

Xpert[®] Xpress GBS

REF XPRSGBS-CE-10

Brugsanvisning

CE **IVD**

Varemærke, patenter og erklæringer om ophavsret

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.

© 2022-2023 Cepheid.

Cepheid[®], Cepheid-logoet, GeneXpert[®] og Xpert[®] er varemærker tilhørende Cepheid registreret i USA og andre lande. Alle andre varemærker tilhører deres respektive ejere.

KØBET AF DETTE PRODUKT GIVER KØBEREN DEN IKKE-OVERDRAGELIGE RET TIL AT BRUGE DET I OVERENSSTEMMELSE MED DENNE BRUGSANVISNING. INGEN ANDRE RETTIGHEDER FORMIDLES UDTRYKKELIGT, VED IMPLIKATIONER ELLER VED AFSKÆRELSE (ESTOPPEL). DESUDEN ER DER INGEN RETTIGHEDER TIL VIDERESALG VED KØB AF DETTE PRODUKT.

© 2022-2023 Cepheid.

En beskrivelse af ændringer kan findes i Afsnit 27, Revisionshistorik.

Xpert[®] Xpress GBS

Kun til in vitro-diagnostik

1 Handelsnavn

Xpert[®] Xpress GBS

2 Trivialnavn eller alment navn

Xpert Xpress GBS

3 Tilsigtet formål

3.1 Tilsigtet brug

Xpert[®] Xpress GBS-testen, udført på GeneXpert Instrument Systems, er en automatiseret kvalitativ *in vitro*-diagnostisk test til påvisning af DNA fra gruppe B *streptokokker* (GBS), der anvender en polymerasekædereaktion (PCR) i realtid. Testen udføres ved brug af vaginale/rektale præparater med dobbelt pødepind indsamlet fra gravide kvinder antepartum eller intrapartum.

Xpert Xpress GBS-testen er beregnet som en hjælp til diagnosticering af GBS-kolonisering for at identificere kandidater til antibiotikaproylaxse.

Xpert Xpress GBS-testen giver ikke testresultater for antimikrobiel følsomhed. Dyrkning er nødvendigt for at få isolater til udførelse af følsomhedstest, som det er anbefalet til kvinder, der er allergiske over for penicillin.

3.2 Tilsigtet bruger/miljø

Xpert Xpress GBS-testen er beregnet til at blive udført af uddannede brugere i både laboratorie- og patientnære testmiljøer.

4 Resumé og forklaring

Bakterieinfektion med GBS er forbundet med alvorlig sygdom hos nyfødte, som er født af kvinder, der er koloniseret af mikroorganismen. GBS-infektion er den væsentligste årsag til dødsfald hos nyfødte, som udvikler sepsis, lungebetændelse eller meningitis (1, 2). Omtrent halvdelen af kvinder, der koloniseres af GBS, vil overføre bakterien til deres nyfødte. Overførsel af GBS finder normalt sted under fødslen eller efter fosterhinderupturen.

På nuværende tidspunkt er standardbehandlingen for forebyggelse af neonatal GBS-sygdom enten antepartum screening hos gravide kvinder efter 36 0/7 og 37 6/7 svangerskabsuger eller intrapartum screening under fødselsveerne for at bestemme status af GBS-koloniseringen (1, 2). Hovedparten af antepartum GBS-testning foretages ved dyrkning eller en nukleinsyreamplifikationstest (NAAT) udført på en berigelsesbouillon dyrkning efter 18–24 timers inkubation (3), og det tager normalt én til tre dage at færdiggøre resultaterne. For hovedparten af kvinder kan denne tidsramme være tilstrækkelig til at få antepartum resultater for GBS. Dog vil nogle kvinder måske ikke have tilgængelige GBS-resultater ved starten af fødslen. For kvinder, der ikke har haft svangerskabskontrol, eller som måske føder for tidligt, eller hvis testresultater for GBS er ukendte på fødselstidspunktet, kan intrapartum testning udført direkte fra et ikke-beriget podningspræparat give resultater tidnok til, at det kan bestemmes, om der kan administreres antibiotika inden fødslen eller ej.

Den potentielle indvirkning af intrapartum testning er nedsat brug af unødvendige antibiotika hos kvinder, der ikke på anden måde er indiceret til profylakse, foruden den potentielle indvirkning på bakteriemikrobiota i mavetarmkanalen hos nyfødte (4), samtidig med at der gives passende behandling til kvinder koloniseret med GBS med deraf følgende nedsat risiko for neonatal sepsis eller meningitis. (5) Effektiv intrapartum GBS-testning af gravide kvinder, der møder på fødegangen uden en kendt GBS-status, kræver hurtig præparattagning og kapacitet til at give resultater hurtigt nok til at starte forløbet af den anbefalede antibiotikaprofylakse inden fødslen.

5 Procedurens princip

Xpert Xpress GBS-testen er en automatiseret *in vitro*-diagnostisk test til kvalitativ påvisning af DNA fra gruppe B *streptokokker* (GBS). Analysen udføres på Cepheid GeneXpert Instrument Systems.

GeneXpert Instrument Systems automatiserer og integrerer prøveklargøring, nukleinsyreoprensning og -amplifikation og påvisning af målsekvensen i kliniske prøver ved hjælp af polymerasekædereaktion (PCR) i realtid.

Primere og prober i Xpert Xpress GBS-testen er beregnet til at amplificere og påvise unikke sekvenser i to GBS-kromosommål. Det ene mål ligger inden for et kodningsområde for et protein i glykosyltransferasefamilien, og det andet mål ligger inden for et kodningsområde for en transkriptionsregulator i *LysR*-familien af *S. agalactiae*-DNA. Et positivt resultat dannes, hvis det ene eller begge mål påvises.

GeneXpert-systemerne består af et instrument, en computer og forudinstalleret software til at køre tests og vise resultaterne. Systemerne kræver, at der bruges kassetter til engangsbrug, som indeholder PCR-reagenserne og er vært for PCR-processen. Fordi kassetterne er selvstændige, minimeres krydskontaminering mellem prøverne. For en fuld beskrivelse af systemerne henvises til den relevante betjeningsvejledning til GeneXpert-instrumentssystemet.

Xpert Xpress GBS-testen inkluderer reagenser til samtidig påvisning af mål-GBS-DNA, en prøvebehandlingskontrol (SPC) til overvågning af nøjagtige prøvebehandlingsforhold og -hæmning og en prøvetilstrækkelighedskontrol (SAC). SAC påviser tilstedeværelse af et humant gen i en enkelt kopi og sikrer, at prøven indsamles korrekt, og at den indeholder tilstrækkeligt humant DNA. Probekontrollfunktionen verificerer reagensrehydrering, fyldning af PCR-rør i kassetten, probeintegritet og farvestofstabilitet.

Efter en podningsprøve er indsamlet og transporteret til GeneXpert-testområdet, indsættes podningen i Xpert Xpress GBS-kassetten. GeneXpert-instrumentssystemet udfører prøveklargøringen ved at eluere præparatmaterialet fra podningen, resuspendere SPC (*Bacillus globigii*) i form af en perle inde i kassetten) med reagens 1, blande prøve, SPC og reagens 2, indfange cellemateriale på et filter, lysere cellerne og eluere DNA'et. Det eluerede DNA blandes derefter med tørre PCR-reagenser og overføres til det integrerede reaktionsrør til realtids-PCR og påvisning.

Xpert Xpress GBS har en funktion for tidlig analyseafslutning (EAT), der muliggør tidlig rapportering af resultater. EAT aktiveres, når den forudbestemte tærskel for et positivt testresultat opnås, inden alle PCR-cykluser er blevet gennemført.

Prøveresultaterne interpoleres af GeneXpert-systemet ud fra målte fluorescenssignaler og indlejrede beregningsalgoritmer og vises i vinduet **Vis resultater (View Results)** i tabel- og grafikformat. Resultaterne kan vises og udskrives. Den rapporterer også, om testen er ugyldig, fejlbehæftet eller ikke gav noget resultat.

6 Medfølgende materialer

Xpert Xpress GBS-kittet (XPRSGBS-CE-10) indeholder tilstrækkeligt med reagenser til at behandle 10 patientprøver eller kvalitetskontrolprøver. Kittet indeholder følgende:

Xpert Xpress GBS med integrerede reaktionsrør		10 pr. kit
Komponent/reagens	Indholdsstof	Mængde
Perle 1 (frysetørret)	Enzym: Taq DNA polymerase <80 enheder/ perle	1 pr. kassette
	dNTP'er <0,05 %, probe <0,005 %	
Perle 2	Primer og prober <0,005 %	1 pr. kassette
Perle 3	Bg-sporer <1e5 sporer/perle	1 pr. kassette
Reagens 1	Trizma base <0,3 %	3 ml pr. kassette
	EDTA <0,04 %	

Xpert Xpress GBS med integrerede reaktionsrør		10 pr. kit
Komponent/reagens	Indholdsstof	Mængde
	Trizma HCl <0,4 %	
	Tween 20 < 1 %	
Reagens 2	Natriumhydroxid <2 %	1,5 ml pr. kassette

CD-1 pr. kit

- Analysedefinitionsfil (ADF)
- Anvisninger til import af ADF til software
- Brugsanvisning (indlægsseddel)

Bemærk Sikkerhedsdatablade (SDS) er tilgængelige på www.cepheid.com eller www.cepheidinternational.com under fanebladet ASSISTANCE (SUPPORT).

Bemærk Det bovine serumalbumin (BSA) i perlerne i dette produkt blev produceret og fremstillet udelukkende af bovint plasma fra USA. Intet drøvtyggerprotein eller andet animalsk protein blev fodret til dyrene; dyrene bestod test før og efter slagting. Under behandlingen var der ingen blanding af materialet med andre animalske materialer.

7 Opbevaring og håndtering

- Xpert Xpress GBS-kassetterne opbevares ved 2° C til 28° C.
- Brug ikke kassetter, der har overskredet udløbsdatoen på etiketten.
- Brug ikke en kassette, der er lækket.
- Åbn ikke låget på kassetten, før du er klar til udføre testen.

8 Materialer, der kræves, men ikke medfølger

- Cepheid indsamlingsudstyr (varenummer 900-0370)
- GeneXpert Dx System eller GeneXpert Infinity System (katalognummer varierer efter konfiguration): GeneXpert-instrument, computer, stregkodescanner og betjeningsvejledning
 - Kun til *GeneXpert Dx System*: GeneXpert Dx-software version 5.3 eller nyere
 - Til *GeneXpert Infinity-80-* og *Infinity-48s-systemer*: Xpertise-software version 6.8 eller nyere.

9 Tilgængelige materialer, der ikke medfølger

- Printer: Hvis en printer er påkrævet, skal du kontakte Cepheids tekniske support for at arrangere køb af en anbefalet printer.

10 Advarsler og forholdsregler

- Til *in vitro*-diagnostik.
- Alle biologiske præparater, herunder brugte kassetter og reagenser, skal behandles som værende i stand til at overføre smitsomme stoffer. Da det ofte er umuligt at vide, hvilket præparat kan være smitsomt, bør alle biologiske præparater behandles med standardforholdsregler. Retningslinjer for håndtering af præparater er tilgængelige fra de amerikanske centre for sygdomsbekæmpelse og forebyggelse⁶ og Clinical and Laboratory Standards Institute⁷.
- Følg institutionens sikkerhedsprocedurer for arbejde med kemikalier og håndtering af biologiske prøver.
- Følg god laboratoriepraksis. Skift handsker mellem håndtering af hvert patientpræparat for at undgå kontaminering af præparater eller reagenser. Rengør jævnlige arbejdsfladen/-områderne.
- Brug beskyttelseshandsker til engangsbrug, laboratoriekitter og beskyttelsesbriller ved håndtering af præparater og reagenser. Vask hænderne grundigt efter håndtering af præparater og testreagenser.
- Åbn ikke låget på Xpert Xpress GBS-kassetten, undtagen ved tilsætning af prøve.
- Brug ikke en kassette, der har været tabt, efter den er taget ud af emballagen.

- Ryst ikke kassetten. Hvis kassetten rystes eller tabes efter åbning af låget, kan det give et ugyldigt resultat.
- Brug ikke en kassette, der viser tegn på beskadigelse.
- Anbring ikke etiketten med prøve-ID på kassettelåget eller på stregkodeetiketten.
- Hver Xpert Xpress GBS-kassette til engangsbrug anvendes til at behandle én test. Genanvend ikke kassetter.
- Rengør arbejdsfladen/-områderne med 10 % blegemiddel før og efter behandling af Xpert Xpress GBS-præparater.
- Præparaterne kan indeholde høje organismeniveauer. Sørg for prøvebeholderne ikke kommer i kontakt med hinanden. Skift handsker, hvis de kommer i direkte kontakt med prøven og efter behandling af hver prøve for at forhindre kontaminering af andre prøver.
- Biologiske præparater, overførselsudstyr og brugte kassetter skal behandles som værende i stand til at overføre smitsomme stoffer, der kræver brug af standardforholdsregler. Overhold institutionens procedurer for miljømæssigt forsvarlig affaldshåndtering vedrørende korrekt bortskaffelse af brugte kassetter og ubrugte reagenser. Disse materialer kan udvise egenskaber svarende til kemisk farligt affald, der skal bortskaffes ifølge specifikke nationale eller regionale procedurer. Hvis nationale eller regionale forordninger ikke indeholder klare retningslinjer for korrekt bortskaffelse, skal biologiske præparater og brugte kassetter bortskaffes ifølge retningslinjer fra WHO [Verdenssundhedsorganisationen] vedrørende håndtering og bortskaffelse af medicinsk affald.
- Pålidelige resultater afhænger af passende præparatindsamling, transport, opbevaring og behandling. Der kan forekomme ukorrekte testresultater fra forkert indsamling, håndtering eller opbevaring af præparater, teknisk fejl, prøveombytning, eller fordi antallet af organismer i præparatet er under testens detektionsgrænse. Det er nødvendigt at overholde brugsanvisningen nøje og *GeneXpert Dx System Operator Manual* eller *GeneXpert Infinity System Operator Manual* for at undgå fejlagtige resultater.

11 Præparattagning og -transport

For at få tilstrækkeligt med præparat, skal anvisningerne i dette afsnit følges nøje.

Indsaml vaginale/rektale podningsprøver i overensstemmelse med ACOG, europæiske eller lokale anbefalinger^{1, 2, 3} ved anvendelse af Cepheid-prøvetagningsudstyr (delnummer 900-0370).


1. Brug gaze til at fjerne overskydende mængder sekret eller udflåd fra det vaginale/rektale område.
2. Fjern prøvetagningsudstyret, en dobbelt podepind, fra posen.
3. Indfør forsigtigt den dobbelte podepind i patientens vagina. Udtag prøve af sekreterne fra slimhinden i den nederste tredjedel af vaginaen. Drej podepindene tre gange for at sikre samme prøvemængde på begge podepinde. Udtag ikke en livmoderhalsprøve.
4. Brug den samme dobbelte podepind, og før forsigtigt podepinden ca. 2,5 cm forbi den anale sphincter, og drej omhyggeligt for at udtage prøver fra anale crypta.

Vigtigt Podepindene skal være monteret på den røde hætte under hele proceduren.

5. Fjern og kassér transportrørets gennemsigtige hætte, og anbring podepindene i transportrøret mærket med prøve-ID. Tryk den røde hætte helt fast.
6. Hvor muligt skal præparaterne opbevares ved 2–8 °C, når de ikke behandles.
 - Hvis præparaterne skal behandles *inden for 24 timer*, er opbevaring ved op til 25 °C acceptabelt.
 - Hvis præparaterne testes *efter 24 timer*, skal de opbevares på køl, indtil testen udføres. Præparater kan opbevares i op til seks dage ved 2–8 °C.

12 Kemiske farer^{7,8}

Reagens 2 (natriumhydroxid)

- FN GHS signalord: ADVARSEL
- FN GHS farepiktogram(mer): 
- FN GHS faresætning(er)
 - Forårsager hudirritation
 - Forårsager alvorlig øjenirritation
- FN GHS forsigtighedssætning(er)
 - Forebyggelse

- Vask grundigt efter brug.
- Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse
- **Handling**
 - VED KONTAKT MED HUDEN: Vask med rigeligt sæbe og vand.
 - Forurenet tøj tages af og vaskes, før det bruges igen.
 - Ved hudirritation: Søg lægehjælp.
 - VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning.
 - Ved vedvarende øjenirritation: Søg lægehjælp
- **Opbevaring/bortskaffelse**
 - Bortskaffelse af indhold og/eller beholder skal ske i overensstemmelse med lokale, regionale, nationale og/eller internationale krav.

13 Procedure

13.1 Klargøring af kassetten

Vigtigt Start testen inden for 30 minutter efter tilsætning af prøven til kassetten.

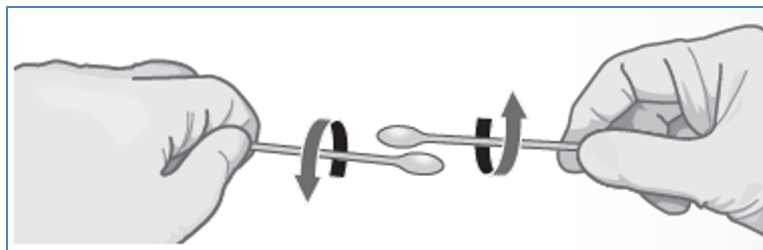
Bemærk Kun én podepind er påkrævet. Den anden podepind er ekstra og kan bruges til følsomheds- eller gentaget testning. Det er nødvendigt med dyrkningsisolater for at udføre følsomhedstest, som det er anbefalet til kvinder, der er allergiske over for penicillin. Tilsæt ikke 2 podepinde til én kassette.

Sådan tilsættes præparatet til -kassetten:

1. Brug beskyttende engangshandsker.
2. Tag kassetten ud af pakken.
3. Se kassetten efter for skader. Hvis den er beskadiget, må den ikke bruges.
4. Hvis kassetten har været opbevaret i køleskab, skal den nå stuetemperatur inden brug.
5. Mærk kassetten med prøveidentifikation.

Bemærk Skriv på siden af kassetten eller sæt en id-etiket på. Sæt ikke etiketten på låget af kassetten eller over den eksisterende 2D-stregkode på kassetten.

6. Åbn kassetlåget ved at løfte forrest på kassetlåget.
7. Åbn hættens på prøvetransportrøret.
8. Tag podepindene ud af transportrøret.
9. Fjern én podepind fra hættens, og stryg forsigtigt de to podepinde samtidig med en roterende bevægelse i fem sekunder (se Figur 1).



Figur 1. Roterende bevægelse af podepind

10. Returnér den anden podepind, som stadig sidder fast på hættens, til transportrøret.
11. Brug gaze eller tilsvarende materiale til at holde podepinden, der skal bruges til testning, over markeringsrillen (se Figur 2).



Figur 2. Xpert Xpress GBSPodepind til prøvetagning

12. Sæt podepinden i Xpert Xpress GBS-kassettenes prøvekommer (se Figur 3).



Figur 3. Xpert Xpress GBS-kassette (set ovenfra)

13. Løft podepinden så markeringsrillen er midt i hakket.
14. Knæk podepinden ved at brække stilken mod højre.
15. Sørg for, at podepinden er placeret korrekt i kassetten, og at podepindens ende ikke befinder sig i udskæringen på prøvekommerets åbning og ikke forhindrer lukning af låget. Hvis podepinden sidder fast i hakket, bruges en fnugfri serviet/gazeserviet eller den resterende ende af podepinden for at frigøre den fra hakket og minimere risikoen for kontamination.
16. Luk kassettelåget. Start testen inden for 30 minutter.

13.2 Eksterne kontroller

De eksterne kontroller kan bruges i overensstemmelse med lokale, statslige og landsmæssige akkrediteringsorganisationer, alt efter hvad der er relevant.

14 Kørsel af testen

- For GeneXpert Dx System, se Afsnit 14.1.
- For GeneXpert Infinity System, se Afsnit 14.2.

14.1 GeneXpert Dx System

14.1.1 Start af testen

Inden testen startes skal det sikres, at:

- Vigtigt**
- Systemet kører den korrekte GeneXpert Dx-softwareversion som vist i afsnittet - Materialer, der kræves, men ikke medfølger.
 - Den korrekte analysedefinitionsfil er importeret til softwaren.

Dette afsnit indeholder de basale trin til at køre testen. Der henvises til *GeneXpert Dx System Operator Manual* for detaljerede anvisninger.

Bemærk De trin, du skal følge kan være nogle andre, hvis systemadministratoren har ændret systemets standardarbejdsgang.

1. Tænd for GeneXpert Dx System, tænd derefter for computeren og log på. GeneXpert-softwaren starter automatisk. Hvis den ikke starter, skal du dobbeltklikke på genvejsikonet for GeneXpert Dx-softwaren på Windows®-skrivebordet.
2. Log på med dit brugernavn og din adgangskode.
3. Klik på **Opret test (Create Test)** i **GeneXpert-systemvinduet**. Vinduet **Opret test (Create Test)** vises. Dialogboksen **Scan patient-id-stregkode (Scan Patient ID barcode)** vises.
4. Scan eller skriv patient-id'et (Patient ID). Hvis du indtaster patient-id'et (Patient ID), skal du sørge for, at patient-id'et (Patient ID) er indtastet korrekt. Patient-id'et (Patient ID) er knyttet til testresultaterne og vises i vinduet **Vis resultater (View Results)** og i alle rapporter. Dialogboksen **Scan prøve-id-stregkode (Scan Sample ID barcode)** vises.
5. Scan eller skriv prøve-id'et (Sample ID). Hvis du indtaster prøve-id'et (Sample ID), skal du sørge for, at prøve-id'et (Sample ID) er indtastet korrekt. Prøve-id'et (Sample ID) er knyttet til testresultaterne og vises i vinduet **Vis resultater (View Results)** og i alle rapporter. Dialogboksen **Scan kassettestregkode (Scan Cartridge Barcode)** vises.
6. Scan stregkoden på kassetten. Ved hjælp af stregkodeoplysningerne udfylder softwaren automatisk kasserne for de følgende felter: Vælg analyse (Select Assay), Reagenslot-ID (Reagent Lot ID), Kasette-SN (Cartridge SN) og Udløbsdato (Expiration Date).

Bemærk Hvis stregkoden på kassetten ikke kan scannes, skal du gentage testen med en ny kassette. Hvis du har scannet kassettestregkoden i softwaren, og analysedefinitionsfilen ikke er tilgængelig, vises et skærmbillede, der angiver, at analysedefinitionsfilen ikke er indlæst i systemet. Hvis denne skærm vises, skal du kontakte Cepheid teknisk support.

7. Klik på **Start test (Start Test)**. I den viste dialogboks indtaster du din adgangskode, hvis påkrævet.
8. Åbn instrumentmodullågen med det blinkende grønne lys og indsæt kassetten.
9. Luk lågen. Testen starter, og det grønne lys holder op med at blinke. Når testen er slut, slukker lyset.
10. Vent med at åbne modullågen, indtil systemet frigiver dørlåsen, og fjern derefter kassetten.
11. Bortskaf brugte kassetter i de relevante præparataffaldsbeholdere i henhold til din institutions standardpraksis.

14.1.2 Visning og udskrivning af testresultater

I dette afsnit vises de grundlæggende trin til visning og udskrivning af resultater. Du kan finde mere detaljerede anvisninger om, hvordan du får vist og udskriver resultaterne i *Betjeningsvejledningen til GeneXpert Dx-systemet*.

1. Klik på ikonet **Vis resultater (View Results)** for at vise resultaterne.
2. Når testen er fuldført, skal du klikke på knappen **Rapport (Report)** i vinduet **Vis resultater (View Results)** for at få vist og/eller generere en rapport i PDF-format.

14.2 GeneXpert Infinity System

14.2.1 Start af testen

Inden testen startes skal det sikres, at:

- Vigtigt**
- Systemet kører den korrekte Xpertise-softwareversion som vist i afsnittet - Materialer, der kræves, men ikke medfølger.
 - Den korrekte analysedefinitionsfil er importeret til softwaren.

Dette afsnit indeholder de basale trin til at køre testen. Der henvises til *GeneXpert Infinity System Operator Manual* for detaljerede anvisninger.

Bemærk De trin, du skal følge kan være nogle andre, hvis systemadministratoren har ændret systemets standardarbejdsgang.

1. Tænding af instrumentet. Xpertise-softwaren starter automatisk. Hvis den ikke starter, skal du dobbeltklikke på genvejsikonet for Xpertise-softwaren på Windows®-skrivebordet.
2. Log på computeren, og log dernæst på GeneXpert Xpertise-softwaren med dit brugernavn og din adgangskode.
3. I **Xpertise-softwarens startarbejdsområde** klikker du på **Bestillinger (Orders)**, og i arbejdsområdet for **Bestillinger (Orders)** klikker du på **Bestil test (Order Test)**. Arbejdsområdet **Bestil test - Patient-id (Order Test - Patient ID)** vises.
4. Scan eller skriv patient-id'et (Patient ID). Hvis du indtaster patient-id'et (Patient ID), skal du sørge for, at patient-id'et (Patient ID) er indtastet korrekt. Patient-id'et (Patient ID) er knyttet til testresultaterne og vises i vinduet **Vis resultater (View Results)** og i alle rapporter.
5. Indtast alle de yderligere oplysninger, som din institution kræver, og klik på knappen **FORTSÆT (CONTINUE)**. Arbejdsområdet **Bestil test - Prøve-id (Order Test - Sample ID)** vises.
6. Scan eller skriv prøve-id'et (Sample ID). Hvis du indtaster prøve-id'et (Sample ID), skal du sørge for, at prøve-id'et (Sample ID) er indtastet korrekt. Prøve-id'et (Sample ID) er knyttet til testresultaterne og vises i vinduet **Vis resultater (View Results)** og i alle rapporter.
7. Klik på knappen **FORTSÆT (CONTINUE)**. Arbejdsområdet **Bestil test - Analyse (Order Test - Assay)** vises.
8. Scan strekkoden på kassetten. Ved hjælp af strekkodeoplysningerne udfylder softwaren automatisk kasserne for de følgende felter: Vælg analyse (Select Assay), Reagenslot-ID (Reagent Lot ID), Kasette-SN (Cartridge SN) og Udløbsdato (Expiration Date).

Bemærk Hvis strekkoden på kassetten ikke kan scannes, skal du gentage testen med en ny kassette. Hvis du har scannet kassettestrekkoden i softwaren, og analysedefinitionsfilen ikke er tilgængelig, vises et skærmbillede, der angiver, at analysedefinitionsfilen ikke er indlæst i systemet. Hvis denne skærm vises, skal du kontakte Cepheid teknisk support.

Efter kassetten er blevet scannet, vises arbejdsområdet **Bestil test - Testoplysninger (Order Test - Test Information)**.

9. Kontroller, at oplysningerne er korrekte, og klik på **Send (Submit)**. I den viste dialogboks indtaster du din adgangskode, hvis påkrævet.
10. Placer kassetten på transportbåndet. Kassetten bliver ført ind automatisk, testen kører, og den brugte kassette bliver anbragt i affaldsbeholderen.

14.2.2 Visning og udskrivning af testresultater

I dette afsnit vises de grundlæggende trin til visning og udskrivning af resultater. Du kan finde mere detaljerede anvisninger om, hvordan du får vist og udskriver resultaterne i *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

1. I **Xpertise-softwarens startarbejdsområde** klikker du på ikonet **RESULTATER (RESULTS)**. Menuen med resultater vises.
2. I menuen med resultater vælges knappen **VIS RESULTATER (VIEW RESULTS)**. Arbejdsområdet **Vis resultater (View Results)** vises sammen med testresultaterne.
3. Klik på knappen **RAPPORT (REPORT)** for at få vist og/eller generere en rapport i PDF-format.

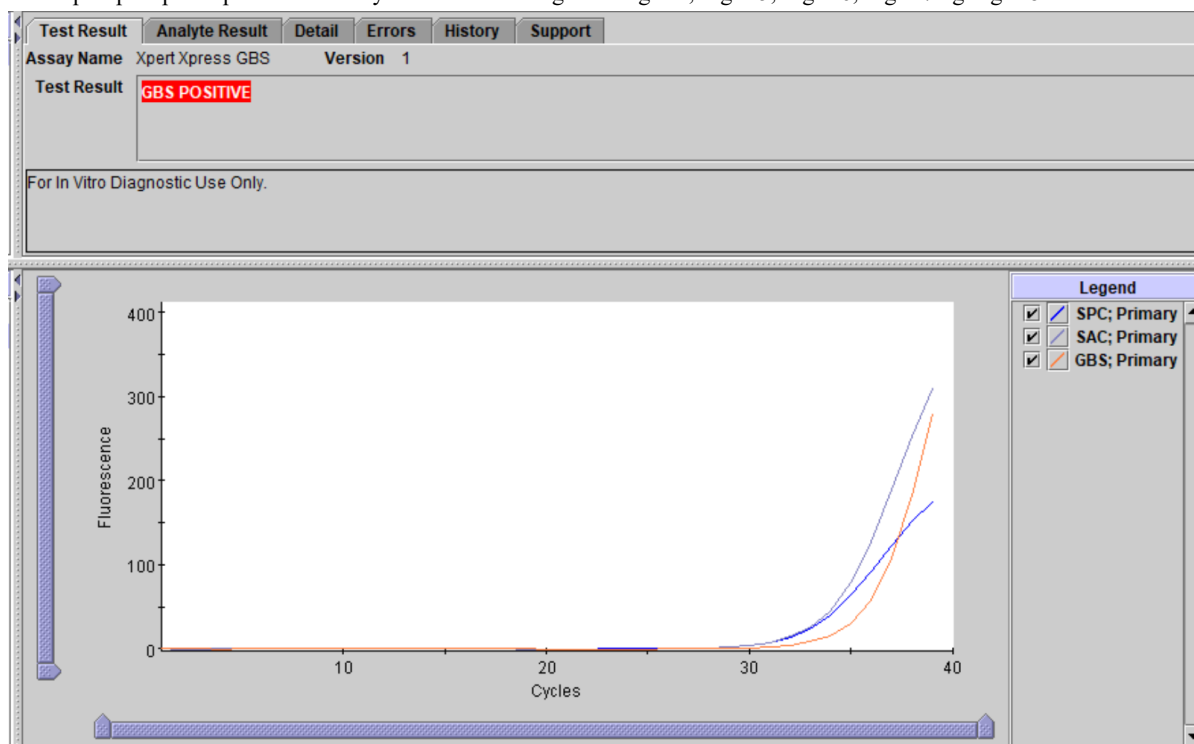
15 Kvalitetskontrol

Hver test indeholder en prøvebehandlingskontrol (SPC), en prøvetilstrækkelighedskontrol (SAC) og en probekontrol (PCC).

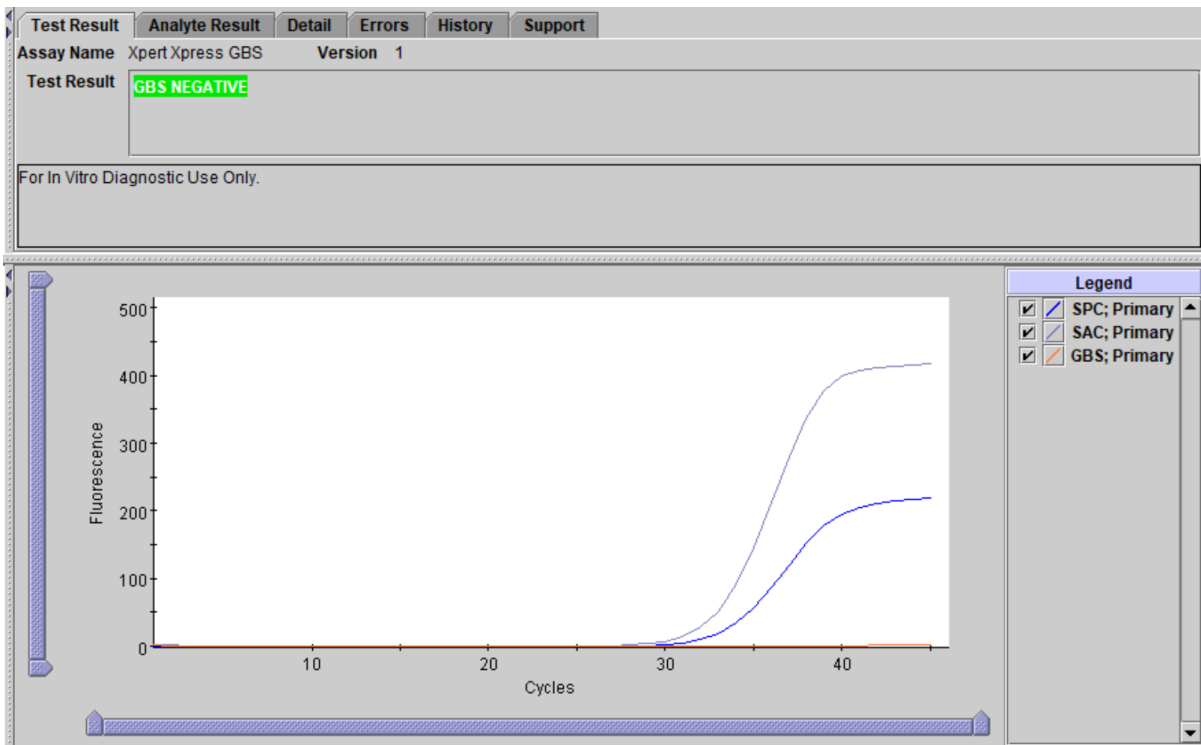
- Prøvetilstrækkelighedskontrol (SAC):** Sikrer at prøven indeholder menneskeceller eller menneske-DNA. Denne multiplex-analyse indeholder primere og prober til påvisning af et humant gen i en enkelt kopi. SAC-signalet anvendes kun i en analyt negativ prøve, da det fungerer som en kontrol for tilstrækkelig prøveindsamling og prøvestabilitet for at mindske risikoen for falsk negative resultater. En negativ SAC angiver, at der ikke findes menneskeceller i prøven pga. ukorrekt prøveindsamling eller utilstrækkelig prøvemængde på podepinden. SAC skal bestå—generere en gyldig cyklustærskel (Ct) i en negativ prøve—og må ikke amplificere i en kraftigt positiv prøve. SAC'en består, hvis den opfylder de tildelte acceptkriterier og er nødvendig for at få et gyldigt GBS-negativt resultat, for at der ikke rapporteres et ugyldigt resultat.
- Prøvebehandlingskontrol (SPC):** Kontrollerer, at prøven blev behandlet korrekt. SPC'en er *B. globigii* i form af en tør perle og er inkluderet i hver kassette. SPC'en overvåger forholdene for nøjagtig prøvebehandling, prøvehæmning, lysis og elueringsbehandling. SPC skal bestå—generere en gyldig cyklustærskel (Ct) i en negativ prøve—og må ikke amplificere i en kraftigt positiv prøve. SPC'en består, hvis den opfylder de tildelte acceptkriterier for at der ikke rapporteres et ugyldigt resultat.
- Probekontrol (PCC):** Inden starten af PCR-reaktionen måler GeneXpert-instrumentssystemet fluorescenssignalet fra proberne for at overvåge perlerehydrering, fyldning af reaktionsrør, probeintegritet og farvestofstabilitet. Probekontrol består, hvis den opfylder de foreskrevne acceptkriterier. Ellers rapporteres der et fejl-resultat.

16 Fortolkning af resultater

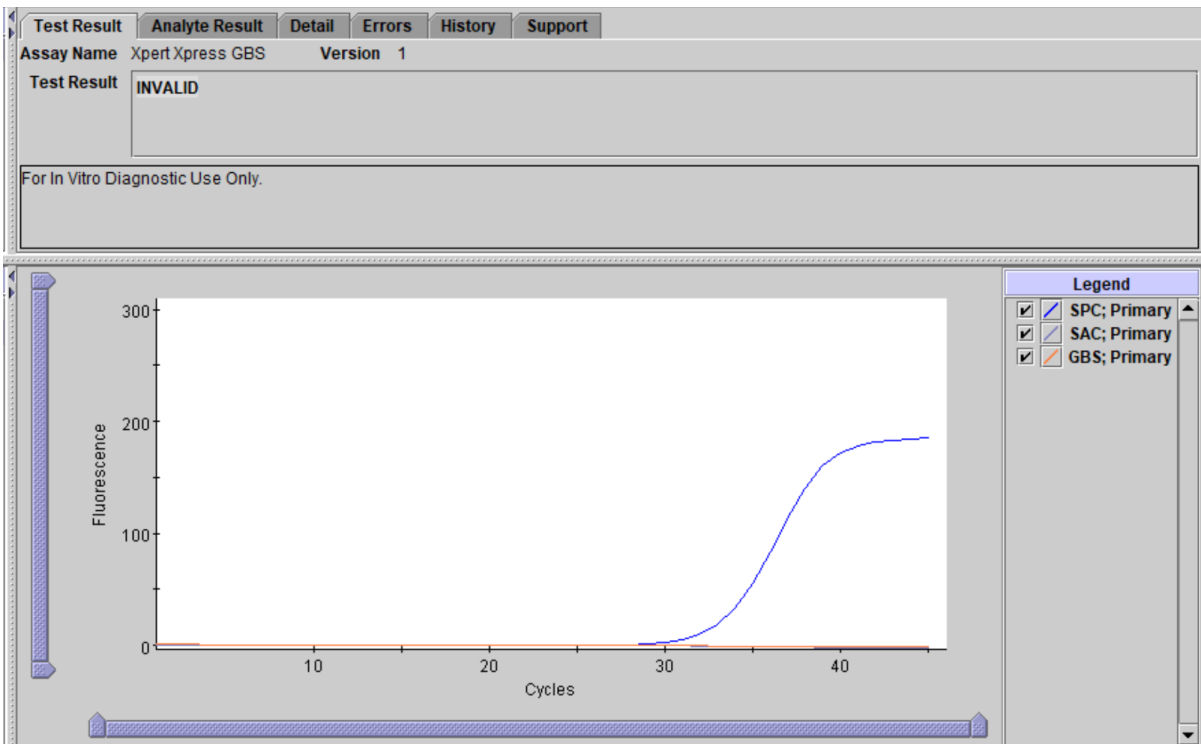
Resultaterne bestemmes af GeneXpert Instrument Systems ud fra målte fluorescenssignaler og indlejrede beregningsalgoritmer og vises tydeligt i vinduet **Vis resultater (View Results)**. Mulige resultater vises i Tabel 1. Eksempler på Xpert Xpress GBS-analysens resultater er givet i Figur 4, Figur 5, Figur 6, Figur 7 og Figur 8.



Figur 4. Eksempel på et GBS-POSITIVT resultat



Figur 5. Eksempel på et GBS-NEGATIVT resultat



Figur 6. Eksempel på et ugyldigt resultat

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Assay Name	Xpert Xpress GBS	Version	1		
Test Result	ERROR				
For In Vitro Diagnostic Use Only.					
<No Data Available>					

Figur 7. Et eksempel på et FEJL-resultat

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Assay Name	Xpert Xpress GBS	Version	1		
Test Result	NO RESULT				
For In Vitro Diagnostic Use Only.					
<No Data Available>					

Figur 8. Et eksempel på INTET RESULTAT

Tabel 1. GBS-resultater og fortolkning

Resultat	Fortolkning
----------	-------------

Resultat	Fortolkning
GBS — POSITIV (POSITIVE)^a Se Figur 4.	Der er påvist mål-DNA for GBS—formodes at være koloniseret med GBS. <ul style="list-style-type: none"> • GBS — POSITIV (POSITIVE) • SPC – Ikke relevant (NA). SPC er ignoreret, da GBS-målampifikation kan konkurrere med denne kontrol • Probekontroller - BESTÅET (PASS) • SAC — Ikke relevant (NA)
GBS — NEGATIV (NEGATIVE) Se Figur 5.	Der er ikke påvist mål-DNA for GBS - formodes ikke at være koloniseret med GBS. <ul style="list-style-type: none"> • GBS — NEGATIV (NEGATIVE) • SPC — BESTÅET (PASS) • Probekontroller—BESTÅET (PASS) • SAC - BESTÅET (PASS).
UGYLDIG (INVALID)^b Se Figur 6.	Tilstedeværelse eller fravær af GBS-mål-DNA kan ikke afgøres. SAC og/eller SPC opfylder ikke acceptkriterierne. <ul style="list-style-type: none"> • GBS — UGYLDIG (INVALID) • SPC — MISLYKKET (FAIL)^c • Probekontroller—BESTÅET (PASS) • SAC — MISLYKKET (FAIL)^c
FEJL (ERROR)^b Se Figur 7.	Tilstedeværelse eller fravær af GBS-mål-DNA kan ikke fastslås. En systemkomponent svigtede, det maksimale tryk blev nået eller probekontrollen mislykkedes. <ul style="list-style-type: none"> • GBS — INTET RESULTAT (NO RESULT) • SPC — INTET RESULTAT (NO RESULT) • Probekontroller—MISLYKKET (FAIL)^d • SAC – INTET RESULTAT (NO RESULT)
INTET RESULTAT (NO RESULT)^b Se Figur 8.	Der blev ikke indsamlet tilstrækkelige data. Tilstedeværelse eller fravær af GBS-mål-DNA kan ikke fastslås. Operatøren stoppede en test, eller der opstod en strømafbrydelse under testen. <ul style="list-style-type: none"> • GBS — INTET RESULTAT (NO RESULT) • SPC — INTET RESULTAT (NO RESULT) • Probekontroller—Ikke relevant (NA) • SAC – INTET RESULTAT (NO RESULT)

^a Tidlig analyseafslutning kan nedsætte testtiden for positive resultater til omtrent 30 minutter. Med GBS-negative prøver returnerer testen resultater inden for 42 minutter.

^b Hvis meddelelsen **UGYLDIG (INVALID)**, **FEJL (ERROR)** eller **INTET RESULTAT (NO RESULT)** forekommer, gentages testen i henhold til anvisningerne i Afsnit 17.2.

^c SPC og/eller SAC mislykkedes.

^d Hvis probekontrollen er bestået, skyldes fejlen et svigt af en systemkomponent, eller at den maksimale tilladte trykgrænse blev overskredet.

17 Gentestning

17.1 Grunde til at gentage testning

Hvis nogen af nedenstående testresultater forekommer, skal testen gentages i henhold til anvisningerne i Afsnit 17.2.

- Et **UGYLDIGT (INVALID)** resultat angiver, at der ikke er påvist GBS, og at kontrol-SPC'en og/eller SAC'en mislykkedes af en eller flere af de følgende årsager:

- Præparatet blev ikke indsamlet eller behandlet korrekt.
- Præparatet blev ikke tilsat til kassetten.
- PCR blev hæmmet.
- Resultatet **FEJL (ERROR)** angiver, at analysen blev afbrudt. Mulige årsager inkluderer, at reaktionsrøret blev fyldt forkert, at der blev registreret et integritetsproblem med reagensproben, der opstod en systemkomponentfejl eller, at den maksimale trykgrænse blev overskredet.
- Et **INTET RESULTAT (NO RESULT)** angiver, at der ikke blev indsamlet tilstrækkelige data. For eksempel at operatøren stoppede en test, der var i gang, eller der opstod en strømafbrydelse.

17.2 Gentestprocedure

Brug en ny kassette (kassetten må ikke genbruges) for at genteste prøver med resultaterne **INTET RESULTAT (NO RESULT)**, **UGYLDIGT (INVALID)** eller **FEJL (ERROR)**. Brug den resterende præparatpodning til gentestning.

1. Tag kassetten ud af pakken. Åbn kassetten ved at løfte kassetlåget.
2. Fjern den resterende podning fra transportrøret.
3. Anbring podepinden i prøvekompartimentet i en ny Xpert Xpress GBS-kassette.
4. Løft podepinden så markeringsrillen er midt i hakket.
5. Knæk podepinden ved at brække stilken mod højre.
6. Sørg for, at podepinden er placeret korrekt i kassetten, og at podepindens ende ikke befinder sig i udskæringen på prøvekompartimentets åbning og ikke forhindrer lukning af låget. Hvis podepinden sidder fast i hakket, bruges en fnugfri serviet/gazeserviet eller den resterende ende af podepinden for at frigøre den fra hakket og minimere risikoen for kontamination.
7. Luk kassetlåget.
8. Følg proceduren til start af en test.
 - For *GeneXpert Dx System* henvises der til Afsnit 14.1.
 - For *GeneXpert Infinity System* henvises der til Afsnit 14.2.

Når der udføres intrapartum test, er gentest måske ikke mulig og afhænger af praksis og politikker på hver institution. Mens resultaterne afventes, er det vigtigt med koordinering mellem klinikerne og testlaboratoriet for ikke at forsinke administrationen af antibiotika.

18 Begrænsninger

- Fejlagtige testresultater kan forekomme på grund af forkert indsamling, håndtering eller opbevaring af prøver, tekniske fejl eller forveksling af prøver. Det er vigtigt at overholde anvisningerne i denne indlægsseddel nøje for at undgå fejlagtige resultater.
- Ydeevnen af Xpert Xpress GBS-testen blev alene valideret ved hjælp af procedurerne i denne brugsanvisning. Ændringer af disse procedurer kan ændre testens ydeevne.
- Xpert Xpress GBS-testen er kun blevet valideret med de vaginale/rektale podningspræparater og anvendelse af et indsamlingskit fra Cepheid (angivet i Afsnit 8).
- Et negativt resultat udelukker ikke muligheden for GBS-kolonisering. Der kan forekomme falsk negative resultater, hvis organismen er til stede i niveauer under den analytiske detektionsgrænse.
- Xpert Xpress GBS-testen giver ikke resultater for antibiotikafølsomhed. Det er nødvendigt med dyrkningsisolater for at udføre følsomhedstest, som det er anbefalet til kvinder, der er allergiske over for penicillin.
- Testresultaterne kan være påvirket af samtidig antibiotikabehandling. GBS-DNA kan fortsat blive påvist efter antimikrobiel behandling.
- Virkningen af interfererende stoffer er kun blevet evalueret for dem, der er anført i mærkningen. Interferens fra andre stoffer end de beskrevne kan føre til fejlagtige resultater.
- Et positivt resultat indikerer ikke nødvendigvis tilstedeværelsen af levedygtige organismer.

- Mutationer i primer- eller probebindingsregionerne kan påvirke påvisningen af nye eller ukendte varianter og kan resultere i et falsk negativt resultat.
- Denne test blev valideret med vaginale/rektale podningspræparater indsamlet antepartum eller intrapartum fra gravide kvinder, der ikke fik antibiotikabehandling. Brugen af denne test er ikke blevet valideret hos gravide kvinder, som har fået antibiotikabehandling inden for 14 dage fra prøvetagningstidspunktet.
- Kliniske data inkluderer forsøgsdeltagere ikke i antibiotikabehandling i alderen 14 år eller over. Aldersgruppen 14-17 år for deltagere ikke i antibiotikabehandling inkluderer to vaginale/rektale intrapartumpræparater og nul vaginale/rektale antepartumpræparater.

19 Forventede værdier

Den kliniske Xpert Xpress GBS-undersøgelse inkluderede vaginale/rektale præparater opsamlet fra kvindelige gravide deltagere ikke tidligere behandlet med antibiotika. Antallet og procentdelen af præparater, der var positive for GBS som bestemt med Xpert Xpress GBS-testen, er vist i Tabel 2 efter præparatopsamlingstype.

Tabel 2. Positivitetsrater med Xpert Xpress GBS-testen for deltagere antepartum og intrapartum

Præparatopsamlingstype	Antal præparater	Antal positive	Positivitet
Antepartum vaginale/rektale	661	128	19,4 %
Intrapartum vaginale/rektale	899	109	12,1 %

20 Klinisk ydeevne

Ydeevneegenskaberne af Xpert Xpress GBS-testen blev evalueret i en metodesammenlignende observationsundersøgelse på flere steder ved brug af GeneXpert- og GeneXpert Xpress-instrumentsystemer. Undersøgelsen fandt sted mellem juli 2020 og november 2021 på tretten (13) steder i USA (10 steder med tilmelding og Xpert-testning, 1 sted kun med tilmelding, 1 referencelaboratoriested, som foretog Xpert-testning og komparatormetodetest, og 1 referencelaboratorium, der foretog diskrepanttest med en FDA-godkendt NAAT). Xpert Xpress GBS-testen blev sammenlignet med en komparatormetode bestående af en beriget bakteriedyrkning med artsidentifikation med MALDI-TOF MS. Diskordante resultater mellem Xpert Xpress GBS-testen og komparatormetoden blev undersøgt ved brug af en FDA-godkendt NAAT. Resultater fra undersøgelser af diskrepante testresultater er vist som fodnoter i Tabel 3 og er udelukkende vejledende.

Undersøgelsen inkluderede testning af vaginale/rektale podningspræparater indsamlet fra kvindelige, gravide forsøgsdeltagere antepartum og intrapartum, som ikke havde fået nylig behandling med antibiotika. For at blive tilmeldt undersøgelsen skulle deltagere indlevere skriftligt samtykke (eller godkendelse), være 14 år eller over, indvillige i at give to vaginale/rektale præparater med dobbelt podepind og være egnede kandidater til præparatindsamling som bestemt af hovedinvestigatoren. Der blev indsamlet vaginale/rektale præparater fra hver godkendt deltager ved brug af to (2) sæt dobbelte podepinde. Det første sæt podepinde blev delt: den ene podepind blev brugt til Xpert Xpress GBS-testning, og den anden blev brugt til dyrkning, hvis Xpert Xpress GBS-testen gav et gyldigt resultat. Hvis Xpert Xpress GBS-testen resulterede i et ikke-bestemmeligt resultat, blev det andet sæt markerede podepinde delt: den ene podepind blev brugt til gentaget Xpert Xpress GBS-testning, og den anden blev brugt til dyrkningstestning.

Ydeevne af Xpert Xpress GBS-test vs. dyrkning

Der blev indsamlet præparater fra i alt 1.579 godkendte deltagere: 667 antepartum og 912 intrapartum. Seks præparater indsamlet antepartum blev udelukket fra analyser på grund af, at der ikke blev udført gentestning, eller fordi gentestninger resulterede i ikke-bestemmelige Xpert Xpress GBS-resultater. I alt 661 vaginale/rektale antepartumpræparater var inkluderet i analyserne. Tretten præparater indsamlet intrapartum blev udelukket fra analyser på grund af ikke-bestemmelige Xpert Xpress-resultater efter gentestning eller ved mangel på dyrkningsresultater. I alt 899 vaginale/rektale intrapartumpræparater var inkluderet i analyserne.

Af de 1.579 Xpert Xpress GBS-test udført i den kliniske undersøgelse resulterede 78 i ikke-bestemmelige resultater for (**Fejl (Error), Ugyldige (Invalid), Intet resultat (No Result), Instrumentfejl (Instrument Error) eller Intet resultat - gentag test (No Result-Repeat Test)**) ved første forsøg. Af disse 78 præparater blev 76 gentestet ifølge protokollen. Ved gentestning var 18 præparater stadig ikke-bestemmelige. Den indledende ikke-bestemmelige rate var 4,9 % (78/1.579) samlet. Efter gentestning var den endelige ikke-bestemmelige rate 1,1 % (18/1.579) samlet.

Den indledende ikke-bestemmelige rate for antepartumpræparater var 3,4 % (23/667), og den endelige ikke-bestemmelige rate var 0,9 % (6/667). Den indledende ikke-bestemmelige rate for intrapartumpræparater var 6,0 % (55/912), og den endelige ikke-bestemmelige rate var 1,3 % (12/912).

Som vist i Tabel 3 var sensitiviteten og specificiteten af Xpert Xpress GBS-testen sammenlignet med komparator metoden 88,1 % og 95,6 % i vaginale/rektale podningspræparater indsamlet hhv. antepartum og 93,5 % og 95,5 % i vaginale/rektale podningspræparater indsamlet intrapartum.

Tabel 3. Xpert Xpress GBS Resultater og estimeret ydeevne efter præparatopsamlingsstype

Præparatopsamlingsstype	Resultater	Samlet	Dyrkningspositive	Dyrkningsnegative	Sensitivitet (95 % konfidensinterval)	Specificitet (95 % konfidensinterval)	PPV (95 % konfidensinterval)	NPV (95 % konfidensinterval)
Antepartum vaginale/ rektale	Xpert Xpress GBS Positive	128	104	24 ^a	88,1 % (81,1 – 92,8)	95,6 % (93,5 – 97,0)	81,3 % (73,6 – 87,1)	97,4 % (95,6 – 98,4)
	Xpert Xpress GBS Negativ	533	14 ^b	519				
	Samlet	661	118	543				
Intrapartum vaginale/ rektale	Xpert Xpress GBS Positive	109	72	37 ^c	93,5 % (85,7 – 97,2)	95,5 % (93,9 – 96,7)	66,1 % (56,8 – 74,3)	99,4 % (98,5 – 99,7)
	Xpert Xpress GBS Negativ	790	5 ^d	785				
	Samlet	899	77	822				

^a Resultater af diskrepantest baseret på en FDA-godkendt NAAT: 14/24 GBS-positive, 7/24 GBS-negative, 3/24 intet gyldigt resultat

^b Resultater af diskrepantest baseret på en FDA-godkendt NAAT: 11/14 GBS-positive, 3/14 intet gyldigt resultat

^c Resultater af diskrepantest baseret på en FDA-godkendt NAAT: 13/37 GBS-positive, 15/37 GBS-negative, 9/37 intet gyldigt resultat

^d Resultater af diskrepantest baseret på en FDA-godkendt NAAT: 4/5 GBS-positive, 1/5 GBS-negative

21 Analytisk ydeevne

21.1 Analytisk sensitivitet (detektionsgrænse) og analytisk reaktivitet (inkludativitet)

Den analytiske reaktivitet og detektionsgrænsen (LoD) for Xpert Xpress GBS-testen blev bestemt for 12 forskellige stammer repræsenterende 12 kendte GBS-serotyper, af hvilke 2 blev karakteriseret som værende ikke-hæmolytiske (Tabel 4). Serielle fortyndinger af hver serotype blev klargjort i en simuleret prøvematrix. Serotype Ia, III og V blev testet med 24 replikater pr. fortyndingsniveau for hvert af de to reagenslot over tre dage. Serotype Ib, Ic, II, IV og VI-X blev testet med ét reagenslot for et samlet antal på 24 replikater af hvert fortyndingsniveau over tre dage. Detektionsgrænsen blev fastlagt for hver serotype og hvert reagenslot med en probitanalyse for logistisk regression.

Detektionsgrænsen for hver serotype blev verificeret ved at teste 20 replikater ved 95 % konfidensintervallets øvre grænse med ét reagenslot over tre dage i en simuleret prøvematrix. Serotype Ia, III og V blev også verificeret i en klinisk matrix. Resultaterne for samtlige serotyper med undtagelse af serotype V og VI var påvisning for $\geq 95\%$ ($\geq 19/20$) procent. Resultatet for serotype V og VI var 85 % (17/20) procent påvist, og den påståede detektionsgrænse er baseret på den øvre grænse af 95 % konfidensintervallet.

Tabel 4. Detektionsgrænse (LoD) for GBS

Serotype	LoD (CFU/ml) probitresultat	95 % CI	Procentdel påvist	Detektionsgrænse (CFU/ml) Påstået detektionsgrænse	Detektionsgrænse (CFU/podning) Påstået detektionsgrænse
Ia	663	492–835	100 %	663	50
Ib	40	32–49	95 %	40	3
Ic ^a	301	231–370	100 %	301	23
II ^a	173	132–213	100 %	173	13
III	540	409–670	100 %	540	41
IV	429	324–533	95 %	429	32
V	618	384–618	85 %	618 ^b	46
VI	544	353–544	85 %	544 ^b	41
VII	620	512–728	100 %	620	47
VIII	682	509–855	100 %	682	51
IX	465	354–575	100 %	465	35
X	677	525–829	95 %	677	51

^a Ikke-hæmolytisk stamme

^b Påstået LoD svarer til øvre 95 % øvre CI

21.2 Analytisk reaktivitet med GBS *cfb*-mutanter

En undersøgelse blev foretaget for at evaluere den analytiske reaktivitet af Xpert Xpress GBS-testen ved brug af GBS-stammer indeholdende deletioner i eller i nærheden af regionen for det kromosom, der koder for CAMP-faktor hæmolysegenet *cfb*. Ti unikke, velkarakteriserede kliniske GBS-isolater, der repræsenterede forskellige *cfb*-mutationer, blev testet ved 833 CFU/ml. Alle stammer med *cfb* -mutationer blev påvist med en positivitetsrate på 100 %.

21.3 Analytisk specificitet (eksklusivitet) og mikrobiel interferens

Den analytiske specificitet af Xpert Xpress GBS-testen blev evalueret ved at teste et panel bestående af 129 stammer, der repræsenterede bakterie-, virus, parasit- og gærstammer, der normalt findes i den vaginale/rektale flora eller er fylogenetisk beslægtet med GBS (Tabel 5). Bakterier blev testet ved $\geq 1 \times 10^6$ CFU/ml, undtagen som bemærket, og vira og parasitter blev testet ved et niveau på $\geq 1 \times 10^5$ organismer, gær, IU eller kopier/ml. Samtlige 129 stammer blev testet i en simuleret prøvematrix, både ved tilstedeværelse af GBS ved 3x LoD og i fravær af GBS.

Der blev hverken observeret krydsreaktivitet eller interferens forbundet med GBS-detektion, såvel *in silico* som *in vitro*, med nogen af de testede klinisk relevante patogener.

Tabel 5. Analytisk specificitet af Xpert Xpress GBS

Organisme		
<i>Arcanobacterium (Trueperella) pyogenes</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Atopobium (Fannyhessea) vaginae</i>	<i>Hafnia alvei</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Abiotrophia defectiva</i>	Hepatitis B virus	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Hepatitis C virus	<i>Staphylococcus aureus</i> ^a
<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	Human immunodefekt virus	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	Humant papillomavirus 18 ^b	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Klebsiella (Enterobacter) aerogenes</i>	<i>Staphylococcus intermedius</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>
<i>Anaerococcus lactolyticus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
<i>Anaerococcus prevotii</i> ^b	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Staphylococcus simulans</i>
<i>Anaerococcus tetradius</i>	<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii lactis</i>	<i>Streptococcus acidominimus</i>
<i>Bacillus coagulans</i>	<i>Lactobacillus gasseri</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Streptococcus bovis</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> Reuter	<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Streptococcus canis</i>
<i>Bifidobacterium brevis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus constellatus</i>
BK-virus	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Streptococcus criceti</i>
<i>Blastocystis hominis</i> ^b	<i>Mobiluncus curtisii subsp. Curtisii</i> ^b	<i>Streptococcus cristatus</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Moraxella atlantae</i>	<i>Streptococcus downei</i>
<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae subsp. dysgalactiae</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> ^b	<i>Streptococcus equi subsp. equi</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus gordonii</i>
<i>Candida tropicalis</i>	Norovirus	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Pantoea agglomerans</i>	<i>Streptococcus mitis</i>

Organisme		
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Pasteurella aerogenes</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Clostridioides difficile</i>	<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>	<i>Streptococcus oralis</i>
Cytomegalovirus	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Streptococcus parasanguinis</i>
<i>Corynebacterium accolens</i>	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Corynebacterium sp. (genitalium)</i>	<i>Prevotella bivia</i>	<i>Streptococcus pseudoporcinus</i>
<i>Corynebacterium urealyticum</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i> ^b
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Prevotella oralis</i>	<i>Streptococcus rattii</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Enterococcus durans</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Streptococcus sanguinis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Streptococcus sobrinus</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Providencia stuartii</i> ^b	<i>Streptococcus suis</i>
<i>Enterococcus gallinarum</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptococcus uberis</i>
Epstein-Barr virus	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Streptococcus vestibularis</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Rhodococcus equi</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>
<i>Finnegoldia magna</i>	Rubellavirus	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Salmonella enterica subsp. enterica ser. Dublin (gruppe D)</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Salmonella enterica subsp. typhimurium</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Giardia lamblia</i> ^b	<i>Serratia liquefaciens</i>	<i>Providencia sp</i>

^a Testet < 1x10⁶ (2x10⁵ CFU/ml)

^b Evalueret med DNA

21.4 Undersøgelse af muligt interfererende stoffer

Stoffer, som kan være til stede i vaginale/rektale præparater, og har potentiale til at interferere med Xpert Xpress GBS-testens ydeevne, blev evalueret. Potentielt interfererende endogene og eksogene stoffer inkluderer humant fostervand, mekonium, urin, afføringsmateriale, humant blod, glidegel, vaginale kløestillende lægemidler, vaginale svampedræbende midler, medicin mod diarré, afføringsmidler, afføringsblødgøringsmidler, eksterne hæmoriesalver, kropsolie, kropspudder, deodorantspray, rektalvæsker og sæddræbende skum.

Disse stoffer er angivet i Tabel 6. Alle flydende stoffer blev testet ved at tilsætte 100 % af stoffet til podepinden, faste stoffer ved at dække podepindshovedet 75 %. Tabletter blev opløst til deres højeste opløselige koncentration i en simuleret prøvematrix og blev derpå tilført podepinden. Fem eksogene stoffer (Aquasonic®-gel, Floraplus, Pepto Bismol®, hudolie og Xyloproct) blev testet ved en lavere koncentration for at bestemme den højeste tolererede mængde på podepinden (Tabel 6). Interferenser blev testet på hver podepind ved tilstedeværelse og i fravær af GBS ved 3x LoD. Der var ingen interferens ved tilstedeværelse af stofferne ved de koncentrationer, der blev testet i denne undersøgelse. Alle positive og negative prøver blev korrekt identificeret med Xpert Xpress GBS-testen.

Tabel 6. Muligt interfererende stoffer, der blev testet

Stof	Stoffets form	Koncentration på podepind
Humant fostervand	Flydende	60 % (v/v)
Human urin	Flydende	60 % (v/v)
Humant fuldblod - EDTA	Flydende	80 % (v/v)
Humant fuldblod - Natriumcitrat	Flydende	80 % (v/v)
Leukocytter, buffy coat, 2x10 ⁷ WBC/ml	Flydende	80 % (v/v)
Mekonium	Fast	100 %
Slim	Fast	30 % (w/v)
Human afføring - pulje på 10 donorer	Fast	100 %
Anti-diarré medicin – Pepto Bismol	Flydende ^a	40 % (v/v)
Anti-diarré medicin – Dimor Comp [dimetikon]	Tablet	0,03 % loperamid + 1,7 % dimetikon (w/v)
Glidecreme – RFSU Klick Ultra Glide	Fast	100 %
Glidecreme – Sense Me Aqua Glide	Fast	100 %
Glidecreme – KY-Jelly	Fast	100 %
Kropsolie – ACO Repairing Skin Oil	Fast ^b	100 %
Dialon Baby – Dialon Baby powder	Fast	100 %
Deodorantpulver – Vagisil® Deodorant Powder	Fast	100 %
Deodorantspray – LN Intimate Deo	Flydende	60 % (v/v)
Deodorantsuppositorier – Norforms Feminine Deodorant Suppositories	Tablet	46,4 % (w/w)
Rektalvæske – Microlax mikrolavemang	Fast	100 %
Oralt afføringsmiddel – Mylan	Fast	25 % (w/v)
Oralt afføringsmiddel – Phillips Milk of Magnesia	Flydende	60 % (v/v)
Oralt afføringsmiddel – Pursennid Ex-Lax	Tablet	0,64 % (w/v)
Sæddræbende creme – Caya preventivgel	Fast	100 %
Afføringsblødgøringsmiddel – Laktulos - Meda	Flydende	60 % (v/v)
Afføringsblødgøringsmiddel – Movicol	Tablet	9 % (w/v)
Ekstern hæmoridesalve – Xyloproct Rectal Ointment	Flydende ^c	8 % (v/v)
Ekstern hæmoridesalve – Scheriproct rektalsalva / Prednisolone Ointment	Fast	100 %
Ultralydsgel – Aquasonic Gel	Flydende	20 % (v/v)
Vaginal svampedræbende gel – Multi-Gyn Actigel	Fast ^c	100 %
Vaginal svampedræbende gel – Multi-Gyn Floraplus	Fast	75 % (w/v)
Vaginal intimcreme mod kløe – Ellen Probiotisk Utvärtes Intim Creme	Fast	100 %
Vaginal svampedræbende creme – Canesten	Fast	100 %

Stof	Stoffets form	Koncentration på podepind
Vaginal svampedræbende creme – Daktar	Fast	100 %

- a Pepto Bismol fortyndet til 40 % i simuleret baggrundsmatrix og uden observeret interferens.
- b Hudolie tolereret, når 2/3 af podepindshovedet dækket (testet som fast stof).
- c Stoffer blev fortyndet i en simuleret baggrundsmatrix inden testning: Xyloprokt rektalsalve blev testet ved 8 %, Aquasonic Gel blev testet ved 20 % og MultiGyn Floraplus blev testet ved 75 %. Der blev ikke påvist nogen interferens efter fortynding.

21.5 Undersøgelse af overføringskontaminering

Der blev udført et studie med henblik på at vise, at der ikke forekommer overføringskontaminering i forbindelse med testning af disse selvstændige GeneXpert-kassetter til engangsbrug i samme GeneXpert-modul. Undersøgelsen bestod af en negativ prøve, der blev behandlet i det samme GeneXpert-modul umiddelbart efter en høj GBS-positiv prøve. Enogtyve kørsler vekslede mellem GBS-positive og GBS-negative prøver med høj titer blev foretaget i rækkefølge på to GeneXpert-moduler, dvs. der blev udført i alt 42 kørsler til undersøgelsen. Alle 20 positive prøver blev rapporteret korrekt som værende GBS-positive. Alle 22 negative prøver blev rapporteret korrekt som værende GBS-negative.

22 Reproducerbarhed og præcision

To paneler med i alt ti prøver med forskellige koncentrationer af fire forskellige GBS-stammer blev testet i triplikat af to operatører på seks forskellige dage på tre steder (10 prøver × 2 operatører × 3 gange/dagen × 6 dage × 3 steder). Tre lot af Xpert Xpress GBS-testen blev brugt på hvert af de tre teststeder. Panelerne bestod af tre stammer af GBS, som repræsenterede hæmolytiske fænotyper (serotype Ia, III, IV) og én stamme (serotype Ic), som repræsenterede en ikke-hæmolytisk fænotype. Panelmedlemmerne var spredt over det relevante spektrum for detektionsgrænse (LoD) (negative, ved ~1x eller ~1,5x og ~3x LoD) for de tilsigtede måltyper.

Xpert Xpress GBS-testen blev udført på GeneXpert Instrument Systems i overensstemmelse med proceduren for Xpert Xpress GBS-testen. Den procentvise overensstemmelse af de kvalitative resultater for påvisning af GBS for hver prøve analyseret af hver af de seks operatører og af hvert sted er vist i Tabel 7. Desuden er den samlede procentvise overensstemmelse for hver prøve (samlet overensstemmelse) og det tosidede Wilson Score-konfidensinterval på 95 % vist i den sidste kolonne.

Tabel 7. Sammenfatning af reproducerbarhed og præcisionsresultater – procent overensstemmelse

Panelmedlem	Prøve	Niveau	Sted 1			Sted 2			Sted 3			Samlet overensstemmelse (95 % CI)
			Op. 1	Op. 2	Sted	Op. 1	Op. 2	Sted	Op. 1	Op. 2	Sted	
1	Negativ	Negativ	100,0 % (18/18)	100,0 % (18/18)	100,0 % (36/36)	100,0 % (18/18)	100,0 % (18/18)	100,0 % (36/36)	94,1 % (16/17)	100,0 % (18/18)	97,1 % (34/35)	99,1 % (106/107) (94,9 % - 100,0 %)
2	GBS-serotype Ia svagt pos	~1xLoD	100,0 % (18/18)	100,0 % (18/18)	100,0 % (36/36)	100,0 % (18/18)	100,0 % (18/18)	100,0 % (36/36)	100,0 % (18/18)	100,0 % (18/18)	100,0 % (36/36)	100,0 % (108/108) (96,6 % - 100,0 %)
3	GBS-serotype III svagt pos	~1xLoD	100,0 % (18/18)	100,0 % (18/18)	100,0 % (36/36)	100,0 % (18/18)	100,0 % (18/18)	100,0 % (36/36)	83,3 % (15/18)	100,0 % (17/17)	91,4 % (32/35)	97,2 % (104/107) (92,1 % - 99,0 %)
4	GBS-serotype IV svagt pos	~1xLoD	94,4 % (17/18)	88,9 % (16/18)	91,7 % (33/36)	100,0 % (18/18)	100,0 % (18/18)	100,0 % (36/36)	100,0 % (18/18)	88,9 % (16/18)	94,4 % (34/36)	95,4 % (103/108) (89,6 % - 98,0 %)
5	GBS-serotype Ia mod pos	~3xLoD	100,0 % (18/18)	100,0 % (18/18)	100,0 % (36/36)	100,0 % (18/18)	100,0 % (18/18)	100,0 % (36/36)	100,0 % (18/18)	100,0 % (18/18)	100,0 % (36/36)	100,0 % (108/108) (96,6 % - 100,0 %)
6	GBS-serotype III mod pos	~3xLoD	100,0 % (18/18)	100,0 % (18/18)	100,0 % (36/36)	100,0 % (18/18)	100,0 % (18/18)	100,0 % (36/36)	100,0 % (18/18)	100,0 % (18/18)	100,0 % (36/36)	100 % (108/108) (96,6 % - 100,0 %)

Panelmedlem	Prøve	Niveau	Sted 1			Sted 2			Sted 3			Samlet overensstemmelse (95 % CI)
			Op. 1	Op. 2	Sted	Op. 1	Op. 2	Sted	Op. 1	Op. 2	Sted	
7	GBS-serotype IV mod pos	~3xLoD	100,0 % (18/18)	100,0 % (18/18)	100,0 % (36/36)	100,0 % (18/18)	100,0 % (18/18)	100,0 % (36/36)	100,0 % (18/18)	100,0 % (18/18)	100,0 % (36/36)	100 % (108/108) (96,6 % - 100,0 %)
8	Negativ 2	Negativ	100,0 % (18/18)	100,0 % (18/18)	100,0 % (36/36)	100,0 % (18/18)	100,0 % (18/18)	100,0 % (36/36)	100,0 % (18/18)	100,0 % (18/18)	100,0 % (36/36)	100,0 % (108/108) (96,6 % - 100,0 %)
9	GBS-serotype Ic svagt pos	~1,5xLoD	100,0 % (18/18)	100,0 % (18/18)	100,0 % (36/36)	100,0 % (18/18)	100,0 % (18/18)	100,0 % (36/36)	100,0 % (18/18)	100,0 % (18/18)	100,0 % (36/36)	100,0 % (108/108) (96,6 % - 100,0 %)
10	GBS-serotype Ic mod pos	~3xLoD	94,4 % (17/18)	100,0 % (18/18)	97,2 % (35/36)	100,0 % (18/18)	100,0 % (18/18)	100,0 % (36/36)	100,0 % (18/18)	100,0 % (18/18)	100,0 % (36/36)	99,1 % (107/108) (94,9 % - 100,0 %)

Evalueringen af repeterbarhed og præcision på laboratoriet af de underliggende Ct-værdier indhentet med Xpress GBS-testen blev analyseret. Middelværdien, standardafvigelsen (SD) og variationskoefficienten (CV) mellem steder, mellem partier, mellem dage og mellem kørsler for hvert panelmedlem vises i Tabel 8.

Tabel 8. Resumé af reproducérbarhedsdata

Panelmedlem	N ^a	Gennemsnit	Sted		Op		Lot		Dag		Inden for analysen		Samlet	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Negativ ^b	107 ^c	32,4	0,1	0,5	0,0	0,0	0,5	27,0	0,2	5,9	0,8	66,6	1,0	2,9
svagt pos. GBS-serotype Ia ~1xLoD	108	34,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	7,0	0,2	2,1	1,2	90,9	1,2	3,5
svagt pos. GBS-serotype III ~1xLoD	104 ^d	34,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	7,9	0,0	0,0	1,3	92,1	1,4	3,9
svagt pos. GBS-serotype IV ~1xLoD	103 ^e	35,2	0,2	2,1	0,0	0,0	0,5	20,4	0,0	0,0	1,0	77,6	1,1	3,1
mod. pos. GBS-serotype Ia ~3xLoD	108	33	0,3	10,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	89,8	1,1	3,3
mod. pos. GBS-serotype III ~3xLoD	108	33,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	11	0,3	11,6	0,8	77,4	1,0	2,9
mod. pos. GBS-serotype IV ~3xLoD	108	33,7	0,0	0,0	0,3	13,7	0,3	10,3	0,1	1,3	0,8	74,7	0,9	2,7
Negativ 2 ^b	108	32,5	0,2	3,6	0,0	0,0	0,5	31	0,2	6,4	0,6	58,9	0,8	2,6

Panelmedlem	N ^a	Gennemsnit	Sted		Op		Lot		Dag		Inden for analysen		Samlet	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
svagt pos. GBS-serotype Ic ~1,5xLoD	108	34,7	0,1	0,6	0,0	0,0	0,2	3,3	0,5	13,6	1,1	82,5	1,2	3,5
mod. pos. GBS-serotype Ic ~3xLoD	107 ^f	33,8	0,0	0,0	0,2	4,7	0,1	1,7	0,4	25,5	0,7	68,1	0,8	2,4

^a Resultater med Ct-værdier der ikke er nul ud af 108

^b SPC Ct-værdier blev brugt til udførelse af en ANOVA-analyse for negative prøver.

^c En enkelt prøve udviste et ikke-bestemmeligt resultat.

^d Tre prøver med GBS Ct-værdier = 0 og én ikke-bestemmelig prøve blev udelukket fra ANOVA-analysen.

^e Fem prøver med GBS Ct-værdier = 0 blev udelukket fra ANOVA-analysen.

^f Én prøve med en GBS Ct-værdi = 0 blev udelukket fra ANOVA-analysen.

23 Referencer

1. Di Renzo GC, Melin P, Berardi A, et al. Intrapartum GBS screening and antibiotic prophylaxis: a European consensus conference. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2015 May;28(7):766-82.
2. Prevention of Group B Streptococcal Early-Onset Disease in Newborns: ACOG Committee Opinion, Number 782. *Obstet Gynecol.* 2019 Jul;134(1):1.doi: 10.1097/AOG.0000000000003334.
3. Filkins, L, Hauser, J, Robinson-Dunn, B et al. Guidelines for the Detection and Identification of Group B *Streptococcus*. American Society for Microbiology, March 2020. <https://asm.org/Guideline/Guidelines-for-the-Detection-and-Identification-of> accessed Dec 1, 2021.
4. Zimmermann P and Curtus N. Effect of intrapartum antibiotics on the intestinal microbiota of infants: a systematic review. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2020 Mar;105(2):201-208
5. Melin P. Neonatal group B streptococcal disease: from pathogenesis to preventive strategies. *Clin Microbiol Infect.* 2011 Sep;17(9):1294-303.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, 5th Edition, HHS Publication no. (CDC) 21-1112, Dec. 2009
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, Approved Guideline. Document M29-A4, Fourth Edition, May 2014.
8. Kemiske farer fastsat i henhold til EUROPA-PARLAMENTETS OG RÅDETS FORORDNING (EF) Nr. 1272/2008 af 16. december 2008 (om klassificering, mærkning og emballering af stoffer og blandinger og om ændring og ophævelse af direktiv 67/548/EØF og 1999/45/EF, og om ændring af forordning (EF) nr. 1907/2006) og Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z), kan ses i sikkerhedsdatabladene, som er tilgængelige på www.cepheid.com og www.cepheidinternational.com under fanebladet ASSISTANCE (SUPPORT).

24 Cepheid hovedsædelokaliteter

Virksomhedshovedsæde

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefon: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Hovedsæde i EU

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telefon: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

25 Teknisk assistance

Før du kontakter os

Indsaml følgende oplysninger, før du kontakter Cepheids tekniske support:

- Produktnavn
- Lotnummer
- Instrumentets serienummer
- Fejlmeddelelser (hvis nogen)
- Softwareversion og, hvis det er relevant, computerservicemærkenummer

USA




Telefon: + 1 888 838 3222 E-mail: techsupport@cepheid.com














Frankrig

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

Kontaktoplysninger for alle Cepheids tekniske supportkontorer fås på vores hjemmeside: www.cepheid.com/en/support/contact-us

26 Symboltabel

Symbol	Betydning
	Katalognummer
	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik
	CE-mærkning – EU-overensstemmelse

Symbol	Betydning
	Må ikke genbruges
	Batchkode
	Se brugsanvisningen
	Fabrikant
	Fremstillingsland
	Indeholder tilstrækkeligt til n tests
	Udløbsdato
	Temperaturbegrænsning
	Biologiske risici
	Forsigtig
	Advarsel
	Autoriseret repræsentant i Schweiz
	Importør



Cepheid AB
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



27 Revisionshistorik

Beskrivelse af ændringer: 302-7665 rev. C til rev. D

Formål: Revideret tabel.

Afsnit	Beskrivelse af ændring
Symboltabel	Tilføjede symboler for CH REP og importør samt definitioner i symboltabellen. Tilføjede oplysninger om adresse i Schweiz til CH REP og importør.
Revisionshistorik	Opdaterede tabellen med Revisionshistorik.