

Xpert[®] HIV-1 Qual XC

REF GXHIV-QA-XC-CE-10

Istruzioni per l'uso

CE 2797 **IVD**

Dichiarazioni relative a marchi di fabbrica, brevetti e copyright

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.

© 2021-2023 Cepheid.

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.

© 2021-2023 Cepheid.

Per una descrizione delle modifiche apportate, vedere Sezione 27 Cronologia delle revisioni.

Xpert[®] HIV-1 Qual XC

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1 Nome registrato

Xpert[®] HIV-1 Qual XC

2 Nome comune o usuale

HIV-1 Qual XC

3 Destinazione d'uso

Xpert[®] HIV-1 Qual XC (Extended Coverage) è un test di amplificazione degli acidi nucleici *in vitro* per il rilevamento qualitativo degli acidi nucleici totali del virus dell'immunodeficienza umana di tipo 1 (HIV-1) sul sistema automatizzato GeneXpert[®]. Il test viene usato per rilevare l'HIV-1 in campioni di sangue umano secco (DBS) e sangue intero capillare e venoso con EDTA da soggetti sospetti di aver contratto l'infezione.

Xpert[®] HIV-1 Qual XC è previsto come ausilio nella diagnosi dell'infezione da HIV-1, parallelamente alla presentazione clinica e ad altri marker di laboratorio, in popolazioni di neonati, adolescenti e adulti.

Xpert[®] HIV-1 Qual XC è previsto per l'uso da parte di professionisti di laboratorio, operatori sanitari opportunamente formati o altri lavoratori del settore sanitario che abbiano ricevuto un'adeguata formazione per l'uso del dispositivo. Questo test può essere usato in laboratorio o in ambienti di analisi decentrati.

Il test non è destinato all'uso nell'ambito dello screening dell'HIV-1 per i donatori di sangue, organi o tessuto.

4 Riepilogo e spiegazione

Il virus dell'immunodeficienza umana (Human Immunodeficiency Virus o HIV) è l'agente eziologico della sindrome da immunodeficienza acquisita (Acquired Immunodeficiency Syndrome o AIDS).^{1,2,3} La trasmissione può avvenire per contatto sessuale, esposizione a sangue, fluidi corporei o emoderivati infetti, infezione prenatale del feto o infezione perinatale o postnatale del neonato.^{4,5,6} Nonostante una spesso prolungata latenza clinica, l'infezione da HIV-1 non trattata è caratterizzata da livelli elevati di produzione virale e distruzione di cellule T CD4, fino a giungere a una significativa perdita netta di cellule T CD4 e all'insorgenza dell'AIDS.

In tutto il mondo, circa 38 milioni di persone convivono con l'HIV. Tra le persone infettate, 1,7 milioni rappresentano nuove infezioni e si stima che circa 150.000 siano bambini. Due terzi di tutte le persone che convivono con l'HIV risiedono nell'Africa subsahariana.⁷ Senza una tempestiva esecuzione dei test HIV e un rapido avvio della terapia, circa la metà di tutti i bambini affetti da HIV muore prima di compiere due anni di età.⁸ La diagnosi precoce dell'infezione da HIV nei neonati è una necessità e il test degli acidi nucleici dell'HIV-1 rappresenta il perno del rilevamento dell'infezione nei pazienti pediatrici fino ai 18 mesi di età.⁹

Gli altri pazienti con infezione da HIV sviluppano generalmente un'infezione acuta caratterizzata da sintomi simil-influenzali in un periodo compreso fra qualche giorno e qualche settimana dopo l'esposizione iniziale.¹⁰ Le infezioni acute da HIV durano di norma meno di 14 giorni¹¹ e sono associate a elevati livelli di viremia prima di una risposta immunitaria rilevabile.^{12,13} Di conseguenza, il test di amplificazione degli acidi nucleici per l'HIV-1 può essere più sensibile dei test sierologici standard usati per l'identificazione dell'infezione acuta.¹⁰

Il test HIV-1 Qual XC utilizza la tecnologia della reazione a catena della polimerasi dopo retrotrascrizione (RT-PCR) per ottenere un'elevata sensibilità nel rilevamento qualitativo degli acidi nucleici totali dell'HIV-1 in campioni di analisi di sangue intero o DBS.

5 Principio della procedura

I sistemi di strumentazione GeneXpert (GX) consentono di automatizzare e integrare la preparazione dei campioni, l'estrazione e l'amplificazione degli acidi nucleici e il rilevamento della sequenza bersaglio in campioni semplici o complessi, utilizzando la PCR trascrittasi inversa (RT-PCR) real time. I sistemi comprendono uno strumento e un personal computer con software preinstallato per l'esecuzione dei test e la visualizzazione dei risultati. I sistemi richiedono l'uso di cartucce GeneXpert monouso contenenti i reagenti per la RT-PCR, in cui si svolgono i processi RT-PCR. Grazie alle cartucce isolate ermeticamente nel contenuto, il rischio di contaminazione crociata tra i campioni è ridotto al minimo. Per una descrizione completa del sistema, consultare *GeneXpert Dx System Operator Manual*, *GeneXpert Infinity System Operator Manual* o *GeneXpert Edge System User's Guide*.

Il test HIV-1 Qual XC include reagenti per il rilevamento degli acidi nucleici totali dell'HIV-1 nei campioni di analisi, nonché un controllo interno per garantire l'adeguato trattamento del bersaglio e per monitorare la presenza di inibitori nelle reazioni di RT e PCR. L'amplificazione e il rilevamento degli acidi nucleici totali dell'HIV-1 si ottengono mediante primer e sonde mirate alla regione Long Terminal Repeat (LTR) altamente conservata e al gene della polimerasi (Pol) (doppio bersaglio) del genoma dell'HIV-1. Il test HIV-1 Qual XC controlla anche la validità del campione tramite rilevamento del gene idrossimetilbilano sintasi umano (HMBS). Il controllo per la verifica della sonda (PCC) verifica la reidratazione dei reagenti, il riempimento della provetta PCR nella cartuccia, l'integrità della sonda e la stabilità del colorante.

Il test HIV-1 Qual XC è standardizzato rispetto al 4° standard internazionale dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) per l'HIV-1 (codice NIBSC: 16/194).¹⁴

6 Materiali in dotazione

Il kit HIV-1 Qual XC contiene reagenti sufficienti per il trattamento di 10 campioni. Il contenuto del kit è il seguente:

HIV-1 Qual XC Cartucce con provette di reazione integrate	10
Microsfera 1, microsfera 2 e microsfera 3 (liofilizzate)	1 di ciascuna per cartuccia
Reagente di lisi (idrocloreuro di guanidina)	1,2 ml per cartuccia
Reagente di risciacquo	0,5 ml per cartuccia
Reagente di eluizione	1,5 ml per cartuccia
Reagente di lavaggio (idrocloreuro di guanidina)	3,2 ml per cartuccia
Reagente proteinasi K	0,48 ml per cartuccia
Pipette di trasferimento monouso da 100 µl	1 busta da 10 per kit
CD	1 per kit
<ul style="list-style-type: none"> • File di definizione del saggio (ADF) • Istruzioni per l'importazione di ADF nel software • Istruzioni per l'uso (foglietto illustrativo) 	

Nota Le schede dati di sicurezza (SDS) sono disponibili nel sito www.cepheid.com o www.cepheidinternational.com sotto la scheda **SUPPORTO** (SUPPORT).

Nota L'albumina di siero bovino (BSA) presente nelle microsfele 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 del test HIV-1 Qual XC a 2-28 °C.
- Se le cartucce del test HIV-1 Qual XC sono state conservate fredde, portarle a una temperatura di 15-30 °C.
- Aprire il coperchio della cartuccia solo quando si è pronti per l'esecuzione del test.

- Utilizzare la cartuccia entro 4 ore dall'apertura del relativo coperchio e dall'aggiunta del campione.
- Non utilizzare cartucce che presentano perdite.
- Non usare cartucce precedentemente congelate.
- Non utilizzare una cartuccia oltre la data di scadenza.
- Conservare le cartucce nelle scatole dei kit fino al momento dell'uso ed evitare l'esposizione alla luce solare diretta.

8 Materiali necessari ma non forniti

- Sistema GeneXpert Dx, sistema GeneXpert Infinity o sistema GeneXpert Edge (il numero di catalogo varia in base alla configurazione): strumento GeneXpert, computer con software proprietario GeneXpert versione 4.7b (sistema GeneXpert Dx), Xpertise™ versione 6.4b o superiore (sistema Infinity), software GeneXpert Edge versione 1.0 (sistema GeneXpert Edge), lettore di codici a barre e manuale dell'operatore.
- Stampante: se fosse necessario l'uso di una stampante, contattare l'Assistenza Tecnica di Cepheid per predisporre l'acquisto di una stampante consigliata.
- Soluzione appena preparata di candeggina al 10%/ipoclorito di sodio.
- Etanolo o etanolo denaturato.
- Se si usano campioni di sangue secco:
 - cartoncini DBS in carta-filtro per gocce di 12 mm, ad es. Whatman™ 903, Munktell o equivalenti
 - Lancette, essiccanti, buste in plastica sigillabili
 - Pinzette/pinze (diritte, metalliche, a punta smussa; vedere la Figura 1), mantenute sterili con candeggina/ipoclorito di sodio
 - Forbici sterili (necessarie solo se non si usa un cartoncino DBS perforato, per ritagliare il campione di sangue secco dal filtro in carta)
 - Salvietta/panno
 - Antisettico
- Se si usa sangue capillare:
 - Lancette, salvietta/panno
 - Antisettico



Figura 1. Pinzette diritte, metalliche, a punta smussa

9 Avvertenze e precauzioni

- Solo per uso diagnostico *in vitro*.
- Tutti i campioni biologici di analisi, comprese le cartucce usate, devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi. Poiché, nella maggior parte dei casi, è impossibile distinguere i potenziali veicoli di infezione, tutti i campioni biologici di analisi devono essere trattati attenendosi alle precauzioni standard. Le linee guida per il trattamento dei campioni di analisi sono disponibili presso i Centri per il controllo e la prevenzione delle malattie negli Stati Uniti (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)¹⁵ e l'Istituto per gli standard clinici e di laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute).¹⁶
- Per manipolare campioni di analisi e reagenti, indossare guanti protettivi monouso, camici da laboratorio e protezione per gli occhi. Lavarsi accuratamente le mani dopo avere manipolato i campioni di analisi e i reagenti del test.
- È necessario adottare misure di sicurezza appropriate nel caso di spargimenti che si possono verificare mentre si utilizza la candeggina; per questi casi si consiglia di tenere a disposizione attrezzature idonee per lavare gli occhi o sciacquare la cute in modo adeguato.

- Durante il trattamento di sostanze chimiche e la manipolazione di campioni biologici, rispettare le procedure di sicurezza previste dalla struttura sanitaria di appartenenza.
- Quando si analizza più di un campione per volta, aprire soltanto una cartuccia, aggiungere il campione e chiudere la cartuccia prima di analizzare il campione successivo.
- Si consiglia di adottare le buone pratiche di laboratorio che includono il cambio dei guanti tra la manipolazione di un campione di analisi e quello successivo al fine di evitare la contaminazione dei campioni o dei reagenti.
- Non sostituire i reagenti del test HIV-1 Qual XC con altri reagenti.
- Non aprire il coperchio della cartuccia del test HIV-1 Qual XC se non per l'aggiunta del campione di sangue intero o sangue secco.
- Tenere sempre la cartuccia del test HIV-1 Qual XC in posizione verticale per evitare spargimenti.
- Non usare la cartuccia se appare umida o se sembra che il sigillo del coperchio sia stato rotto.
- 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 utilizzare una cartuccia la cui provetta di reazione è danneggiata.
- Non applicare l'etichetta con l'ID campione sul coperchio della cartuccia o sull'etichetta del codice a barre.
- Ciascuna cartuccia monouso del test HIV-1 Qual XC viene usata per il trattamento di un solo campione di analisi. Non riutilizzare le cartucce usate.
- Ciascuna pipetta monouso serve per il trasferimento di un singolo campione di analisi. Non riutilizzare le pipette monouso usate.
- I campioni biologici di analisi, i dispositivi di trasferimento e le cartucce usate devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi adottando le precauzioni standard. Attenersi alle procedure di smaltimento dei rifiuti ambientali del proprio istituto per il corretto smaltimento delle cartucce usate e dei reagenti non utilizzati. Questi materiali potrebbero essere considerati rifiuti chimici pericolosi richiedenti uno specifico smaltimento. Se i regolamenti nazionali o regionali non forniscono istruzioni chiare sul corretto smaltimento, i campioni biologici di analisi e le cartucce usate devono essere smaltiti in base alle linee guida dell'OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità) per la manipolazione e lo smaltimento dei rifiuti medici.¹⁷
- Nel caso in cui l'area di lavoro o le apparecchiature vengano contaminate dai campioni, pulire a fondo le superfici interessate con una soluzione appena preparata di ipoclorito di sodio allo 0,5% (o una soluzione diluita in rapporto 1:10 di candeggina per uso domestico). Pulire, quindi, la superficie con etanolo al 70%. Lasciare asciugare completamente le superfici di lavoro prima di continuare.
- Per le istruzioni di pulizia e disinfezione del sistema di strumentazione, consultare la documentazione appropriata: *GeneXpert Dx System Operator Manual*, *GeneXpert Infinity System Operator Manual* o *GeneXpert Edge System User's Guide*.

10 Pericoli chimici^{18,19}

- Pittogramma di pericolo UN GHS: 
- Parola: PERICOLO
- **Indicazioni di pericolo UN GHS**
 - Può essere nocivo se ingerito.
 - Provoca irritazione cutanea.
 - Provoca irritazione oculare.
 - Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato.
- **Frase di prudenza UN GHS**
 - Prevenzione
 - Lavare accuratamente dopo l'uso.
 - Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.
 - Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol.
 - Risposta
 - IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua e sapone.
 - Trattamento specifico, vedere le informazioni supplementari di pronto soccorso nelle schede dati di sicurezza (SDS), disponibili nei siti www.cepheid.com o www.cepheidinternational.com alla scheda **ASSISTENZA (SUPPORT)**.

- 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.
- IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione.
- In caso di sintomi respiratori: contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico.

11 Raccolta, trasporto e conservazione dei campioni

11.1 Raccolta di sangue intero venoso

Raccogliere il sangue intero venoso in provette sterili con K2 EDTA (tappo color lavanda) come anticoagulante, seguendo le istruzioni per l'uso del fabbricante. Per il test HIV-1 Qual XC sono necessari come minimo 100 µl di sangue intero.

Trasporto e conservazione del campione

Il sangue intero venoso anticoagulato con K2 EDTA può essere conservato a 2-8 °C per un massimo di 96 ore o a 2-35 °C per un massimo di 24 ore, prima della preparazione e dell'analisi del campione.

11.2 Prelievo di sangue intero capillare

Per il prelievo del sangue intero capillare, utilizzare una provetta di raccolta per piccoli volumi rivestita con K2 EDTA seguendo le istruzioni per l'uso del fabbricante. Raccogliere più di 100 µl (ad es. 150 µl) per compensare la perdita di volume sulle superfici della provetta. Se possibile, raccogliere un volume di sangue intero sufficiente per la ripetizione del test, nella stessa provetta di raccolta oppure in una provetta separata, a seconda del volume della stessa.

Trasporto e conservazione del campione

Il sangue intero capillare anticoagulato con K2 EDTA può essere conservato a 2-35 °C per un massimo di 60 minuti, prima della preparazione e dell'analisi del campione.

11.2.1 Raccolta dei campioni da puntura del tallone

Importante Il sito usato per il prelievo dei campioni pediatrici dipende dall'età e dal peso del bambino. Il prelievo da puntura del tallone potrebbe non essere adeguato nei bambini che sono già in grado di camminare; in questi casi può essere più adatta la puntura del dito.

1. Si consiglia di fare in modo che il bambino sia comodo e, se possibile, tranquillo, in una posizione stabile che permetta di tenere fermo il tallone.
2. Usare un paio di guanti nuovi per ogni paziente.
3. Individuare il sito del tallone in cui eseguire la puntura e pulirlo con una salvietta sterilizzante. Il sito deve essere asciutto prima della puntura. Le zone migliori per il prelievo sono i lati della parte inferiore del tallone.
4. Utilizzando una lancetta sterile adatta ai neonati, pungere la pelle e lasciar fluire una quantità adeguata di sangue. Non spremere né premere ripetutamente la zona; il flusso di sangue si può favorire con una delicata pressione del tallone.
5. Le prime gocce di sangue potrebbero essere piccole e di volume insufficiente, quindi andranno eliminate fino a ottenere gocce più consistenti.
6. Lasciar scorrere liberamente il sangue dal sito direttamente nella provetta di raccolta rivestita con K2 EDTA. Non lasciare che il sangue si rapprenda o si coaguli, in quanto ciò può interferire con l'analisi.
7. Dopo aver raccolto il sangue, coprire il sito sul tallone con una medicazione.

11.2.2 Raccolta dei campioni da puntura del dito

1. Usare un paio di guanti nuovi per ogni paziente.

2. Individuare un sito di puntura adeguato. Spesso funzionano bene i lati del terzo o del quarto dito con sufficiente tessuto molle. Evitare la punta delle dita e il centro del polpastrello.
3. Per favorire un flusso sanguigno adeguato, riscaldare le mani e le dita e tenere il braccio lungo il fianco.
4. Pulire la zona con una salvietta disinfettante e assicurarsi che sia asciutta prima di tentare la puntura.
5. Usando una lancetta sterile, pungere il dito in un punto leggermente laterale rispetto al centro del polpastrello. Si consiglia di usare una lancetta che fornisca un flusso libero di sangue. Non spremere né premere ripetutamente la zona; il flusso di sangue si può favorire massaggiando delicatamente verso la punta del dito.
6. Le prime gocce di sangue potrebbero essere piccole e di volume insufficiente, quindi andranno eliminate fino a ottenere gocce più consistenti.
7. Lasciar scorrere liberamente il sangue dal sito direttamente nella provetta di raccolta rivestita con K2 EDTA. Dopo aver raccolto il sangue, coprire il sito con un cerotto o una medicazione adesiva.

11.3 Raccolta dei campioni di sangue secco

Raccogliere i campioni di analisi DBS mediante procedure cliniche appropriate.

1. Per la preparazione, utilizzare cartoncini in carta da filtro Whatman 903 o Munktell o equivalenti, con sangue capillare ottenuto direttamente da una puntura del tallone o del dito della mano o del piede, oppure raccolto in una provetta con K2 EDTA, seguendo le istruzioni per l'uso del fabbricante. Il DBS può anche essere preparato da sangue intero venoso raccolto in provette sterili con K2 EDTA (tappo color lavanda) come anticoagulante.
2. Lasciar cadere una goccia di sangue all'interno di ciascun cerchietto da 12 mm disegnato sul cartoncino in carta da filtro.
3. Accertarsi che la superficie del cerchietto sia completamente coperta di sangue (circa 60–70 µl).
4. Riempire almeno due cerchietti con ciascun campione di analisi, per consentire la ripetizione del test.
5. Se è stato raccolto sangue intero (venoso o capillare) in una provetta con EDTA, miscelare capovolgendo la provetta almeno 7 volte prima di applicare il sangue intero sul filtro.
6. Lasciar asciugare all'aria il cartoncino a temperatura ambiente per almeno quattro ore.
7. Confezionare ciascun cartoncino in una busta singola risigillabile contenente un sacchetto essiccante.

Trasporto e conservazione del campione

Inserire i cartoncini in carta da filtro contenenti i DBS in buste singole risigillabili contenenti ciascuna un sacchetto essiccante, prima di inviarli ai laboratori di analisi per il successivo trattamento. I cartoncini possono essere conservati a 2-25 °C o congelati ad almeno -15 °C per un massimo di 16 settimane. Inoltre, possono essere conservati a 2-35 °C per un massimo di 8 settimane.

12 Procedura

12.1 Preparazione della cartuccia

Importante Iniziare il test entro 4 ore dall'introduzione del campione nella cartuccia.

1. Indossare guanti protettivi monouso.
2. Lasciare che le cartucce del test HIV-1 Qual XC e il campione si stabilizzino a 15-30 °C prima aggiungere il campione nella cartuccia.
 - Non aggiungere campione in una cartuccia fredda (al di sotto di 15 °C).
3. Controllare che la cartuccia per il test non sia danneggiata. Se danneggiata, non utilizzarla.
4. Applicare alla cartuccia un'etichetta con l'identificazione del campione.
5. Aprire il coperchio della cartuccia per il test.
6. Aggiungere il campione nella cartuccia per il test:
 - per il campione di *sangue intero* (venoso o capillare), vedere la Sezione 12.2;
 - per il campione di *sangue secco*, vedere la Sezione 12.3.

12.2 Campione di sangue intero (venoso o capillare)

1. Capovolgere il campione di sangue intero [provetta di raccolta EDTA (tappo color lavanda) o EDTA capillare] almeno sette volte per miscelare il sangue.
2. Trasferire immediatamente 100 µl di sangue intero utilizzando la micropipetta fornita (Figura 2) spremendo e poi rilasciando lentamente il bulbo superiore per aspirare il sangue nella micropipetta. Il sangue in eccesso fluirà nel bulbo inferiore.

Importante Accertarsi di **NON aspirare aria nella pipetta una volta sollevata quest'ultima dalla superficie del sangue nel serbatoio di raccolta con EDTA**, in quanto ciò può portare a un volume insufficiente di sangue (vedere la Figura 2). **NON versare il campione di analisi nella camera!** Gettare la pipetta dopo l'uso.

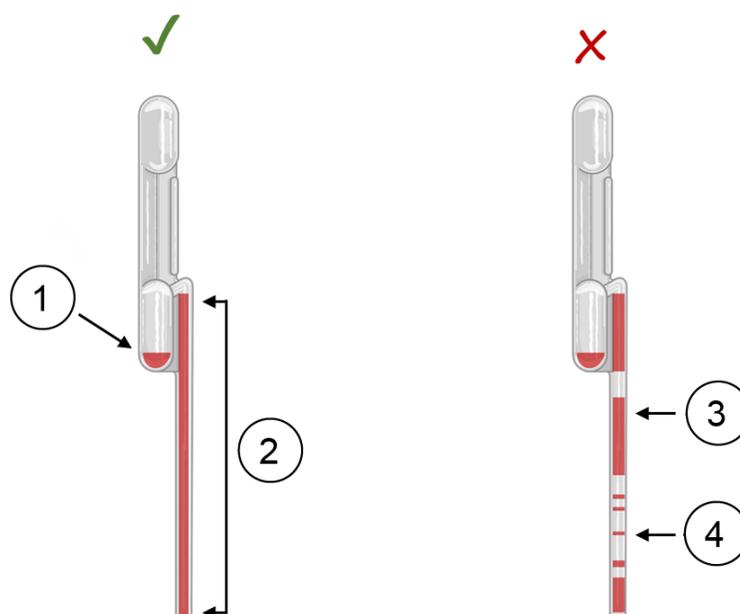


Figura 2. Test HIV-1 Qual XC: micropipetta di trasferimento da 100 µl (uso corretto ed errato)

Numero	Descrizione
1	Campione in eccesso (evitare di pipettare nella cartuccia!)
2	100 µl di sangue (campione)
3	Un pipettaggio precipitoso può causare imprecisioni di volume!
4	Sacca d'aria

3. Spremere nuovamente per dispensare il sangue nella camera della cartuccia riservata al campione (Figura 3). Ispezionare visivamente che il sangue sia stato dispensato.



Figura 3. Cartuccia HIV-1 Qual XC (vista dall'alto)

4. Chiudere il coperchio della cartuccia e avviare il test:
 - Per GeneXpert Dx System, vedere Sezione 13
 - Per GeneXpert Edge System, vedere Sezione 14
 - Per GeneXpert Infinity System, vedere Sezione 15

12.3 Campione di sangue secco

Importante

Per evitare la contaminazione crociata, tra un campione e l'altro occorre pulire e passare con una salvietta le pinzette e le forbici (le forbici vengono usate solo se il cartoncino con il campione di sangue secco non è perforato), utilizzando candeggina al 10%. Accertarsi di esporre alla candeggina le superfici di presa del cartoncino contenente il campione di sangue secco. Asciugare le pinzette e le forbici dopo la decontaminazione utilizzando un panno asciutto oppure lasciarle asciugare all'aria. Seguire questa procedura per preparare le pinzette per l'uso e dopo ciascun campione.

1. Ritagliare il DBS lungo le linee tracciate. Usare pinzette sterili per staccare e maneggiare il DBS (Figura 4). Quando si usano cartoncini DBS non perforati, utilizzare forbici sterili per ritagliare un intero campione di sangue secco dal cartoncino in carta da filtro per ciascun campione di analisi.



Figura 4. Taglio del DBS

2. Tenere il DBS con le pinzette e inserirlo nella camera della cartuccia destinata al campione, allineato con la fessura che si estende dall'apertura della camera del campione (indicata dalla freccia nella Figura 3 e nella Figura 5). Continuare a tenere saldamente il DBS mentre lo si spinge delicatamente all'interno della camera. Quando il DBS entra in contatto con le pareti della camera, si avvertirà una certa resistenza.



Figura 5. Inserimento del DBS nella camera del campione

3. La pressione contro le pareti della camera farà piegare il DBS in modo che possa entrare. Continuare a premere verso il fondo della camera fino all'arresto definitivo (Figura 6). Lasciare andare il DBS prima di estrarre le pinzette, per evitare di estrarlo nuovamente.



Figura 6. DBS sul fondo della camera del campione

Importante Ispezionare visivamente la cartuccia e assicurarsi che il campione di sangue secco si trovi sul fondo della camera.

4. Chiudere il coperchio della cartuccia e procedere all'avvio del test.
 - Per GeneXpert Dx System, vedere Sezione 13
 - Per GeneXpert Edge System, vedere Sezione 14
 - Per GeneXpert Infinity System, vedere Sezione 15

13 GeneXpert Dx System

13.1 Importazione del file di definizione del saggio (Assay Definition File, ADF)

Prima di iniziare il test, accertarsi che il file di definizione del saggio (ADF) appropriato sia stato importato nel software.

- Per i campioni di *sangue intero*: **Xpert HIV-1 Qual XC WB**.
- Per i campioni di *sangue secco*: **Xpert HIV-1 Qual XC DBS**.

Se nel computer è stato scaricato solo uno dei due ADF HIV-1 Qual XC, il campo **Seleziona saggio (Select Assay)** sarà compilato automaticamente dopo il passaggio 6 nella Sezione 13.2 seguente. Se sono disponibili entrambi i file, DBS ADF e WB ADF, nel menu a discesa **Seleziona saggio (Select Assay)** selezionare l'ADF corrispondente al tipo di campione utilizzato, come mostrato nella Figura 7.

Nome	Versione
<Nessuno>	
Xpert HIV-1 Qual XC WB	1
Xpert HIV-1 Qual XC DBS	1

Figura 7. Selezione dell'ADF corrispondente al tipo di campione utilizzato

13.2 Avvio del test

Prima di iniziare il test, assicurarsi che:

- Importante**
- il sistema stia eseguendo la versione corretta del software GeneXpert Dx mostrata nella sezione Materiali necessari ma non forniti;
 - nel software sia stato importato il file di definizione del saggio corretto.

In questa sezione sono elencati i passaggi principali di esecuzione del test. Per le istruzioni dettagliate, vedere la *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

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

1. Accendere GeneXpert Dx System, poi il computer ed effettuare l'accesso. Il software GeneXpert si avvia automaticamente. Se ciò non dovesse accadere, fare doppio clic sull'icona del collegamento del software GeneXpert Dx sul desktop di Windows®.
2. Effettuare l'accesso con il proprio nome utente e la password.
3. Nella finestra del **sistema GeneXpert**, fare clic su **Crea analisi (Create Test)**. Viene visualizzata la finestra **Crea analisi (Create Test)**. Si aprirà la finestra di dialogo **Esegui scansione del codice a barre dell'ID paziente (Scan Patient ID Barcode)**.
4. Eseguire la scansione dell'ID paziente (Patient ID) o digitarlo. Se l'ID paziente (Patient ID) viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente.
L'ID paziente (Patient ID) è associato ai risultati del test e viene visualizzato nella finestra **Visualizza risultati (View Results)** e in tutti i rapporti. Verrà visualizzata la finestra di dialogo **Esegui scansione del codice a barre dell'ID campione (Scan Sample ID Barcode)**.
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 del campione sarà associato ai risultati del test e viene mostrato nella finestra **Visualizza risultati (View Results)** e su tutti i rapporti. Si aprirà la finestra di dialogo **Esegui scansione del codice a barre della cartuccia (Scan Cartridge Barcode)**.
6. Eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia. Utilizzando le informazioni contenute nel codice a barre, il software compila automaticamente le caselle relative ai seguenti campi: Seleziona saggio (Select Assay), ID lotto reagente (Reagent Lot ID), N/S cartuccia (Cartridge S/N) e Data di scadenza (Expiration Date).

Nota Se non si riesce a eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia, ripetere il test con una cartuccia nuova. Se è stata eseguita la scansione del codice a barre della cartuccia nel software e il file di definizione del saggio non è disponibile, apparirà una schermata in cui si indica che il file di definizione del saggio non è stato caricato nel sistema. Se compare tale schermata, contattare il Supporto Tecnico di Cepheid.

7. Fare clic su **Avvia analisi (Start Test)**. Se richiesto, digitare la propria password nella finestra di dialogo visualizzata.
8. Aprire lo sportello del modulo dello strumento con la spia verde lampeggiante e caricare la cartuccia.
9. Chiudere lo sportello. Il test viene avviato e la spia verde smette di lampeggiare.
Al termine del test, la spia si spegne.
10. Attendere che il sistema abbia sbloccato lo sportello del modulo prima di aprirlo, quindi rimuovere la cartuccia.
11. Smaltire le cartucce usate negli appositi contenitori dei rifiuti di campioni di analisi attenendosi alla prassi standard del proprio presidio.

13.3 Visualizzazione e stampa dei risultati

In questa sezione sono elencati i passaggi principali per la visualizzazione e la stampa dei risultati. Per istruzioni più dettagliate sulla visualizzazione e la stampa dei risultati, consultare il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx*.

1. Per visualizzare i risultati, fare clic sull'icona **Visualizza risultati (View Results)**.
2. Una volta completato il test, fare clic sul pulsante **Rapporto (Report)** nella finestra **Visualizza risultati (View Results)** per visualizzare e/o generare un file di rapporto in formato PDF.

14 GeneXpert Edge System

(può non essere disponibile in alcuni Paesi).

14.1 Importazione del file di definizione del saggio (Assay Definition File, ADF)

Prima di iniziare il test, accertarsi che il file di definizione del saggio (ADF) appropriato sia stato importato nel software.

- Nota**
- Per i campioni di *sangue intero*: Xpert HIV-1 Qual XC WB.
 - Per i campioni di *sangue secco*: Xpert HIV-1 Qual XC DBS.

Se nel computer è stato scaricato solo uno dei due ADF, il campo **Seleziona saggio (Select Assay)** sarà compilato automaticamente dopo il passaggio 8a nella Sezione 14.2 seguente. Se le informazioni visualizzate sono corrette, toccare **Sì (YES)**. Se sono disponibili entrambi i file, DBS ADF e WB ADF, nel menu a discesa **Seleziona saggio (Select Assay)** si dovrà selezionare l'ADF corrispondente al tipo di campione utilizzato, come mostrato nella .

Se non si riesce a eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia o se la scansione del codice a barre provoca un messaggio di errore, ripetere il test con una cartuccia nuova. Se è stata eseguita la scansione del codice a barre della cartuccia nel software e il file di definizione del saggio non è disponibile, apparirà una schermata in cui si indica che il file di definizione del saggio non è stato caricato nel sistema. Se compare tale schermata, contattare il Supporto Tecnico di Cepheid.

Nota

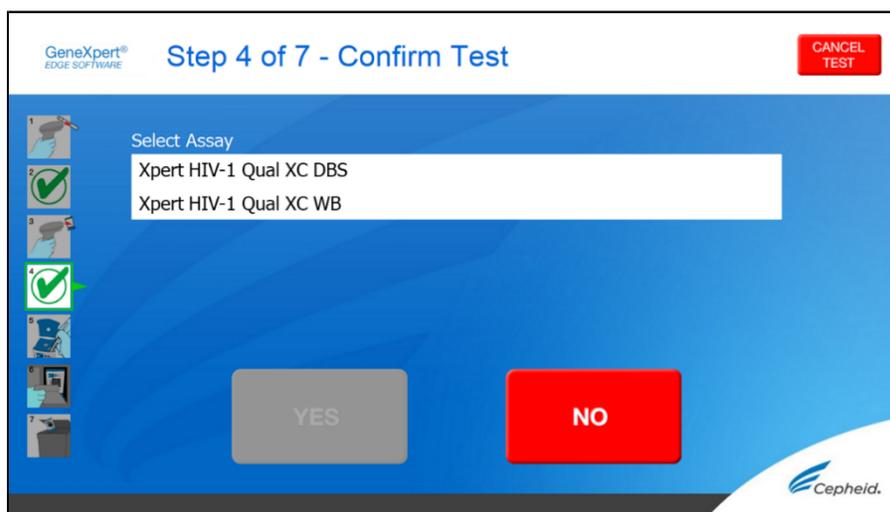


Figura 8. Selezione dell'ADF corrispondente al tipo di campione utilizzato

In questa sezione sono elencati i passaggi principali di esecuzione del test. Per le istruzioni dettagliate, vedere la *GeneXpert Edge System User's Guide*.

14.2 Avvio del test

Importante Prima di iniziare il test, accertarsi che il file di definizione del saggio (ADF) corretto sia stato importato nel software.

In questa sezione sono elencati i passaggi principali di esecuzione del test. Per le istruzioni dettagliate, vedere la *GeneXpert Edge System User's Guide*.

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

1. Indossare un paio di guanti puliti.
2. Accendere lo strumento GeneXpert Edge. L'interruttore di alimentazione si trova sul retro dello strumento.
3. Accendere il tablet ed effettuare l'accesso.
 - *Windows 7*: apparirà la schermata dell'**account di Windows 7**. Toccare l'icona **Ammin Cepheid (Cepheid-Admin)** per continuare.
 - *Windows 10*: verrà visualizzata la schermata di **Blocco di Windows**. **Scorrere verso l'alto** per continuare. Viene visualizzata la schermata **Password di Windows**.
4. Toccare **Password** per visualizzare la tastiera, quindi digitare la propria password.
5. Toccare il pulsante con la **freccia** a destra dell'area di immissione della password. Il software GeneXpert Edge viene caricato automaticamente e poco dopo comparirà la schermata **Benvenuto (Welcome)**.
6. Toccare il pulsante **TOCCARE QUI PER INIZIARE (TOUCH HERE TO BEGIN)**. Inizialmente apparirà il pulsante **VISUALIZZA TEST PRECEDENTI (VIEW PREVIOUS TESTS)**. Entro 3 minuti, quando lo strumento sarà pronto per funzionare, apparirà il pulsante **NUOVO TEST (NEW TEST)** nella schermata **Pagina iniziale (Home)**.
7. Toccare il pulsante **ESEGUI NUOVO TEST (RUN NEW TEST)** nella schermata **Pagina iniziale (Home)**.
8. Seguire le istruzioni riportate sullo schermo:
 - a) **Eseguire la scansione dell'ID paziente/campione (Scan patient/sample ID)** utilizzando il lettore di codici a barre o immettere manualmente l'ID del paziente/campione.
 - b) **Confermare l'ID paziente/campione.**
 - c) **Eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia.**
Il campo **Selezione saggio (Select Assay)** si riempie automaticamente. Se le informazioni visualizzate sono corrette, toccare **SÌ (YES)**.

Nota Se non si riesce a eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia o se la scansione del codice a barre provoca un messaggio di errore, ripetere il test con una cartuccia nuova. Se è stata eseguita la scansione del codice a barre della cartuccia nel software e il file di definizione del saggio non è disponibile, apparirà una schermata in cui si indica che il file di definizione del saggio non è stato caricato nel sistema. Se compare tale schermata, contattare il Supporto Tecnico di Cepheid.

- d) **Confermare il test.** Una volta selezionato l'ADF, confermare il saggio.
- e) **Preparare la cartuccia** La preparazione della cartuccia è descritta anche nella sezione per la preparazione del campione di analisi. Seguire il video o le istruzioni relative alla preparazione del campione di analisi.
- f) **Caricare la cartuccia** Aprire lo sportello del modulo con la spia verde lampeggiante. Caricare la cartuccia con il codice a barre rivolto verso l'operatore. Chiudere lo sportello.
La spia verde smette di lampeggiare e il test viene avviato. **Test in esecuzione (Test in progress)** viene visualizzato sullo schermo.
- g) **Rimuovere la cartuccia**
Al termine del test (la spia verde si spegne), lo sportello si sblocca automaticamente. Seguire le istruzioni visualizzate su come rimuovere la cartuccia. Smaltire le cartucce e i guanti usati in un apposito contenitore dei rifiuti per campioni di analisi, attenendosi alla prassi standard del proprio presidio.
9. Toccare **CONTINUA (CONTINUE)** per visualizzare il risultato del test appena completato. Toccare di nuovo il pulsante **CONTINUA (CONTINUE)** per tornare alla schermata della **pagina iniziale (Home)**.
In questo modo si completa la procedura per l'esecuzione di un test.

14.3 Avvio di un nuovo test

È possibile avviare un test supplementare mentre il primo è in corso.

1. Toccare il pulsante **PAGINA INIZIALE (HOME)**.
La schermata **Pagina iniziale (Home)** mostrerà il modulo in uso leggermente grigio e l'indicazione che la raccolta dei dati è in corso.
2. Toccare il pulsante **ESEGUI NUOVO TEST (RUN NEW TEST)** e procedere con il nuovo test seguendo i passaggi riportati nella Avviamento di un test.
3. Mentre il secondo test è in corso, toccare il pulsante **PAGINA INIZIALE (HOME)**. Verrà visualizzato lo stato di entrambi i test.
Al termine del test, il testo dell'icona diventerà **Raccolta dati completata (Data collection complete)** e mostrerà un segno di spunta sull'icona.
4. Toccare l'icona **Raccolta dati completata (Data collection complete)** per visualizzare la schermata **Rimuovi cartuccia (Remove Cartridge)**. Seguire le istruzioni che appaiono sullo schermo per rimuovere la cartuccia.

14.4 Visualizzazione e stampa dei risultati

In questa sezione sono elencati i passaggi principali per la visualizzazione e la stampa dei risultati. Per istruzioni più dettagliate sulla visualizzazione e la stampa dei risultati, consultare il *GeneXpert Edge System User's Guide*.

Nota

Se per la refertazione dei risultati si utilizza un sistema LIS, confermare che i risultati del LIS coincidano con quelli del sistema per l'ID del paziente; in presenza di conflitti, refertare solo i risultati del sistema.

1. Toccare il pulsante **VISUALIZZA TEST PRECEDENTI (VIEW PREVIOUS TESTS)** nella schermata **Pagina iniziale (Home)**.
2. Nella schermata **Seleziona analisi (Select Test)**, selezionare il test toccandone il nome o utilizzando le frecce per selezionarlo.

15 GeneXpert Infinity System

15.1 Importazione del file di definizione del saggio (Assay Definition File, ADF)

Prima di iniziare il test, accertarsi che il file di definizione del saggio (ADF) appropriato sia stato importato nel software.

- Per i campioni di *sangue intero*: **Xpert HIV-1 Qual XC WB**.
- Per i campioni di *sangue secco*: **Xpert HIV-1 Qual XC DBS**.

Se nel computer è stato scaricato solo uno dei due ADF HIV-1 Qual XC, il campo **Seleziona saggio (Select Assay)** sarà compilato automaticamente dopo il passaggio 8 nella Sezione 15.2 seguente. Se sono disponibili entrambi i file, DBS ADF e WB ADF, nel menu a discesa **Seleziona saggio (Select Assay)** selezionare l'ADF corrispondente al tipo di campione utilizzato, come mostrato nella Figura 9.

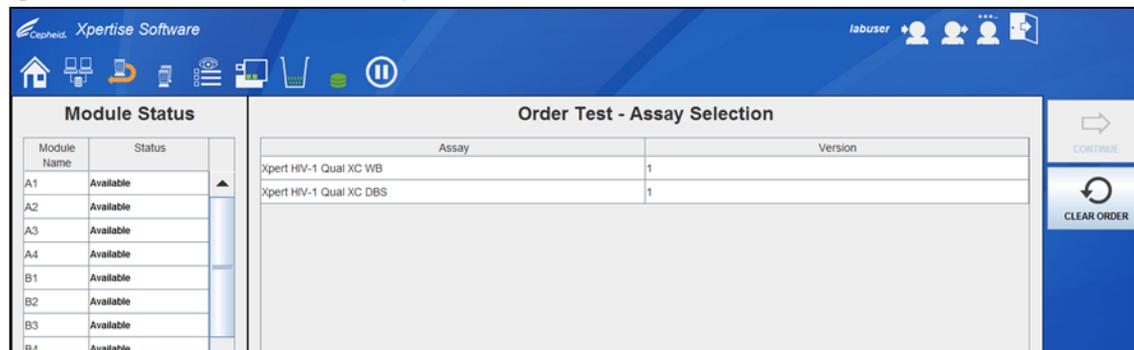


Figura 9. Selezione dell'ADF corrispondente al tipo di campione utilizzato

15.2 Avvio del test

Prima di iniziare il test, assicurarsi che:

- Importante**
- il sistema stia eseguendo la versione corretta del software Xpertise mostrata nella sezione Materiali necessari ma non forniti;
 - nel software sia stato importato il file di definizione del saggio corretto.

In questa sezione sono elencati i passaggi principali di esecuzione del test. Per le istruzioni dettagliate, vedere la *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

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

1. Accendere lo strumento. Il software Xpertise si avvia automaticamente. Se non si avvia, fare doppio clic sull'icona del collegamento del software Xpertise sul desktop di Windows®.
2. Effettuare l'accesso nel computer, quindi al software del sistema GeneXpert Xpertise con il proprio nome utente e la password.
3. Nell'area di lavoro della **Pagina iniziale Xpertise Software (Xpertise Software Home)**, fare clic su **Ordini (Orders)** e nell'area di lavoro **Ordini (Orders)** fare clic su **Ordina test (Order Test)**. Viene visualizzata l'area di lavoro **Ordina test - ID paziente (Order Test – Patient ID)**.
4. Eseguire la scansione dell'ID paziente (Patient ID) o digitarlo. Se l'ID paziente (Patient ID) viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente. L'ID paziente (Patient ID) è associato ai risultati del test e viene visualizzato nella finestra **Visualizza risultati (View Results)** e in tutti i rapporti.
5. Immettere le ulteriori informazioni richieste dalla propria organizzazione e fare clic sul pulsante **CONTINUA (CONTINUE)**. Viene visualizzata l'area di lavoro **Ordina test - ID campione (Order Test - Sample ID)**.
6. 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 del campione sarà associato ai risultati del test e viene mostrato nella finestra **Visualizza risultati (View Results)** e su tutti i rapporti.
7. Fare clic sul pulsante **CONTINUA (CONTINUE)**. Viene visualizzata l'area di lavoro **Ordina test - Saggio (Order Test - Assay)**.
8. Eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia. Utilizzando le informazioni contenute nel codice a barre, il software compila automaticamente le caselle relative ai seguenti campi: Selezione saggio (Select Assay), ID lotto reagente (Reagent Lot ID), N/S cartuccia (Cartridge S/N) e Data di scadenza (Expiration Date).

Nota Se non si riesce a eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia, ripetere il test con una cartuccia nuova. Se è stata eseguita la scansione del codice a barre della cartuccia nel software e il file di definizione del saggio non è disponibile, apparirà una schermata in cui si indica che il file di definizione del saggio non è stato caricato nel sistema. Se compare tale schermata, contattare il Supporto Tecnico di Cepheid.

Dopo la scansione della cartuccia, viene visualizzata l'area di lavoro **Ordina test - Informazioni sul test (Order Test - Test Information)**.

9. Verificare che le informazioni siano corrette e fare clic su **Invia (Submit)**. Se richiesto, digitare la propria password nella finestra di dialogo visualizzata.
10. Posizionare la cartuccia sul nastro trasportatore. La cartuccia viene caricata automaticamente, il test viene eseguito e la cartuccia usata viene collocata nel contenitore dei rifiuti.

15.3 Visualizzazione e stampa dei risultati

In questa sezione sono elencati i passaggi principali per la visualizzazione e la stampa dei risultati. Per istruzioni più dettagliate sulla visualizzazione e la stampa dei risultati, consultare il *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

1. Nell'area di lavoro della **pagina iniziale del software Xpertise**, premere l'icona **RISULTATI (RESULTS)**. Viene visualizzato il menu Risultati (Results).
2. Nel menu Risultati (Results), premere il pulsante **VISUALIZZA RISULTATI (VIEW RESULTS)**. L'area di lavoro **Visualizza risultati (View Results)** mostra i risultati del test.
3. Fare clic sul pulsante **RAPPORTO (REPORT)** per visualizzare e/o generare un file del rapporto in formato PDF.

16 Controllo qualità

Ogni test include un controllo dell'adeguatezza dei campioni (SAC), un controllo per il trattamento dei campioni (SPC) e un controllo per la verifica della sonda (PCC).

- **Controllo dell'adeguatezza dei campioni (SAC):** assicura che il campione aggiunto sia di origine umana. Se alla cartuccia è stato aggiunto un campione non umano, un volume insufficiente o un DBS vuoto, dopo la sessione viene visualizzato un risultato **NON VALIDO (INVALID)**. Il SAC deve essere positivo in un campione negativo e può essere negativo o positivo in un campione positivo. Se il SAC non soddisfa i criteri di accettabilità convalidati, il risultato del test apparirà come **NON VALIDO (INVALID)**.
- **Controllo per il trattamento dei campioni (SPC):** assicura che il campione sia stato analizzato correttamente. L'SPC è un controllo Armored RNA® non correlato all'HIV, incluso in ogni cartuccia e sottoposto all'intero processo analitico. L'SPC verifica che il trattamento del campione sia avvenuto correttamente. Inoltre, controlla l'inibizione della reazione RT-PCR associata al campione di analisi. L'SPC deve soddisfare i criteri di accettabilità convalidati in un campione negativo all'HIV-1. Se l'SPC non soddisfa i criteri di accettabilità convalidati, il risultato del test apparirà come **NON VALIDO (INVALID)**. Se viene rilevato l'HIV-1 in un campione, l'SPC non deve necessariamente soddisfare i criteri di accettabilità convalidati.
- **Controllo per la verifica della sonda (PCC):** prima che inizi la reazione PCR, il sistema di strumentazione GeneXpert misura il segnale di fluorescenza emesso dalle sonde, allo scopo di monitorare la reidratazione delle microsferi, il riempimento delle provette di reazione, l'integrità della sonda e la stabilità dei coloranti. Il controllo PCC si considera superato se i segnali di fluorescenza soddisfano i criteri di accettazione convalidati.
- **Controlli esterni:** I controlli esterni devono essere usati in conformità ai requisiti degli organismi di accreditamento locali, regionali e nazionali pertinenti.

17 Interpretazione dei risultati

I risultati vengono interpretati automaticamente dal sistema di strumentazione GeneXpert, utilizzando i segnali di fluorescenza misurati e gli algoritmi di calcolo integrati, e vengono visualizzati chiaramente nella finestra **Visualizza risultati (View Results)** (dalla Figura 10 alla Figura 14). I risultati possibili sono riportati nella Tabella 1.

Tabella 1. Risultati del test e interpretazione

Risultato	Interpretazione
HIV-1 RILEVATO (HIV-1 DETECTED) Vedere la Figura 10.	Sono stati rilevati gli acidi nucleici bersaglio dell'HIV-1. <ul style="list-style-type: none"> • Gli acidi nucleici bersaglio dell'HIV-1 hanno un valore Ct compreso nell'intervallo valido. • SPC: NA (non applicabile); l'SPC viene ignorato perché si è verificata l'amplificazione del bersaglio HIV-1. • SAC: NA (non applicabile); il SAC viene ignorato perché si è verificata l'amplificazione del bersaglio HIV-1. • Verifica della sonda: AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
HIV-1 NON RILEVATO (HIV-1 NOT DETECTED) Vedere la Figura 11.	Gli acidi nucleici bersaglio dell'HIV-1 non sono stati rilevati. <ul style="list-style-type: none"> • SPC: AMMESSO (PASS); l'SPC ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido. • SAC: AMMESSO (PASS); rilevato campione umano. • Verifica della sonda: AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
NON VALIDO (INVALID)^a Vedere la Figura 12.	Non è possibile determinare la presenza o l'assenza degli acidi nucleici bersaglio dell'HIV-1. <ul style="list-style-type: none"> • SPC: RESPINTO (FAIL); il Ct dell'SPC non è compreso nell'intervallo valido. • SAC: RESPINTO (FAIL); il Ct del SAC non è compreso nell'intervallo valido. • Verifica della sonda: AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
ERRORE (ERROR)^a Vedere la Figura 13.	La presenza o l'assenza degli acidi nucleici bersaglio dell'HIV-1 non può essere determinata. <ul style="list-style-type: none"> • HIV-1: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • SPC: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • Verifica della sonda^b: RESPINTO (FAIL); uno o più risultati della verifica della sonda non sono validi.
NESSUN RISULTATO (NO RESULT)^a NESSUN RISULTATO - RIPETI TEST (NO RESULT - REPEAT TEST)^c Vedere la Figura 14.	La presenza o l'assenza degli acidi nucleici bersaglio dell'HIV-1 non può essere determinata. NESSUN RISULTATO (NO RESULT) indica che i dati raccolti sono insufficienti. Ad esempio, l'operatore ha interrotto un test in corso. <ul style="list-style-type: none"> • HIV-1: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • SPC: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • Verifica della sonda: NA (non applicabile).

^a In caso di risultato **NON VALIDO (INVALID)**, in caso di **ERRORE (ERROR)** o di **NESSUN RISULTATO (NO RESULT)**, ripetere il test seguendo le istruzioni della Sezione 18.2.

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

^c Solo per GeneXpert Edge

Nota Le schermate del saggio sono soltanto un esempio. Il nome del test e il numero di versione possono differire dalle schermate illustrate in questo foglietto illustrativo.

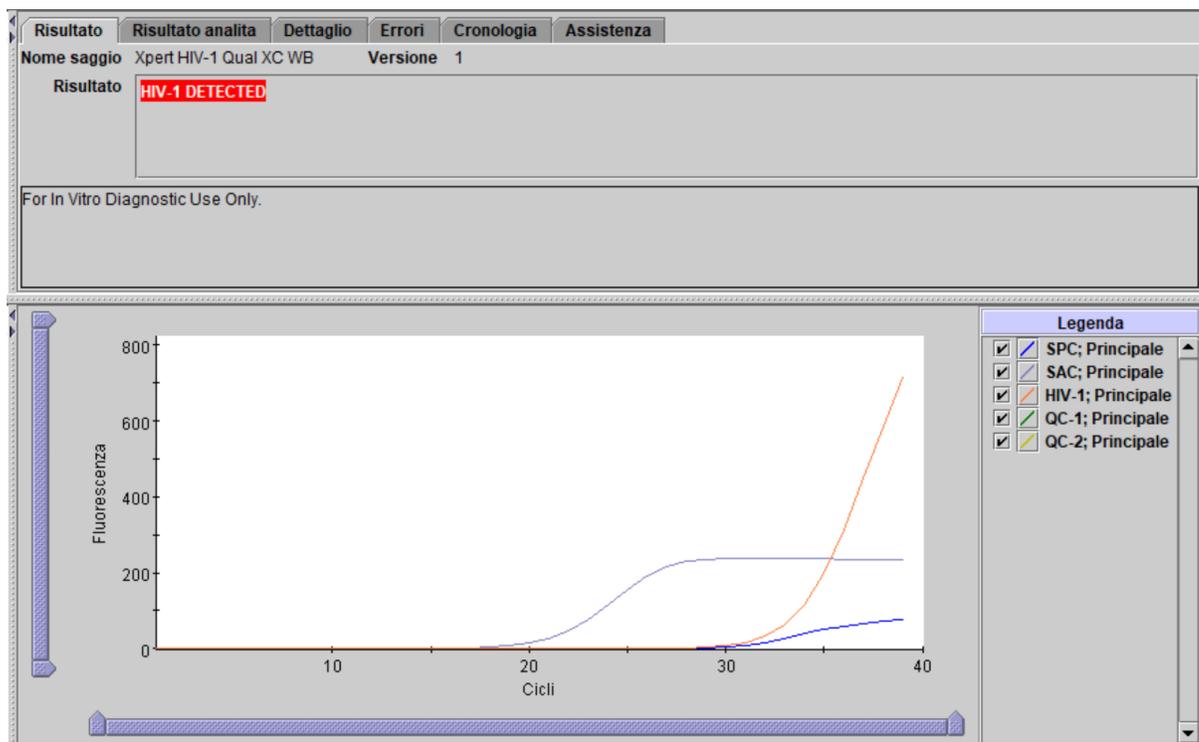


Figura 10. HIV-1 rilevato come mostrato su GeneXpert Dx System e GeneXpert Infinity System.

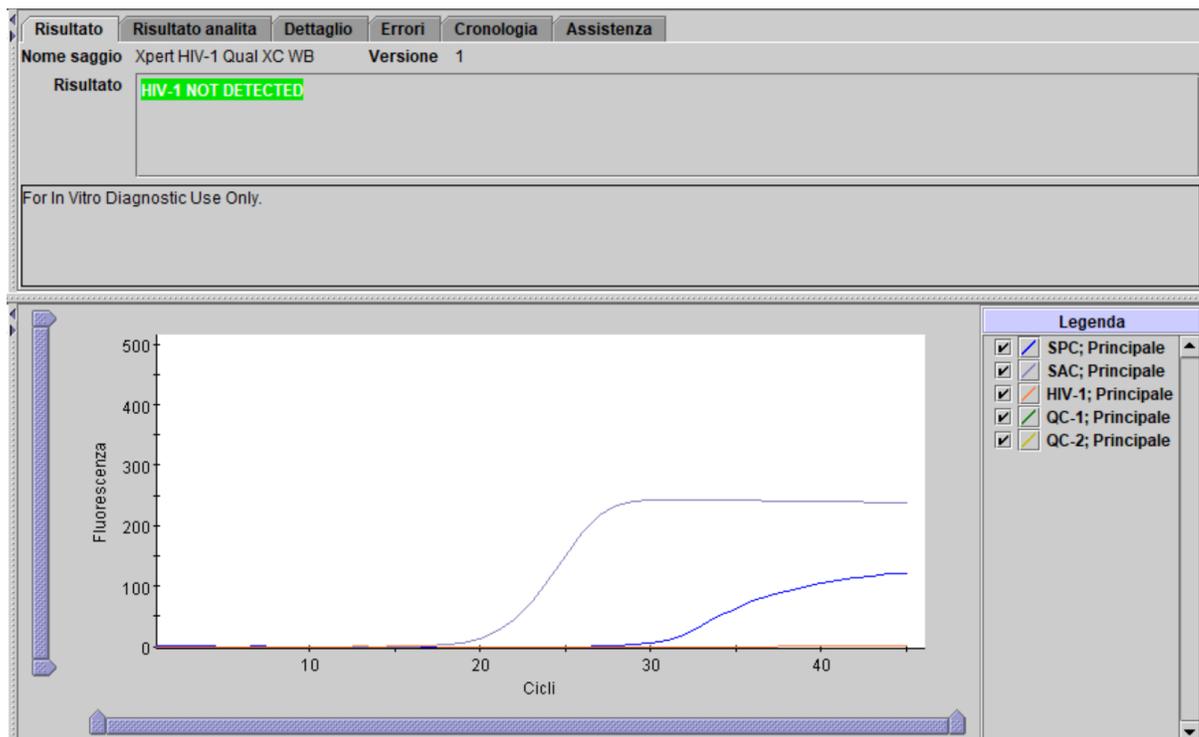


Figura 11. HIV-1 non rilevato come mostrato su GeneXpert Dx System e GeneXpert Infinity System.

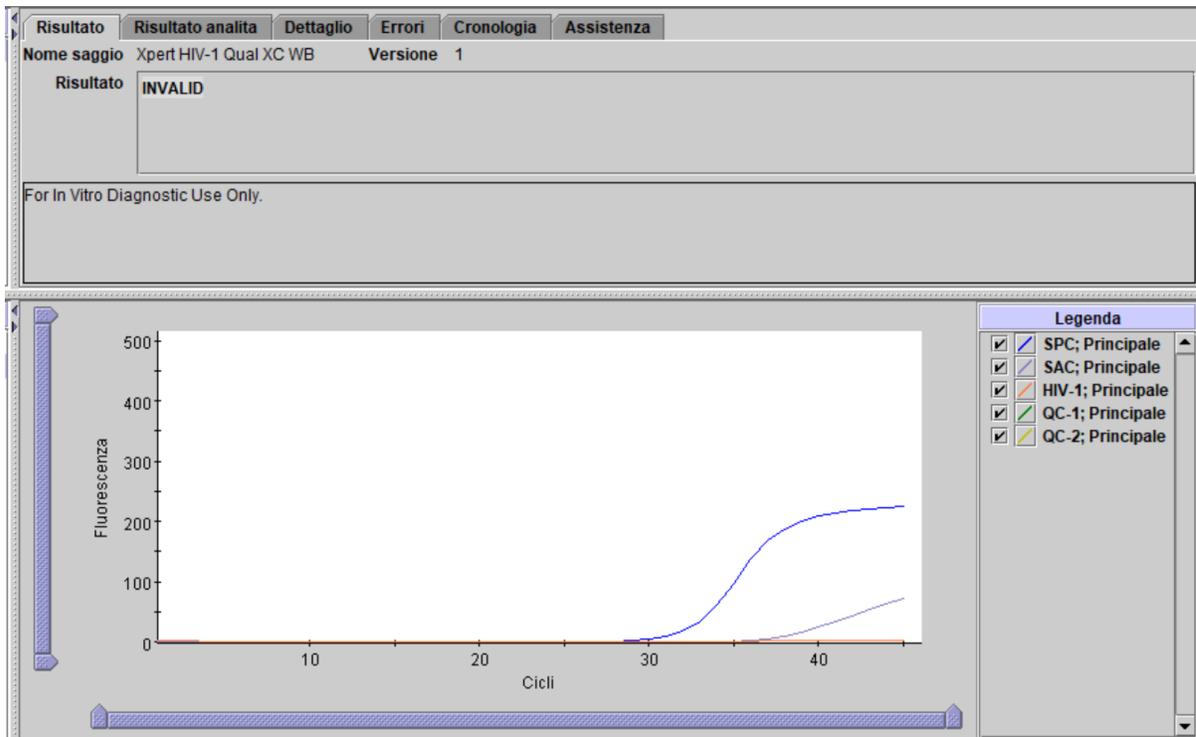


Figura 12. Risultato non valido come mostrato su GeneXpert Dx System e GeneXpert Infinity System.

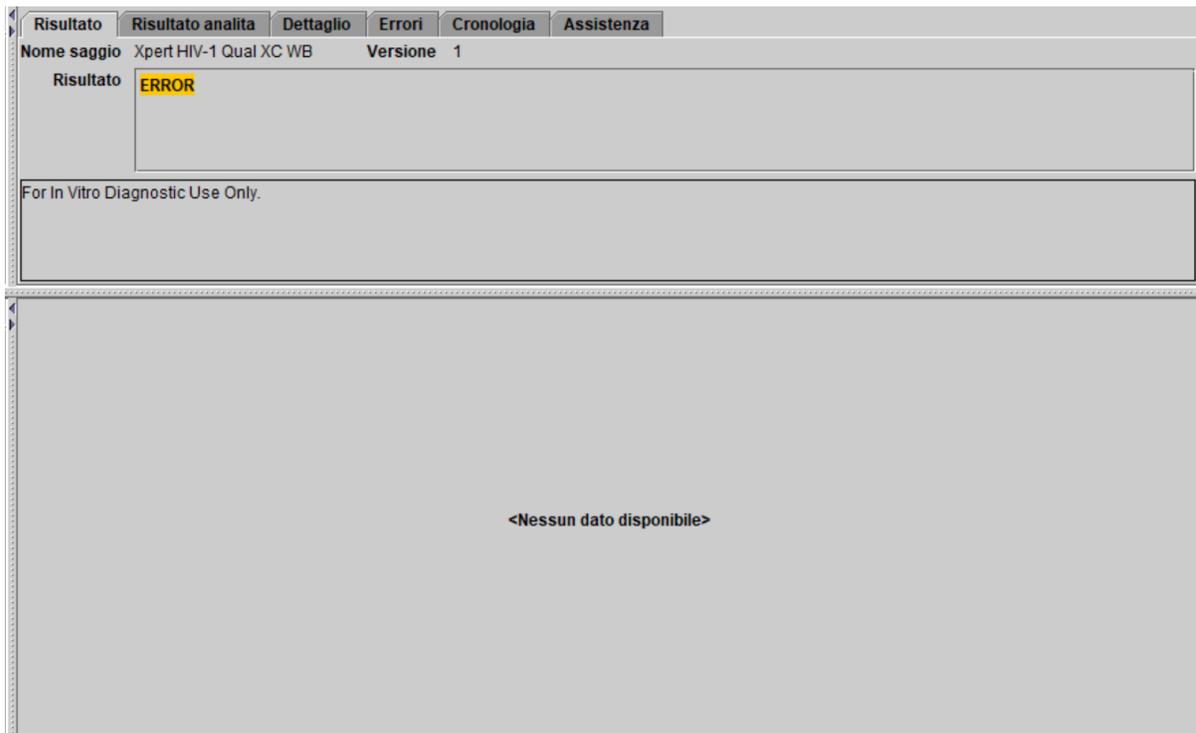


Figura 13. Errore come mostrato su GeneXpert Dx System e GeneXpert Infinity System.

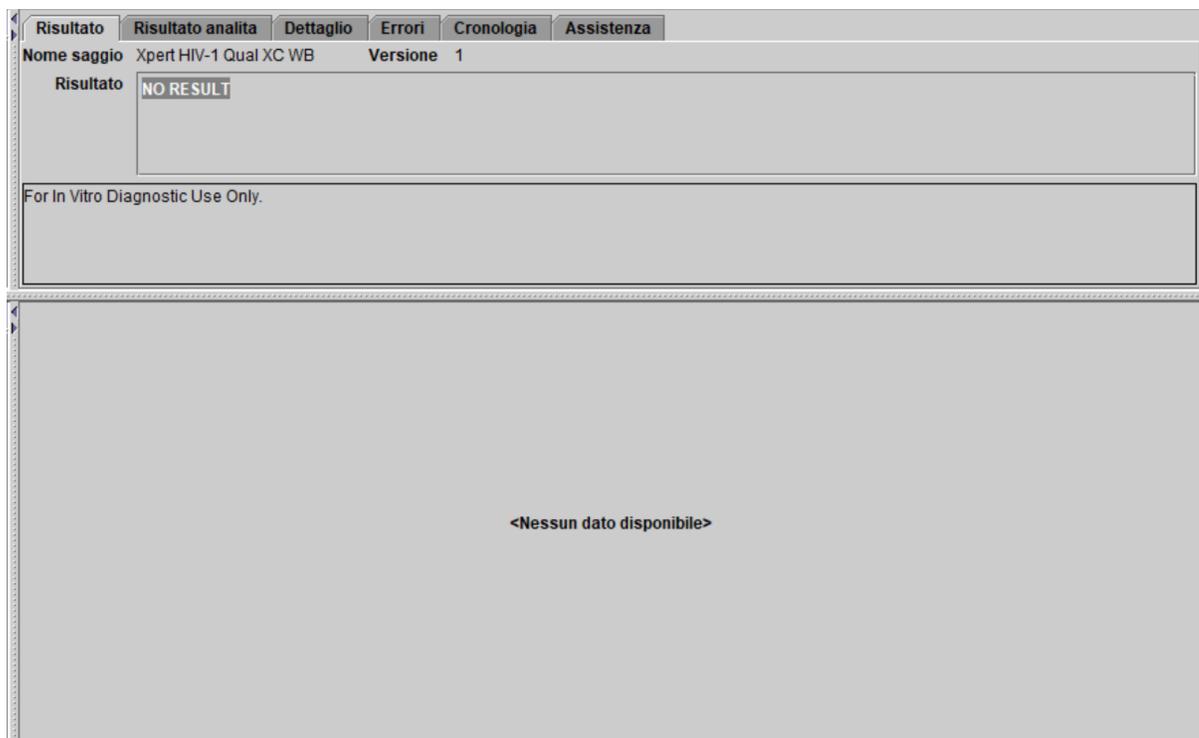


Figura 14. Nessun risultato come mostrato su GeneXpert Dx System e GeneXpert Infinity System.

18 Ripetizione del test

18.1 Motivi per ripetere il test

Se si ottiene uno dei risultati riportati qui di seguito, ripetere il test attenendosi alle istruzioni della Sezione 18.2.

- Un risultato **NON VALIDO (INVALID)** indica uno o più dei seguenti casi:
 - controllo SPC non riuscito. Il campione non è stato trattato correttamente o la PCR è stata inibita. È possibile che la cartuccia sia stata conservata per un periodo superiore alla sua durata di conservazione o a temperature elevate.
 - controllo SAC non riuscito. È stato aggiunto un campione errato o non è stato aggiunto alcun campione, oppure è possibile che sia stato usato l'ADF errato per il campione di sangue secco.
- Un risultato **ERRORE (ERROR)** indica che il test è stato interrotto. Cause probabili: riempimento non corretto della provetta di reazione, rilevamento di un problema di integrità con la sonda del reagente o superamento del limite massimo di pressione.
- **NESSUN RISULTATO (NO RESULT)** indica che i dati raccolti sono insufficienti. L'operatore, ad esempio, ha interrotto l'esecuzione di un test oppure si è verificata un'interruzione di corrente.

18.2 Procedura di ripetizione del test

Se il risultato di un test è **NON VALIDO (INVALID)**, **ERRORE (ERROR)** o **NESSUN RISULTATO (NO RESULT)**, usare una cartuccia nuova per rianalizzare il campione interessato (non riutilizzare la cartuccia).

1. Estrarre la nuova cartuccia dal kit.
2. Avviare un altro test:
 - Per GeneXpert Dx System, vedere Sezione 13
 - Per GeneXpert Edge System, vedere Sezione 14
 - Per GeneXpert Infinity System, vedere Sezione 15

19 Limitazioni

- Si consiglia di adottare buone pratiche di laboratorio che includano il cambio dei guanti tra la manipolazione di un campione e quello successivo, al fine di evitare la contaminazione dei campioni o dei reagenti.
- Le prestazioni del test HIV-1 Qual XC sono state convalidate solo tramite le procedure fornite nel presente foglietto illustrativo. Qualsiasi modifica apportata a queste procedure può alterare le prestazioni del test.
- Mutazioni rare, delezioni o inserzioni nella regione bersaglio del test HIV-1 Qual XC possono influenzare il legame con il primer e/o la sonda, con conseguente mancato rilevamento del virus.
- Il test HIV-1 Qual XC è stato convalidato solo per l'uso con campioni di sangue intero capillare e venoso e con campioni di analisi DBS. L'analisi di altri tipi di campioni di analisi con questo test può causare risultati non accurati.
- Il test HIV-1 Qual XC è stato convalidato unicamente per l'uso con provette K2 EDTA. L'uso di provette diverse da K2 EDTA può causare risultati non accurati.
- Per una corretta esecuzione di questo test è necessario che la raccolta, la conservazione, la manipolazione e il trasporto del campione di analisi al centro di esecuzione del test siano adeguati.
- Un risultato negativo del test HIV-1 Qual XC non esclude l'infezione da HIV-1. I risultati del test HIV-1 Qual XC devono essere interpretati congiuntamente alla presentazione clinica e ad altri marker di laboratorio.
- Il test HIV-1 Qual XC non è destinato allo screening dell'HIV-1 per donazioni di sangue, plasma, siero o tessuto.
- Risultati falsi negativi possono verificarsi se il virus è presente a livelli inferiori al limite di rilevamento del test.
- L'effetto delle sostanze interferenti è stato valutato solo per le sostanze elencate nella documentazione del saggio. L'interferenza ad opera di sostanze diverse da quelle riportate può causare risultati erranei.
- Il rilevamento dell'HIV-1 dipende dal numero di particelle virali presenti in un campione e può essere influenzato dai metodi di raccolta del campione, da fattori legati al paziente (età, presenza di sintomi) e/o dallo stadio dell'infezione.
- Un campione che genera per due volte un risultato NON VALIDO (INVALID) può contenere un inibitore e si sconsiglia di rianalizzarlo.
- Il sangue intero rappreso o coagulato può causare errori o risultati non validi.
- Il test HIV-1 Qual XC non è stato valutato in soggetti sottoposti a profilassi pre-esposizione (PrEP).
- Nei soggetti che ricevono terapia antiretrovirale, l'HIV potrebbe non essere rilevabile con il test HIV-1 Qual XC.
- Il test HIV-1 Qual XC è previsto come ausilio nella diagnosi dell'infezione da HIV-1 e non deve essere usato in modo isolato ma solo congiuntamente alla presentazione clinica e ad altri marker di laboratorio.
- I pazienti che hanno ricevuto terapie CAR-T possono ottenere risultati positivi con Xpert (HIV-1 Qual XC, HIV-1 VL ecc.) a causa della presenza del bersaglio LTR all'interno di determinati prodotti a base di cellule T esprimenti un recettore chimerico per l'antigene (CAR-T). Nelle persone che hanno ricevuto un trattamento CAR-T sono quindi necessari ulteriori esami di conferma per determinare lo stato HIV del paziente.

20 Caratteristiche prestazionali

20.1 Prestazioni cliniche

Le caratteristiche prestazionali del test Xpert HIV-1 Qual XC sono state valutate in sei laboratori o centri di analisi delocalizzati nella Repubblica Sudafricana, Lesotho, Italia e Stati Uniti. I partecipanti allo studio includevano neonati (28,1%; da 0 a 28 giorni), lattanti (28,4%; >28 giorni a 18 mesi), bambini (0,7%; >18 mesi a 9 anni), adolescenti (1,3%; da 10 anni a <18 anni) e adulti (41,4%; ≥18 anni), per i quali esisteva un sospetto clinico di infezione da HIV-1, che erano considerati ad alto rischio di infezione da HIV-1 e/o per i quali un medico aveva prescritto un test dell'HIV-1. I tipi di campioni di analisi includevano campioni di sangue secco archiviati o freschi, residui dai test previsti dallo standard di cura, sangue intero venoso e capillare con EDTA raccolto in maniera prospettica e campioni di sangue secco provenienti da sangue intero venoso e capillare fresco con EDTA raccolto in maniera prospettica (tramite puntura del dito o del tallone).

Le prestazioni del test Xpert HIV-1 Qual XC sono state confrontate con test di amplificazione degli acidi nucleici (NAAT) dotati di marchio CE.

In totale sono stati analizzati 675 campioni di analisi DBS, 286 campioni di sangue intero venoso e 259 campioni di sangue intero capillare con il test Xpert HIV-1 Qual XC e il test di confronto. Il test Xpert HIV-1 Qual XC ha dimostrato una percentuale di concordanza positiva (PPA) del 97,8% (IC 95%: 93,7-99,2), del 100,0% (IC 95%: 74,1-100,0) e del 100,0% (IC 95%: 70,1-100,0), rispettivamente, per i campioni di analisi DBS, di sangue intero venoso e di sangue intero capillare. Il test Xpert HIV-1 Qual XC ha dimostrato una percentuale di concordanza negativa (NPA) del 99,4% (IC 95%: 98,4-99,8), del 98,9% (IC 95%: 96,8-99,6) e del 99,2% (IC 95%: 97,1-99,8), rispettivamente, per i campioni di analisi DBS, per i campioni di sangue intero venoso e per i campioni di sangue intero capillare. I risultati sono riportati nella Tabella 2.

Tabella 2. Test Xpert HIV-1 Qual XC rispetto a NAAT di confronto

Test Xpert HIV-1 Qual XC rispetto a NAAT di confronto	N	TP	FN	TN	FP	PPA (IC 95%)	NPA (IC 95%)
DBS	675	133	3 ^a	536	3 ^b	97,8% (93,7-99,2)	99,4% (98,4-99,8)
Sangue intero venoso	286	11	0	272	3 ^c	100,0% (74,1-100,0)	98,9% (96,8-99,6)
Sangue intero capillare	259	9	0	248	2 ^d	100,0% (70,1-100,0)	99,2% (97,1-99,8)

^a 3/3 volume insufficiente disponibile per eseguire la ripetizione del test con il NAAT di confronto; 1/3 risultato positivo del test Xpert HIV-1 Qual XC ripetuto.

^b 2/3 volume insufficiente disponibile per eseguire la ripetizione del test con il NAAT di confronto; 1/3 risultato negativo del test NAAT di confronto ripetuto.

^c 3/3 risultati del test NAAT di confronto ripetuto erano negativi.

^d 2/2 risultati del test NAAT di confronto ripetuto erano negativi.

20.2 Specificità in donatori di sangue adulti sieronegativi

In totale, sono stati analizzati per HIV-1 con il test Xpert HIV-1 Qual XC 500 campioni di analisi accoppiati DBS e sangue intero venoso provenienti da una popolazione di donatori adulti sieronegativi; i risultati sono stati confrontati con i test di screening per HIV dello standard di cura che includevano test anticorpali e test antigenici per HIV, oltre a un NAAT. Il test Xpert HIV-1 Qual XC ha dato risultati **HIV-1 NON RILEVATO (HIV-1 NOT DETECTED)** per tutti e 500 i campioni di analisi DBS e per tutti e 500 i campioni di analisi accoppiati di sangue intero venoso. La specificità per ciascun tipo di campione è stata del 100,0% (IC 95%: 99,2-100,0).

20.3 Tasso di risultati incerti

Sono stati analizzati in totale 1.242 campioni di analisi con il test Xpert HIV-1 Qual XC (680 campioni DBS, 288 campioni di sangue intero venoso e 274 campioni di sangue intero capillare), di cui 1.183, all'analisi iniziale, erano validi (95,2%) e 59 (4,8%) erano incerti. Dei 59 campioni di analisi con risultati incerti, 58 hanno dato risultati validi alla ripetizione del test. Il tasso finale di risultati incerti del test Xpert HIV-1 Qual XC è stato dello 0,1% (1/1.242).

21 Prestazioni analitiche

21.1 Limite di rilevamento

Il limite di rilevamento (Limit of Detection, LoD) del test HIV-1 Qual XC è stato determinato mediante analisi Probit per il gruppo M sottotipo B per entrambi i tipi di campione (sangue intero e sangue secco) analizzando due pannelli di diluizione seriale preparati dal 4° standard internazionale dell'OMS per l'HIV-1 (codice NIBSC: 16/194) in sangue intero con K2 EDTA negativo all'HIV-1. Ciascun pannello di diluizione seriale consisteva in otto diversi livelli di concentrazione dello standard internazionale dell'OMS e un negativo. Ciascun livello di concentrazione di ciascun pannello di diluizione seriale è stato analizzato nell'arco di tre giorni per un totale di 24 replicati utilizzando un lotto di kit del test HIV-1 Qual XC. Per ognuno dei due pannelli di diluizione seriale sono stati usati lotti di kit diversi. I risultati del LoD per il gruppo M sottotipo B sono mostrati nella Tabella 3 e nella Tabella 4.

Il fattore di conversione per il 4° standard internazionale dell'OMS per l'HIV-1 (codice NIBSC: 16/194) nel test HIV-1 Qual XC è 1 copia = 2,06 unità internazionali (UI).

Tabella 3. Limite di rilevamento del test HIV-1 Qual XC in sangue intero con il 4° standard internazionale dell'OMS per l'HIV-1

Gruppo/ sottotipo	Concentrazione nominale di HIV-1 (copie/ml)	Numero di replicati validi	Numero di replicati positivi	Tasso di positività (%)	LoD con probabilità del 95% stimato mediante Probit (intervallo di confidenza del 95%)
Gruppo M/ sottotipo B (pannello 1)	300	24	24	100,0	135,7 copie/ml (110,2-161,1)
	200	24	23	95,8	
	135	24	23	95,8	
	90	24	19	79,2	
	60	24	18	75,0	
	40	24	10	41,7	
	25	24	6	25,0	
	15	24	6	25,0	
Gruppo M/ sottotipo B (pannello 2)	300	24	24	100,0	161,6 copie/ml (135,0-188,2)
	200	24	22	91,7	
	135	24	22	91,7	
	90	24	17	70,8	
	60	24	14	58,3	
	40	24	6	25,0	
	25	24	2	8,3	
	15	24	2	8,3	

Tabella 4. Limite di rilevamento del test HIV-1 Qual XC in campioni di sangue secco con il 4° standard internazionale dell'OMS per l'HIV-1

Gruppo/ sottotipo	Concentrazione nominale di HIV-1 (copie/ml)	Numero di replicati validi	Numero di replicati positivi	Tasso di positività (%)	LoD con probabilità del 95% stimato mediante Probit (intervallo di confidenza del 95%)
Gruppo M/ sottotipo B (pannello 1)	1.000	24	24	100,0	450,4 copie/ml (354,2-546,6)
	650	24	24	100,0	
	400	24	21	87,5	
	250	24	15	62,5	
	150	24	10	41,7	
	100	24	14	58,3	
	60	24	6	25,0	
	40	24	4	16,7	
Gruppo M/ sottotipo B (pannello 2)	1.000	24	23	95,8	706,4 copie/ml (571,8-841,1)
	650	24	23	95,8	
	400	24	16	66,7	
	250	24	12	50,0	
	150	24	11	45,8	
	100	24	6	25,0	
	60	24	4	16,7	
	40	24	1	4,2	

Il limite di rilevamento in sangue intero per HIV-1 gruppo M sottotipi A, C, D, F, G, H, J, K, CRF-A/B, CRF-A/E, CRF-A/G, CRF-B/C, gruppo N, gruppo O e gruppo P è stato determinato analizzando diluizioni seriali di stock di coltura cellulare o campioni clinici di analisi, a rappresentare ciascun gruppo e sottotipo di HIV-1 in sangue intero K2 EDTA negativo all'HIV-1. In totale sono stati analizzati da 5 a 9 livelli di concentrazione di ciascun gruppo e sottotipo di HIV-1, utilizzando un lotto di kit, nell'arco di tre giorni, per un totale di 24 replicati per livello di concentrazione.

L'assegnazione della concentrazione nominale degli stock di coltura cellulare e dei campioni clinici di analisi è stata determinata con test della carica virale di HIV-1 dotati di marchio CE.

La concentrazione di RNA dell'HIV-1 rilevabile con un tasso di positività del 95% è stata determinata mediante regressione Probit. I risultati per HIV-1 gruppo M sottotipi A, C, D, F, G, H, J, K, CRF-A/B, CRF-A/E, CRF-A/G, CRF-B/C, gruppo N, gruppo O e gruppo P sono mostrati nella Tabella 5.

Tabella 5. Limite di rilevamento del test HIV-1 Qual XC in sangue intero utilizzando stock di coltura cellulare e campioni clinici di analisi

Gruppo	Sottotipo	LoD secondo Probit (copie/ml)	Intervallo di confidenza al 95% (copie/ml)
Gruppo M	A	98,1	84,4-111,7
	C	70,1	55,4-84,9
	D	69,1	54,4-83,9
	F	96,8	74,2-119,4
	G	90,7	72,5-108,8
	H	150,9	114,6-187,3
	J	124,6	91,7-157,6
	K	151,7	114,3-189,1
	CRF A/B	147,8	115,1-180,6
	CRF A/E	128,2	94,8-161,6
	CRF A/G	108,4	81,1-135,7
	CRF B/C	141,8	133,1-170,5
Gruppo N	N/A	121,2	93,3-149,1
Gruppo O	N/A	191,5	150,2-232,9
Gruppo P	N/A	101,7	80,6-122,7

21.2 Verifica del limite di rilevamento

Il limite di rilevamento per entrambi i tipi di campione (sangue intero e sangue secco) è stato verificato per HIV-1 gruppo M sottotipi A, B, C, D, F, G, H, J, K, forme ricombinanti circolanti CRF-A/B, CRF-A/E, CRF-A/G, CRF-B/C, HIV-1 gruppo N, HIV-1 gruppo O e HIV-1 gruppo P, analizzando diluizioni di un massimo di 13 stock di coltura cellulare o campioni clinici di analisi, a rappresentare ciascun gruppo e sottotipo di HIV-1 in sangue intero con K2 EDTA negativo all'HIV-1. Ciascuno stock di coltura cellulare o campione clinico di analisi è stato analizzato con almeno 10 replicati utilizzando un solo lotto di kit del test HIV-1 Qual XC.

L'assegnazione della concentrazione nominale degli stock di coltura cellulare e dei campioni clinici di analisi è stata determinata con test della carica virale di HIV-1 dotati di marchio CE.

Il limite di rilevamento del test HIV-1 Qual XC è stato verificato a una concentrazione di 200 copie/ml o meno per i campioni di sangue intero e 900 copie/ml o meno per i campioni DBS, in funzione del gruppo e sottotipo di HIV-1. I risultati sono riportati nella Tabella 6 e nella Tabella 7.

Il limite di rilevamento di HIV-1 Qual XC è stato stabilito in 200 copie/ml per il sangue intero e 900 copie/ml per i campioni DBS.

Tabella 6. Verifica del LoD in sangue intero

Sottotipo/ gruppo di HIV-1	N. di stock di coltura cellulare/ campioni clinici di analisi	N. di replicati validi	N. di replicati reattivi	Conc. (cp/ml)	% reattivi	Criteri di accettabilità basati su CLSI EP17-A2
B	13	140	132	200	94,3	92
C	13	130	121	200	93,1	92
A	4	40	37	200	90,0	88
D	4	40	38	160	95,0	88
F	4	40	36	200	90,0	88
G	4	40	37	160	92,5	88
H	4	40	39	155	97,5	88
J ^a	3	40	39	200	97,5	88
K	4	40	36	152	90,0	88
AB ^a	0	NA	NA	148	NA	85 ^b
AE	4	40	37	200	92,5	88
AG	4	40	38	173	95,0	88
BC	4	40	37	142	92,5	88
N ^a	1	10	10	200	100,0	85 ^b
O	4	40	40	192	100,0	88
P ^a	1	10	10	102	100,0	85 ^b

^a Il LoD è stato verificato usando meno di 5 campioni di analisi. Per l'A/B ricombinante non erano disponibili campioni di analisi aggiuntivi per la verifica.

^b In caso di 20 o meno misurazioni, è stato usato un criterio con tasso di riscontri dell'85%.

Tabella 7. Verifica del LoD in campioni di sangue secco

Sottotipo/ gruppo di HIV-1	N. di stock di coltura cellulare/ campioni clinici di analisi	N. di replicati validi	N. di replicati reattivi	Conc. (cp/ml)	% reattivi	Criteri di accettabilità basati su CLSI EP17-A2
B	13	140	139	900	99,3	92
C	14	140	131	900	93,6	92
A	5	50	45	900	90,0	88
D	5	50	46	900	92,0	88
F	5	50	45	900	90,0	88
G	5	50	46	699	92,0	88
H	5	50	49	678	98,0	88
J ^a	3	40	39	900	97,5	88
K	5	50	48	900	96,0	88
AB ^a	1	10	9	646	90,0	85 ^b
AE	5	50	45	560	90,0	88
AG	5	50	45	758	90,0	88
BC	5	50	45	621	90,0	88
N ^a	2	20	17	900	85,0	85 ^b
O	5	50	49	837	98,0	88
P ^a	1	20	19	445	95,0	85 ^b

^a Il LoD è stato verificato usando meno di 5 campioni di analisi.

^b In caso di 20 o meno misurazioni, è stato usato un criterio con tasso di riscontri dell'85%.

21.3 Reattività analitica (inclusività)

Oltre alla verifica del limite di rilevamento, è stata dimostrata la capacità del test HIV-1 Qual XC di identificare gruppi e sottotipi di HIV-1 analizzando ulteriori stock di coltura cellulare e campioni clinici di analisi univoci, a rappresentare HIV-1 gruppo M, sottotipi A, D, F, G, H, K, forme circolanti ricombinanti CRF-A/E, CRF-A/G, CRF-B/C, CRF-06 e HIV-1 gruppo O.

Ciascuno stock di coltura cellulare e campione clinico di analisi veniva diluito a una concentrazione di 600 copie/ml (3xLoD) in sangue intero con K2 EDTA e un replicato veniva testato con un lotto di kit del test HIV-1 Qual XC. I risultati sono riportati nella Tabella 8.

Tabella 8. Reattività analitica (inclusività)

Sottotipo/gruppo	Numero di stock di coltura cellulare/campioni clinici di analisi	Numero di replicati validi	Numero di replicati reattivi
A	5	5	5
D	5	5	5
F	5	5	5
G	5	5	5
H	5	5	5
K	3	3	3
CRF-A/E	5	5	5
CRF-A/G	5	5	5
CRF-B/C	1	1	1
CRF-06	1	1	1
O	5	5	5

21.4 Intervallo di misurazione

L'intervallo di misurazione del test HIV-1 Qual XC è stato determinato analizzando un pannello di cinque componenti ciascuno per i due tipi di campione (sangue intero e sangue secco) compresi, rispettivamente, tra 600 e 1×10^7 copie/ml e tra 2.700 e 1×10^7 copie/ml.

I due pannelli di cinque componenti (sangue intero e sangue secco) sono stati preparati tramite diluizioni parallele di materiale di riferimento per HIV-1 (HIV-1 sottotipo B) in sangue intero con K2 EDTA negativo all'HIV-1. Il materiale di riferimento utilizzato è stato calibrato rispetto al 4° standard internazionale dell'OMS per l'HIV-1 (codice NIBSC: 16/194). Ognuno dei due pannelli di cinque componenti (sangue intero e sangue secco) è stato analizzato utilizzando un lotto di kit del test HIV-1 Qual XC con 6 replicati per componente del pannello.

I risultati del pannello di sangue intero e del pannello di sangue secco sono presentati nella Figura 15 e nella Figura 16. Il test HIV-1 Qual XC è lineare in un intervallo compreso tra 600 copie/ml e 1×10^7 copie/ml con R^2 di 0,998 per il sangue intero e compreso tra 2.700 copie/ml e 1×10^7 copie/ml con R^2 di 0,967 per il sangue secco.

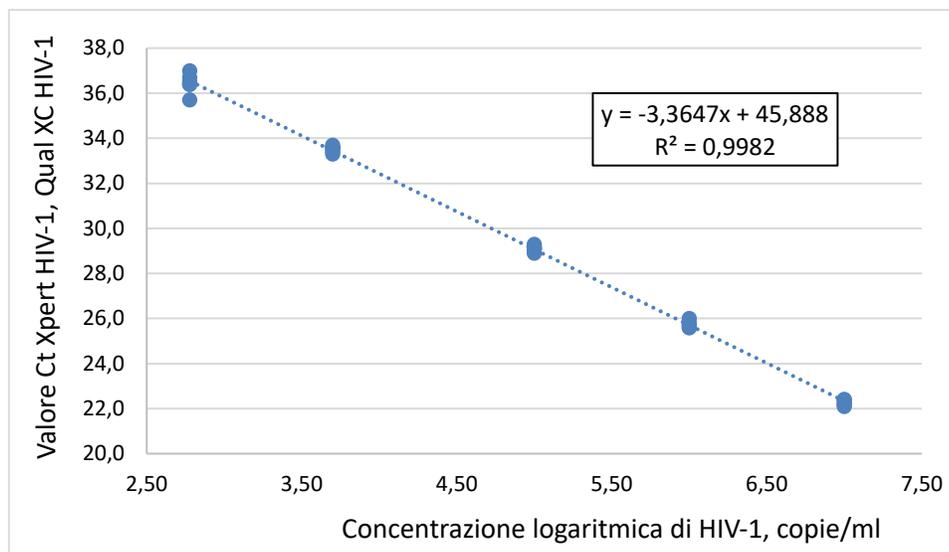


Figura 15. Linearità nel sangue intero per il test HIV-1 Qual XC

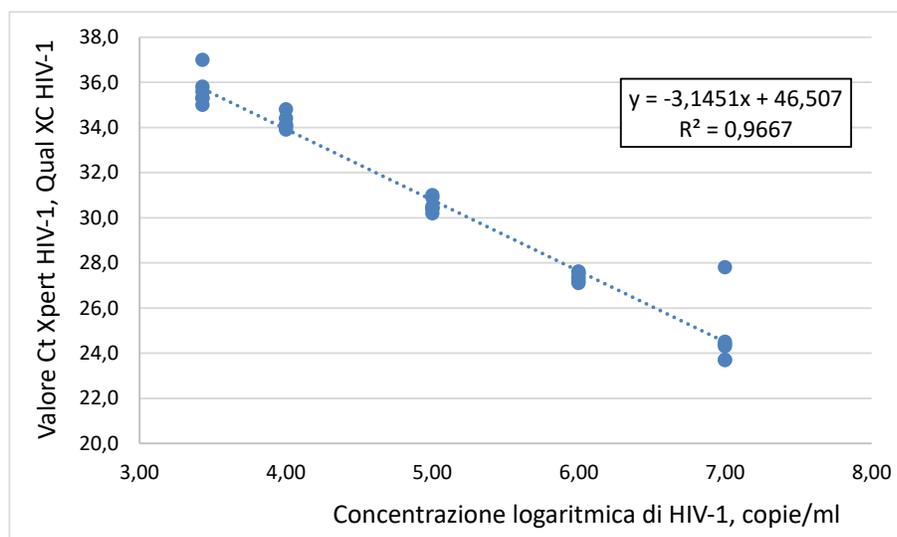


Figura 16. Linearità nel sangue secco per il test HIV-1 Qual XC

21.5 Specificità analitica (esclusività)

La specificità analitica del test HIV-1 Qual XC è stata valutata aggiungendo organismi potenzialmente cross-reattivi o interferenti a una concentrazione di 1×10^5 CFU/ml per i microrganismi o $\geq 1 \times 10^5$ copie/ml o TCID₅₀/ml per i virus, a sangue intero con K2 EDTA negativo all'HIV-1 e a sangue intero con K2 EDTA contenente materiale di riferimento HIV-1 a una concentrazione di 600 copie/ml (3xLoD). Il materiale di riferimento HIV-1 utilizzato è stato calibrato rispetto al 4° standard internazionale dell'OMS per l'HIV-1 (codice NIBSC: 16/194). Gli organismi analizzati sono mostrati nella Tabella 9. Nessuno degli organismi analizzati ha mostrato reattività crociata o ha interferito con il rilevamento dell'HIV-1.

Tabella 9. Organismi di specificità analitica

Virus	Batteri	Funghi/lieviti	Parassiti
Virus Chikungunya	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Candida albicans</i>	Leishmania major
Cytomegalovirus	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Candida glabrata</i>	Plasmodium falciparum
Virus di Epstein-Barr	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida tropicalis</i>	Trypanosoma brucei
Virus dell'epatite A	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Pneumocystis jirovecii</i>	Trypanosoma cruzi
Virus dell'epatite B	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>		
Virus dell'epatite C			
Virus dell'herpes simplex 1			
Virus dell'herpes simplex 2			
Virus dell'herpes umano 6			
Virus dell'immunodeficienza umana 2			
Papillomavirus umano			
Virus linfotropico umano a cellule T di tipo 1			
Virus linfotropico umano a cellule T di tipo 2			
Virus dell'influenza A			

21.6 Sostanze potenzialmente interferenti

È stata valutata la suscettibilità del test HIV-1 Qual XC alle interferenze da parte di livelli elevati di sostanze endogene, di farmaci prescritti ai pazienti affetti da HIV-1 o a coloro che potrebbero avere co-infezioni o altre malattie concomitanti, e marcatori di malattie autoimmuni. Gli effetti inibitori sono stati valutati in presenza e in assenza di materiale di riferimento per HIV-1, a una concentrazione di circa 3xLoD. Il materiale di riferimento HIV-1 utilizzato è stato calibrato rispetto al 4° standard internazionale dell'OMS per l'HIV-1 (codice NIBSC: 16/194).

È stato dimostrato che la presenza di livelli elevati delle sostanze endogene elencate nella Tabella 10 non interferisce con il rilevamento dell'HIV-1 né influisce sulla specificità del test HIV-1 Qual XC, eseguendo l'analisi in presenza e in assenza di HIV-1.

Tabella 10. Sostanze endogene e concentrazione analizzata

Sostanza	Concentrazione analizzata
Albumina	9,6 g/dl
Bilirubina	62 mg/dl
Emoglobina	20 g/l
DNA umano	0,4 mg/dl
Trigliceridi	3.200 mg/dl

Sostanza	Concentrazione analizzata
Leucociti (WBC)	1,70E+09 cellule/dl

È stato evidenziato che i componenti dei farmaci elencati nella Tabella 11 non interferiscono con il rilevamento dell'HIV-1 né influiscono sulla specificità del test HIV-1 Qual XC, eseguendo l'analisi a tre volte la concentrazione di picco (C_{max}) in presenza o in assenza di HIV-1.

Tabella 11. Pool di farmaci analizzati

Pool	Farmaci
1	Atazanavir, abacavir solfato, bictegravir, cidofovir
2	Darunavir, dolutegravir, doravirina, efavirenz
3	Emtricitabina, lamivudina (3TC), lopinavir, maraviroc
4	Nevirapina, raltegravir, tenofovir disoproxil fumarato, zidovudina
5	Daclatasvir, dasabuvir (ABT-333), grazoprevir, pibrentasvir, sofosbuvir
6	Ombitasvir, paritaprevir, ribavirina, simeprevir, velpatasvir
7	Interferone alfa-2b, peginterferone 2a, adefovir dipivoxil, entecavir, telbivudina
8	Aciclovir, foscarnet, ganciclovir, valganciclovir HCl
9	Azitromicina, ciprofloxacina, claritromicina
10	Acetaminofene, acido acetilsalicilico, atorvastatina, loratadina
11	Nadololo, acido ascorbico, fenilefrina, ibuprofene
12	Artemetero, desetilamodiachina, meflochina, chinino
13	Primachina, cloroquina, doxiciclina
14	Rifampicina, INH, etambutolo, pirazinamide
15	Moxifloxacina, levofloxacina, ampicacina, bedaquilina ^a
16	Trimetoprim/sulfametossazolo, gentamicina, metronidazolo, ceftriaxone

^a Analizzati separatamente

L'analisi di campioni di sangue intero provenienti da soggetti positivi a ciascuno dei marcatori di malattie autoimmuni, lupus eritematoso sistemico (LES), anticorpi anti-nucleo (ANA) o fattore reumatoide (RF), ha dimostrato che non interferiscono con il rilevamento dell'HIV-1 né influiscono sulla specificità del test HIV-1 Qual XC, eseguendo l'analisi in presenza e in assenza di HIV-1.

21.7 Sensibilità alla sieroconversione

La sensibilità del test HIV-1 Qual XC è stata valutata analizzando campioni di analisi sequenziali di plasma provenienti da dodici pannelli di sieroconversione. Il test HIV-1 Qual XC ha rilevato RNA di HIV-1 in 44 su 61 campioni di analisi rispetto agli 11 su 61 rilevati da almeno un test degli anticorpi anti-HIV-1 (Abbott HIV 1/2 EIA, Abbott PRISM HIV-1/2, Abbott Murex HIV 1.2.O HIV, Bio-Rad GS HIV-1/HIV-2 Plus O EIA, Siemens HIV 1/O/2 Enhanced ADVIA Centaur). Un risultato positivo all'HIV-1 è stato ottenuto più rapidamente con il test HIV-1 Qual XC su tutti e dodici i pannelli rispetto al test di screening degli anticorpi anti-HIV-1. La sensibilità alla sieroconversione è mostrata nella Tabella 12.

Tabella 12. Sensibilità alla sieroconversione

Pannello n.	Numero di componenti del pannello	Durata in giorni	Numero di componenti del pannello reattivi			Giorni al primo risultato reattivo			Giorni tra il primo risultato reattivo con HIV-1 Qual XC e qualsiasi test AB
			HIV-1 Qual XC	Analisi degli anticorpi ^a	Test antigenico p24 ^b	HIV-1 Qual XC	Test anticorpale ^c	Test antigenico p24 ^b	
PRB945	6	20	4	3	4	7	13	7	6
PRB950	4	28	3	1	3	18	28	18	10
PRB955	5	14	5	2	4	0 ^c	12	3	12
PRB956	5	50	4	1	2	40	50	47	10
PRB962	6	17	4	0	2	7	17 ^d	14	>10
PRB963	7	21	3	0	2	14	21 ^d	17	>7
PRB973	4	11	4	1	2	0 ^c	11	7	11
PRB974	4	16	3	1	2	7	16	9	9
PRB975	5	14	3	0	1	7	14 ^d	14	>7
PRB976	4	9	4	0	2	0 ^c	9 ^d	7	>9
PRB977	4	15	4	2	2	0 ^c	13	13	13
PRB978	7	33	3	0	1	26	33 ^d	33	>7

^a Analisi degli anticorpi basata sui dati del fornitore Abbott HIV 1/2 EIA, Abbott PRISM HIV-1/2, Abbott Murex HIV 1.2.O HIV, Bio-Rad GS HIV-1/HIV-2 Plus O EIA, Siemens HIV 1/O/2 Enhanced ADVIA Centaur

^b Test antigenico p24 in base ai dati del fornitore: Coulter HIV-1 p24 Antigen, Perkin Elmer Alliance HIV-1 p24 ELISA

^c Tutti i campioni di sangue prelevati sono stati rilevati con il test HIV-1 Qual XC.

^d Tutti i campioni di sangue prelevati erano non reattivi per gli anticorpi anti-HIV (in base alle informazioni del fornitore). L'ultimo giorno di prelievo viene utilizzato per determinare i "giorni al primo risultato reattivo".

21.8 Tasso di errore globale del sistema

Il tasso di errore globale del sistema per il test HIV-1 Qual XC è stato determinato testando 10 campioni di analisi univoci HIV-1 sottotipo B diluiti in sangue intero con K2 EDTA per raggiungere una concentrazione di 600 copie/ml (3xLoD) e testati in replicati di 10 da un operatore con un lotto del kit del test HIV-1 Qual XC.

I risultati di questo studio hanno evidenziato che tutti e 100 i replicati erano validi e segnalati come positivi all'HIV-1, il che equivale a un tasso di errore globale del sistema dello 0%.

21.9 Contaminazione da carry-over

È stato testato un campione di analisi positivo all'HIV-1 a titolo elevato (1×10^7 copie/ml) e immediatamente dopo è stato eseguito il test di un campione negativo all'HIV-1 nello stesso modulo dello strumento GeneXpert. La procedura è stata ripetuta venti (20) volte in due moduli diversi per entrambi i tipi di campione (sangue intero e sangue secco). Il tasso di carry-over per il test HIV-1 Qual XC è stato dello 0%.

22 Precisione e riproducibilità

La riproducibilità e la precisione del test Xpert HIV-1 Qual XC sono state determinate per i campioni di analisi DBS e di sangue intero, utilizzando 15 componenti di pannello. Il test è stato eseguito presso 3 centri. I componenti del pannello positivo sono stati preparati utilizzando materiale HIV-1 inoculato in sangue intero con K2 EDTA negativo all'HIV-1 fino

a raggiungere concentrazioni di ~1xLoD, ~3xLoD e ~5-7xLoD. I componenti del pannello negativo sono stati preparati da sangue intero con K2 EDTA negativo all'HIV-1. Ciascun componente dei pannelli è stato analizzato in replicati di 2, due volte al giorno, da due operatori, nell'arco di 6 giorni. Sono stati utilizzati sei diversi lotti di kit.

I dati sono stati analizzati calcolando la percentuale di concordanza qualitativa per ciascun componente del pannello. I risultati dei componenti del pannello con campioni DBS sono mostrati nella Tabella 13 mentre i risultati dei componenti del pannello con campioni di sangue intero sono mostrati nella Tabella 14. In base alle analisi di poolability, non vi sono state differenze significative nei risultati tra i centri di studio o i lotti dei kit. La concordanza percentuale e l'assenza di differenze statisticamente significative dimostrano l'accettabilità delle prestazioni di riproducibilità e precisione.

Tabella 13. Concordanza percentuale dei risultati qualitativi per il rilevamento dell'HIV-1 – Componenti del pannello DBS

Componente del pannello	Centro 1			Centro 2			Centro 3			Concordanza totale per componente del pannello (n/N) e IC al 95%
	Op1	Op2	Centro	Op1	Op2	Centro	Op1	Op2	Centro	
DBS positivo moderato ~5-7xLoD 1	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (144/144) 97,4-100,0
DBS positivo moderato ~5-7xLoD 2	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (144/144) 97,4-100,0
DBS positivo basso ~3xLoD 1	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (144/144) 97,4-100,0
DBS positivo basso ~3xLoD 2	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (144/144) 97,4-100,0
Negativo DBS 1	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (144/144) 97,4-100,0
DBS positivo basso ~1xLoD 1	100,0% (24/24)	95,8% (23/24)	97,9% (47/48)	83,3% (20/24)	91,7% (22/24)	87,5% (42/48)	95,8% (23/24)	91,7% (22/24)	93,8% (45/48)	93,1% (134/144) 87,7-96,2
Negativo DBS 2	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	95,8% (23/24)	100,0% (24/24)	97,9% (47/48)	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	99,3% (143/144) 96,2-99,9

Tabella 14. Concordanza percentuale dei risultati qualitativi per il rilevamento dell'HIV-1 – Componenti del pannello di sangue intero

Componente del pannello	Centro 1			Centro 2			Centro 3			Concordanza totale per componente del pannello (n/N) e IC al 95%
	Op1	Op2	Centro	Op1	Op2	Centro	Op1	Op2	Centro	
WB positivo moderato ~5-7xLoD 1	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (144/144) 97,4-100,0
WB positivo moderato ~5-7xLoD 2	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (24/24)	100,0% (23/23)	100,0% (47/47)	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (143/143) 97,4-100,0
WB positivo basso ~3xLoD 1	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (144/144) 97,4-100,0
Negativo WB 1	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (144/144) 97,4-100,0
WB positivo basso ~3xLoD	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (24/24)	96,0% (23/24)	98,0% (47/48)	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	99,3% (143/144) 96,2 – 99,9
Negativo WB 2	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (144/144) 97,4-100,0
WB positivo basso ~1xLoD 3	100,0% (24/24)	95,8% (23/24)	97,9% (47/48)	91,7% (22/24)	83,3% (20/24)	87,5% (42/48)	100,0% (24/24)	95,8% (23/24)	97,9% (47/48)	94,4% (136/144) 89,4-97,2
Negativo WB 3	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (24/24)	100,0% (24/24)	100,0% (48/48)	100,0% (144/144) 97,4-100,0

23 Riferimenti bibliografici

1. Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 1983;220:868–871.
2. Popovic M, Sarngadharan MG, Read E, et al. Detection, isolation and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-I) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science* 1984;224:497–500.
3. Gallo RC, Salahuddin SZ, Popovic M, et al. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-1) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science* 1984;224:500–503.
4. Curran JW, Jaffe HW, Hardy AM, et al. Epidemiology of HIV infection and AIDS in the United States. *Science* 1988;239:610–616.
5. Schochetman G, George JR, editors. *AIDS testing: a comprehensive guide to technical, medical, social, legal, and management issues*. 2nd ed. New York: NY Springer-Verlag; 1994.
6. Nduati R, John G, Mbori-Ngacha D, et al. Effect of breastfeeding and formula feeding on transmission of HIV-1: randomized clinical trial. *Journal of the American Medical Association* 2000;283:1167–1174.
7. UNAIDS data 2020 (https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/2020_aids-data-book_en.pdf)
8. Luzuriaga K, Mofenson LM. Challenges in the elimination of pediatric HIV-1 infection. *New England Journal of Medicine*. 2016 Feb 25;374(8):761-70.
9. Read JS. Committee on Pediatric AIDS, American Academy of Pediatrics. Diagnosis of HIV-1 infection in children younger than 18 months in the United States. *Pediatrics* 2007;120:e1547–1562.
10. Aids.gov. Aids Signs and Symptoms. Consultazione in maggio 2015. <https://www.aids.gov/hiv-aids-basics/hiv-aids-101/signs-and-symptoms/>.

11. O'Brien M, et al. Should we treat acute HIV infection? *Curr HIV/AIDS Rep.* 2012 Jun;9(2):101-10.
12. Daar ES, Moudgil T, Meyer RD, Ho DD. Transient high levels of viremia in patients with primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *New England Journal of Medicine* 1991;324:961-964.
13. Clark SJ, Saag MS, Decker WD. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. *New England Journal of Medicine* 1991;324:954-960.
14. WHO International Standard; 4th HIV-1 International Standard (NIBSC code: 16/194). National Institute for Biological Standards and Control; 2017.
15. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (fare riferimento all'ultima edizione).
17. Organizzazione Mondiale della Sanità. Safe management of wastes from health-care activities. 2nd Edition. WHO, 2014. Consultazione il 20 aprile 2018 nel sito http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/wastemanag/en/
18. 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).
19. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

24 Ubicazione delle sedi Cepheid

Sede centrale globale

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Sede centrale europea

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

25 Assistenza Tecnica

Prima di contattarci

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, codice riportato sull'etichetta di servizio (Service Tag) del computer

Francia

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

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

26 Tabella dei simboli

Simbolo	Significato
	Numero di catalogo
	<i>Dispositivo medico diagnostico in vitro</i>
	Marchio CE - Conformità europea
	Non riutilizzare

Simbolo	Significato
	Codice lotto
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Produttore
	Paese di produzione
	Contenuto sufficiente per n test
	Controllo
	Data di scadenza
	Limiti di temperatura
	Rischi biologici
	Avviso
	Attenzione
	Pericolo per la salute
	Rappresentante autorizzato in Svizzera
	Importatore



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 Cronologia delle revisioni

Descrizione delle modifiche: 302-3767, da Rev. E a Rev. F

Sezione	Descrizione della modifica
In tutto il documento	Xpert HIV-1 Qual XC
12.1	Correzione errore nella sezione "Preparazione della cartuccia".
25	Correzione errore nella sezione "Assistenza Tecnica".