

# Xpert<sup>®</sup> HIV-1 Qual

**REF** GXHIV-QA-CE-10

Istruzioni per l'uso

**CE** 2797 **IVD**

**Dichiarazioni relative a marchi di fabbrica, brevetti e copyright**

Cepheid<sup>®</sup>, the Cepheid logo, GeneXpert<sup>®</sup>, and Xpert<sup>®</sup> are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries.

All other trademarks are the property of their respective owners.

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

**© 2015–2023 Cepheid.**

Cepheid<sup>®</sup>, il logo Cepheid, GeneXpert<sup>®</sup> e Xpert<sup>®</sup> 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.

**© 2015–2023 Cepheid.**

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

# Xpert<sup>®</sup> HIV-1 Qual

---

Per uso diagnostico *in vitro*

## 1 Nome registrato

Xpert<sup>®</sup> HIV-1 Qual

## 2 Nome comune o usuale

HIV-1 Qual

## 3 Destinazione d'uso

Il saggio HIV-1 Qual, eseguito sui GeneXpert Instrument Systems, è un test diagnostico qualitativo *in vitro* ideato per rilevare gli acidi nucleici totali del virus dell'immunodeficienza umana di tipo 1 (HIV-1) con i sistemi automatizzati GeneXpert<sup>®</sup> in campioni di sangue umano intero (WB) e di sangue secco (DBS) prelevati da individui di cui si sospetta l'infezione da HIV-1. Il saggio è convalidato per i campioni di analisi nell'ambito del gruppo M (sottotipi A, B, C, D, F, G, H, J, K, CRF01\_AE, CRF02\_AG e CRF03\_AB), del gruppo N e del gruppo O.

Il saggio HIV-1 Qual è stato concepito per facilitare la diagnosi di infezione da HIV-1 congiuntamente alla presentazione clinica e ad altri marker di laboratorio. Il saggio è previsto per l'uso da parte dei professionisti di laboratorio o operatori sanitari con formazione specifica. Il saggio non è destinato a essere utilizzato come test di screening dell'HIV-1 per i donatori di sangue.

## 4 Riepilogo e spiegazione

Il virus dell'immunodeficienza umana (HIV) è l'agente eziologico della sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS).<sup>1,2,3</sup> La trasmissione può avvenire per contatto sessuale, esposizione a sangue o emoderivati infetti, infezione prenatale del feto o infezione perinatale o postnatale del neonato.<sup>4,5,6</sup> Gli individui infetti sviluppano generalmente un'infezione acuta caratterizzata da sintomi simil-influenzali in un periodo compreso fra qualche giorno e qualche settimana dopo l'esposizione iniziale.<sup>7</sup> Le infezioni acute da HIV durano di norma meno di 14 giorni<sup>8</sup> e sono associate a elevati livelli di viremia prima di una risposta immunitaria rilevabile.<sup>9,10</sup> Di conseguenza, il test degli acidi nucleici per l'HIV-1 può essere più sensibile dei test sierologici standard usati per il rilevamento dell'infezione acuta.<sup>7</sup>

Alla fine del 2013, c'erano 35 milioni (33,2-37,2 milioni) di persone affette da HIV.<sup>11</sup> Tra le persone infettate, 2,1 milioni rappresentano nuove infezioni e si stima che circa 240.000 siano bambini.<sup>11</sup> Un terzo di tutte le persone che convivono con l'HIV risiedono in nove Paesi dell'Africa meridionale, che rappresenta solo il 2% della popolazione mondiale.<sup>12</sup> In assenza di test HIV tempestivi e non potendo iniziare una terapia per tempo, un terzo dei neonati affetti da HIV morirà prima di compiere il primo anno di vita ed oltre il 50% morirà prima di raggiungere i due anni.<sup>11</sup> Al contrario, il rischio di mortalità nei bambini affetti da HIV negli Stati Uniti e in Europa è solo del 10-20%.<sup>13</sup> La diagnosi precoce di infezione da HIV nei neonati è una necessità; tuttavia, molti pazienti risultano persi al follow-up durante l'attesa di un test precoce, in genere la PCR DNA, sensibile nei primi 18 mesi di vita (il cui accesso è molto limitato) o un test rapido, che risulta accurato solo nella fascia d'età da 15 a 18 mesi.<sup>14,15</sup> Di conseguenza, per il rilevamento dell'infezione in pazienti pediatriche di età pari o inferiore a 18 mesi è stato consigliato il test degli acidi nucleici dell'HIV-1.<sup>16,17,18,19</sup>

Il saggio HIV-1 Qual 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 WB 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, un personal computer e un 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* o *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Il saggio HIV-1 Qual 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. 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.

## 6 Materiali in dotazione

Il kit del saggio HIV-1 Qual contiene reagenti sufficienti per il trattamento di 10 campioni di analisi o campioni di controllo qualità. Il contenuto del kit è il seguente:

<b>Cartucce del saggio HIV-1 Qual con provette di reazione integrate</b>	<b>10</b>
• Microsfera 1, microsfera 2 e microsfera 3 (liofilizzate)	1 di ciascuna per cartuccia
• Reagente di lisi (guanidinio tiocianato)	1,4 ml per cartuccia
• Reagente di risciacquo	0,5 ml per cartuccia
• Reagente di eluizione	2,5 ml per cartuccia
• Reagente legante	2,4 ml per cartuccia
• Reagente proteinasi K	0,48 ml per cartuccia
<b>Set del reagente per il campione del saggio HIV-1 Qual (reagente del campione)</b>	<b>10</b>
• Reagente di lisi (guanidinio tiocianato)	1,0 ml per flaconcino
<b>Pipette di trasferimento da 1 ml monouso</b>	<b>1 busta da 10 per kit</b>
<b>Micropipette di trasferimento monouso da 100 µl</b>	<b>1 busta da 10 per kit</b>
<b>CD</b>	<b>1 per kit</b>
• File di definizione del saggio (ADF)	
• Istruzioni per l'importazione degli ADF nel software GeneXpert	
• Istruzioni per l'uso (foglietto illustrativo)	

**Nota** [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) o [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com) SUPPORTO(SUPPORT).

**Nota** Lo stabilizzatore proteico presente nelle microsferi di questo prodotto è stato ricavato 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

- Le cartucce e i reagenti del saggio HIV-1 Qual vanno conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 28 °C.
- Non utilizzare i reagenti se appaiono torbidi o scoloriti.
- Non utilizzare cartucce che presentano perdite.

## 8 Materiali necessari ma non forniti

- Sistemi GeneXpert Dx o GeneXpert Infinity (il numero di catalogo varia in base alla configurazione): strumento GeneXpert, computer con software proprietario GeneXpert Dx versione 4.7b o successiva (sistemi GeneXpert Dx) o Xpertise versione 6.4b o successiva (Infinity-80/Infinity-48s), lettore di codici a barre e manuale dell'operatore.
- Stampante: se fosse necessario l'uso di una stampante, contattare il Supporto Tecnico di Cepheid per predisporre l'acquisto di una stampante consigliata.
- Se si usano campioni di sangue secco:
  - Kit per la raccolta di campioni DBS (cartoncini in carta da filtro, ad es. Whatman 903, Munktell o equivalente, lancette, essiccanti, buste di plastica sigillabili e tamponi)
  - Forbici sterili (consigliate per ritagliare il DBS dalla carta da filtro qualora non si usi un cartoncino DBS perforato)
  - Pinze
  - Salvietta/panno
  - Candeggina
  - Eppendorf ThermoMixer® C (codice ordinazione 5382 000.015) (solo per applicazione con DBS)
  - Eppendorf SmartBlock™ (codice ordinazione 5309 000.007) (solo per applicazione con DBS)

## 9 Avvertenze e precauzioni

- Tutti i campioni biologici di analisi, comprese le cartucce usate, devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi. Poiché, nella maggior parte dei casi, è impossibile distinguere i potenziali veicoli di infezione, tutti i campioni biologici di analisi devono essere trattati nel rispetto delle 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)<sup>20</sup> e l'Istituto per gli standard clinici e di laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute).<sup>21</sup>
- 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.
- Durante il trattamento di sostanze chimiche e la manipolazione di campioni biologici, rispettare le procedure di sicurezza previste dalla struttura sanitaria di riferimento.
- 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. Cambiarsi i guanti tra un campione e l'altro.
- 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.
- Non sostituire i reagenti del saggio HIV-1 Qual con altri reagenti.
- Non aprire il coperchio della cartuccia del saggio HIV-1 Qual se non per l'aggiunta del reagente per il campione e WB o del campione DBS trattato con il reagente per il campione.
- Non usare una cartuccia se appare umida o in caso di apparente rottura del sigillo del coperchio.
- 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 se la relativa provetta di reazione è danneggiata.
- Ciascuna cartuccia monouso del saggio HIV-1 Qual 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 nel rispetto delle precauzioni standard. Attenersi alle procedure di smaltimento dei rifiuti ambientali in uso presso la struttura di riferimento per il corretto smaltimento delle cartucce usate e dei reagenti non utilizzati. Questi materiali potrebbero essere considerati rifiuti chimici pericolosi per il cui smaltimento occorre attenersi a specifiche procedure nazionali o regionali. Se i regolamenti nazionali o regionali non forniscono istruzioni chiare sul corretto smaltimento, i campioni biologici di analisi e le cartucce usate devono essere smaltiti in base alle linee guida dell'OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità) sulla manipolazione e lo smaltimento dei rifiuti medici.

## 10 Pericoli chimici<sup>23,24</sup>

- Parola: Attenzione
- **Indicazioni di pericolo UN GHS**
  - Nocivo se ingerito
  - Provoca lieve irritazione cutanea
  - Provoca irritazione oculare
- **Frase di prudenza UN GHS**
  - Prevenzione
    - Lavare accuratamente dopo l'uso.
  - Risposta
    - In caso di irritazione della pelle: consultare un medico.
    - IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.
    - In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico.

## 11 Raccolta, trasporto e conservazione dei campioni di analisi

### 11.1 Prelievo di sangue intero

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

#### Trasporto e conservazione dei campioni di analisi

Il WB anticoagulato con K2 EDTA può essere conservato a 31-35 °C per un massimo di 8 ore o a 15-30 °C per un massimo di 24 ore o a 2-8 °C fino a 72 ore, prima della preparazione e del test del campione di analisi.

### 11.2 Raccolta dei campioni di sangue secco

Raccogliere i campioni di analisi DBS mediante procedure cliniche appropriate. I DBS devono essere preparati utilizzando cartoncini in carta da filtro Whatman 903 o Munktell o equivalenti, con sangue ottenuto da una puntura nel tallone o in un dito della mano o del piede o raccolto in una provetta con K2 EDTA. Per ottenere i DBS lasciar cadere una goccia di sangue all'interno di ciascun cerchietto da 12 mm disegnato sul cartoncino in carta da filtro. Accertarsi che la superficie del cerchietto sia completamente coperta di sangue (circa 60-70 µl). È opportuno riempire almeno due cerchietti con ciascun campione di analisi, per consentire la ripetizione del test.

Se il WB è stato raccolto in una provetta con K2 EDTA, miscelare il campione di analisi capovolgendo la provetta 8-10 volte prima di applicare le gocce sul filtro. Lasciar asciugare all'aria il cartoncino a temperatura ambiente per almeno quattro ore. Confezionare ciascun cartoncino in una busta singola risigillabile contenente un sacchetto essiccante. I campioni di analisi appena prelevati in provette con K2 EDTA possono essere conservati a 31-35 °C fino a un massimo di 8 ore, a 15-30 °C fino a un massimo di 24 ore oppure a 2-8 °C fino a un massimo di 72 ore, prima della preparazione dei DBS.

#### Trasporto e conservazione dei campioni di analisi

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 ad almeno -15 °C per un massimo di 12 settimane. Inoltre, possono essere conservati a 31-35 °C per un massimo di 8 settimane.

## 12 Procedura

Prima di iniziare, estrarre dal kit il flaconcino contenente il reagente per il campione e, se refrigerato, lasciare che si stabilizzi a temperatura ambiente. Vedere la Figura 1. Se il flaconcino non è stato conservato in posizione verticale, agitarlo con decisione per assicurarsi che il campione si sedimenti al fondo.

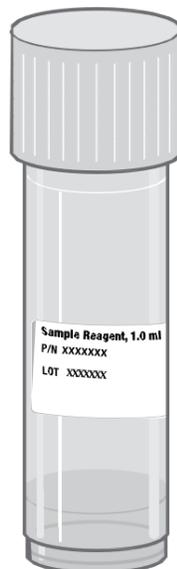


Figura 1. Reagente per il campione del saggio HIV-1 Qual

### 12.1 Preparazione della cartuccia

**Nota** Non rimuovere la sottile pellicola in plastica che copre l'anello interno dei 13 fori della cartuccia per il test.

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

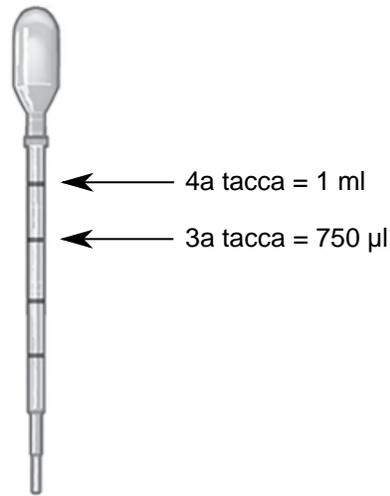
#### Sangue intero

1. Indossare guanti protettivi monouso.
2. Applicare al flaconcino del reagente per il campione un'etichetta con l'identificazione del campione di analisi.
3. Controllare che la cartuccia per il test non sia danneggiata. Se danneggiata, non utilizzarla.
4. Aprire il coperchio della cartuccia.
5. Usare la pipetta di trasferimento da 1 ml in dotazione (Figura 2) o una pipetta automatica per trasferire 750 µl di reagente per il campione nella camera della cartuccia riservata al campione (Figura 4).

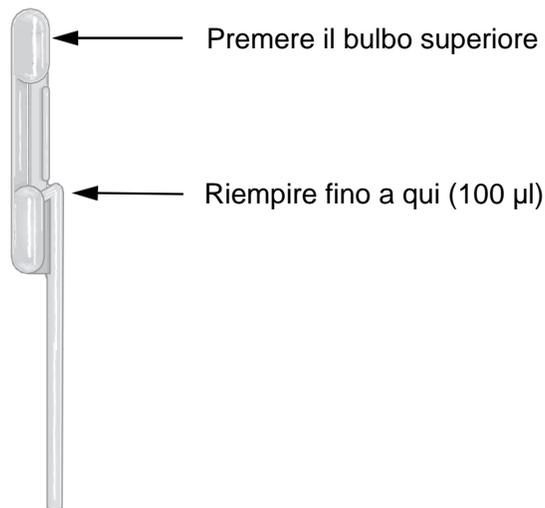
**Nota** Consentire al reagente per il campione di raggiungere la temperatura ambiente e miscelare il flacone capovolgendolo prima del trasferimento nella cartuccia. Trasferire esattamente 750 µl nella camera della cartuccia riservata al campione.

6. Miscelare il campione di WB capovolgendo il flaconcino (provetta microtainer EDTA o K2 EDTA con tappo lavanda) per almeno sette volte. Trasferire immediatamente 100 µl utilizzando la micropipetta fornita (vedere Figura 3) premendo e poi rilasciando il bulbo superiore per aspirare il sangue. Premere nuovamente per dispensare il sangue nella camera della cartuccia riservata al campione dove si miscelerà con il reagente per il campione già presente nella suddetta camera (Figura 4). In alternativa, utilizzare una pipetta automatica per dispensare il sangue nella camera della cartuccia riservata al campione (vedere Figura 4). **NON** versare il campione di analisi direttamente nella camera!

**Nota** Verificare che i 100 µl di sangue si aggiungano al reagente per il campione già presente nella camera riservata al campione.



**Figura 2. Pipetta di trasferimento da 1 ml del saggio HIV-1 Qual**



**Figura 3. Micropipetta di trasferimento da 100 µl del saggio HIV-1 Qual**



**Figura 4. Cartuccia del saggio HIV-1 Qual (vista dall'alto)**

**DBS (Dried Blood Spots - campioni di sangue secco)**

**Nota** Per evitare la contaminazione crociata, tra un campione e l'altro occorre pulire e passare con una salvietta le pinze e le forbici (se il cartoncino DBS non è perforato), utilizzando candeggina al 10% disciolta in acqua. Asciugare le pinze e le forbici dopo ciascuna decontaminazione.

1. Indossare guanti protettivi monouso.
2. Accendere ThermoMixer e attendere che raggiunga i 56 °C.
3. Applicare al flaconcino del reagente per il campione un'etichetta con l'identificazione del campione di analisi.
4. Utilizzando forbici sterili, ritagliare un intero DBS dal cartoncino in carta da filtro per ciascun campione di analisi. Ritagliare il DBS lungo le linee tracciate. Se i cerchietti sono perforati, utilizzare una pinzetta per staccare i DBS.
5. Svitare il tappo del flaconcino contenente il reagente per il campione e inserirvi un DBS. Se il DBS non si deposita sul fondo, utilizzare l'impugnatura delle pinzette per spingerlo delicatamente verso il basso. Accertarsi che il DBS sia completamente immerso nella soluzione tampone del reagente per il campione.
6. Collocare il flaconcino con il DBS nel ThermoMixer e incubarlo per 15 minuti a 56 °C e impostare la velocità di rotazione su 500 giri/minuto.
7. Controllare che la cartuccia per il test non sia danneggiata. Se danneggiata, non utilizzarla.
8. Aprire il coperchio della cartuccia.
9. Utilizzare la pipetta di trasferimento da 1 ml in dotazione (vedere Figura 2) o una pipetta automatica per trasferire tutto il liquido dal campione di analisi DBS lisato alla camera della cartuccia riservata al campione (vedere Figura 4). Accertarsi che la pipetta di trasferimento sia riempita oltre la terza tacca. Evitare di aspirare i DBS con la pipetta. **NON** versare il campione di analisi direttamente nella camera!
10. Chiudere il coperchio della cartuccia.

## 13 Esecuzione del test

- Per GeneXpert Dx System, vedere Sezione 13.1.
- Per GeneXpert Infinity System, vedere Sezione 13.2.

### 13.1 GeneXpert Dx System

#### 13.1.1 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)**.

- 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.

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

### 13.1.2 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*.

- Per visualizzare i risultati, fare clic sull'icona **Visualizza risultati (View Results)**.
- 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.

## 13.2 GeneXpert Infinity System

### 13.2.1 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.

- 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®.
- Effettuare l'accesso nel computer, quindi al software del sistema GeneXpert Xpertise con il proprio nome utente e la password.
- 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)**.
- 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.
- 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: 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.

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.

### 13.2.2 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.

## 14 Controllo qualità

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

- **Adeguatezza del volume dei campioni (SVA):** Assicura che il campione sia stato aggiunto correttamente nella cartuccia. Il controllo SVA verifica che nella camera del campione sia stato introdotto il volume corretto di campione. Il controllo SVA si considera superato se soddisfa i criteri di accettazione convalidati. Se il controllo SVA non viene superato, si visualizza ERRORE 2096 (ERROR 2096) in caso di assenza del campione o ERRORE 2097 (ERROR 2097) in caso di quantità insufficiente di campione. Il sistema impedisce all'utente di riprendere il test.
- **Controllo per il trattamento dei campioni (SPC):** assicura che il campione sia stato analizzato correttamente. L'SPC è un Armored RNA<sup>®</sup> sotto forma di microsfera essiccata, è incluso in ciascuna cartuccia e serve per verificare che il virus del campione venga trattato correttamente. L'SPC consente di verificare che la lisi del virus HIV-1 sia avvenuta, se l'organismo è presente, e di verificare la correttezza del trattamento del campione di analisi. Questo controllo, inoltre, rileva l'inibizione associata al campione di analisi della reazione RT-PCR. L'SPC deve essere positivo in un campione negativo e può essere negativo o positivo in un campione positivo. L'SPC si considera superato se soddisfa i criteri di accettazione convalidati.
- **Controllo per la verifica della sonda (PCC):** Prima che inizi la reazione di PCR, GeneXpert Instrument System 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 ai requisiti degli organismi di accreditamento locali, regionali e nazionali pertinenti.

## 15 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)** (consultare Figura 5 e Figura 6). I risultati possibili sono riportati nella Tabella 1.

**Tabella 1. Risultati e interpretazione del saggio HIV-1 Qual**

Risultato	Interpretazione
<b>HIV-1 RILEVATO (HIV-1 DETECTED)</b> Vedere la Figura 5.	Sono stati rilevati gli acidi nucleici bersaglio dell'HIV-1. <ul style="list-style-type: none"> <li>• Gli acidi nucleici bersaglio dell'HIV-1 hanno un valore Ct compreso nell'intervallo valido.</li> <li>• SPC: NA (non applicabile); l'SPC viene ignorato perché si è verificata l'amplificazione del bersaglio HIV-1.</li> <li>• Verifica della sonda: AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.</li> </ul>
<b>HIV-1 NON RILEVATO (HIV-1 NOT DETECTED)</b> Vedere la Figura 6.	Gli acidi nucleici bersaglio dell'HIV-1 non sono stati rilevati. L'SPC soddisfa i criteri di accettazione. <ul style="list-style-type: none"> <li>• SPC: AMMESSO (PASS); l'SPC ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido.</li> <li>• Verifica della sonda: AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.</li> </ul>
<b>NON VALIDO (INVALID)</b>	Non è possibile determinare la presenza o l'assenza degli acidi nucleici bersaglio dell'HIV-1. Ripetere il test secondo le istruzioni riportate nella Sezione 16.2. <ul style="list-style-type: none"> <li>• SPC: RESPINTO (FAIL); il Ct dell'SPC non è compreso nell'intervallo valido.</li> <li>• Verifica della sonda: AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.</li> </ul>
<b>ERRORE (ERROR)</b>	La presenza o l'assenza degli acidi nucleici bersaglio dell'HIV-1 non può essere determinata. Ripetere il test secondo le istruzioni riportate nella Sezione 16.2. <ul style="list-style-type: none"> <li>• HIV-1: NESSUN RISULTATO (NO RESULT)</li> <li>• SPC: NESSUN RISULTATO (NO RESULT)</li> <li>• Verifica della sonda<sup>a</sup>: RESPINTO (FAIL); uno o più risultati della verifica della sonda non sono validi.</li> </ul>
<b>NESSUN RISULTATO (NO RESULT)</b>	La presenza o l'assenza degli acidi nucleici bersaglio dell'HIV-1 non può essere determinata. Ripetere il test secondo le istruzioni riportate nella Sezione 16.2. <b>NESSUN RISULTATO (NO RESULT)</b> indica che i dati raccolti sono insufficienti. Ad esempio, l'operatore ha interrotto un test in corso. <ul style="list-style-type: none"> <li>• HIV-1: NESSUN RISULTATO (NO RESULT)</li> <li>• SPC: NESSUN RISULTATO (NO RESULT)</li> <li>• Verifica della sonda: NA (non applicabile).</li> </ul>

<sup>a</sup> 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.

### Nota

Le schermate del saggio sono soltanto un esempio. Il nome del saggio e numero di versione possono differire dalle schermate mostrate in queste istruzioni per l'uso. QC1 e QC2 nelle legende della Figura 5 e della Figura 6 indicano il controllo per la presenza delle sonde (vedere Controllo per la verifica della sonda nella Sezione 14, Controllo qualità); le curve di amplificazione non vengono generate.

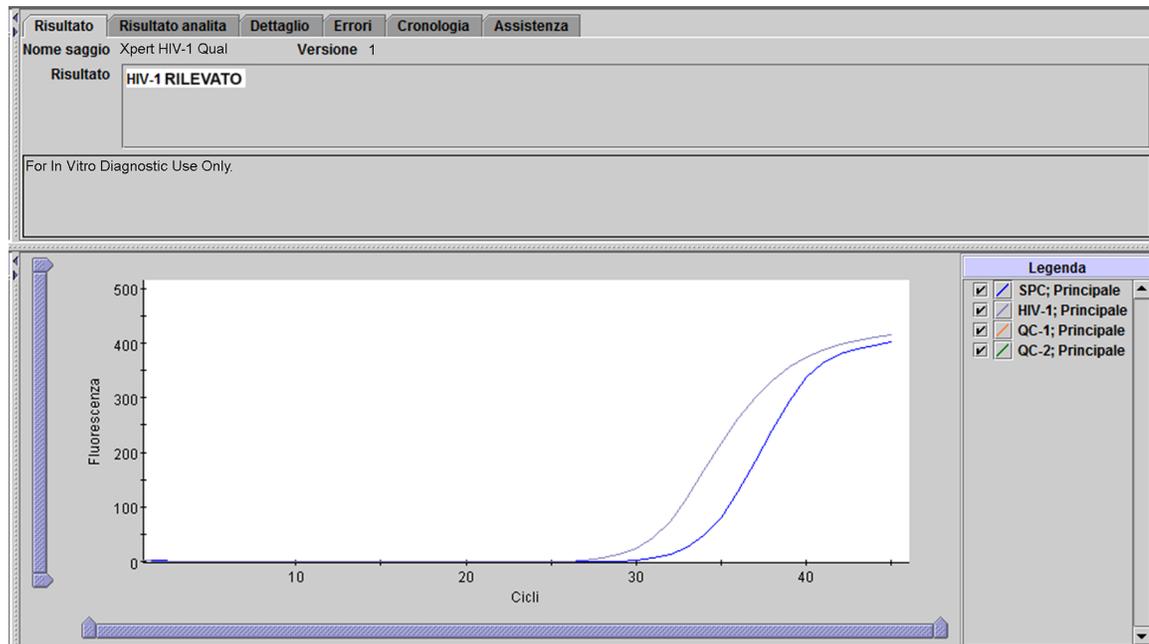


Figura 5. HIV-1 rilevato

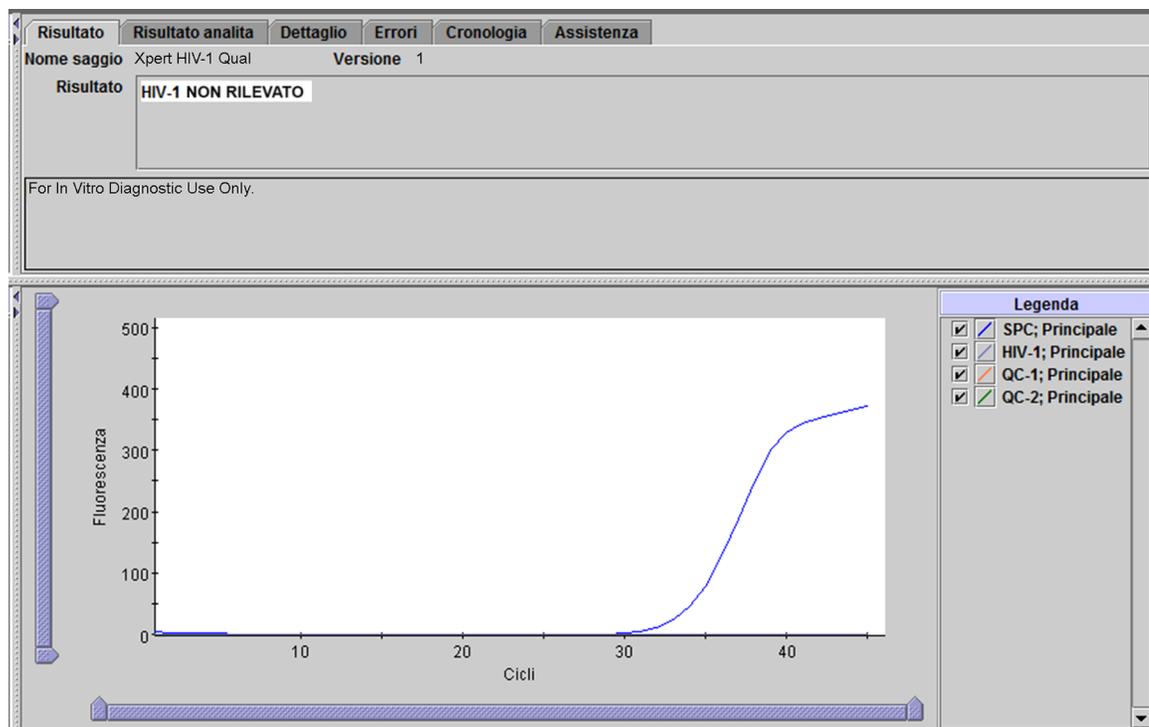


Figura 6. HIV-1 non rilevato

## 16 Ripetizione del test

### 16.1 Motivi per ripetere il test

Se si ottiene uno dei risultati riportati qui di seguito, ripetere il test attenendosi alle istruzioni della Sezione 16.2.

- 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.
- Un risultato **ERRORE (ERROR)** indica che il saggio è stato interrotto. Le possibili cause includono: aggiunta di un volume insufficiente di campione, 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.

## 16.2 Procedura di ripetizione del test

Per la ripetizione del test in caso di risultato **NON VALIDO (INVALID)**, **ERRORE (ERROR)** o **NESSUN RISULTATO (NO RESULT)**, non riutilizzare la cartuccia e usare reagenti nuovi.

1. Estrarre la nuova cartuccia dal kit.
2. Vedere Sezione 12, compreso Sezione 12.1 e una delle seguenti sezioni:
  - Per GeneXpert Dx System, vedere Sezione 13.1.
  - Per GeneXpert Infinity System, vedere Sezione 13.2.

## 17 Limitazioni

- Si consiglia di adottare buone pratiche di laboratorio e di cambiare i guanti per maneggiare campioni di analisi diversi, al fine di evitare la contaminazione dei reagenti.
- Mutazioni rare all'interno della regione bersaglio del saggio HIV-1 Qual possono influenzare il legame con il primer e/o la sonda, con conseguente mancato rilevamento del virus.
- Un risultato negativo del test non esclude l'infezione da HIV-1. I risultati del saggio HIV-1 Qual devono essere interpretati congiuntamente alla presentazione clinica e ad altri marker di laboratorio.
- Il test Xpert HIV-1 Qual è stato convalidato unicamente per l'uso con provette K2 EDTA. L'uso di questo test per analizzare altri tipi di campione può portare a risultati inaccurati.
- 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 esperimenti 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.

## 18 Caratteristiche prestazionali

### 18.1 Limite di rilevamento

Il limite di rilevamento (LoD) del saggio HIV-1 Qual è stato determinato sia per la procedura di analisi su WB sia per la metodica su DBS attraverso la valutazione di due diversi standard di riferimento per l'HIV-1 sottotipo B, e più precisamente il materiale di riferimento del Viral Quality Assurance Laboratory (VQA) dell'AIDS Clinical Trials Group e il 3° standard internazionale dell'OMS, codice NIBSC 10/152, diluito in WB in EDTA negativo per HIV-1. Il test è stato eseguito con tre serie di diluizione, ciascuna analizzata con un lotto di reagente unico da due operatori nell'arco di tre giorni. In totale sono stati analizzati 72 replicati per livello. La valutazione è stata eseguita in conformità con le linee guida CLSI E17-A2.22. La concentrazione di RNA dell'HIV-1 rilevabile con un tasso di positività superiore al 95% è stata determinata mediante analisi di regressione Probit. I risultati combinati per tutti e tre i lotti testati con entrambi i campioni di analisi in WB e DBS sono mostrati nelle Tabella 2 e Tabella 3.

**Tabella 2. Limite di rilevamento nel sangue intero per il saggio HIV-1 Qual utilizzando la regressione Probit<sup>a</sup>**

	Concentrazione nominale (copie/ml)	N. di replicati	N. di positivi	Tasso di positività (%)	LoD con probabilità del 95% stimato mediante Probit (intervallo di confidenza del 95%)
VQA	200	72	66	92	203 copie/ml (IC del 95%: 181-225 copie/ml)
	150	72	55	76	
	100	71	45	63	
	75	72	35	49	
	50	72	34	47	
	25	72	12	17	
	0	72	0	0	
OMS	420	72	72	100	278 copie/ml (IC del 95%: 253-304 copie/ml)
	300	72	66	92	
	240	72	62	86	
	180	72	57	79	
	120	71	47	66	
	60	72	18	25	
	30	72	13	18	
	0	72	0	0	

<sup>a</sup> Fattore di conversione 1 copia = 1,72 UI usate

**Tabella 3. Limite di rilevamento in campioni di sangue secco per il saggio HIV-1 Qual utilizzando la regressione Probit<sup>a</sup>**

	Concentrazione nominale (copie/ml)	N. di replicati	N. di positivi	Tasso di positività (%)	LoD con probabilità del 95% stimato mediante Probit (intervallo di confidenza del 95%)
VQA	800	72	72	100	531 copie/ml (IC del 95%: 474-587 copie/ml)
	600	71	64	90	
	400	72	64	89	
	200	72	43	60	
	100	72	23	32	
	50	72	4	6	
	0	72	0	0	
OMS	1000	72	71	99	668 copie/ml (IC del 95%: 593-742 copie/ml)
	750	72	69	96	
	500	72	60	83	
	250	72	43	60	

	Concentrazione nominale (copie/ml)	N. di replicati	N. di positivi	Tasso di positività (%)	LoD con probabilità del 95% stimato mediante Probit (intervallo di confidenza del 95%)
	125	72	22	31	
	75	72	12	17	
	0	72	0	0	

<sup>a</sup> Fattore di conversione 1 copia = 1,72 UI usate

## 18.2 Precisione

La precisione del saggio HIV-1 Qual è stata determinata per i campioni di analisi sia di WB che di DBS mediante quattro pannelli di diluizione in serie, ognuno preparato con due diversi standard di riferimento per l'HIV-1 sottotipo B: il materiale di riferimento Viral Quality Assurance Laboratory (VQA) dell'AIDS Clinical Trials Group e il 3° Standard internazionale dell'OMS, codice NIBSC: 10/152. Ciascun pannello è stato preparato inoculando lo standard di riferimento a WB in EDTA negativo all'HIV-1. Ciascun pannello conteneva un componente del pannello DBS o WB negativo all'HIV-1. I campioni di sangue secco sono stati preparati lasciando cadere il WB inoculato su cartoncini in carta da filtro con 65 µl e facendolo essiccare prima del test. I pannelli di WB e DBS sono stati testati secondo la procedura del saggio HIV-1 Qual. Ciascun componente dei pannelli è stato analizzato in replicati di quattro, da due operatori, nell'arco di nove giorni. Sono stati utilizzati tre diversi lotti di kit.

I dati sono stati analizzati calcolando il tasso di riscontri percentuale per ciascun componente dei pannelli per ciascun lotto di kit per tipo di campione di analisi. Il saggio HIV-1 Qual dimostra prestazioni coerenti in coincidenza e al di sopra del LoD per i campioni di analisi sia di WB che di DBS come dimostrato dai valori  $p > 0,05$  utilizzando la statistica del chi quadrato. Vedere la Tabella 4 e la Tabella 5.

**Tabella 4. Precisione del saggio HIV-1 Qual con i campioni di analisi di DBS**

DBS – Standard di riferimento VQA				
Concentrazione nominale dell'RNA di HIV-1 (copie/ml)	Tasso di riscontri (%) (n. pos./n. replicati)			Valore di $p$
	Lotto 1	Lotto 2	Lotto 3	
800	100	100	100	1,00
	(24/24)	(24/24)	(24/24)	
600	92	96	83	0,35
	(22/24)	(22/23)	(20/24)	
400	92	83	92	0,57
	(22/24)	(20/24)	(22/24)	
DBS – Standard di riferimento OMS				
Concentrazione nominale dell'RNA di HIV-1 (copie/ml)	Tasso di riscontri (%) (n. pos./n. replicati)			Valore di $p$
	Lotto 1	Lotto 2	Lotto 3	
1.000	100	96	100	0,36
	(24/24)	(23/24)	(24/24)	
750	92	96	100	0,35
	(22/24)	(23/24)	(24/24)	
500	88	71	92	0,12

(21/24) (17/24) (22/24)

Tabella 5. Precisione del saggio HIV-1 Qual con i campioni di analisi di WB

WB – Standard di riferimento VQA				
Concentrazione nominale dell'RNA di HIV-1 (copie/ml)	Tasso di riscontri (%) (n. pos./n. replicati)			Valore di p
	Lotto 1	Lotto 2	Lotto 3	
200	88	96	92	0,58
	(21/24)	(23/24)	(22/24)	
150	88	79	63	0,12
	(21/24)	(19/24)	(15/24)	
WB – Standard di riferimento OMS				
WB – Standard di riferimento VQA				
Concentrazione nominale dell'RNA di HIV-1 (copie/ml)	Tasso di riscontri (%) (n. pos./n. replicati)			Valore di p
	Lotto 1	Lotto 2	Lotto 3	
Concentrazione nominale dell'RNA di HIV-1 (copie/ml)	Tasso di riscontri (%) (n. pos./n. replicati)			Valore di p
	Lotto 1	Lotto 2	Lotto 3	
420	100	100	100	1,00
	(24/24)	(24/24)	(24/24)	
300	92	100	83	0,11
	(22/24)	(24/24)	(20/24)	
240	79	83	96	0,22
	(19/24)	(20/24)	(23/24)	

### 18.3 Range lineare

La linearità del saggio HIV-1 Qual è stata determinata sia per la procedura con WB che per quella con DBS mediante l'analisi di un pannello composto da cinque componenti elaborato con diluizioni in serie di RNA dell'HIV-1 sottotipo B in WB negativo per l'HIV-1. Le concentrazioni di HIV-1 erano comprese tra  $1 \times 10^3$  e  $1 \times 10^7$  copie/ml per WB e tra  $2,5 \times 10^3$  e  $2,5 \times 10^7$  copie/ml per DBS e ciascun componente del pannello è stato analizzato in replicati di sei mediante un lotto di reagente. Il materiale di riferimento utilizzato è stato il controllo Acrometrix HIV-1. I risultati per WB e DBS sono riportati, rispettivamente, nella Figura 7 e Figura 8, e dimostrano che il saggio è lineare entro un range compreso tra  $1 \times 10^3$  e  $1 \times 10^7$  copie/ml con un valore  $R^2$  (ovvero il prodotto di una curva standard) di 0,9931 per WB ed entro un range compreso tra  $2,5 \times 10^3$  e  $2,5 \times 10^7$  copie/ml con un valore  $R^2$  di 0,9955 per DBS.

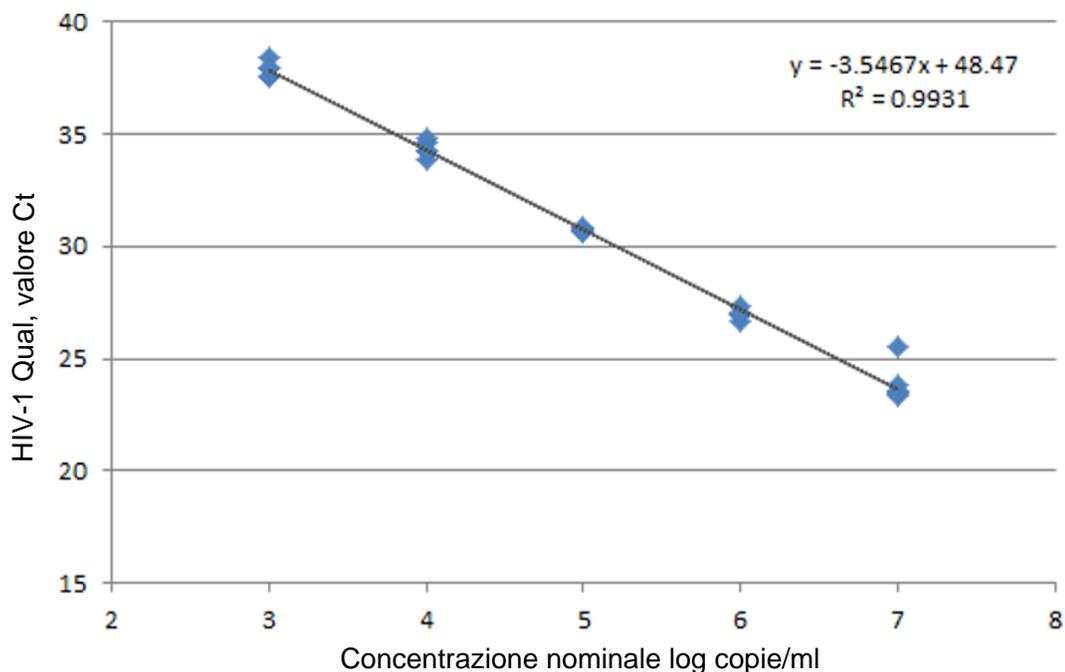


Figura 7. Linearità nel sangue intero per il saggio HIV-1 Qual

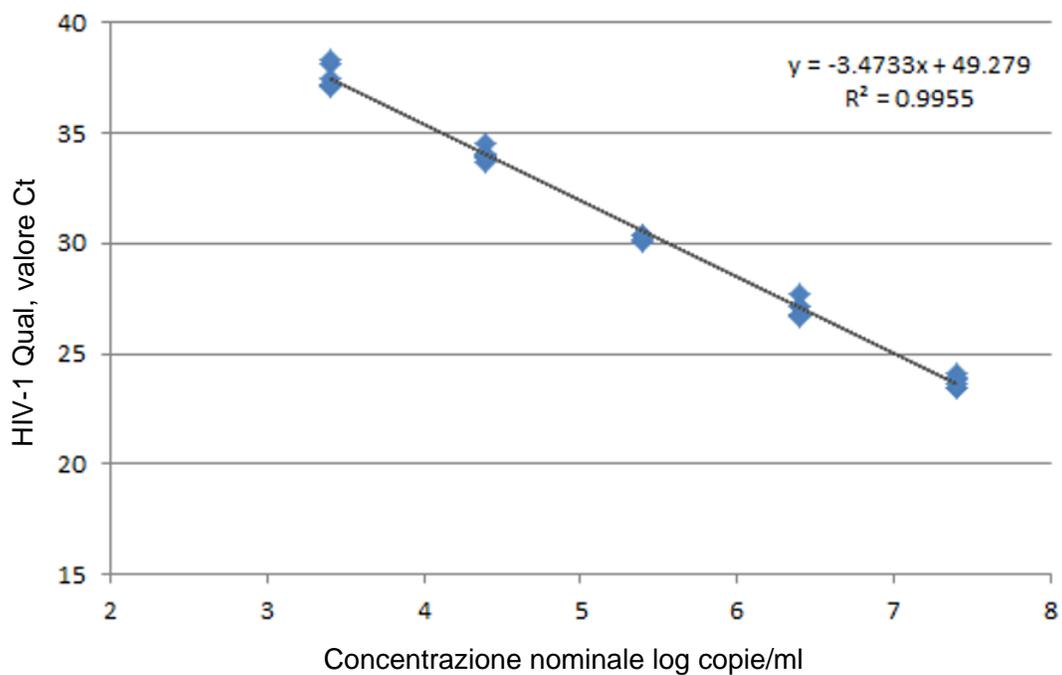


Figura 8. Linearità nei campioni di sangue secco per il saggio HIV-1 Qual

#### 18.4 Reattività analitica (inclusività)

La reattività analitica del saggio HIV-1 Qual è stata valutata testando tredici isolati rappresentativi i sottotipi A, C, D, F, G, H, CRF AG/GH, A/E e A/B del gruppo M e i gruppi N e O dell'HIV-1. L'assegnazione della concentrazione nominale del materiale di stock è stata eseguita con il saggio Abbott HIV-1 RealTime RT-PCR (una reazione a catena della polimerasi). Sono state realizzate serie di diluizione composte da almeno sei livelli di surnatanti di coltura cellulare in sangue intero (WB) in EDTA negativo per l'HIV-1 ed è stato identificato il limite di rilevamento (LoD). Ciascun livello è stato testato

in replicati di venti mediante due lotti di reagenti e la procedura per WB. La concentrazione di RNA dell'HIV-1 rilevabile con un tasso di positività maggiore del 95% è stata determinata mediante analisi di regressione Probit per ciascun isolato. Il LoD stabilito è stato verificato con lo stesso isolato in replicati di venti su un terzo lotto di reagente unico e con un secondo isolato dello stesso gruppo/sottotipo in replicati di venti su un lotto di reagente. È stata eseguita un'ulteriore verifica con un isolato in replicati di 10-20 con un lotto di reagente mediante la procedura per Dried Blood Spot (campione di sangue secco, DBS) e il livello LoD stimato per DBS. I risultati per il LoD e le verifiche mediante le procedure per WB e DBS sono riepilogati nella Tabella 6 e mostrano che il saggio HIV-1 Qual rileva l'RNA dell'HIV-1 per tredici gruppi/sottotipi diversi a concentrazioni pari a 680 copie/ml (o inferiori) per il WB e pari a 1.400 copie/ml (o inferiori) per il DBS con un tasso di positività del 95%.

**Tabella 6. Reattività analitica (inclusività) per il saggio HIV-1 Qual**

Gruppo/ sottotipo	LoD nel sangue intero, 2 lotti di reagenti			Verifica del LoD nel sangue intero, 3° lotto di reagente unico (680 copie/ml)	Verifica del LoD con il 2° isolato nel sangue intero, 1 lotto di reagente (680 copie/ml)		Verifica del riconoscimento con DBS, 1 lotto di reagente (1.400 copie/ml)	
	Designazione dell'isolato	LoD (copie/ml)	IC al 95%	Tasso di positività (%) (n=20)	Designazione dell'isolato	Tasso di positività (%) (n=20)	Designazione dell'isolato	Tasso di positività (%) (n=10-20)
Gruppo M/ sottotipo A	92UG029	553	427-678	100	UG275	100	92UG029	100
Gruppo M/ sottotipo C	98TZ017	159	117-201	100	92BR025	100	92BR025	100
Gruppo M/ sottotipo D	94UG114	379	286-471	100	92UG035	100	92UG035	100
Gruppo M/ sottotipo F	93BR020	262	204-320	100	BZ126	100	93BR020	100
Gruppo M/ sottotipo G	RU570	345	267-423	100	BCF-DIOUM	100	RU570	100
Gruppo M/ sottotipo H	VI557	171	139-237	100	BCF-KITA	100	V1557	100
Gruppo M/ sottotipo J	Campione clinico di analisi	438	348-527	100	Campione clinico di analisi	100	Campione clinico di analisi	100
Gruppo M/ sottotipo K	WWRB305-16	550	433-667	100	NA	ND	WWRB305-16	94.4
Gruppo M/ Sottotipo CRF A/B	WWRB305-11	208	153-263	100	WWRB305-12	100	WWRB305-11	100

Gruppo/ sottotipo	LoD nel sangue intero, 2 lotti di reagenti			Verifica del LoD nel sangue intero, 3° lotto di reagente unico (680 copie/ml)	Verifica del LoD con il 2° isolato nel sangue intero, 1 lotto di reagente (680 copie/ml)	Verifica del riconoscimento con DBS, 1 lotto di reagente (1.400 copie/ml)		
	Designazione dell'isolato	LoD (copie/ml)	IC al 95%	Tasso di positività (%) (n=20)	Designazione dell'isolato	Tasso di positività (%) (n=20)	Designazione dell'isolato	Tasso di positività (%) (n=10-20)
Gruppo M/ Sottotipo CRF A/E	92TH001	228	172-285	100	92TH022	95,0	92TH022	100
Gruppo M/ Sottotipo CRF AG/GH	V1525	501	399-603	100	01CM.0008 BBY (A-G)	100	01CM.0008 BBY	100
Gruppo N	YBF30	232	187-277	100	N1FR2011	100	YBF30	100
Gruppo O	MVP5180	189	145-234	100	CA-9	100	MVP5180	100

### 18.5 Specificità analitica (esclusività)

La specificità analitica del saggio HIV-1 Qual è stata valutata aggiungendo organismi di coltura a concentrazioni pari a  $5 \times 10^3$  particelle o copie/ml a WB in EDTA negativo per HIV-1 e a WB in EDTA positivo per HIV-1 a 900 copie/ml di materiale di riferimento per l'HIV-1 (sottotipo B). Gli organismi sono stati testati usando la procedura per WB. Gli organismi analizzati sono elencati nella Tabella 7. Nessuno degli organismi analizzati ha mostrato reattività crociata o interferenza con il rilevamento dell'HIV-1.

**Tabella 7. Organismi di specificità analitica**

<i>Candida albicans</i>
Cytomegalovirus
Virus di Epstein-Barr
Virus dell'epatite A
Virus dell'epatite B
Virus dell'epatite C
Virus dell'herpes simplex 1
Virus dell'herpes simplex 2
Virus dell'herpes umano 6
Virus dell'immunodeficienza umana 2
Virus linfotropico umano a cellule T di tipo 1
Virus linfotropico umano a cellule T di tipo 2
Influenza A
<i>Staphylococcus aureus</i>

## 18.6 Sostanze potenzialmente interferenti

È stata valutata la suscettibilità del saggio HIV-1 Qual alle interferenze da parte di livelli elevati di sostanze endogene e di marcatori di malattia autoimmune. Per le sostanze endogene, sono stati testati campioni di WB in EDTA negativi per HIV-1 e di WB in EDTA positivi per HIV-1 a 2.000 copie/ml di materiale di riferimento per HIV-1 (sottotipo B) inoculato con le sostanze.

I campioni positivi e negativi all'HIV-1 con le sostanze endogene sono stati preparati come DBS e ulteriormente testati. I livelli elevati di sostanze endogene elencati nella Tabella 8 hanno dimostrato di non influire sulla specificità del saggio, né di interferire con il rilevamento dell'HIV-1.

**Tabella 8. Sostanze endogene e concentrazione analizzata**

Sostanza	Concentrazione analizzata
Albumina (BSA)	90 mg/ml
Bilirubina	0,2 mg/ml
Emoglobina	5 mg/ml
DNA umano	4 µg/ml
Trigliceridi	30 mg/ml

È stato eseguito il test su campioni di analisi di plasma di cinque persone per marcatore di malattia autoimmune con e senza materiale di riferimento per HIV-1 (sottotipo B) inoculato a 900 copie/ml mediante la procedura per WB. Non è stata dimostrata alcuna interferenza con i marcatori di malattia autoimmune per il lupus eritematoso sistemico (LES), gli anticorpi antinucleo (ANA) o il fattore reumatoide (RF) mediante il saggio HIV-1 Qual.

## 18.7 Sensibilità alla sieroconversione

La sensibilità diagnostica del saggio HIV-1 Qual è stata valutata analizzando campioni di analisi sequenziali di plasma provenienti da quindici pannelli di sieroconversione mediante la procedura per WB. È stata dimostrata l'equivalenza del WB e del plasma come matrice del campione (vedere Sezione 18.8). Il saggio HIV-1 Qual ha rilevato l'HIV-1 in un numero totale di 52 campioni su 79 rispetto ai 10 su 79 rilevati da un test degli anticorpi anti-HIV-1 (Abbott HIV 1/2 EIA, Abbott PRISM HIV-1/2, Abbott DiaSorin Murex HIV 1.2.O HIV, Bio-Rad GS HIV-1/HIV-2 Plus O EIA o Siemens HIV 1/O/2 Enhanced ADVIA Centaur). Un risultato positivo al test sull'HIV-1 è stato ottenuto più rapidamente con il saggio HIV-1 Qual su tutti e quindici i pannelli rispetto al test di screening degli anticorpi anti-HIV-1. Inoltre, la prima risposta positiva all'HIV-1 si è verificata prima in dodici dei quindici pannelli con il saggio HIV-1 Qual rispetto ai test dell'antigene p24 (Abbott, Coulter HIV-1 p24 Antigen, Innogenetics RL29 o Perkin Elmer Alliance HIV-1 p24 ELISA). La sensibilità alla sieroconversione è indicata nella Tabella 9.

**Tabella 9. Sensibilità alla sieroconversione del saggio HIV-1 Qual**

Codice prodotto pannello precedente	Numero di componenti	Durata in giorni	Numero di componenti reattivi del pannello		Giorni al primo risultato reattivo		Giorni tra il primo risultato reattivo con HIV-1 Qual e qualsiasi test Ab <sup>a</sup>
			HIV-1 Qual	Test degli anticorpi (Ab) <sup>a</sup>	HIV-1 Qual	Test degli anticorpi (Ab) <sup>a</sup>	
PRB946-00-1.0	4	11	3	0	4	11 <sup>b</sup>	7
PRB948-00-1.0	4	23	2	0	20	23 <sup>c</sup>	3
PRB950-00-1.0	4	28	3	1	18	28	10
PRB955-1.0	5	14	5	2	0 <sup>c</sup>	12	12
PRB956-1.0	5	50	4	1	40	50	10

Codice prodotto pannello precedente	Numero di componenti	Durata in giorni	Numero di componenti reattivi del pannello		Giorni al primo risultato reattivo		Giorni tra il primo risultato reattivo con HIV-1 Qual e qualsiasi test Ab <sup>a</sup>
			HIV-1 Qual	Test degli anticorpi (Ab) <sup>a</sup>	HIV-1 Qual	Test degli anticorpi (Ab) <sup>a</sup>	
PRB962-1.0	6	17	4	0	7	17 <sup>b</sup>	10
PRB963-1.0	7	21	3	0	14	21 <sup>b</sup>	7
PRB964-1.0	6	22	3	0	15	22 <sup>b</sup>	7
PRB966-1.0	10	51	5	2	35	48	13
PRB973-1.0	4	11	4	1	0 <sup>c</sup>	11	11
PRB974-1.2	4	16	3	1	7	16	9
PRB975-1.0	5	14	3	0	7	14 <sup>b</sup>	14
PRB976-1.2	4	9	4	0	0 <sup>c</sup>	9 <sup>b</sup>	9
PRB977-1.0	4	15	3	2	2	13	11
PRB978-1.0	7	33	3	0	26	33 <sup>b</sup>	7
Totale	79		52	10			

<sup>a</sup> Test degli anticorpi basati 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 HIB 1/O/2 Enhanced ADVIA Centaur

<sup>b</sup> Tutti i campioni di sangue prelevati erano non reattivi per gli anticorpi anti-HIV-1 (in base alle informazioni del fornitore). L'ultimo giorno del campione di sangue viene utilizzato per determinare i "Giorni al primo risultato reattivo".

<sup>c</sup> Tutti i risultati dei campioni di sangue sono stati rilevati con il saggio HIV-1 Qual

## 18.8 Equivalenza tra i tipi di campioni (sangue intero e plasma)

L'equivalenza tra le prestazioni per i due diversi tipi di campioni, WB in EDTA e plasma in EDTA, con il saggio HIV-1 Qual è stata dimostrata mediante campioni di analisi di sedici persone negative all'HIV-1. Ciascun campione di analisi è stato suddiviso e preparato in un'aliquota di plasma e in un'aliquota di WB. Entrambe le aliquote sono state inoculate con RNA di HIV-1 a 700 copie/ml. Le aliquote sono state analizzate in parallelo mediante il protocollo per WB. I due tipi di campioni hanno mostrato prestazioni equivalenti.

## 19 Prestazioni cliniche

Le caratteristiche prestazionali del saggio HIV-1 Qual sono state valutate presso due istituti in Africa.

I soggetti comprendevano individui il cui trattamento di routine prevedeva il prelievo di WB o DBS per il test dell'HIV-1. Per i soggetti idonei, sono state ottenute aliquote dei campioni di analisi rimanenti per il test con il saggio HIV-1 Qual e quello di confronto. La gestione dei pazienti è proseguita presso il centro secondo la rispettiva pratica standard a prescindere dai risultati del test sperimentale.

Le prestazioni del saggio HIV-1 Qual sono state confrontate con un saggio di confronto con marchio CE. Il saggio di confronto è stato convalidato per l'analisi su campioni DBS e non su campioni WB, pertanto i risultati del saggio HIV-1 Qual su WB sono stati confrontati con i risultati del metodo di confronto ottenuti con campioni DBS. In caso di discrepanza tra i risultati del saggio HIV-1 Qual e quelli del saggio di confronto, è stato ripetuto il test con i campioni di analisi sia sul saggio HIV-1 Qual che sul saggio di confronto. I relativi dati sono forniti a mero titolo informativo.

## 19.1 Risultati dei campioni di analisi WB

Un totale di 106 campioni di analisi WB è stato analizzato per l'HIV-1 mediante il saggio HIV-1 Qual e il saggio di confronto. Il saggio HIV-1 Qual ha dimostrato una concordanza percentuale positiva (PPA) del 98,2% (IC del 95%, 90,3-100) e una concordanza percentuale negativa (NPA) del 98,0% (IC del 95%, 89,6-100) sui campioni di WB rispetto al saggio di confronto. I risultati sono riportati nella Tabella 10.

**Tabella 10. Prestazioni del saggio HIV-1 Qual rispetto al saggio di confronto - Campioni di analisi di WB**

		Confronto rispetto al saggio HIV-1 Qual – DBS		
		POS	NEG	Totale
HIV-1 Qual WB	POS	54	1 <sup>a</sup>	55
	NEG	1 <sup>b</sup>	50	51
	Totale	55	51	106
		PPA:	98,2% (IC del 95%: 90,3-100)	
		NPA:	98,0% (IC del 95%: 89,6-100)	

<sup>a</sup> Al nuovo test, il campione di analisi era POS con Xpert/POS con il confronto

<sup>b</sup> Al nuovo test, il campione di analisi era NEG con Xpert e POS con il confronto

## 19.2 Risultati dei campioni di analisi DBS

Un totale di 399 campioni di analisi DBS è stato analizzato per l'HIV-1 mediante il saggio HIV-1 Qual e il saggio di confronto. Il saggio HIV-1 Qual ha dimostrato una sensibilità con PPA del 95,6% (IC del 95%, 91,8-98,0), e una specificità con NPA del 98,5% (IC del 95%, 95,6-99,7) sui campioni DBS rispetto al saggio di confronto. I risultati sono riportati nella Tabella 11.

## 19.3 Specificità in donatori di sangue adulti sieronegativi all'HIV

**Tabella 11. Prestazioni del saggio HIV-1 Qual rispetto al saggio di confronto - Campioni di analisi di DBS**

		Confronto rispetto al saggio HIV-1 Qual – DBS		
		POS	NEG	Totale
Saggio HIV-1 Qual	POS	194	3 <sup>a</sup>	197
	NEG	9 <sup>b</sup>	193	202
	Totale	203	196	399
		PPA:	95,6% (IC del 95%: 91,8-98)	
		NPA:	98,5% (IC del 95%: 95,6-99,7)	

<sup>a</sup> Alla ripetizione del test, 1 campione di analisi su 3 era NEG con Xpert/NEG con il saggio di confronto e 2 campioni di analisi su 3 erano POS con Xpert/POS con il saggio di confronto

<sup>b</sup> Alla ripetizione del test, 5 campioni su 9 era POS con Xpert/POS con il saggio di confronto, e 3 campioni su 9 erano NEG con Xpert/POS con il saggio di confronto e 1 campione su 9 era NEG con Xpert/NEG con il saggio di confronto.

WB raccolto in EDTA è stato prelevato da 1.017 donatori di sangue presso due centri negli Stati Uniti. È stato determinato che i campioni di analisi erano negativi per l'HIV-1 mediante metodi basati sull'acido nucleico e gli anticorpi approvati dalla FDA usando un'emoteca standard. 503 campioni di analisi su 1.017 sono stati preparati come DBS e 514 sono stati

testati come WB mediante il saggio HIV-1 Qual. Un campione di analisi DBS e due WB sono risultati indeterminati sia al test iniziale che al test ripetuto e, pertanto, sono stati esclusi dal calcolo della specificità. La specificità del saggio è stata del 100,0% (1.014/1.014) con IC al 95%: 99,6-100,0.

## 19.4 Tasso di successo del saggio

Per il saggio HIV-1 Qual eseguito su campioni di analisi idonei, il trattamento ha avuto esito positivo al primo tentativo nel 97,0% di tali campioni di analisi (1483 su 1529). I restanti 46 hanno dato risultati indeterminati al primo tentativo. Dei 46 casi indeterminati, 36 hanno fatto ottenere risultati validi ripetendo il saggio; tre sono risultati indeterminati anche alla ripetizione del test e sette dei casi indeterminati non sono stati ripetuti poiché il volume rimanente era insufficiente. Il tasso complessivo di riuscita del saggio è stato del 99,3% (1519 su 1529).

## 20 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. Aids.gov. Aids Signs and Symptoms. Consultazione in maggio 2015. <https://www.aids.gov/hiv-aids-basics/hiv-aids-101/signs-and-symptoms/>.
8. O'Brien M, et al. Should we treat acute HIV infection? *Curr HIV/AIDS Rep*. 2012 Jun;9(2):101-10.
9. 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.
10. 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.
11. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). The Gap Report. (Originale in inglese, luglio 2014, aggiornato a settembre 2014). <http://www.unaids.org/en/resources/campaigns/2014gapreport>. Consultazione: 3 febbraio 2015.
12. Hankins C. Overview of the Current State of the Epidemic. *Current HIV/AIDS Reports* 2013;10(2):113–123.
13. Shetty AK. Epidemiology of HIV Infection in Women and Children: A Global Perspective. *Current HIV Research* 2013;11(2):81–92.
14. Sherman GG, Cooper PA, Coovadia AH, et al. Polymerase chain reaction for diagnosis of human immunodeficiency virus infection in infancy in low resource settings. *Pediatric Infectious Disease Journal* 2005;24(11):993–997.
15. Sherman GG, Matsebula TC, Jones SA. Is early HIV testing of infants in poorly resourced prevention of mother to child transmission programmes unaffordable? *Tropical Medicine & International Health* 2005;10(11):1108–1113.
16. 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.
17. Prendergast A, Tudor-Williams G, Jeena P, et al. International perspectives, progress, and future challenges of paediatric HIV infection. *Lancet* 2007;370:68–80.
18. Organizzazione Mondiale della Sanità. *Antiretroviral therapy for HIV infection in infants and children: towards universal access, recommendations for a public health approach (Terapia antiretrovirale per l'infezione da HIV in neonati e bambini: verso un accesso universale, raccomandazioni per un approccio di salute pubblica)*. Ginevra: Organizzazione Mondiale della Sanità; 2006.
19. Global AIDS Alliance. *Scaling up access to early infant diagnostics: accelerating progress through public-private partnerships*. Washington DC: Global AIDS Alliance; 2008.
20. Centers for Disease Control and Prevention. *Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories*. Chosewood LC, Wilson, DE (eds.) 2009; HHS Publication No. (CDC) 21-1112.
21. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline*. Document M29 (fare riferimento all'ultima edizione).

22. CLSI. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline — Second Edition. CLSI document EP17-A2. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards; 2012.
23. 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).
24. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

## 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 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

### Supporto Tecnico negli Stati Uniti d'America

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

### Supporto tecnico in 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](http://www.cepheid.com/en/support/contact-us).

## 23 Tabella dei simboli

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

Simbolo	Significato
	Non riutilizzare
	Codice lotto
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Fabbricante
	Paese di fabbricazione
	Contenuto sufficiente per <i>n</i> test
	Controllo
	Data di scadenza
	Limiti di temperatura
	Rischi biologici
	Avviso
	Mandatario 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



## 24 Cronologia delle revisioni

Descrizione delle modifiche: 301-3048, da Rev. K a Rev. L

Sezione	Descrizione della modifica
11, 12.1, 17	È stato specificato K2 per le provette di raccolta EDTA.
13	Separazione delle procedure per GeneXpert Dx System e GeneXpert Infinity System.
24	Aggiunta della sezione relativa alla Cronologia delle revisioni.