowanie wyników. Szczegółowe instrukcje dotyczące wyświetlania i drukowania wyników można znaleźć w *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Dx* lub *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Infinity*, w zależności od używanego aparatu.

1. Kliknąć ikonę **Wyświetl wyniki (View Results)**, aby wyświetlić wyniki.
2. Po zakończeniu badania kliknąć przycisk **Raport (Report)** w oknie Wyświetlanie wyników (View Results), aby wyświetlić i/lub utworzyć plik PDF z raportem.

14 Kontrola jakości

CONTROL Każdy test zawiera kontrolę adekwatności próbki (SAC), kontrolę wewnętrzną Cepheid (CIC) i kontrolę sondy (PCC).

- **Kontrola adekwatności próbki (SAC):** Kontrola SAC umożliwia upewnienie się, że do komory na próbkę dodano ludzkie komórki. Kontrola SAC zakończy się powodzeniem, jeśli spełni zatwierdzone kryteria akceptacji.
- **Kontrola wewnętrzna Cepheid (CIC):** Pozwala się upewnić, że próbkę przetworzono prawidłowo. CIC jest kontrolą Armored RNA® w postaci suchej kulki, która jest umieszczona w każdym kartridżu i umożliwia weryfikację prawidłowości przetwarzania badanej próbki z wirusem. Kontrola CIC weryfikuje, czy w przypadku obecności drobnoustroju nastąpiła liza wirusa Ebola oraz czy przetwarzanie próbki jest prawidłowe. Ponadto ta kontrola wykrywa hamowanie reakcji PCR związane z próbką. Wynik kontroli CIC powinien być dodatni w próbce ujemnej i może być ujemny lub dodatni w próbce dodatniej. Kontrola CIC zakończy się powodzeniem, jeśli spełni zatwierdzone kryteria akceptacji.
- **Kontrola sondy (PCC, QC1, QC2):** Przed rozpoczęciem testu PCR z odwrotną transkrypcją aparat GeneXpert mierzy sygnał fluorescencji z dwóch sond (QC1 i QC2) w celu monitorowania nawadniania kulek, napełnienia komory reakcyjnej, integralności sondy i stabilności barwnika. Ponieważ sygnały QC1 i QC2 są mierzone na etapie reakcji PCR z odwrotną transkrypcją (przed etapem reakcji real-time PCR), krzywe wzrostu nie są dostępne. Kontrola PCC zakończy się powodzeniem, jeśli spełni przypisane kryteria akceptacji.
- **Kontrole zewnętrzne:** Kontrole zewnętrznych należy używać zgodnie ze stosownymi wymaganiami lokalnych, regionalnych i krajowych organizacji akredytacyjnych.
- Ujemnych próbek żyłnej krwi pełnej można użyć jako zewnętrznych kontroli ujemnych w celu przebadania jako próbki pacjenta.
- Informacje dotyczące dostępności opcjonalnych zewnętrznych materiałów kontrolnych można uzyskać w Centrum wsparcia klienta pod adresem TechSupport@cepheid.com lub na stronie internetowej www.cepheid.com na karcie **WSPARCIE (SUPPORT)**.

15 Interpretacja wyników

Wyniki są interpretowane automatycznie przez aparat GeneXpert na podstawie zmierzonych sygnałów fluorescencji i wbudowanych algorytmów obliczeniowych, a następnie czytelnie wyświetlane w oknie Wyświetlanie wyników (View Results) (patrz Ilustracja 4, Ilustracja 5, Ilustracja 6 i Ilustracja 7). Możliwe wyniki przedstawia Tabela 1.

Tabela 1. testu Xpert Ebola Wyniki i ich interpretacja

Wynik	Interpretacja
WYKRYTO GEN GP WIRUSA Ebola (Ebola GP DETECTED), WYKRYTO GEN NP WIRUSA Ebola (Ebola NP DETECTED) lub WYKRYTO GEN GP WIRUSA Ebola (Ebola GP DETECTED), NIE WYKRYTO GENU NP WIRUSA Ebola (Ebola NP NOT DETECTED) lub NIE WYKRYTO GENU GP WIRUSA Ebola (Ebola GP NOT DETECTED), WYKRYTO GEN NP WIRUSA Ebola (Ebola NP DETECTED) Patrz Ilustracja 4, Ilustracja 5 i Ilustracja 6.	Sekwencje docelowe kwasów nukleinowych wirusa Ebola zostały wykryte. <ul style="list-style-type: none"> • Wartość Ct sygnału dla obu lub jednej z dwóch sekwencji docelowych kwasów nukleinowych wirusa Ebola mieści się w prawidłowym zakresie, a punkt końcowy znajduje się powyżej ustawienia minimalnego. • SAC: NIE DOTYCZY (NA): kontrola SAC jest ignorowana, ponieważ nastąpiła amplifikacja sekwencji docelowych wirusa Ebola. • CIC: NIE DOTYCZY (NA): kontrola CIC jest ignorowana, ponieważ nastąpiła amplifikacja sekwencji docelowych wirusa Ebola. • Kontrola sondy: POWODZENIE (PASS): wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.

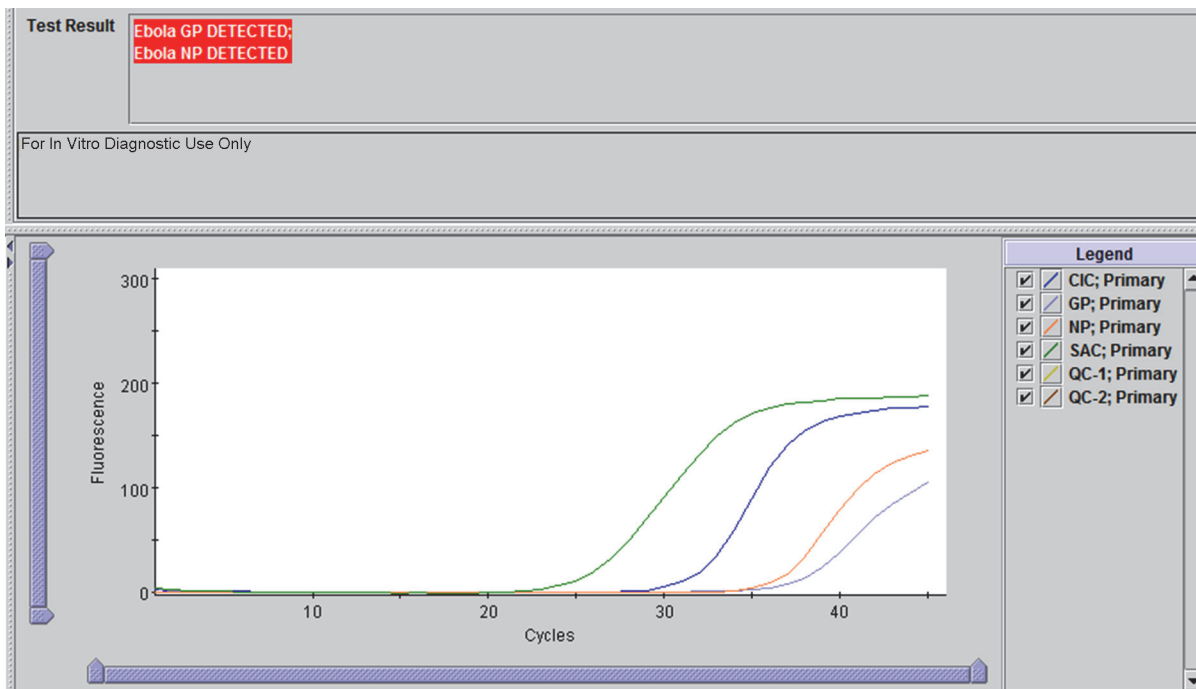
Tabela 1. testu Xpert Ebola Wyniki i ich interpretacja (ciąg dalszy)

Wynik	Interpretacja
<p>NIE WYKRYTO GENU GP WIRUSA Ebola (Ebola GP NOT DETECTED), NIE WYKRYTO GENU NP WIRUSA Ebola (Ebola NP NOT DETECTED)</p> <p>Patrz Ilustracja 7.</p>	<p>Sekwencje docelowe kwasów nukleinowych wirusa Ebola nie zostały wykryte. Kontrola CIC spełnia kryteria akceptacji.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SAC: POWODZENIE (PASS): wartość Ct kontroli SAC mieści się w prawidłowym zakresie, a punkt końcowy znajduje się powyżej ustawienia minimalnego. • CIC: POWODZENIE (PASS): wartość Ct kontroli CIC mieści się w prawidłowym zakresie, a punkt końcowy znajduje się powyżej ustawienia minimalnego. • Kontrola sondy: POWODZENIE (PASS): wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.
<p>NIEWAŻNY (INVALID)</p>	<p>Nie można określić obecności ani nieobecności sekwencji docelowych kwasów nukleinowych. Powtórzyć badanie zgodnie z instrukcjami, które zawiera punkt „Procedura powtórzenia badania”.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SAC: NIEPOWODZENIE (FAIL): wartość Ct kontroli SAC nie mieści się w prawidłowym zakresie, a punkt końcowy znajduje się poniżej ustawienia minimalnego. • CIC: POWODZENIE (PASS): wartość Ct kontroli CIC mieści się w prawidłowym zakresie, a punkt końcowy znajduje się powyżej ustawienia minimalnego. • Kontrola sondy: POWODZENIE (PASS): wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne. <p>lub</p> <ul style="list-style-type: none"> • SAC: POWODZENIE (PASS): wartość Ct kontroli SAC mieści się w prawidłowym zakresie, a punkt końcowy znajduje się powyżej ustawienia minimalnego. • CIC: NIEPOWODZENIE (FAIL): wartość Ct kontroli CIC nie mieści się w prawidłowym zakresie, a punkt końcowy znajduje się poniżej ustawienia minimalnego. • Kontrola sondy: POWODZENIE (PASS): wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.
<p>BŁĄD (ERROR)</p>	<p>Nie można określić obecności ani nieobecności kwasów nukleinowych wirusa Ebola. Powtórzyć badanie zgodnie z instrukcjami, które zawiera punkt „Procedura powtórzenia badania”.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ebola: BRAK WYNIKU (NO RESULT) • SAC: BRAK WYNIKU (NO RESULT) • CIC: BRAK WYNIKU (NO RESULT) • Kontrola sondy: NIEPOWODZENIE (FAIL): wszystkie lub jeden wynik kontroli sondy był nieważny.

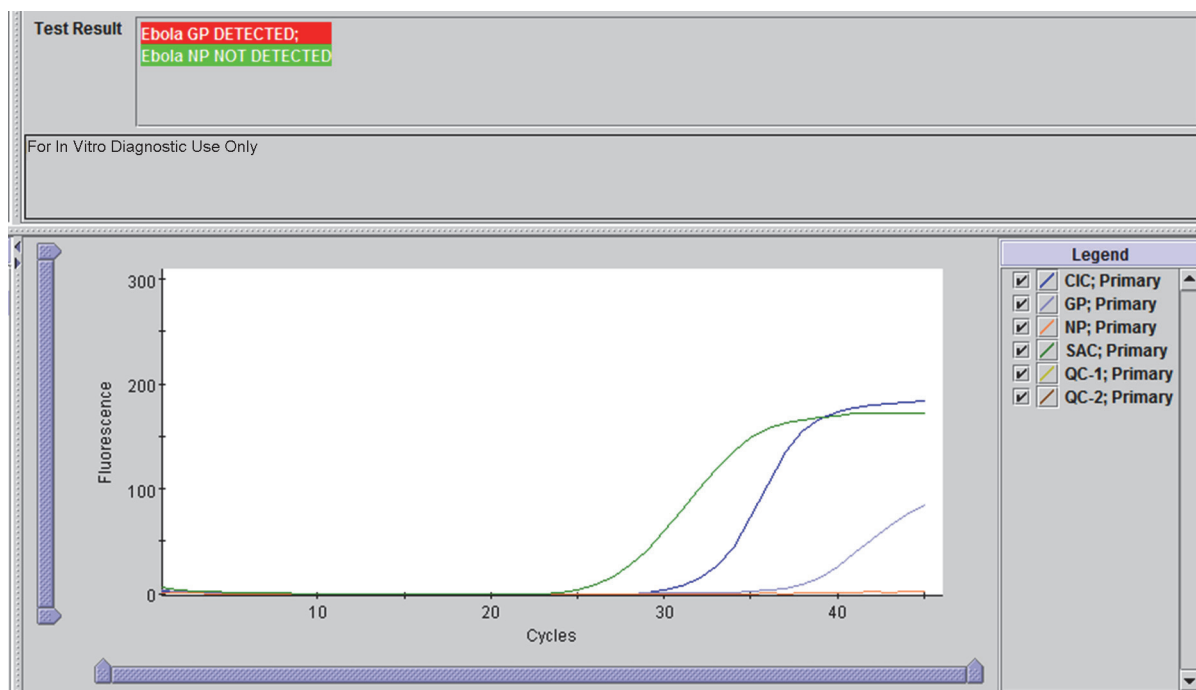
Tabela 1. testu Xpert Ebola Wyniki i ich interpretacja (ciąg dalszy)

Wynik	Interpretacja
BRAK WYNIKU (NO RESULT)	<p>Nie można określić obecności ani nieobecności sekwencji docelowych kwasów nukleinowych wirusa Ebola. Powtórzyc badanie zgodnie z instrukcjami, które zawiera punkt „Procedura powtórzenia badania”. BRAK WYNIKU (NO RESULT) oznacza, że zgromadzono niewystarczające dane. Taka sytuacja może wystąpić na przykład wtedy, gdy operator zatrzymał badanie będące w toku.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ebola: BRAK WYNIKU (NO RESULT) • SAC: BRAK WYNIKU (NO RESULT) • CIC: BRAK WYNIKU (NO RESULT) • Kontrola sondy: NIE DOTYCZY (NA)

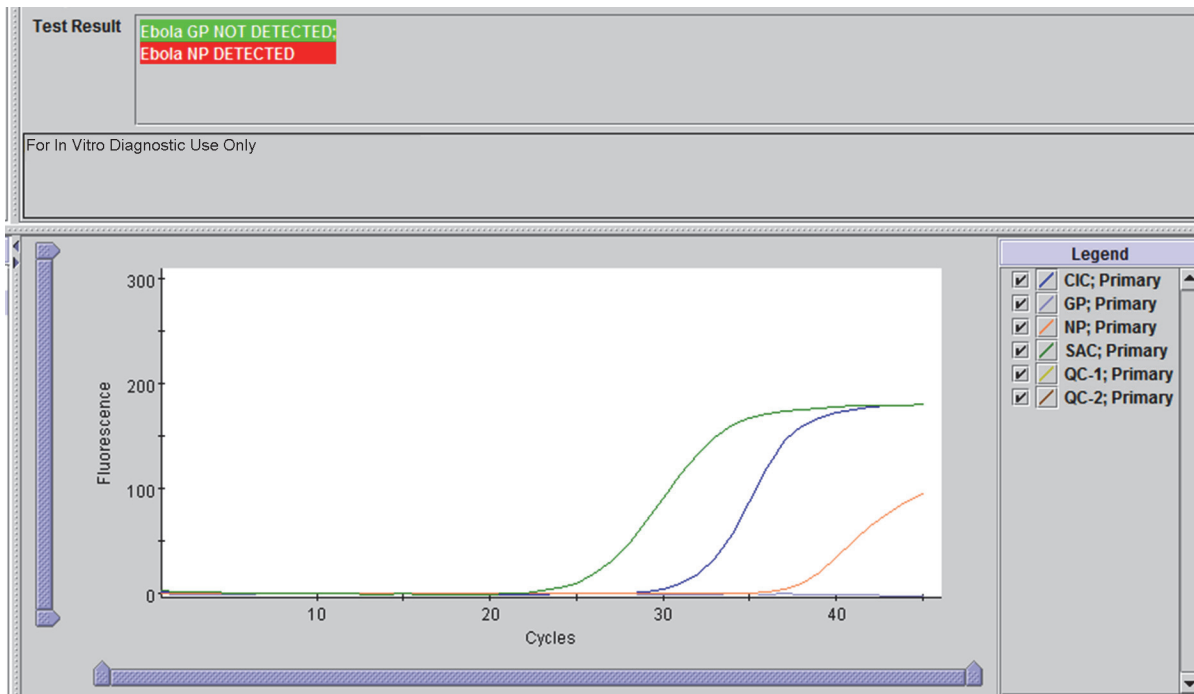
Uwaga Zrzuty ekranu testu stanowią jedynie przykład i mogą się różnić od zrzutów ekranu przedstawionych w niniejszej ulotce informacyjnej. QC1 i QC2 w legendach, które zawierają Ilustracja 4, Ilustracja 5, Ilustracja 6 i Ilustracja 7, kontrolują obecność sond (patrz Kontrola sondy w Punkt 14, Kontrola jakości); krzywe wzrostu nie są generowane.



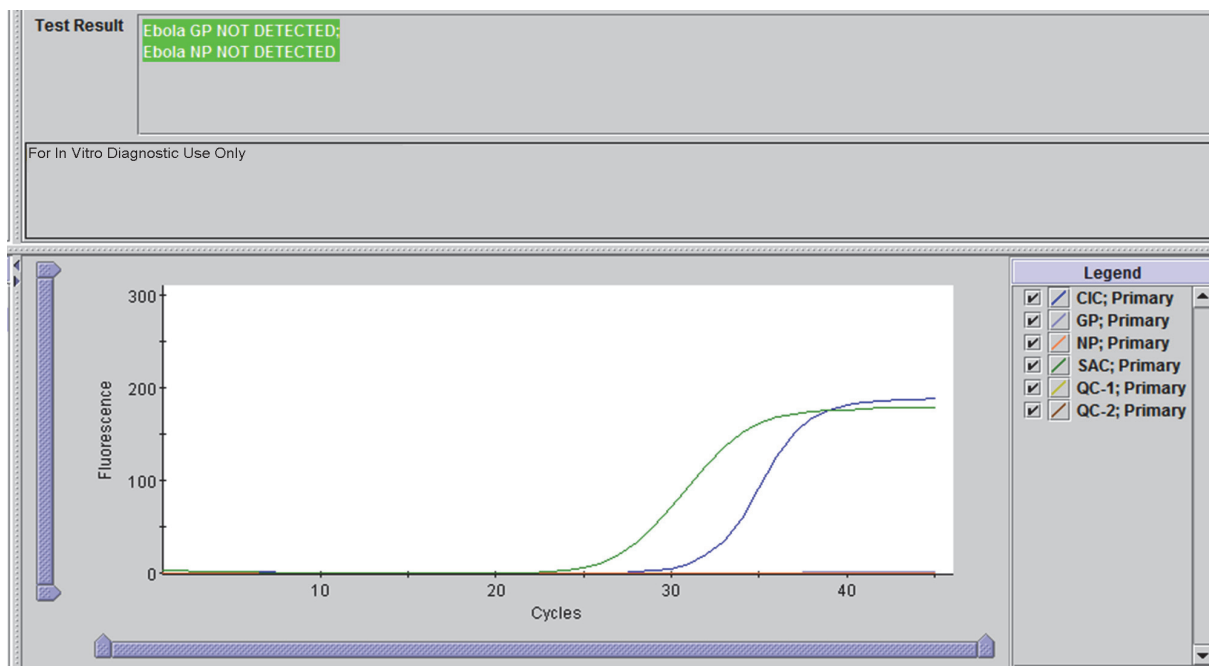
Ilustracja 4. WYKRYTO GEN GP WIRUSA Ebola WYKRYTO GEN NP WIRUSA Ebola



Ilustracja 5. WYKRYTO GEN GP WIRUSA Ebola, NIE WYKRYTO GENU NP WIRUSA Ebola



Ilustracja 6. NIE WYKRYTO GENU GP WIRUSA Ebola WYKRYTO GEN NP WIRUSA Ebola



Ilustracja 7. NIE WYKRYTO GENU GP WIRUSA Ebola, NIE WYKRYTO GENU NP WIRUSA Ebola

16 Powtarzanie badań

16.1 Sytuacje, w których należy powtórzyć badanie

W przypadku wystąpienia któregokolwiek z poniższych wyników badań należy powtórzyć badanie zgodnie z instrukcjami, które zawiera punkt 15.2 „Procedura powtórzenia badania”.

- Wynik **NIEWAŻNY (INVALID)** oznacza co najmniej jedną z następujących sytuacji:
 - Kontrola CIC się nie powiodła.
 - Próbkę nie została poprawnie przetworzona lub nastąpiło zahamowanie reakcji PCR.
 - Kontrola SAC się nie powiodła.
 - Objętość dodanej próbki była niewystarczająca.
- Wynik **BŁĄD (ERROR)** oznacza, że badanie zostało przerwane. Możliwą przyczyną może być: niewłaściwe napełnienie komory reakcyjnej, wykrycie błędu dotyczącego integralności sondy odczynnika lub przekroczenie wartości granicznej ciśnienia maksymalnego.
- **BRAK WYNIKU (NO RESULT)** oznacza, że zgromadzono niewystarczające dane. Taka sytuacja może wystąpić na przykład wtedy, gdy operator zatrzymał badanie będące w toku lub gdy nastąpiła awaria zasilania.

16.2 Procedura powtórzenia badania

W celu powtórzenia badania z wynikiem **BRAK WYNIKU (NO RESULT)**, **NIEWAŻNY (INVALID)** lub **BŁĄD (ERROR)** należy użyć nowego kartridża (nie należy ponownie używać tego samego kartridża) i nowych odczynników.

1. Wyjąć nowy kartridż z zestawu.
2. Patrz Punkt 12.1, Przygotowywanie kartridża i Punkt 12.2, Rozpoczynanie badania.

17 Charakterystyka testu

17.1 Granica wykrywalności dla krwi pełnej

Granice wykrywalności (LoD) testu Xpert Ebola oceniono dla RNA wirusa Ebola Zaire oraz dla żywego wirusa Ebola Zaire. Badania wykonano przy pomocy trzech paneli rozcieńczeń dla każdego z nich z użyciem jednego numeru serii zestawu odczynników. Wirusowe RNA oczyszczone z wirusa Ebola Zaire Mayinga uzyskanego od szwedzkiej Agencji Zdrowia Publicznego rozcieńczono w mieszaninie odczynnika do próbek i krwi pełnej, a żywe wirusy Ebola 2014/Gueckedou-C05 i 2014/Gueckedou-C07 rozcieńczono w krwi pełnej EDTA. Łącznie przebadano 20 powtórzeń RNA i 4 powtórzenia żywego wirusa na poziom i próbkę. Granicę wykrywalności z użyciem RNA oszacowano jako najniższe stężenie sekwencji docelowych RNA wirusa Ebola Zaire, które w sposób odtwarzalny może być odróżnione od próbek ujemnych z ufnością na poziomie 95% przy pomocy analizy probitowej. Deklarowaną granicę wykrywalności dla RNA wirusa Mayinga potwierdzono, analizując co najmniej dwadzieścia powtórzeń rozcieńczonych do stężenia oszacowanej granicy wykrywalności z użyciem trzech numerów serii odczynników testu Xpert Ebola. 95% powtórzeń miało wyniki dodatnie w przypadku jednego numeru serii odczynników i 100% w przypadku dwóch numerów serii odczynników. Oszacowaną granicę wykrywalności żywego wirusa potwierdzono jako najniższe stężenie jednostek tworzących tysinkę (PFU) na ml krwi pełnej EDTA, przy którym co najmniej 19 z 20 powtórzeń miało wynik dodatni. Wyniki dla RNA wirusa Ebola Zaire i żywego wirusa przedstawiają Tabela 2 i Tabela 3.

Tabela 2. Granica wykrywalności testu Xpert Ebola dla RNA wirusa Ebola Zaire na podstawie analizy regresji probitowej

Próbka	Stężenie nominalne (kopie/ml)	Łączna liczba powtórzeń (N)	Łączna liczba wyników dodatnich (N)	Współczynnik wyników dodatnich (%)	Granica wykrywalności z 95% prawdopodobieństwem na podstawie regresji probitowej (95% przedział ufności)
RNA wirusa Ebola Zaire Mayinga	700	20	20	100	232,4 kopii/ml (95% CI 163,1–301,6)
	300	20	20	100	
	150	20	13	65	
	75	20	12	60	
	30	20	9	45	
	15	20	5	25	

Tabela 3. Liczby powtórzeń dodatnich na poziom wirusa Ebola Zaire Makona-Gueckedou 07 i 05 w krwi pełnej EDTA i potwierdzenie granicy wykrywalności

Próbka	Nominalne miano (PFU/ml)	Łączna liczba powtórzeń (N)	Łączna liczba wyników dodatnich (N)	Współczynnik wyników dodatnich (%)	Potwierdzenie granicy wykrywalności		
					Nominalne miano (PFU/ml)	Łączna liczba powtórzeń (N)	Łączna liczba wyników dodatnich (N)
Wirus Ebola Zaire Makona-Gueckedou 07	50	4	4	100	1,0	20	20
	25	4	4	100			
	12,5	4	4	100			
	1	4	4	100			
	0,1	3	1	33			
	0,01	4	0	0			
Wirus Ebola Zaire Makona-Gueckedou 05	0,13	4	4	100	0,13	20	20
	0,065	4	4	100			
	0,0325	4	3	75			
	0,01625	4	1	25			

17.2 Granica wykrywalności dla wymazów policzkowych

Granice wykrywalności (LoD) testu Xpert Ebola dla wymazów policzkowych określono z użyciem RNA wirusa Ebola Zaire. Jeden panel rozcieńczeń składający się z ośmiu elementów przygotowano z jednej próbki RNA wirusa Ebola Zaire Mayinga i badano z użyciem jednego numeru serii odczynników. Panel rozcieńczeń przygotowano, dodając RNA wirusa Ebola do puli wymazów w odczynniku do próbek w ilości z zakresu około od 0 do 1000 kopii RNA wirusa Ebola na wymaz. Granice wykrywalności dla wymazów policzkowych z użyciem RNA oszacowano przy pomocy analizy probitowej. Deklarowaną granicę wykrywalności potwierdzono, analizując co najmniej 20 powtórzeń rozcieńczonych do stężeń oszacowanej granicy wykrywalności z użyciem dwóch numerów serii odczynników testu Xpert Ebola. Deklarowana granica wykrywalności jest zdefiniowana jako stężenie, przy którym 95% co najmniej 20 powtórzeń na serię odczynników ma wynik dodatni (Tabela 4). Granice wykrywalności testu Xpert Ebola z użyciem wymazów policzkowych z dodatkiem RNA wirusa Ebola Zaire Mayinga określono jako wartość 350,0 kopii/wymaz.

Tabela 4. Granica wykrywalności testu Xpert Ebola dla RNA wirusa Ebola Zaire w wymazach policzkowych na podstawie analizy regresji probitowej i potwierdzenie granicy wykrywalności

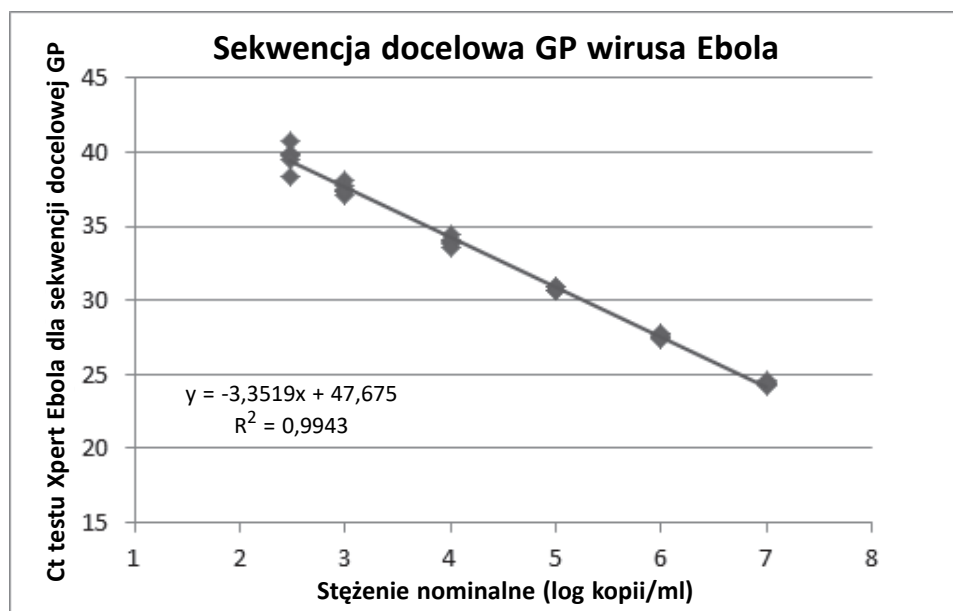
Próbka	Stężenie nominalne (kopie/wymaz)	Łączna liczba powtórzeń (N)	Łączna liczba wyników dodatnich (N)	Współczynnik wyników dodatnich (%)	Granica wykrywalności z 95% prawdopodobieństwem na podstawie regresji probitowej (99,9% przedział ufności)	Potwierdzenie granicy wykrywalności			
						Stężenie nominalne (kopie/wymaz)	Seria odczynników	Łączna liczba powtórzeń (N)	Łączna liczba wyników dodatnich (N)
RNA wirusa Ebola Zaire w wymazach policzkowych	600	20	20	100	250,0 kopii/wymaz (99,9% CI 149,3–350,0)	350	1	20	20
	400	20	19	95					
	200	20	18	90					
	100	20	18	90					
	50	20	5	25			2	20	20
	25	20	5	25					
	12,5	20	1	5					
0	20	0	0						

Równoważność rodzajów próbek (żylna krew pełna EDTA i krew pełna z opuszki palca)

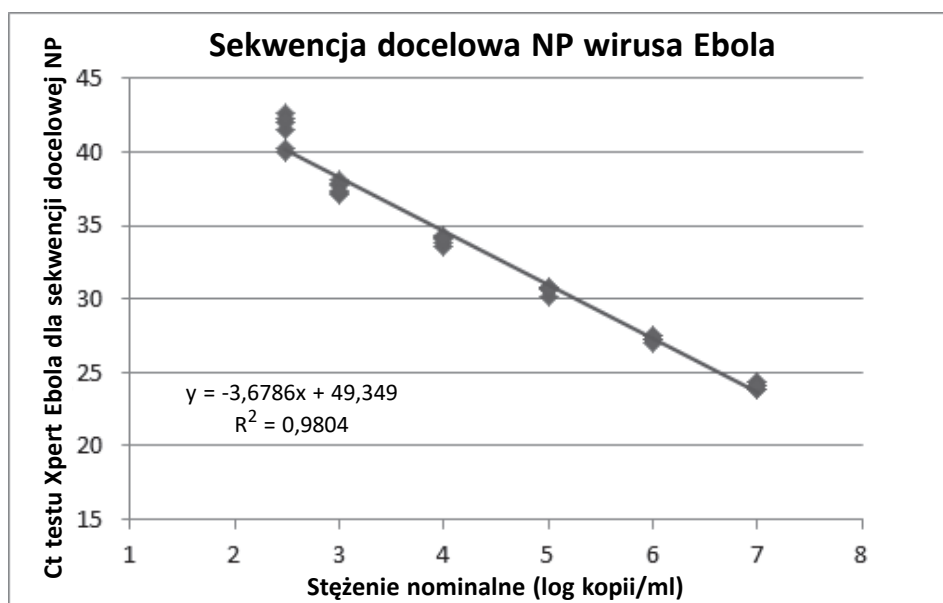
Równoważną skuteczność testu Xpert Ebola dla dwóch różnych rodzajów próbek — żylną krwią pełną EDTA i krwią pełną z opuszki palca — wykazano z użyciem próbek pobranych od dwudziestu zdrowych osób. Krew uzyskaną poprzez nakłucie żyły pobrano do probówki EDTA i przeniesiono do butelki z odczynnikiem do próbek, a krew pobraną z opuszki palca przeniesiono bezpośrednio do odczynnika do próbek. Do obu rodzajów próbek dodano RNA wirusa Ebola Mayinga w ilości 1500 kopii/ml, a analizę wykonano jednocześnie. Wykazano równoważną skuteczność dla badanych rodzajów próbek.

Zakres liniowy

Liniowość testu Xpert Ebola określono dla sekwencji docelowych GP i NP wirusa Ebola, analizując panel z sześcioma elementami przygotowany przy pomocy seryjnych rozcieńczeń próbki RNA wirusa Ebola Mayinga w zakresie od 3×10^2 do 1×10^7 kopii/ml krwi pełnej. Każdy element panelu analizowano w sześciu powtórzeniach z użyciem jednego numeru serii odczynników. Wyniki, które przedstawiają Ilustracja 8 i Ilustracja 9, wykazują, że test jest liniowy w zakresie od 3×10^2 do 1×10^7 kopii/ml z wartością R^2 (uzyskaną na podstawie krzywej standardowej) wynoszącą 0,99 dla sekwencji docelowej GP wirusa Ebola oraz 0,98 dla sekwencji docelowej NP wirusa Ebola.



Ilustracja 8. Liniowość testu Xpert Ebola dla sekwencji docelowej GP



Ilustracja 9. Liniowość testu Xpert Ebola dla sekwencji docelowej NP

17.3 Reaktywność analityczna (inkluzywność)

Reaktywność analityczną (inkluzywność) testu Xpert Ebola określono dla czterech szczepów wirusa Ebola Zaire innych niż Mayinga, które były dostępne w postaci żywego wirusa Ebola lub wirusowego RNA. Ponadto wykonano analizę *in silico* wszystkich pozostałych, niebadanych dostępnych sekwencji szczepów wirusa Ebola Zaire. Badane próbki przygotowano, dodając każdą poszczególną próbkę do krwi pełnej EDTA ujemnej pod kątem wirusa Ebola, a w przypadku użycia wirusowego RNA — do krwi pełnej EDTA ujemnej pod kątem wirusa Ebola wymieszanej z odczynnikami do próbek. Każdą próbkę badano w 20 powtórzeniach, a próbkę kontroli ujemnej, składającą się z krwi pełnej EDTA ujemnej pod kątem wirusa Ebola, badano w trzech powtórzeniach z użyciem jednego numeru serii zestawu odczynników. Wyniki badań próbek dodatnich pod kątem wirusa Ebola przedstawia Tabela 5. Wszystkie próbki kontroli ujemnej pod kątem wirusa Ebola zostały zgłoszone z wynikiem **NIE WYKRYTO GENU GP WIRUSA Ebola (Ebola GP NOT DETECTED), NIE WYKRYTO GENU NP WIRUSA Ebola (Ebola NP NOT DETECTED)**.

Tabela 5. Reaktywność analityczna testu Xpert Ebola

Szczep Ebola Zaire	Rodzaj próbki	Stężenie testowe	Łączna liczba powtórzeń (N)	Łączna liczba wyników dodatnich (N)	Współczynnik wyników dodatnich (%)
Guinea	Żywy wirus	1 × LoD	20	20	100%
Ekron	Żywy wirus	3 × LoD	20	20	100%
Gabon	Żywy wirus	3 × LoD	20	20	100%
Kikwit	Stężenie RNA	5 × LoD	20	20	100%

Analizę *in silico* wykonano w celu przewidzenia skuteczności testu Xpert Ebola w wykrywaniu wszystkich wariantów sekwencji docelowych wirusa Ebola Zaire dostępnych w bazie danych GenBank — od danych dotyczących pierwszych sekwencji wirusa Zaire opublikowanych w 1976 roku do sekwencji związanych z obecną epidemią w Afryce Zachodniej. Dwie sekwencje ampliconu testu Xpert Ebola uzyskane z genów glikoproteiny (GP) i nukleoproteiny (NP) szczepu Zaire przesłano do BLAST (NCBI). Ponadto wszystkie sześć sekwencji oligonukleotydowych testu Xpert Ebola sprawdzono niezależnie względem lokalnej bazy danych zawierającej wszystkie sekwencje wirusa Ebola Zaire dostępne w bazie danych GenBank. Analizy wykazały, że oligonukleotydy NP i GP wirusa Ebola Zaire całkowicie się pokrywają ze wszystkimi sekwencjami szczepu Zaire dostępnymi w bazie danych GenBank.

17.4 Swoistość analityczna (wyłącznie)

Swoistość analityczną testu Xpert Ebola oceniono, badając wirusy inne niż Ebola, bakterie i szczepy wirusa Ebola inne niż Zaire na poziomach istotnych klinicznie. Próbkę przygotowano, dodając każdy poszczególny drobnoustrój do krwi pełnej EDTA ujemnej pod kątem wirusa Ebola, a w przypadku użycia genomowego RNA/DNA drobnoustroju do krwi pełnej EDTA ujemnej pod kątem wirusa Ebola wymieszanej z odczynnikiem do próbek. Wyniki badań swoistości analitycznej przedstawia Tabela 6 i Tabela 7. Swoistość analityczna testu Xpert Ebola dla ocenianych drobnoustrojów wynosi 100%.

Tabela 6. Określenie swoistości analitycznej testu Xpert Ebola — próbki dodatnie pod kątem wirusa Ebola szczepów innych niż Zaire

Drobnoustrój	Rodzaj próbki	Badane stężenie (stężenie cząstek użyte do izolacji kwasu nukleinowego)	Jednostka (ng lub PFU/ml krwi pełnej)	N	Wyniki dodatnie	Wyniki ujemne
Ebola Ivory Coast	Kwasy nukleinowe	546 ^a	ng/ml	3	0	3
Ebola Reston	Kwasy nukleinowe	3,0 × 10 ⁵	PFU/ml	3	0	3

a. Stężenie RNA materiału podstawowego

Tabela 7. Określenie swoistości analitycznej testu Xpert Ebola — próbki ujemne pod kątem wirusa Ebola

Drobnoustrój	Rodzaj próbki	Badane stężenie (stężenie cząstek użyte do izolacji kwasu nukleinowego)	Jednostka (ng lub PFU/ml krwi pełnej)	N	Wyniki dodatnie	Wyniki ujemne
Wirus Chikungunya (181/25)	Kwasy nukleinowe	2798 ^a	ng/ml	3	0	3
<i>Coxiella burnetti</i>	Kwasy nukleinowe	50	ng/ml	3	0	3
Wirus gorączki krwotocznej krymsko-kongijskiej (Dubai)	Kwasy nukleinowe	3,4 × 10 ⁶	PFU/ml	3	0	3
Wirus dengi (typu 2)	Kwasy nukleinowe	2,7 × 10 ⁶	PFU/ml	3	0	3
<i>Hemophilus influenzae</i>	Kwasy nukleinowe	50	ng/ml	3	0	3
Wirus grypy typu A (H9N2)	Kwasy nukleinowe	1,0 × 10 ⁵	PFU/ml	3	0	3
Wirus Lassa (Pinneo)	Kwasy nukleinowe	5,7 × 10 ³	PFU/ml	3	0	3
Marburg (Angola)	Kwasy nukleinowe	2,6 × 10 ⁶	PFU/ml	3	0	3
Marburg (Angola)	Żywy wirus	5,0 × 10 ^{4b}	PFU/ml	3	0	3
Marburg (Musoke)	Kwasy nukleinowe	6,0 × 10 ⁴	PFU/ml	3	0	3
Marburg (Musoke)	Żywy wirus	5,0 × 10 ^{4b}	PFU/ml	3	0	3
Marburg (Ravn)	Kwasy nukleinowe	4,8 × 10 ⁵	PFU/ml	3	0	3
Komar	Kwasy nukleinowe	50	ng/ml	3	0	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Kwasy nukleinowe	50	ng/ml	3	0	3
<i>Rickettsia conorii</i>	Kwasy nukleinowe	50	ng/ml	3	0	3
<i>Rickettsia prowazekii</i>	Kwasy nukleinowe	50	ng/ml	3	0	3
<i>Rickettsia typhi</i>	Kwasy nukleinowe	50	ng/ml	3	0	3
Wirus gorączki doliny Rift (SA51)	Kwasy nukleinowe	7,5 × 10 ⁵	PFU/ml	3	0	3
<i>Salmonella bongori</i>	Kwasy nukleinowe	50	ng/ml	3	0	3

Tabela 7. Określenie swoistości analitycznej testu Xpert Ebola — próbki ujemne pod kątem wirusa Ebola (ciąg dalszy)

Drobnoustrój	Rodzaj próbki	Badane stężenie (stężenie cząstek użyte do izolacji kwasu nukleinowego)	Jednostka (ng lub PFU/ml krwi pełnej)	N	Wyniki dodatnie	Wyniki ujemne
<i>Salmonella typhi</i>	Kwasy nukleinowe	50	ng/ml	3	0	3
<i>Shigella flexneri</i> typu 2	Kwasy nukleinowe	50	ng/ml	3	0	3
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Kwasy nukleinowe	50	ng/ml	3	0	3
Kleszcz	Kwasy nukleinowe	50	ng/ml	3	0	3
Żółta gorączka (OBS-6745)	Kwasy nukleinowe	$1,0 \times 10^6$	PFU/ml	3	0	3
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Kwasy nukleinowe	50	ng/ml	3	0	3
<i>Yersinia pestis</i>	Kwasy nukleinowe	50	ng/ml	3	0	3

- a. Stężenie RNA materiału podstawowego
b. Badane miano żywego wirusa.

Analizę *in silico* wykonano w celu przewidzenia ryzyka wystąpienia reakcji krzyżowych między oligonukleotydami sekwencji docelowych szczepu Zaire (GP i NP) testu Xpert Ebola a wirusami Ebola szczepów innych niż Zaire, a także pod kątem wszystkich patogenów chorobowych, których listę zawiera Tabela 7 i Tabela 8. Analizy wykazały, że sekwencje starterów i sond testu Xpert Ebola są swoiste i nie powinny dawać wyników fałszywie dodatnich pod kątem wirusa Ebola Zaire w przypadku ocenionych drobnoustrojów.

Tabela 8. Swoistość analityczna — drobnoustroje analizowane *in silico*

Drobnoustrój
Ebola Sudan-Boniface
Ebola Sudan-Bundibugyo
Ebola Sudan-Gulu
Adenowirus
<i>Borrelia recurrentis</i>
Enterowirus
Wirus grypy typu B
<i>Leptospira</i> genus
Marburg (Ci67)
<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Plasmodium falciparum</i>
<i>Plasmodium malariae</i>
<i>Plasmodium ovale</i>
<i>Plasmodium vivax</i>
<i>Rickettsia africae</i>
Rotawirus
Wirus RSV
<i>Trypanosoma</i>
<i>Vibrio cholera</i>

17.5 Potencjalnie interferujące substancje

Oceniono podatność testu Xpert Ebola na interferencje powodowane przez podwyższone poziomy substancji endogenicznych występujących w krwi pełnej. W przypadku substancji endogenicznych badano krew pełną EDTA ujemną pod kątem wirusa Ebola i krew pełną EDTA dodatnią pod kątem wirusa Ebola z dodatkiem tych substancji. Aby przygotować próbki dodatnie pod kątem wirusa Ebola, RNA wirusa Ebola Zaire Mayinga (2500 kopii/ml) dodano do odczynnika do próbek, a następnie wymieszano z krwią pełną EDTA z dodatkiem poszczególnych substancji interferujących. Łącznie pięć substancji oceniono w stężeniach, które przedstawia Tabela 9. Sześć powtórzeń każdej próbki badano z użyciem jednego numeru serii zestawu odczynników. Podwyższone poziomy substancji endogenicznych, których listę zawiera Tabela 9, nie wpływały na swoistość testu ani nie powodowały interferencji wykrywania wirusa Ebola.

Tabela 9. Endogeniczne substancje i badane stężenia

Substancje endogeniczne	Badane stężenie
Albumina	90,0 mg/ml
Bilirubina	0,300 mg/ml
Ludzkie DNA	4,0 µg/ml
Hemoglobina	5,0 mg/ml
Triglicerydy	30,0 mg/ml

17.6 Badanie próbek klinicznych stworzonych na potrzeby testu

Charakterystykę testu Xpert Ebola oceniono z użyciem próbek klinicznych stworzonych na potrzeby testu. Dane dotyczące tych próbek klinicznych stworzonych na potrzeby testu uzyskano w badaniach zaślepionych. Z uwagi na trudności w uzyskaniu próbek klinicznych od pacjentów z zakażeniem wirusem Ebola przygotowano próbki stworzone na potrzeby testu, dodając żywego wirusa Ebola lub RNA wirusa Ebola do próbek krwi pełnej EDTA uzyskanych od różnych osób z wynikami ujemnymi pod kątem wirusa Ebola. Do krwi pełnej dodano wirus Ebola lub wirusowe RNA w różnych stężeniach — od zbliżonego do granicy wykrywalności do wysokich poziomów (maksymalnie $200 \times \text{LoD}$). Ponadto badano również próbki krwi pełnej EDTA bez dodatku pobrane od różnych osób z wynikami ujemnymi. Próbki były zaślepione podczas wykonywania badań przy pomocy testu Xpert Ebola.

Zgodność procentowa wyników dodatnich (PPA) dla RNA wirusa Ebola Mayinga wyniosła 100,0% (50/50, [95% CI: 92,9–100,0]); PPA dla żywego wirusa Makona-Gueckedou 05 wyniosła 100,0% (50/50, [95% CI: 92,9–100,0]); PPA dla żywego wirusa Makona-Gueckedou 07 wyniosła 84,0% (42/50, [95% CI: 71,5–97,1]). Zgodność procentowa wyników ujemnych (NPA) wyniosła 100,0% (50/50 [97,5% CI 92,9–100,0]) dla każdego badania. Tabela 10, Tabela 11 i Tabela 12 przedstawiają wyniki dla próbek ujemnych i próbek z dodatkiem wirusa Ebola.

Tabela 10. Liczby wyników dodatnich i ujemnych dla próbek z dodatkiem RNA wirusa Ebola Zaire Mayinga i próbek kontroli ujemnej

Nominalne miano	N	Wyniki dodatnie		Wyniki ujemne
0	50	0		50
1 × LoD	25	25		0
3 × LoD	10	10		0
10 × LoD	10	10		0
100 × LoD	5	5		0
				95% CI
Zgodność procentowa wyników dodatnich		50/50	100%	92,9%-100%
Zgodność procentowa wyników ujemnych		50/50	100%	92,9%-100%

Tabela 11. Liczby wyników dodatnich i ujemnych dla próbek z dodatkiem wirusa Ebola Makona-Gueckedou 05 i próbek kontroli ujemnej

Nominalne miano	N	Wyniki dodatnie		Wyniki ujemne
0	50	0		50
1 × LoD	25	25		0
3 × LoD	10	10		0
10 × LoD	10	10		0
100 × LoD	5	5		0
				95% CI
Zgodność procentowa wyników dodatnich		50/50	100%	92,9%-100%
Zgodność procentowa wyników ujemnych		50/50	100%	92,9%-100%

Tabela 12. Liczby wyników dodatnich i ujemnych dla próbek z dodatkiem wirusa Ebola Makona-Gueckedou 07 i próbek kontroli ujemnej

Nominalne miano	N	Wyniki dodatnie		Wyniki ujemne
0	50	0		50
2 × LoD	25	21		4
6 × LoD	10	10		0
20 × LoD	10	6		4
200 × LoD	5	5		0
				95% CI
Zgodność procentowa wyników dodatnich		42/50	84,0%	71,5%-97,1%
Zgodność procentowa wyników ujemnych		50/50	100%	92,9%-100%

Badanie dotyczące różnicy między wynikami PPA dla próbek stworzonych na potrzeby testu z dodatkiem wirusa Ebola Makona-Gueckedou 07 (Tabela 12) i dla dwóch pozostałych zestawów próbek stworzonych na potrzeby testu (Tabela 10 i Tabela 11) wykazało niespójności w przygotowywaniu próbek. Wymazówki nie zostały całkowicie zanurzone w próbkach zawierających krew pełną z dodatkiem wirusa Ebola Makona-Gueckedou 07, co ograniczyło ilość próbek dostępnych do badań. Badania próbek stworzonych na potrzeby testu z dodatkiem wirusa Ebola Makona-Gueckedou 07 powtórzono z użyciem 50 poszczególnych próbek krwi pełnej z prawidłowymi stężeniami docelowymi i objętościami dla każdej próbki. Tabela 13 przedstawia podsumowanie wyników dla każdego badanego stężenia oraz zgodność procentową wyników dodatnich i ujemnych dla powtórnego badania.

Tabela 13. Podsumowanie wyników oraz zgodność procentowa wyników dodatnich i ujemnych dla próbek klinicznych stworzonych na potrzeby testu z dodatkiem wirusa Ebola Makona-Gueckedou 07 (Texas)

Nominalne miano	N	Wyniki dodatnie		Wyniki ujemne
0	6	0		6
1 × LoD	25	20		5
3 × LoD	10	10		0
10 × LoD	10	10		0
100 × LoD	5	5		0
				95% CI
Zgodność procentowa wyników dodatnich		45/50	90,0%	78,6%-95,7%
Zgodność procentowa wyników ujemnych		6/6	100%	61,0%-100%

18 Skuteczność wirusobójcza

Skuteczność odczynnika do próbek (SR) testu Xpert Ebola pod kątem dezaktywacji wirusa Ebola (EBOV) po 20 minutach inkubacji w odczynniku do próbek oceniono, dodając $4,6 \times 10^6$ PFU żywego wirusa Ebola Zaire Guinea do 2,5 ml odczynnika do próbek. Po dezaktywacji mieszaninę EBOV/SR poddano dializie przy pomocy jednorazowego urządzenia do szybkiej dializy równowagowej. Kontrolą w badaniu dezaktywacji był żywy wirus Ebola Zaire Kikwit (około 1×10^7 PFU/ml) rozcieńczony 10-krotnie w kompletnym buforze lizującym AVL i dezaktywowany przez 5 minut w temperaturze 90 °C. Żywy wirus Zaire Guinea ($4,6 \times 10^6$ PFU) służył jako kontrola dodatnia. Skuteczność wirusobójczą odczynnika do próbek badano, dodając mieszaninę wirusa i odczynnika do próbek do konfluencyjnej linii komórkowej Vero E6 i monitorując efekt cytotatyczny (CPE) przez 2 przejścia (7 + 7 dni) w trzech powtórzeniach.

Odczynnik do próbek testu Xpert Ebola całkowicie dezaktywował dodanego wirusa Ebola i wykazał 100% skuteczność przy maksymalnie 6 log wirusa Ebola.

19 Ograniczenia testu

- Wynik ujemny badania nie wyklucza zakażenia wirusem Ebola i nie powinien stanowić jedynej podstawy do podejmowania leczenia lub innych decyzji związanych z opieką nad pacjentem.
- Wszystkie wyniki badań powinny być interpretowane przez wyszkolonych profesjonalistów z uwzględnieniem historii choroby oraz klinicznych objawów przedmiotowych i podmiotowych pacjenta.
- Ten test oceniono pod kątem użycia wyłącznie z próbkami krwi pełnej i wymazów policzkowych pobranymi od ludzi.
- Próbkę pobrane od pacjentów otrzymujących leki lub szczepionki wykorzystujące sekwencje kwasów nukleinowych pochodzących od wirusa Ebola Zaire mogą prowadzić do uzyskania wyników fałszywie dodatnich lub innych mylących wyników badań.
- Test ten jest testem jakościowym i nie umożliwia uzyskania wyników ilościowych wirusa w próbce.
- Interpretacja wyników uzyskanych przy pomocy testu Xpert Ebola musi uwzględnić możliwość uzyskania wyników fałszywie dodatnich lub fałszywie ujemnych.
- Wyniki fałszywie dodatnie mogą być spowodowane zanieczyszczeniem krzyżowym drobnoustrojami docelowymi, ich kwasami nukleinowymi lub amplikonem PCR.
- Nieprzestrzeganie procedur badania może prowadzić do uzyskania wyników fałszywych.
- Substancje powodujące hamowanie obecne w próbkach mogą prowadzić do uzyskania wyników fałszywie ujemnych.
- Błędne wyniki badania mogą być spowodowane niewłaściwym pobraniem, obsługą, przechowywaniem lub pomieszaniem próbek bądź zbyt małą liczbą drobnoustrojów w próbce uniemożliwiająca ich wykrycie przez test. Uważne przestrzeganie instrukcji zawartych w niniejszej ulotce informacyjnej pozwoli uniknąć uzyskania błędnych wyników.
- Mutacje lub polimorfizmy w regionach wiązania starterów lub sond mogą wpływać na wykrywanie nowych lub nieznanymi wariantów, co może prowadzić do uzyskania wyniku fałszywie ujemnego.

20 Piśmiennictwo

1. WHO Ebola Situation Reports <http://apps.who.int/ebola/en/ebola-situation-reports>.
2. 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)).
3. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z)

21 Lokalizacja siedziby głównej firmy Cepheid

Siedziba główna firmy

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
Stany Zjednoczone
Telefon: + 1 408 541 4191
Faks: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Siedziba główna w Europie

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Francja
Telefon: + 33 563 825 300
Faks: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

22 Pomoc techniczna

Przed skontaktowaniem się z Centrum wsparcia klienta firmy Cepheid zbierz następujące informacje:

- Nazwa produktu
- Numer serii
- Numer seryjny aparatu
- Komunikaty o błędach (jeśli występują)
- Wersja oprogramowania i numer znacznika serwisowego komputera (w odpowiednim przypadku)

















Informacje kontaktowe

Stany Zjednoczone
Telefon: + 1 888 838 3222
Email: techsupport@cepheid.com

Francja
Telefon: + 33 563 825 319
Email: support@cepheideurope.com

Dane kontaktowe wszystkich oddziałów Centrum wsparcia klienta firmy Cepheid są dostępne na naszej stronie internetowej: www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

23 Tabela symboli

Symbol	Znaczenie
	Numer katalogowy
	Wyrób medyczny do diagnostyki <i>in vitro</i>
	Oznaczenie CE — zgodność z wymogami UE
	Nie używać ponownie
	Kod serii
	Zapoznać się z instrukcją użycia
	Producent
	Kraj produkcji
	Zawiera ilość wystarczającą do wykonania <n> badań
	Kontrola
	Zakres temperatury
	Zagrożenie biologiczne
	Ostrzeżenie
	Data ważności
	Upoważniony przedstawiciel w Szwajcarii
	Importer



Cepheid
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland

