

Xpert[®] Xpress Strep A

REF XPRSTREPA-CE-10

Istruzioni per l'uso

CE **IVD**

Dichiarazioni relative a marchi di fabbrica, brevetti e copyright

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.

© 2017-2023 Cepheid.

See Section 24, Revision History for a description of changes.

Cepheid[®], il logo Cepheid, GeneXpert[®] e Xpert[®] sono marchi di Cepheid, registrati negli USA e in altri Paesi.

Tutti gli altri marchi di fabbrica sono di proprietà dei rispettivi titolari.

L'ACQUISTO DI QUESTO PRODOTTO CONCEDE ALL'ACQUIRENTE IL DIRITTO NON TRASFERIBILE DI UTILIZZARLO IN ACCORDO ALLE PRESENTI ISTRUZIONI PER L'USO. NESSUN ALTRO DIRITTO VIENE CONCESSO ESPRESSAMENTE, IMPLICITAMENTE O PER PRECLUSIONE. INOLTRE, CON L'ACQUISTO DI QUESTO PRODOTTO NON VIENE CONCESSO NESSUN DIRITTO ALLA RIVENDITA.

© 2017-2023 Cepheid.

Per una descrizione delle modifiche apportate, vedere la Sezione 24, Cronologia delle revisioni.

Xpert[®] Xpress Strep A

Solo per uso diagnostico *in vitro*.

1 Nome registrato

Xpert[®] Xpress Strep A

2 Nome comune o usuale

Test Xpert Xpress Strep A

3 Destinazione d'uso

Il test Xpert Xpress Strep A, eseguito sul sistema di strumentazione GeneXpert[®], è un test diagnostico qualitativo *in vitro* per il rilevamento di *Streptococcus pyogenes* (streptococco β -emolitico del gruppo A, Strep A) in campioni di analisi su tampone faringeo prelevati da pazienti con segni e sintomi di faringite.

Il test Xpert Xpress Strep A utilizza una reazione a catena della polimerasi (PCR) real time automatizzata per rilevare il DNA di *Streptococcus pyogenes*.

4 Riepilogo e spiegazione

Gli streptococchi del gruppo A sono patogeni batterici Gram-positivi beta-emolitici che comunemente causano infezioni alla gola (faringite) e sulla pelle (cellulite e impetigine), ma che possono causare una vasta gamma di altre infezioni (es. sepsi, polmonite e meningite). Se non vengono trattate, le infezioni lievi possono degenerare in infezioni più gravi. Le forme più gravi, ma meno comuni, di patologie invasive da streptococco del gruppo A sono la fascite necrotizzante e la sindrome da shock tossico da streptococco (STSS). Ogni anno, negli Stati Uniti, si verificano all'incirca da 9.000 a 11.500 casi di malattia invasiva da streptococco del gruppo A, che determinano da 1.000 a 1.800 decessi, sebbene ogni anno si registrino diversi milioni di casi di faringite e impetigine.¹ Il trattamento di una persona infetta con un antibiotico mirato generalmente impedisce la diffusione dell'infezione e riduce il rischio di complicanze post-infettive come la febbre reumatica e la glomerulonefrite.^{1,2}

Il test Xpert Xpress Strep A è un test rapido di PCR per il rilevamento qualitativo dello streptococco del gruppo A da campioni di analisi su tampone faringeo. Per i campioni negativi, il risultato si ottiene dopo 24 minuti. Per i campioni positivi, il risultato si può ottenere anche in soli 18 minuti.

5 Principio della procedura

Il test viene eseguito sui sistemi di strumentazione GeneXpert Cepheid. Con questa piattaforma, l'operatore può eseguire il test in tre semplici passaggi: 1) trasferimento del campione liquido nella cartuccia mediante pipetta di trasferimento, 2) esecuzione del test sullo strumento GeneXpert, e 3) lettura dei risultati. GeneXpert consente di automatizzare e integrare la preparazione dei campioni, l'estrazione e l'amplificazione degli acidi nucleici e il rilevamento delle sequenze bersaglio in campioni clinici di analisi utilizzando la PCR real time. Il sistema è costituito da uno strumento GeneXpert, un computer e cartucce monouso fluidiche, progettate per portare a termine la preparazione dei campioni e la PCR real time. Il sistema richiede l'uso di cartucce GeneXpert monouso che contengono i reagenti PCR e in cui si svolgono i processi di PCR. Essendo le cartucce isolate ermeticamente nel contenuto, il rischio di contaminazione crociata tra i campioni è ridotto al minimo.

Il test Xpert Xpress Strep A include i reagenti per il rilevamento del DNA batterico dello streptococco del gruppo A da campioni di analisi su tampone faringeo prelevati da pazienti con segni e sintomi di faringite. La cartuccia include inoltre un controllo per il trattamento dei campioni (SPC) e un controllo per la verifica della sonda (PCC). L'SPC viene utilizzato per verificare che i batteri bersaglio siano stati trattati in modo adeguato e per monitorare la presenza di sostanze inibitrici nella reazione PCR. Il PCC verifica la reidratazione dei reagenti, il riempimento delle provette della PCR, e conferma la presenza di tutti i componenti di reazione nella cartuccia, tra cui l'integrità delle sonde e la stabilità dei coloranti.

Una funzione di termine anticipato del saggio (EAT) fornisce risultati positivi se il segnale generato dal DNA bersaglio raggiunge una soglia predeterminata prima del completamento di tutti i 43 cicli di PCR. Quando il livello target di Strep A è sufficientemente alto da generare valori di ciclo soglia (Ct) (≤ 30 Ct) molto precocemente, la curva di amplificazione del controllo SPC non verrà osservata e i relativi risultati non verranno riportati, dato che il valore Ct del controllo SPC potrebbe non raggiungere il ciclo soglia previsto nei campioni di analisi con titolo elevato di Strep A.

6 Reagenti e strumenti

6.1 Materiale fornito

Il kit del test Xpert Xpress Strep A contiene reagenti sufficienti per il trattamento di 10 campioni di analisi o campioni di controllo qualità.

Il contenuto del kit è il seguente:

| | |
|---|---|
| Cartucce Xpert Xpress Strep A con provette di reazione integrate | 10 |
| <ul style="list-style-type: none"> ● Microsfera 1, microsfera 2 e microsfera 3 (liofilizzate) ● Reagente di lisi <ul style="list-style-type: none"> ● Tiocianato di guanidinio ● Idrossido di sodio ● Reagente di eluizione | 1 di ciascuna per cartuccia 1,5 ml per cartuccia 1,5 ml per cartuccia 2,0 ml per cartuccia |
| Pipette di trasferimento monouso | 1 busta da 12 per kit |
| Compact disc (CD) | 1 per kit |
| <ul style="list-style-type: none"> ● File di definizione del saggio (ADF) ● Istruzioni per l'importazione degli ADF nel software GeneXpert ● Istruzioni per l'uso (IFU) | |

Nota Le schede dati di sicurezza (SDS) sono disponibili nei siti www.cepheid.com o www.cepheidinternational.com nella scheda **SUPPORTO (SUPPORT)**.

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

7 Conservazione e manipolazione

- Conservare le cartucce Xpert Xpress Strep A a 2-28 °C fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta.
- Aprire il coperchio della cartuccia solo immediatamente prima di eseguire il test.
- Non usare le cartucce oltre la data di scadenza.
- Non utilizzare cartucce che presentano perdite.

8 Materiali necessari ma non forniti

- Sistema di prelievo e trasporto su tampone di eluizione con liquido Amies di Copan (ESwab™) (Copan 480CE; Copan 480C)
- Sistemi di strumentazione GeneXpert Dx o GeneXpert Infinity (il numero di catalogo varia in base alla configurazione): strumento GeneXpert, computer, lettore di codici a barre e Manuale dell'operatore.
 - Per il sistema GeneXpert Dx: software GeneXpert Dx versione 4.7b o successiva
 - Per i sistemi GeneXpert Infinity-80 e Infinity-48s: software Xpertise versione 6.4b o successiva
- Stampante: qualora fosse necessario l'uso di una stampante, contattare il Supporto clienti Cepheid per predisporre l'acquisto di una stampante consigliata.

9 Avvertenze e precauzioni

9.1 Avvertenze di carattere generale

- Per uso diagnostico *in vitro*.
- Tutti i campioni biologici di analisi, comprese le cartucce usate, devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi. Tutti i campioni biologici di analisi devono essere maneggiati adottando le precauzioni standard. Le linee guida per il trattamento dei campioni di analisi sono disponibili presso l'ente statunitense per la prevenzione e il controllo delle malattie (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)³ e l'istituto per gli standard clinici e di laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute)⁴.
- Durante il trattamento di sostanze chimiche e la manipolazione di campioni biologici, rispettare le procedure di sicurezza previste dalla struttura sanitaria di appartenenza.
- Le caratteristiche prestazionali di questo test sono state stabilite solo con il tipo di campione di analisi specificato nella Sezione 3. Destinazione d'uso. Le prestazioni di questo test con altri tipi di campioni di analisi non sono state valutate.
- L'affidabilità dei risultati dipende dall'uso di adeguate modalità di prelievo, trasporto, conservazione e trattamento dei campioni di analisi. Un campione di analisi che sia stato prelevato, manipolato o conservato in modo errato, un errore tecnico, lo scambio di campioni o la presenza di un numero di organismi nel campione di analisi inferiore al limite di rilevamento del test possono produrre risultati erronei. Per evitare risultati erronei, è necessario attenersi scrupolosamente alle istruzioni per l'uso e al Manuale d'uso del sistema GeneXpert.
- L'esecuzione del test Xpert Xpress Strep A con intervalli di temperatura e tempi diversi da quelli consigliati può generare risultati erronei o non validi.

9.2 Campione di analisi


- Per il prelievo e il trasporto di campioni di analisi su tampone faringeo, utilizzare il kit di prelievo ESwab.
- I campioni di analisi su tampone faringeo devono essere prelevati e analizzati prima della data di scadenza riportata sul kit di prelievo ESwab.
- Durante il trasporto dei campioni di analisi, mantenere le condizioni di conservazione corrette per garantire l'integrità dei campioni stessi (vedere Sezione 11. Raccolta, trasporto e conservazione dei campioni di analisi). La stabilità dei campioni di analisi in condizioni di spedizione diverse da quelle consigliate non è stata valutata.
- Non congelare i campioni di analisi ESwab.
- Un prelievo, una conservazione e un trasporto corretti del campione sono essenziali ai fini dell'affidabilità dei risultati.

9.3 Test/Reagente

- Aprire il coperchio della cartuccia Xpert Xpress Strep A solo per l'aggiunta del campione di analisi.
- Non utilizzare una cartuccia che sia caduta dopo essere stata estratta dalla confezione.
- Non agitare la cartuccia. Se la cartuccia cade o viene agitata dopo l'apertura del coperchio, si potrebbero ottenere risultati non validi.
- Non applicare l'etichetta con l'ID del campione sul coperchio o sull'etichetta del codice a barre della cartuccia.
- Non utilizzare una cartuccia che presenta l'etichetta del codice a barre danneggiata.
- Non utilizzare una cartuccia se la relativa provetta di reazione è danneggiata.
- Ogni cartuccia monouso Xpert Xpress Strep A viene utilizzata per l'esecuzione di un solo test. Non riutilizzare le cartucce usate.

- Ogni pipetta monouso viene utilizzata per trasferire un solo campione di analisi. Non riutilizzare le pipette monouso.
- Non usare una cartuccia se appare umida o in caso di apparente rottura del sigillo del coperchio.
- Si consiglia di adottare buone pratiche di laboratorio che prevedono il cambio dei guanti tra la manipolazione di un campione di analisi e quello successivo, al fine di evitare il rischio di contaminazione dei campioni o dei reagenti.
- Nel caso in cui l'area di lavoro o le apparecchiature vengano contaminate dai campioni o dai controlli, pulire a fondo le superfici interessate con una soluzione in rapporto 1:10 di candeggina per uso domestico; ripetere quindi la pulizia con una soluzione di etanolo denaturato al 70%. Asciugare completamente le superfici di lavoro prima di continuare.

10 Pericoli chimici^{5,6}

- Pittogramma di pericolo UN GHS: 
- Parola: Attenzione
- **Indicazioni di pericolo UN GHS**
 - Nocivo se ingerito.
 - Provoca irritazione cutanea.
 - Provoca grave irritazione oculare.
- **Fraresi di prudenza UN GHS**
 - **Prevenzione**
 - Lavare accuratamente dopo l'uso.
 - Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.
 - **Risposta**
 - IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua e sapone.
 - Trattamento specifico (vedere le informazioni supplementari di pronto soccorso).
 - Togliersi di dosso gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.
 - In caso di irritazione della pelle: consultare un medico.
 - IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.
 - Se l'irritazione degli occhi persiste: consultare un medico.

11 Raccolta, trasporto e conservazione dei campioni di analisi

L'uso delle corrette modalità di prelievo, conservazione e trasporto dei campioni di analisi è fondamentale per garantire l'integrità dei campioni di analisi e le prestazioni del test. Il prelievo inadeguato dei campioni di analisi, la loro manipolazione impropria e/o trasporto non corretto possono far sì che il sistema generi risultati errati. Per il prelievo dei campioni di analisi su tampone con un dispositivo di prelievo e trasporto consigliato, attenersi alle linee guida dell'istituto (fare riferimento alla sezione Sezione 8. Materiali necessari ma non forniti) e/o alle seguenti istruzioni:

11.1 Procedura di raccolta del tampone

1. Utilizzare il sistema di prelievo e trasporto ESwab (Copan 480CE; Copan 480C). Rimuovere il tampone dalla busta.
2. Utilizzare il tampone per prelevare il campione di analisi dalla parte posteriore della faringe, dalle tonsille e dalle altre aree infiammate. Durante il prelievo dei campioni di analisi, evitare di toccare con il tampone la lingua, le guance e i denti.
3. Stappare la provetta di trasporto ESwab.
4. Introdurre il tampone con il campione di analisi nella provetta di trasporto ESwab e rompere il tampone in corrispondenza della tacca indicata.
5. Tappare la provetta di trasporto ESwab.

Nota Non introdurre più tamponi nella stessa provetta di trasporto ESwab.

11.2 Trasporto e conservazione dei campioni di analisi

La stabilità dei campioni di analisi in condizioni di spedizione e conservazione diverse da quelle consigliate nella Tabella 1 non è stata valutata con il test Xpert Xpress Strep A.

Tabella 1. Condizioni di trasporto e conservazione dei campioni di analisi

| Dispositivo di prelievo del campione di analisi | Temperatura di trasporto e conservazione dei campioni di analisi (°C) | Tempo di conservazione dei campioni di analisi |
|---|---|--|
| ESwab (Copan 480CE; Copan 480C) | 15-30 °C | Fino a 48 ore |
| | 2-8 °C | Fino a 6 giorni |

12 Procedura

Importante Iniziare il test entro 30 minuti dall'introduzione del campione nella cartuccia.

12.1 Preparazione della cartuccia

Per aggiungere il campione di analisi alla cartuccia GeneXpert:

1. Elementi necessari: cartuccia Xpert Xpress Strep A, pipetta di trasferimento da 300 µl (fornita) e un campione per il test opportunamente raccolto ed etichettato.
2. Controllare che la cartuccia per il test non sia danneggiata. Se danneggiata, non utilizzarla.
3. Miscelare il campione di analisi del paziente agitando vigorosamente la provetta di trasporto del campione di analisi per 5 secondi.
4. Aprire la cartuccia sollevandone il coperchio.
5. Rimuovere la pipetta di trasferimento dalla busta aprendo l'estremità in corrispondenza del bulbo. Seguire le istruzioni dell'opzione 1 o dell'opzione 2 riportate di seguito, a seconda del tipo di pipetta di trasferimento inclusa nel kit.

Nota Non appoggiare la pipetta non confezionata sul banco di lavoro.

Pipetta opzione 1

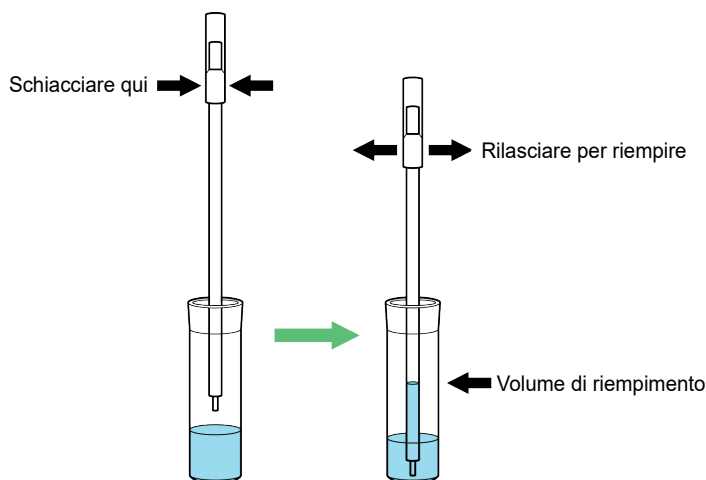


Figura 1. Pipetta di trasferimento

1. Spremere **completamente** il bulbo della pipetta di trasferimento e introdurre la punta della pipetta nella provetta con il terreno di trasporto ESwab contenente il campione di analisi del paziente (vedere la Figura 1).
2. Rilasciare il bulbo per riempire la pipetta con il campione di analisi del paziente. Controllare che la pipetta non contenga bolle d'aria.
3. Per trasferire il campione di analisi del paziente all'interno della cartuccia, spremere completamente ancora una volta il bulbo della pipetta di trasferimento per svuotare il contenuto della pipetta nell'apertura grande (camera per il campione) mostrata nella Figura 2.



Figura 2. Cartuccia (vista dall'alto)

Nota Prestare attenzione ad erogare l'intero volume di liquido nella camera per il campione. Se alla cartuccia venisse aggiunta una quantità di campione insufficiente, si potrebbero ottenere risultati falsi negativi o indeterminati.

4. Chiudere il coperchio della cartuccia.
5. Smaltire la pipetta usata in un apposito contenitore dei rifiuti.

Pipetta opzione 2

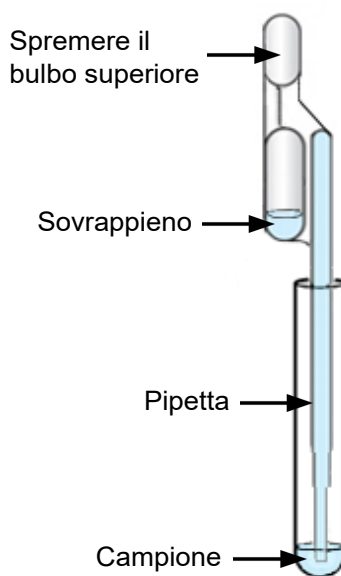


Figura 3. Pipetta di trasferimento

1. Spremere **completamente** il bulbo superiore della pipetta di trasferimento e introdurre la punta della pipetta nella provetta con il terreno di trasporto ESwab contenente il campione di analisi del paziente (vedere la Figura 3).
2. Rilasciare il bulbo per riempire la pipetta con il campione di analisi del paziente. Controllare che la pipetta non contenga bolle d'aria.
3. Per trasferire il campione di analisi del paziente all'interno della cartuccia, spremere completamente ancora una volta il bulbo superiore della pipetta di trasferimento per svuotare il contenuto della pipetta nell'apertura grande (camera per il campione) mostrata nella Figura 4. La presenza di una quantità di campione di analisi in eccesso nel serbatoio di sovrappieno non rappresenta un problema (Figura 3).



Figura 4. Cartuccia (vista dall'alto)

Nota Prestare attenzione ad erogare l'intero volume di liquido nella camera per il campione. Se alla cartuccia venisse aggiunta una quantità di campione insufficiente, si potrebbero ottenere risultati falsi negativi o indeterminati.

4. Chiudere il coperchio della cartuccia.
5. Smaltire la pipetta usata in un apposito contenitore dei rifiuti.

12.2 Avvio del test

Nota Prima di iniziare il test, verificare che sul sistema sia in esecuzione il software GeneXpert 4.7b o versione successiva e che il file di definizione del saggio (ADF) di Xpert Xpress Strep A sia stato importato nel software. Questa sezione elenca le fasi principali di esecuzione del test. Per istruzioni dettagliate, consultare il Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx o il Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Infinity, a seconda del modello utilizzato.

In questa sezione vengono riportati i passaggi predefiniti per il funzionamento del sistema di strumentazione GeneXpert. Per istruzioni dettagliate, consultare il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx* o il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Infinity*, a seconda del modello in uso.

Nota I passaggi da seguire possono variare se l'amministratore del sistema modifica il flusso di lavoro predefinito del sistema.

1. Accendere il sistema di strumentazione GeneXpert:
 - Se si utilizza lo strumento GeneXpert Dx, accendere prima lo strumento e poi il computer. Accedere al sistema operativo di Windows. Il software GeneXpert potrà avviarsi automaticamente; in caso contrario, fare doppio clic sull'icona del collegamento del software GeneXpert Dx sul desktop di Windows®.
 - oppure
 - Se si utilizza lo strumento GeneXpert Infinity, accenderlo facendo ruotare in senso orario l'interruttore di alimentazione fino a portarlo nella posizione **ON** (di accensione). Attendere 2 minuti per caricare il sistema. Accedere al sistema operativo di Windows. Per avviare il software, fare doppio clic sull'icona del collegamento del software Xpertise sul desktop di Windows.
2. Accedere al software del sistema. Comparirà la schermata di accesso. Digitare il nome utente e la password.
3. Nella finestra del sistema GeneXpert, fare clic su **Crea analisi (Create Test)** (GeneXpert Dx) o **Ordini (Orders)** seguito da **Ordina analisi (Order Test)** (Infinity).

4. Eseguire la scansione o digitare l'ID paziente (Patient ID) (opzionale). Se l'ID paziente (Patient ID) viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente. L'ID paziente (Patient ID) è riportato sul lato sinistro della finestra Visualizza risultati (View Results) ed è associato al risultato del test.
5. Inserire l'ID campione (Sample ID) tramite scansione o manualmente. Se l'ID campione (Sample ID) viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente. L'ID campione (Sample ID) è riportato sul lato sinistro della finestra Visualizza risultati (View Results) ed è associato al risultato del test.
6. Eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia Xpert Xpress Strep A. Utilizzando le informazioni contenute nel codice a barre, il software compila automaticamente le caselle relative ai seguenti campi: ID lotto reagente (Reagent Lot ID), N/S cartuccia (Cartridge S/N), Data di scadenza (Expiration Date) e Saggio selezionato (Selected Assay).

Nota Se non è possibile eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia Xpert Xpress Strep A, ripetere il test con una nuova cartuccia.

7. Se l'opzione di invio automatico non è abilitata, fare clic su **Avvia analisi (Start Test)** (GeneXpert Dx) o **Invia (Submit)** (Infinity). Se richiesto, digitare la propria password nella finestra di dialogo visualizzata.

Per lo strumento GeneXpert Dx:

- a. Individuare il modulo con la spia verde lampeggiante, aprire lo sportello del modulo dello strumento e caricare la cartuccia.
- b. Chiudere lo sportello. Il test viene avviato e la spia verde smette di lampeggiare. Al termine del test, la spia verde si spegne e lo sportello si sblocca. Rimuovere la cartuccia.
- c. Smaltire le cartucce usate negli appositi contenitori dei rifiuti dei campioni attenendosi alla prassi standard del proprio istituto.

oppure

Per il sistema GeneXpert Infinity

- a. Dopo aver fatto clic su **Invia (Submit)**, verrà chiesto di posizionare la cartuccia sul nastro trasportatore. Dopo aver posizionato la cartuccia, fare clic su **OK** per continuare. La cartuccia verrà caricata automaticamente, il test verrà eseguito e la cartuccia usata verrà collocata nello scomparto dei rifiuti per il successivo smaltimento.
- b. Quando tutti i campioni saranno stati caricati, fare clic sull'icona **Fine ordina test (End Order Test)**

Nota Non spegnere o scollegare gli strumenti mentre un test è in esecuzione. Se si spegne o si scollega lo strumento GeneXpert o il computer, il test si interromperà.

Nota Il risultato si ottiene in 24 minuti. Per un campione fortemente positivo, il risultato si può ottenere anche in soli 18 minuti.

12.3 Attività di gestione dati e archiviazione

Per istruzioni sulle attività di gestione del database o sulle attività di archiviazione, consultare il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx* o il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Infinity*, a seconda del modello di strumento utilizzato.

13 Visualizzazione e stampa dei risultati

Per istruzioni dettagliate su come visualizzare e stampare i risultati, consultare il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx* o il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Infinity*.

14 Controllo qualità

Ciascuna cartuccia comprende un controllo per il trattamento dei campioni (SPC) e un controllo per la verifica della sonda (PCC).

- **Controllo per il trattamento dei campioni (SPC)** – Assicura che il campione sia stato trattato correttamente. L'SPC verifica che il trattamento del campione sia avvenuto correttamente. Questo controllo rileva inoltre l'inibizione del test di PCR real time associata al campione, garantisce che le condizioni di reazione della PCR (temperatura e durata) siano adeguate alla reazione di amplificazione e che i reagenti PCR siano funzionali. L'SPC deve essere positivo in un

campione negativo e può essere negativo o positivo in un campione positivo. L'SPC si considera superato se soddisfa i criteri di accettazione convalidati.

- **Controllo per la verifica della sonda (PCC)** – Prima che inizi la reazione PCR, il sistema GeneXpert misura il segnale di fluorescenza emesso dalle sonde, allo scopo di monitorare la reidratazione delle microsfere, il riempimento delle provette di reazione, l'integrità delle sonde e la stabilità dei coloranti. Il PCC si considera superato se soddisfa i criteri di accettazione convalidati.
- **Controlli esterni** – I controlli esterni devono essere usati in conformità con i requisiti degli organismi di accreditamento locali, regionali e nazionali pertinenti.

15 Interpretazione dei risultati

I risultati vengono interpretati automaticamente dal sistema di strumentazione GeneXpert e vengono visualizzati nella finestra **Visualizza risultati (View Results)**. Nelle figure 3-8 e nella Tabella 2 sono riportati tutti i possibili risultati con la relativa interpretazione.

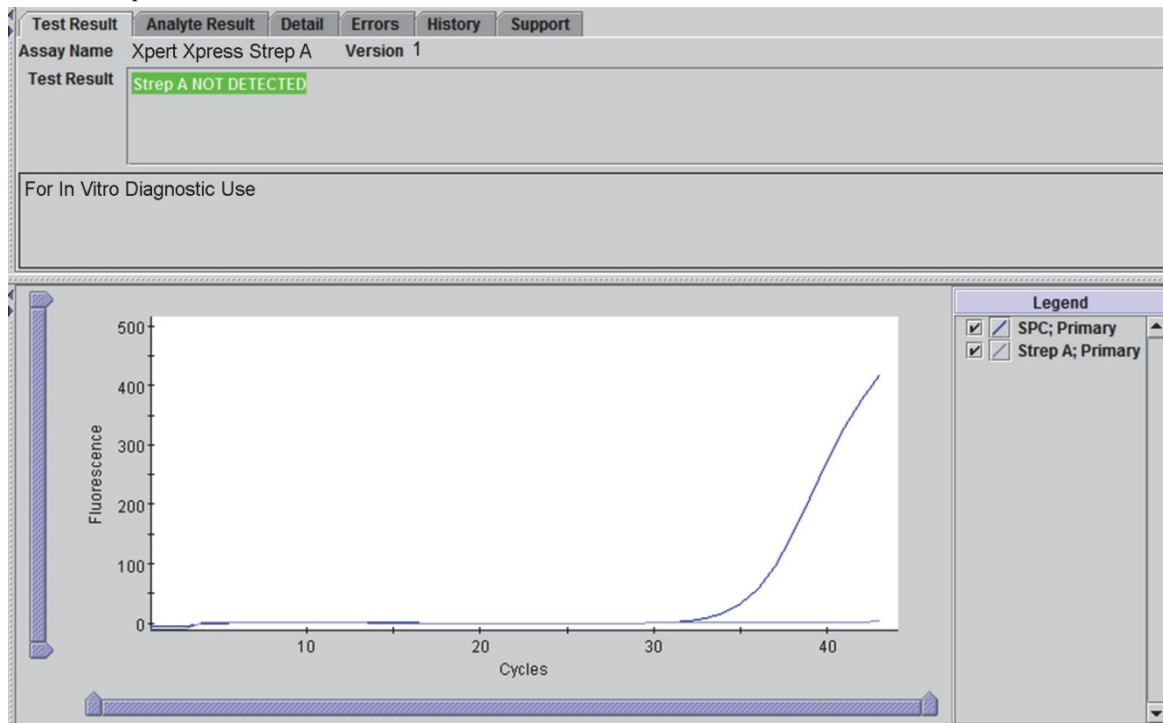


Figura 5. Esempio di risultato del test negativo per Strep A “Strep A NON RILEVATO” (Strep A NOT DETECTED)

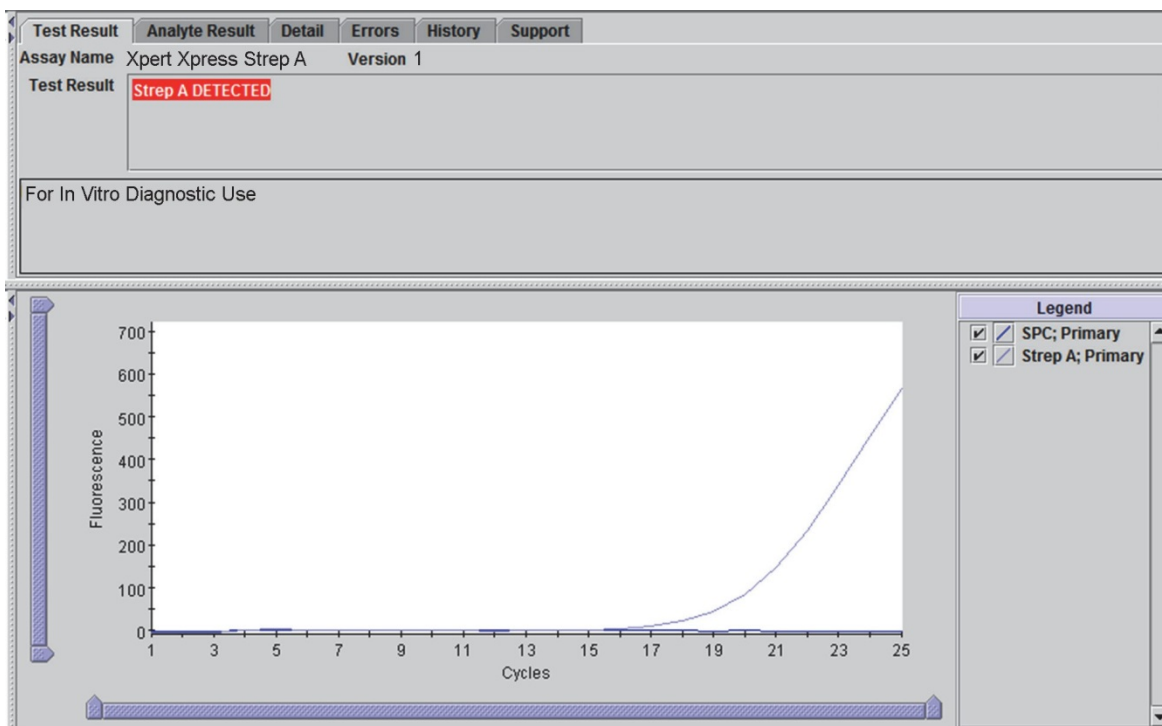


Figura 6. Esempio di risultato del test positivo per Strep A “Strep A RILEVATO” (Strep A DETECTED) (termine anticipato del saggio, EAT)

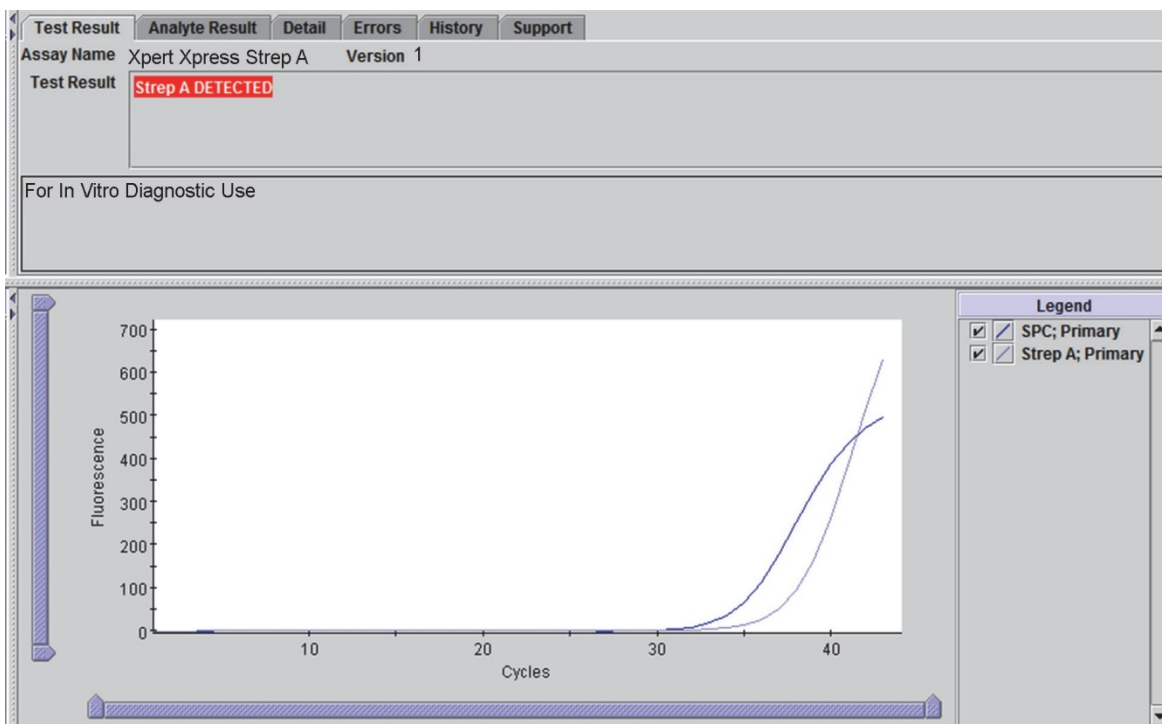


Figura 7. Esempio di risultato del test positivo per Strep A “Strep A RILEVATO” (Strep A DETECTED)

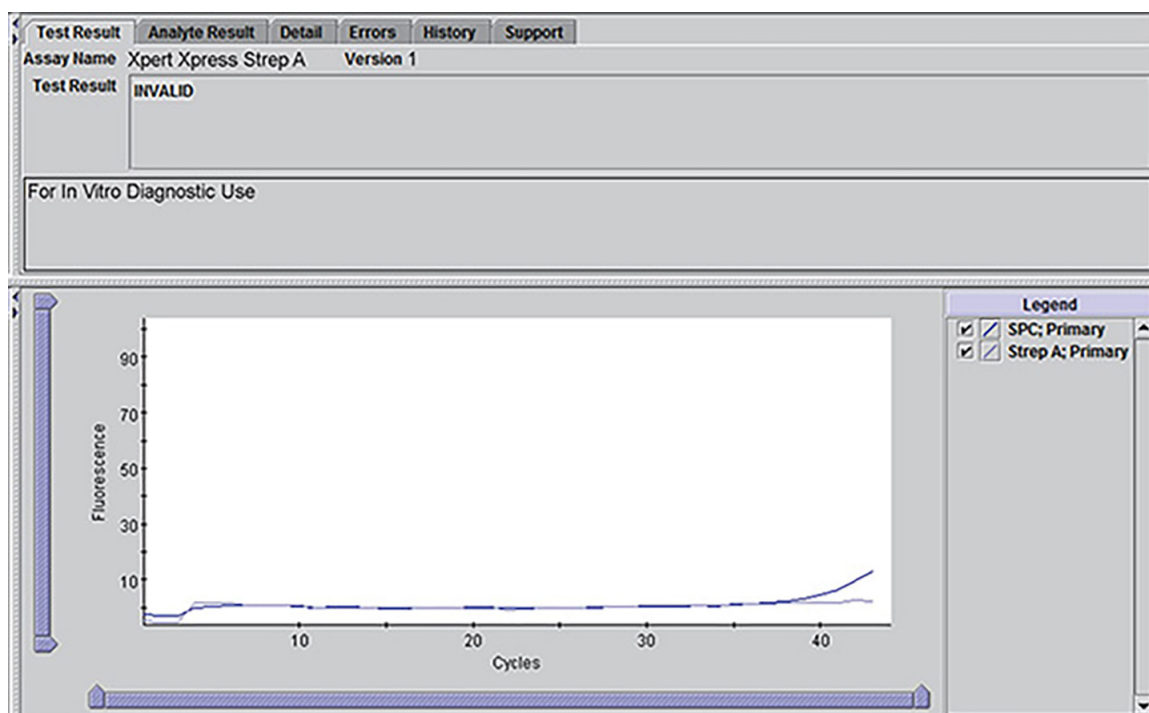


Figura 8. Esempio di risultato del test “NON VALIDO” (INVALID)

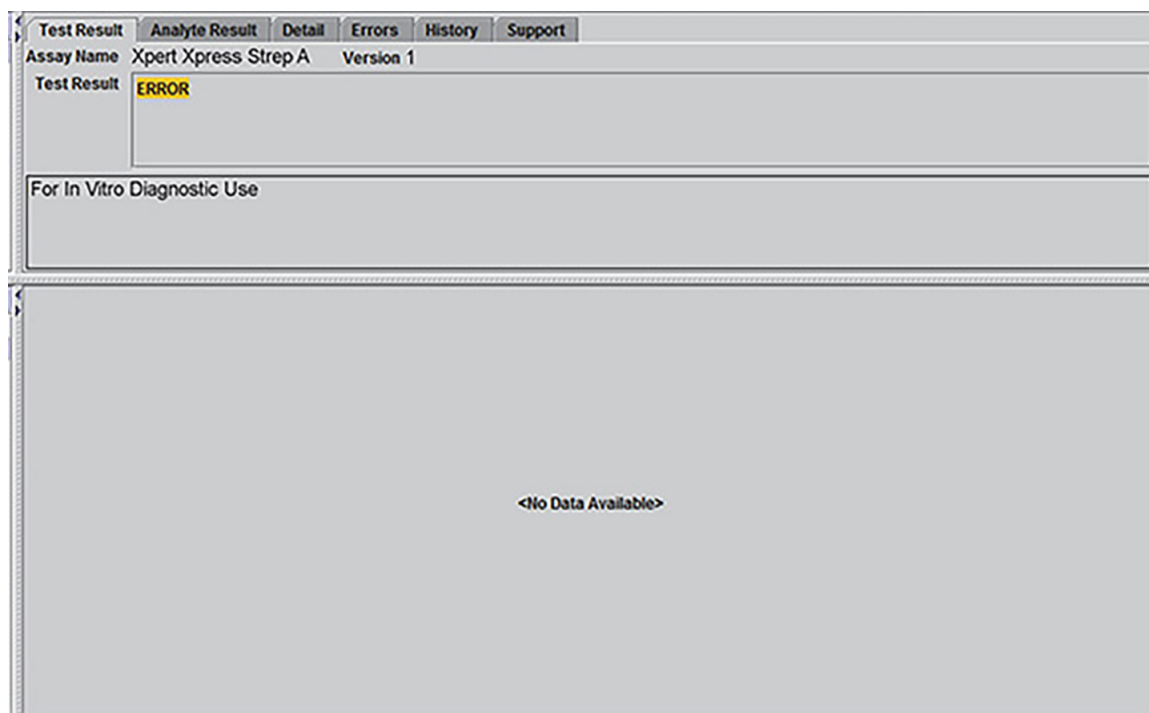


Figura 9. Esempio di risultato del test “ERRORE” (ERROR)

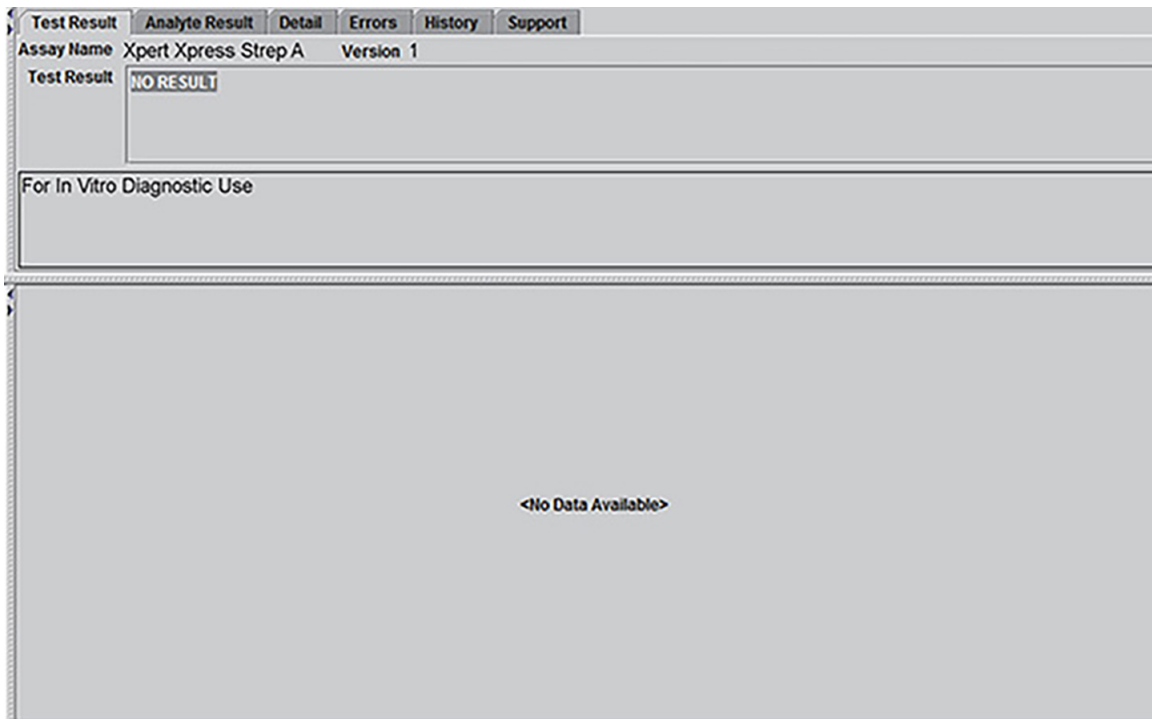


Figura 10. Esempio di risultato del test “NESSUN RISULTATO” (NO RESULT)

Tabella 2. Risultati del test Xpert Xpress Strep A e interpretazione

| Risultato | Interpretazione |
|--|--|
| Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) (vedere la Figura 5) | Il DNA bersaglio per Strep A non è stato rilevato. <ul style="list-style-type: none"> • SPC – AMMESSO (PASS): il controllo SPC presenta un Ct entro il range di validità e un endpoint al di sopra del valore di soglia. • PCC – AMMESSO (PASS): tutti i risultati della verifica della sonda sono validi. |
| Strep A RILEVATO (Strep A DETECTED) (Vedere la Figura 6 e la Figura 7) | Il DNA bersaglio per Strep A è stato rilevato. <ul style="list-style-type: none"> • Strep A – Il valore Ct è compreso nell'intervallo valido. • SPC – NA (non applicabile): se Strep A viene rilevato, il segnale dell'SPC non fa parte dell'algoritmo per l'interpretazione dei risultati perché il segnale dell'SPC può essere soppresso a causa della competizione con Strep A. • PCC – AMMESSO (PASS): tutti i risultati della verifica della sonda sono validi. |
| NON VALIDO (INVALID) (vedere la Figura 8) | La presenza o l'assenza del DNA bersaglio di Strep A non può essere determinata. <ul style="list-style-type: none"> • Strep A – NON VALIDO (INVALID). • SPC – non soddisfa i criteri di accettazione. • PCC – AMMESSO (PASS): tutti i risultati della verifica della sonda sono validi. |
| ERRORE (ERROR) (vedere la Figura 9) | La presenza o l'assenza del DNA bersaglio di Strep A non può essere determinata. <ul style="list-style-type: none"> • Strep A – NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • SPC – NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • PCC – RESPINTO* (FAIL). Uno o tutti i risultati della verifica della sonda non sono validi. <p>* Se la verifica della sonda è stata superata o mostra un risultato NA, l'errore deriva dal superamento dell'intervallo accettabile da parte del limite massimo di pressione oppure dal guasto di un componente del sistema.</p> <p>Ripetere il test secondo le istruzioni riportate qui sotto nella Sezione 16.2. Procedura di ripetizione del test.</p> |
| NESSUN RISULTATO (NO RESULT) (vedere la Figura 10) | La presenza o l'assenza del DNA bersaglio di Strep A non può essere determinata. NESSUN RISULTATO (NO RESULT) indica che i dati raccolti sono insufficienti. Ad esempio, il test di integrità della cartuccia non è stato superato, l'operatore ha interrotto l'esecuzione di un test oppure si è verificata un'interruzione di corrente. <ul style="list-style-type: none"> • Strep A – NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • SPC – NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • PCC – NA (non applicabile)* <p>* Se la verifica della sonda mostra un risultato NA, l'errore deriva dal superamento dell'intervallo accettabile da parte del limite massimo di pressione, che determina l'interruzione della sessione prima della verifica della sonda.</p> <p>Ripetere il test secondo le istruzioni riportate qui sotto nella Sezione 16.2. Procedura di ripetizione del test.</p> |

16 Ripetizioni del test

16.1 Motivi per ripetere il test

Se si ottiene uno dei risultati descritti qui di seguito, ripetere il test attenendosi alle istruzioni riportate nella Sezione 16.2. Procedura di ripetizione del test.

- Un risultato **NON VALIDO (INVALID)** indica che il controllo SPC non è valido. Il campione non è stato trattato correttamente, la PCR è stata inibita oppure il campione non è stato raccolto correttamente.
- Un risultato **ERRORE (ERROR)** potrebbe essere causato, fra l'altro, da un controllo per la verifica della sonda respinto, dal guasto di un componente del sistema o dal superamento dei limiti massimi di pressione.
- **NESSUN RISULTATO (NO RESULT)** indica che i dati raccolti sono insufficienti. Ad esempio, il test di integrità della cartuccia non è stato superato, l'operatore ha interrotto l'esecuzione di un test oppure si è verificata un'interruzione di corrente.
- Se un controllo esterno non sortisce l'esito desiderato, ripetere il test di controllo esterno e/o contattare Cepheid per ricevere assistenza.

16.2 Procedura di ripetizione del test

Per ripetere il test in seguito a un risultato **NON VALIDO (INVALID)**, **NESSUN RISULTATO (NO RESULT)** o **ERRORE (ERROR)** (risultato indeterminato), utilizzare una cartuccia nuova.

Utilizzare il campione residuo nella provetta originale contenente il terreno di trasporto ESwab.

1. Miscelare il campione di analisi residuo del paziente agitando vigorosamente la provetta di trasporto del campione di analisi per 5 secondi.
2. Aprire la cartuccia sollevandone il coperchio.
3. Rimuovere la pipetta di trasferimento dalla busta aprendo l'estremità in corrispondenza del bulbo.
4. Spremere completamente il bulbo della pipetta di trasferimento e introdurre la punta della pipetta nella provetta con il terreno di trasporto contenente il campione di analisi del paziente (Figura 1).
5. Rilasciare il bulbo per riempire la pipetta con il campione di analisi del paziente.
6. Per trasferire il campione di analisi del paziente all'interno della cartuccia, spremere completamente ancora una volta il bulbo della pipetta di trasferimento per svuotare il contenuto della pipetta nell'apertura grande (camera per il campione) mostrata nella Figura 2.
7. Chiudere il coperchio della cartuccia.
8. Smaltire la pipetta usata in un apposito contenitore dei rifiuti.

17 Limitazioni

- Le prestazioni del test Xpert Xpress Strep A sono state valutate utilizzando unicamente le procedure specificate nel presente foglietto illustrativo. Qualsiasi modifica apportata a queste procedure può alterare le prestazioni del test.
- Per evitare risultati erranei, è necessario attenersi scrupolosamente a queste istruzioni per l'uso e al foglietto illustrativo del sistema di prelievo e trasporto su tampone di eluizione con liquido Amies (ESwab) di Copan.
- Il test Xpert Xpress Strep A è stato convalidato unicamente con il kit di prelievo su tampone di eluizione con liquido Amies (ESwab) di Copan (Copan 480CE; Copan 480C). Il rilevamento di *Streptococcus pyogenes* dipende dall'organismo integro presente nel campione, pertanto l'affidabilità dei risultati dipende dalla correttezza delle modalità di prelievo, manipolazione e conservazione del campione.
- Il test Xpert Xpress Strep A genera risultati qualitativi e non fornisce il valore quantitativo dell'organismo rilevato nel campione di analisi.
- Eventuali mutazioni o polimorfismi di nucleotidi nelle regioni di legame del primer o della sonda potrebbero influire sul rilevamento di ceppi di *S. pyogenes* nuovi o sconosciuti, con un conseguente risultato falso negativo.
- Un risultato negativo non esclude la possibilità di infezione perché i risultati del test potrebbero essere stati influenzati dal prelievo inadeguato dei campioni di analisi, da un errore tecnico, dallo scambio di campioni o dal fatto che il numero di organismi presenti nel campione sia inferiore al limite di rilevamento del test.
- Come per molti test diagnostici, i risultati negativi del test Xpert Xpress Strep A non escludono un'eventuale infezione da streptococco A e non devono essere usati come unica base per il trattamento o per altre decisioni riguardanti la gestione dei pazienti. I risultati del test Xpert Xpress Strep A devono essere interpretati insieme ad altri dati clinici e di laboratorio a disposizione del medico.
- Questo test non è stato valutato per pazienti senza segni e sintomi di faringite.
- Questo test non è in grado di escludere faringiti causate da agenti patogeni batterici o virali diversi dagli streptococchi di gruppo A.
- La reattività crociata con organismi diversi da quelli elencati nella Tabella 10, Esclusività, può generare risultati erranei.
- L'analita bersaglio (acido nucleico batterico) può persistere *in vivo*, indipendentemente dalla vitalità del patogeno. Il rilevamento dell'analita bersaglio non implica che il patogeno corrispondente sia infettivo o sia l'agente eziologico dei sintomi clinici.

18 Caratteristiche prestazionali

18.1 Prestazioni cliniche

I campioni di analisi sono stati raccolti nell'ambito di due studi di ricerca multicentrici utilizzando campioni di analisi ESwab faringei (tampone floccato in mezzo liquido Amies) da pazienti con segni e sintomi di faringite. Uno studio ha arruolato soggetti consenzienti sui quali è stato prelevato un secondo campione di analisi prospettico su tampone faringeo, successivamente alla raccolta di un primo campione faringeo da standard di cura (SOC). Un altro studio ha testato campioni di analisi provenienti da soggetti per i quali erano disponibili campioni di analisi residui su tampone faringeo da SOC. Nell'ambito di questi due studi, il test Xpert Xpress Strep A è stato valutato tra dicembre 2016 e marzo 2017 in nove centri clinici ubicati in aree geografiche differenti degli Stati Uniti.

Dei 583 test effettuati, il 96,9% (565/583) ha generato risultati validi dopo il test iniziale; dopo la ripetizione del test, il 99,0% (577/583) ha generato risultati validi.

La sensibilità, la specificità, il valore predittivo positivo (PPV) e il valore predittivo negativo (NPV) del test Xpert Xpress Strep A sono stati stabiliti in relazione alla coltura e all'agglutinazione su lattice per la tipizzazione di Strep A. Le prestazioni complessive del test Xpert Xpress Strep A rilevate in entrambi gli studi combinati sono presentate nella Tabella 3. I risultati del primo studio (campioni di analisi su secondo tampone) e del secondo studio (tampone faringeo SOC, ovvero primo tampone) sono presentati separatamente nella Tabella 4. I risultati discordanti tra Xpert Xpress Strep A e la coltura sono stati risolti con il sequenziamento bidirezionale e i risultati del sequenziamento sono stati inseriti nelle note a piè di pagina della Tabella 3 e Tabella 4.

Tabella 3. Prestazioni complessive del test Xpert Xpress Strep A rispetto al metodo di riferimento (dati del primo e secondo tampone combinati)

| Metodo di riferimento | | | | |
|---------------------------|---------|-------------------------------|-----------------|--------|
| Test Xpert Xpress Strep A | Strep A | Pos | Neg | Totale |
| | Pos | 138 | 26 ^a | 164 |
| | Neg | 0 | 413 | 413 |
| | Totale | 138 | 439 | 577 |
| Sensibilità | | 100% (IC del 95%: 97,3-100) | | |
| Specificità | | 94,1% (IC del 95%: 91,5-95,9) | | |
| PPV | | 84,1% (IC del 95%: 77,8-88,9) | | |
| NPV | | 100% (IC del 95%: 99,1-100) | | |

^a Risultati dei test mediante sequenziamento: su 26 campioni sottoposti a sequenziamento, 21 erano positivi per Strep A, 4 erano negativi per Strep A e 1 non è stato sequenziato.

Tabella 4. Prestazioni del test Xpert Xpress Strep A rispetto al metodo di riferimento (dati per il primo e secondo tampone)

| | Primo tampone | | Secondo tampone | |
|-------------|----------------------|-------------------|----------------------|-------------------|
| | N | % (95% IC al) | N | % (95% IC al) |
| Sensibilità | 65/65 | 100% (94,4-100) | 73/73 | 100% (95,0-100) |
| Specificità | 244/253 ^a | 96,4% (93,4-98,1) | 169/186 ^b | 90,9% (85,9-94,2) |
| NPV | 244/244 | 100% (98,5-100) | 169/169 | 100% (97,8-100) |
| PPV | 65/74 | 87,8% (78,5-93,5) | 73/90 | 81,1% (71,8-87,9) |

^a Risultati dei test mediante sequenziamento: su 9 campioni sottoposti a sequenziamento, 7 erano positivi per Strep A, 1 era negativo per Strep A e 1 non è stato sequenziato.

^b Risultati dei test mediante sequenziamento: su 17 campioni sequenziati, 14 erano positivi per Strep A e 3 erano negativi per Strep A.

18.2 Riproducibilità

Un pannello di riproducibilità a tre componenti con varie concentrazioni di *Streptococcus pyogenes* è stato analizzato 4 volte al giorno nell'arco di sei giorni diversi da due operatori diversi, presso tre centri (3 campioni di analisi x 4 volte/giorno x 6 giorni x 2 operatori x 3 centri). Sono stati utilizzati tre lotti di cartucce del test Xpert Xpress Strep A, rappresentante ciascuno due giornate di analisi. I campioni sono stati preparati in una matrice di tamponi faringei simulata ai vari livelli di concentrazione e sono presentati nella Tabella 5. I risultati dello studio di riproducibilità per concordanza percentuale e per centro di studio/operatore sono riassunti nella Tabella 6.

Tabella 5. Pannello di riproducibilità

| Ceppo | Componente del pannello |
|---|-----------------------------|
| Non applicabile | Negativo |
| ATCC19615 (<i>Streptococcus pyogenes</i>) | Positivo basso (~1X LoD) |
| ATCC19615 (<i>Streptococcus pyogenes</i>) | Positivo moderato (~3X LoD) |

Tabella 6. Riepilogo dei risultati di riproducibilità: % concordanza per centro di studio/operatore

| Campione | Centro 1 | | | Centro 2 | | | Centro 3 | | | % concordanza totale per campione |
|-------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------------------------|
| | Op 1 | Op 2 | Centro | Op 1 | Op 2 | Centro | Op 1 | Op 2 | Centro | |
| Neg | 100% (24/24) | 100% (24/24) | 100% (48/48) | 100% (24/24) | 100% (24/24) | 100% (48/48) | 100% (24/24) | 100% (24/24) | 100% (48/48) | 100% (144/144) |
| Pos. basso | 92% (22/24) | 100% (24/24) | 96% (46/48) | 100% (24/24) | 100% (24/24) | 100% (48/48) | 100% (24/24) | 100% (24/24) | 100% (48/48) | 98,6% (142/144) |
| Pos. moder. | 100% (24/24) | 100% (24/24) | 100% (48/48) | 100% (24/24) | 100% (24/24) | 100% (48/48) | 100% (24/24) | 100% (24/24) | 100% (48/48) | 100% (144/144) |

La riproducibilità del test Xpert Xpress Strep A è stata inoltre valutata in termini di segnale di fluorescenza espresso in valori Ct per ciascun bersaglio rilevato. La media, la deviazione standard (DS) e il coefficiente di variazione (CV) tra centri, tra lotti, tra giorni, tra operatori e all'interno del test per ciascun componente del pannello sono riportati nella Tabella 7.

Tabella 7. Riepilogo dei dati di riproducibilità

| Campione | N ^a | Tra centri | | Tra lotti | | Tra giorni | | Tra operatori | | All'interno del test | | Totale | |
|-----------------------|----------------|------------|--------|-----------|--------|------------|--------|---------------|--------|----------------------|--------|--------|--------|
| | | DS | CV (%) | DS | CV (%) | DS | CV (%) | DS | CV (%) | DS | CV (%) | DS | CV (%) |
| Strep A - Pos. basso | 142 | 0,2 | 0,6 | 0 | 0 | 0,1 | 0,4 | 0,1 | 0,2 | 1,0 | 2,7 | 1,1 | 2,8 |
| Strep A - Pos. moder. | 144 | 0 | 0 | 0,3 | 0,8 | 0 | 0 | 0,1 | 0,3 | 0,9 | 2,3 | 0,9 | 2,5 |
| NEG | 144 | 0 | 0 | 1,9 | 5,3 | 0,3 | 1,0 | 0 | 0 | 1,3 | 3,7 | 2,3 | 6,6 |

^a Risultati con valori Ct su 144 diversi da zero.

19 Prestazioni analitiche

19.1 Sensibilità analitica (limite di rilevamento)

Sono stati condotti studi per determinare la sensibilità analitica o il limite di rilevamento (LoD) del test Xpert Xpress Strep A utilizzando il kit di raccolta ESwab (Copan 480CE, codice prodotto Copan 480C, chiamato semplicemente "ESwab" nella Sezione 8). Il LoD è definito come la concentrazione più bassa del campione (segnalata come UFC/ml nel terreno di trasporto ESwab o UFC/test), che può essere distinta in modo riproducibile dai campioni negativi il 95% del tempo con un intervallo di confidenza del 95%, o come la concentrazione più bassa di organismi alla quale 19 replicati su 20 sono risultati positivi. Questo studio ha determinato la concentrazione più bassa di cellule di *Streptococcus pyogenes*, diluite in matrice di pool di tamponi faringei clinici, rilevabile con il test Xpert Xpress Strep A.

La sensibilità analitica del test Xpert Xpress Strep A è stata valutata seguendo le indicazioni riportate nel documento EP17-A2 dell'Istituto per gli Standard Clinici e di Laboratorio (CLSI) utilizzando due lotti di reagenti analizzati in tre giornate di analisi con due ceppi di *Streptococcus pyogenes*: ATCC BAA-946 codificante la proteina M6 e ATCC 19615 codificante le proteine M5 ed M49. Le proteine *emm5* ed *emm6* sono associate a infezioni della gola e alla febbre reumatica, mentre la proteina *emm49* si ritrova nel pioderma e nella glomerulonefrite acuta.⁷

Il LoD è stato stabilito analizzando sei livelli di concentrazione con due lotti di reagenti nell'arco di tre giorni di analisi in replicati di 20. Il LoD e l'intervallo di confidenza (IC) al 95% sono stati successivamente stimati per ciascun lotto utilizzando l'analisi di regressione Probit. L'analisi di regressione Probit non si affida ad un'unica concentrazione ma utilizza la funzione Probit per incorporare tutte le informazioni (concentrazioni) nel modello. Le stime dei punti sono state calcolate utilizzando un metodo delle stime di probabilità massima (Maximum Likelihood Estimates, MLE) sui parametri

del modello di regressione Probit. L'LoD massimo stimato per ceppo osservato con l'analisi della regressione Probit è stato utilizzato per stabilire l'LoD dichiarato. Le stime del punto LoD e gli intervalli di confidenza al 95% superiore e inferiore per ciascun ceppo Strep A analizzato sono riepilogati nella Tabella 8.

I risultati di questo studio indicano che il test Xpert Xpress Strep A genera un risultato positivo per Strep A il 95% delle volte con una confidenza del 95% per un tampone faringeo contenente 9-18 UFC/ml in terreno di trasporto ESwab o 3-6 UFC/test.

Tabella 8. LoD e intervalli di confidenza per Strep A

| Ceppo Strep A | Lotto di reagenti | Stima dell'LoD con analisi Probit (UFC/ml in terreno di trasporto ESwab) | | | LoD dichiarato (UFC/ml in terreno di trasporto ESwab) | Stima LoD (UFC/test) |
|---------------|-------------------|--|--------------------|---------------------|---|----------------------|
| | | IC al 95% inferiore | Stima puntuale LoD | IC al 95% superiore | | |
| ATCC BAA-946 | Lotto 1 | 7,0 | 8,4 | 10,7 | 9 | 3 |
| | Lotto 2 | 5,9 | 7,2 | 9,3 | | |
| ATCC 19615 | Lotto 1 | 14,5 | 17,1 | 21,0 | 18 | 6 |
| | Lotto 2 | 12,9 | 15,3 | 19,0 | | |

19.2 Reattività analitica (inclusività)

Ventiquattro ceppi di *Streptococcus pyogenes* sono stati analizzati a 3X LoD utilizzando il test Xpert Xpress Strep A in replicati di tre. I ceppi analizzati rappresentano i tipi M 1, 3, 4, 6, 11, 12, 18, 22, 25, 27, 38, 75, 77, 89, 94, 95, pattern cromosomici associati a faringite, prevalenza e aree geografiche. L'elenco dei ceppi analizzati in terreno ESwab contenente matrice di tamponi faringei simulata è riportato nella Tabella 9. Il test Xpert Xpress Strep A ha correttamente riportato tutti i 24 ceppi come **Strep A RILEVATO (Strep A DETECTED)**.

Tabella 9. Reattività analitica (inclusività) del test Xpert Xpress Strep A

| ID del ceppo Strep A | Tipo emm | Ceppo |
|----------------------|----------|-----------|
| ATCC 12202 | 1 | NCTC 8370 |
| ATCC 12344 | 1 | T1 |
| ATCC 700294 | 1 | SF370 |
| ATCC 12383 | 3 | D58X |
| ATCC 12384 | 3 | C203 |
| ATCC 12385 | 4 | J17A4 |
| ATCC 12203 | 6 | NCTC 8709 |
| ATCC 12352 | 11 | T11 |
| ATCC BAA-1065 | 12 | MGAS 2096 |
| ATCC BAA-1315 | 12 | MGAS9429 |
| ATCC 12357 | 18 | J17C |
| ATCC 10403 | 22 | T22 |
| ATCC 12204 | 25 | A25 |
| ATCC 8135 | 27 | T27 |
| ATCC 12365 | 38 | C107 |
| ATCC 12370 | 38 | C94 |

| ID del ceppo Strep A | Tipo emm | Ceppo |
|----------------------|-------------------------------------|-------------|
| ATCC 700497 | 75 | CDC-SS-1147 |
| ATCC 700499 | 77 | CDC-SS-1149 |
| ATCC 700949 | 89 | CDC-SS-1397 |
| ATCC BAA-355 | 94 | N/D |
| ATCC BAA-356 | 95 | N/D |
| ATCC 14289 | <i>S. pyogenes</i> senza proteina M | C203 S |
| ATCC 49399 | Tipo emm non disponibile | QC A62 |
| ATCC 51339 | Tipo emm non disponibile | 1805 |

19.3 Specificità analitica (esclusività)

La specificità analitica del test Xpert Xpress Strep A è stata valutata analizzando un pannello di 70 microrganismi potenzialmente cross-reattivi, filogeneticamente correlati allo *Streptococcus pyogenes* e appartenenti alla microflora commensale della gola (ad es., altri batteri, virus e lieviti) con potenziale capacità di reazione crociata con il test Xpert Xpress Strep A. I 70 organismi analizzati sono stati identificati come Gram-positivi (27), Gram-negativi (33) o indeterminati dopo colorazione di Gram (3), lieviti (1) e virus (6). In questo studio sono stati anche inclusi ceppi di streptococco del gruppo B, streptococco del gruppo C e streptococco del gruppo G. Tutti i ceppi sono stati analizzati in triplicato in terreno di trasporto ESwab contenente matrice di tamponi faringei simulata a $\geq 10^6$ UFC/ml per i batteri e i lieviti e a $\geq 10^5$ TCID₅₀/ml per i virus. Il test Xpert Xpress Strep A ha riportato tutti i 70 organismi come **Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED)** (Tabella 10). La specificità analitica del test Xpert Xpress Strep A è risultata del 100%.

Tabella 10. Specificità analitica del test Xpert Xpress Strep A

| Microrganismo | Risultati |
|---|---|
| <i>Acinetobacter baumannii</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Arcanobacterium haemolyticum</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| Adenovirus tipo 1 | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| Adenovirus tipo 7 | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Bacillus cereus</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Bordetella bronchiseptica</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Bordetella parapertussis</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Bordetella pertussis</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Burkholderia cepacia</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Campylobacter rectus</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Candida albicans</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Corynebacterium diphtheriae</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| Citomegalovirus AD-169 | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Enterococcus faecium</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| Virus di Epstein-Barr 4 | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Escherichia coli</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |

| Microrganismo | Risultati |
|--|---|
| <i>Fusobacterium necrophorum</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Haemophilus influenzae</i> tipo A | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Haemophilus parahaemolyticus</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Haemophilus parainfluenzae</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| Virus dell'epatite B | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| Virus dell'herpes simplex | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Legionella jordanis</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Legionella micdadei</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Legionella pneumophila</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Moraxella catarrhalis</i> (due ceppi) | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Moraxella lacunata</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Mycoplasma pneumoniae</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Neisseria lactamica</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Neisseria meningitidis</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Neisseria mucosa</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Neisseria sicca</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Neisseria subflava</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Peptostreptococcus micros</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Prevotella (Bacteroides) oralis</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Proteus mirabilis</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Proteus vulgaris</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Pseudomonas fluorescens</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Serratia marcescens</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Staphylococcus haemolyticus</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Streptococcus agalactiae</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Streptococcus anginosus</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Streptococcus bovis</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Streptococcus canis</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |

| Microrganismo | Risultati |
|-----------------------------------|---|
| <i>Streptococcus constellatus</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Streptococcus dysgalactiae</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Streptococcus equi</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Streptococcus gallolyticus</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Streptococcus intermedius</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Streptococcus mitis</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Streptococcus mutans</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Streptococcus oralis</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Streptococcus salivarius</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Streptococcus sanguinus</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Treponema denticola</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Veillonella parvula</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |
| <i>Yersinia enterocolitica</i> | Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED) |

19.4 Contaminazione da trascinamento

È stato condotto uno studio allo scopo di dimostrare che l'impiego delle cartucce chiuse monouso GeneXpert previene la contaminazione da trascinamento dei campioni di analisi e degli ampliconi da campioni positivi con titolo molto elevato (*S. pyogenes*) a campioni negativi analizzati successivamente ad essi quando sono trattati all'interno dello stesso modulo GeneXpert. Ai fini dello studio è stato analizzato un campione negativo nello stesso modulo GeneXpert immediatamente dopo avere analizzato un campione positivo con titolo molto elevato a una concentrazione $\geq 1 \times 10^6$ UFC/ml in terreno di trasporto ESwab contenente matrice simulata di tamponi faringei.

Lo schema analitico è stato ripetuto 40 volte tra due strumenti GeneXpert (un modulo per strumento) per un totale di 41 sessioni per strumento (20 campioni positivi alti per strumento e 21 campioni negativi per strumento), senza che fosse riscontrata alcuna evidenza di contaminazione da carry-over. Tutti e 42 i campioni negativi sono stati correttamente riportati come **Strep A NON RILEVATO (Strep A NOT DETECTED)**. Tutti e 40 i campioni positivi sono stati correttamente riportati come **Strep A RILEVATO (Strep A DETECTED)**.

19.5 Sostanze potenzialmente interferenti

Nove sostanze potenzialmente interferenti che potrebbero essere presenti nei campioni clinici faringei di analisi sono state valutate in relazione alla loro potenziale interferenza con le prestazioni del test Xpert Xpress Strep A. Le sostanze potenzialmente interferenti hanno incluso sangue, muco, saliva umana, rimedi per il raffreddore e l'influenza contenenti zucchero, farmaco per la tosse, antisettici, rimedi che determinano una variazione salina, rimedi che modificano il pH e cibi e bevande che aumentano la viscosità della saliva. Queste sostanze sono elencate nella Tabella 11 insieme ai principi attivi e alle concentrazioni analizzate. Tutte le sostanze interferenti, ad eccezione della mucina, del sangue e del farmaco per la tosse, sono state inizialmente analizzate al 6,5% (v/v) in terreno ESwab contenente una matrice di tamponi faringei simulata per i campioni negativi (solo matrice simulata) e per i campioni positivi a Strep A. La mucina, il sangue e il farmaco per la tosse sono stati analizzati rispettivamente al 2,5% (p/v), al 5,0% (v/v) e a 5 mg/ml, in matrice di tamponi faringei simulata per i campioni negativi (solo matrice simulata) e per i campioni positivi a Strep A.

Come controllo è stato incluso terreno ESwab contenente matrice simulata di tamponi faringei senza sostanze interferenti (negativi e positivi).

I campioni positivi sono stati analizzati con sostanze interferenti con un ceppo di *S. pyogenes* a 3X LoD in terreno ESwab contenente matrice di tamponi faringei simulata.

In questo studio sono stati valutati i replicati di otto campioni positivi e negativi con ciascuna sostanza interferente. Per determinare l'impatto sulle prestazioni del controllo per il trattamento dei campioni (SPC), i campioni negativi sono stati analizzati in presenza della sostanza potenzialmente interferente.

L'effetto di ciascuna sostanza potenzialmente interferente sui campioni positivi e negativi è stato valutato confrontando i valori del ciclo soglia (Ct) del bersaglio generati in presenza della sostanza potenzialmente interferente con i valori Ct ottenuti dai controlli che non contenevano la sostanza.

Questo studio non ha rilevato alcuna interferenza con il test da parte delle sostanze alle concentrazioni analizzate. Tutti i campioni positivi e negativi sono stati correttamente identificati usando il test Xpert Xpress Strep A.

Tabella 11. Sostanze potenzialmente interferenti analizzate

| Sostanza/Classe | Descrizione/Principio attivo | Concentrazione analizzata |
|---|--|---------------------------|
| Saliva | 100% saliva umana | 6,5% (v/v) |
| Mucina | Acido sialico legato, 0,5-1,5% | 2,5% (p/v) |
| Sangue | Sangue umano intero | 5,0% (v/v) |
| Antisettico | 0,092% eucaliptolo, 0,042% mentolo, 0,060% metile salicilato, 0,064% timolo | 6,5% (v/v) |
| Farmaco per la tosse | Destrometorfano HBr USP 10 mg, guaifenesina USP 200 mg | 5 mg/ml |
| Rimedi per il raffreddore e l'influenza contenenti zuccheri | Paracetamolo 650 mg, destrometorfano HBr 20 mg, dossilamina succinato 12,5 mg, fenilefrina HCl 10 mg | 6,5% (v/v) |
| Rimedi che determinano una variazione salina | Cloruro di sodio (0,65%) | 6,5% (v/v) |
| Cibi/bevande che aumentano la viscosità salivare | Latte | 6,5% (v/v) |
| Rimedi che determinano una variazione del pH | 100% succo d'arancia | 6,5% (v/v) |

19.6 Interferenza microbica

È stato condotto uno studio sui microrganismi interferenti allo scopo di valutare gli effetti inibitori sulle prestazioni del test Xpert Xpress Strep A da parte dei microrganismi commensali in campioni su tampone faringeo. Sono stati analizzati ventisette microrganismi per valutarne la potenziale interferenza sul rilevamento da parte di Strep A (Tabella 12). I microrganismi sono stati analizzati a $\geq 10^6$ UFC/ml in presenza di Strep A alla concentrazione 3X LoD in terreno ESwab contenente matrice simulata di tamponi faringei. I risultati hanno indicato che la presenza dei microrganismi analizzati non ha interferito con il rilevamento del DNA bersaglio per Strep A.

Tabella 12. Microrganismi commensali analizzati

| Microrganismo |
|--------------------------------------|
| <i>Acinetobacter baumannii</i> |
| <i>Candida albicans</i> |
| <i>Enterococcus faecalis</i> |
| <i>Fusobacterium necrophorum</i> |
| <i>Haemophilus influenzae</i> tipo A |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> |
| <i>Neisseria lactamica</i> |
| <i>Peptostreptococcus micros</i> |

| Microrganismo |
|--|
| <i>Prevotella (Bacteroides) oralis</i> |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> |
| <i>Streptococcus agalactiae</i> |
| <i>Streptococcus anginosus</i> |
| <i>Streptococcus bovis</i> |
| <i>Streptococcus canis</i> |
| <i>Streptococcus constellatus</i> |
| <i>Streptococcus dysgalactiae</i> |
| <i>Streptococcus equi</i> |
| <i>Streptococcus gallolyticus</i> |
| <i>Streptococcus intermedius</i> |
| <i>Streptococcus mitis</i> |
| <i>Streptococcus mutans</i> |
| <i>Streptococcus oralis</i> |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> |
| <i>Streptococcus salivarius</i> |
| <i>Streptococcus sanguinus</i> |
| <i>Treponema denticola</i> |
| <i>Veillonella parvula</i> |

20 Riferimenti bibliografici

1. Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Immunization and Respiratory Diseases, Division of Bacterial Diseases. ABCs Report: group A Streptococcus, 2003. 27 dicembre 2004. Disponibile in: <https://www.cdc.gov/abcs/reports-findings/survreports/gas03.html>. Consultazione: 3 maggio 2017.
2. Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Immunization and Respiratory Diseases, Division of Bacterial Diseases. Scarlet Fever: A Group A Streptococcal Infection. 20 gennaio 2015. Disponibile in: <http://www.cdc.gov/features/scarletfever/>. Consultazione: 22/10/2015.
3. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (fare riferimento all'ultima edizione). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline*. Document M29 (fare riferimento all'ultima edizione).
5. REGOLAMENTO (CE) N. 1272/2008 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 16 dicembre 2008 relativo alla classificazione, all'etichettatura e all'imballaggio delle sostanze e delle miscele che modifica e abroga, Elenco delle frasi di rischio, direttive 67/548/CEE e 1999/45/CE (che reca modifica al regolamento (CE) n. 1907/2006).
6. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
7. Cunningham M. W. Pathogenesis of group A streptococcal infections. *Clin Microbiol Rev*. July 2000;13(3); 470-511.

21 Ubicazione delle sedi Cepheid

Corporate Headquarters

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

European Headquarters

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

22 Assistenza tecnica

Prima di contattare il supporto tecnico di Cepheid, raccogliere le seguenti informazioni:

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

Supporto tecnico degli Stati Uniti


















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

Supporto tecnico della Francia

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

Le informazioni di contatto di tutti gli uffici di Supporto tecnico di Cepheid sono disponibili nel sito: www.cepheid.com/en/support/contact-us.

23 Tabella dei simboli

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



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefono: + 1 408 541 4191

Fax: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telefono: + 33 563 825 300

Fax: + 33 563 825 301



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



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



24 Cronologia delle revisioni

Descrizione delle modifiche: 301-6569-IT, dalla Rev. E alla Rev. F

Finalità: aggiunta di una nuova procedura per la pipetta, informazioni sul rappresentante e l'importatore per la Svizzera e apporto di continui aggiornamenti di miglioramento

| Sezione | Descrizione della modifica |
|------------------------------|--|
| Preparazione della cartuccia | Aggiornamento della sezione "Preparazione della cartuccia" con inclusione di istruzioni per due tipi di pipette. |
| Tabella dei simboli | Aggiunta dei simboli CH REP e Importatore e relative descrizioni nella tabella dei simboli. Aggiunta di informazioni CH REP e importatore con l'indirizzo per la Svizzera. |
| Cronologia delle revisioni | Aggiornamento della tabella della cronologia delle revisioni. |