

Xpert® EV

REF GXEV-100N-10

For Information Only - Not a Controlled Copy

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®] and Xpert[®] are trademarks of Cepheid.

Windows[®] is a trademark of Microsoft Corporation.

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

Copyright © 2007-2023 Cepheid. All rights reserved.

Dichiarazioni relative a marchi di fabbrica, brevetti e copyright

Cepheid[®], il logo Cepheid, GeneXpert[®] e Xpert[®] sono marchi di fabbrica di Cepheid.

Windows[®] è un marchio di fabbrica di Microsoft Corporation.

L'ACQUISTO DI QUESTO PRODOTTO CONCEDE ALL'ACQUIRENTE IL DIRITTO NON TRASFERIBILE DI UTILIZZARLO D'ACCORDO CON QUESTO FOGLIETTO ILLUSTRATIVO. NESSUN ALTRO DIRITTO VIENE CONCESSO ESPRESSAMENTE, IMPLICITAMENTE O PER PRECLUSIONE. INOLTRE, CON L'ACQUISTO DI QUESTO PRODOTTO NON VIENE CONCESSO NESSUN DIRITTO ALLA RIVENDITA.

Copyright © 2007-2023 Cepheid. Tutti i diritti riservati.

For Information Only - Not a Controlled Copy

Xpert® EV

Per uso diagnostico *in vitro*.



1 Nome registrato

Xpert® EV

2 Nome comune o usuale

Saggio Xpert EV

3 Uso previsto

Il saggio Cepheid® Xpert EV è un test di reazione a catena della polimerasi dopo retrotrascrizione (RT-PCR) che utilizza il sistema GeneXpert® Dx per il rilevamento qualitativo presuntivo dell'RNA dell'enterovirus (EV) nei campioni di liquido cerebrospinale (LCS) prelevati da individui con segni e sintomi di meningite. Quando unito ad altri risultati di laboratorio e informazioni cliniche, il test può essere utilizzato come ausilio nella diagnosi di laboratorio dell'infezione da enterovirus in pazienti con sospetto clinico di meningite o meningoencefalite. Le caratteristiche prestazionali del saggio non sono state stabilite per i pazienti immunocompromessi o immunosoppressi.

Attenzione



I risultati ottenuti con il saggio Xpert EV devono essere utilizzati esclusivamente in aggiunta alle osservazioni cliniche e alle altre informazioni a disposizione del medico. I risultati Xpert EV positivi non escludono altre cause di meningite, inclusi batteri, micobatteri, altri virus (per es. i virus della famiglia dell'herpes, gli arbovirus, il virus parotitico, ecc.) e funghi.

4 Riepilogo e spiegazione

Il saggio Cepheid® Xpert EV è un test di reazione a catena della polimerasi dopo retrotrascrizione (RT-PCR) utilizzato per rilevare l'RNA dell'enterovirus in campioni di liquido cerebrospinale (LCS). L'enterovirus è classificato tassonomicamente come quei virus costituiti da poliovirus, coxsackievirus, echovirus ed enterovirus.³ Gli enterovirus causano un'ampia gamma di infezioni e vengono spesso trasmessi attraverso il contatto diretto con le secrezioni respiratorie di una persona infetta.¹ I sintomi comuni sono febbre, forte mal di testa, torcicollo, sensibilità oculare alla luce di forte intensità, sonnolenza o confusione, nausea e vomito. Nei neonati, i sintomi comprendono febbre, irascibilità o irritabilità, difficoltà nel risveglio o perdita di appetito.¹ Benché la maggior parte delle infezioni siano asintomatiche o provochino malattie febbrili minori, spesso portano al ricovero ospedaliero, in particolar modo, di neonati e di bambini. Circa il 90% dei casi di meningite virale è causato da enterovirus;² gli enterovirus sono la causa più frequente di meningite negli Stati Uniti, con un numero stimato di ospedalizzazioni compreso tra 30.000 e 50.000 all'anno.³ In genere, la meningite enterovirale si risolve da sé entro 7-10 giorni. Tuttavia, le meningiti non causate da virus, come ad esempio la meningite batterica, possono essere gravi e portare alla disabilità o alla morte se non vengono trattate tempestivamente; di conseguenza, la meningite non va sottovalutata.¹

Un test dell'enterovirus, insieme all'osservazione clinica e ad altre informazioni cliniche, può consentire ai medici di identificare i pazienti affetti da meningite enterovirale ed è di ausilio nella gestione del paziente.⁴

5 Principio della procedura

Il sistema GeneXpert Dx automatizza e integra la purificazione dei campioni, l'amplificazione degli acidi nucleici e il rilevamento della sequenza bersaglio in campioni semplici o complessi, usando i saggi di PCR in tempo reale e RT-PCR (reazione a catena della polimerasi dopo retrotrascrizione). Il sistema è composto da uno strumento, un personal computer e un software precaricato per l'esecuzione dei test sui campioni raccolti e per la visualizzazione dei risultati. Il sistema richiede l'uso di cartucce GeneXpert® monouso Xpert che contengono i reagenti PCR e ospitano il processo reattivo. Poiché le cartucce sono autonome, non sussiste alcun rischio di contaminazione crociata tra campioni. Per una descrizione completa del sistema, consultare il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert® Dx*.

Il saggio Xpert EV è progettato per il rilevamento dell'RNA dell'enterovirus (EV) (regione non tradotta del genoma 5' dell'enterovirus [UTR] tra il nucleotide 452 e 596) nei campioni di LCS. Il saggio include reagenti, primer e sonde per il rilevamento simultaneo di acido nucleico da EV bersaglio e il controllo per il trattamento dei campioni/controllo interno (SPC/IC). Il saggio include l'SPC/IC per verificare il trattamento adeguato del virus bersaglio e controlla la presenza di inibitori nel saggio RT-PCR al fine di evitare un risultato falso negativo. (Tenere presente che nel software del sistema GeneXpert® Dx, CIC è il nome che indica l'SPC/IC.) Il saggio include anche un controllo per la verifica della sonda per controllare la reidratazione del reagente, l'integrità della sonda e il riempimento della provetta di reazione nella cartuccia.

Per eseguire un test, il campione di LCS e quattro reagenti vengono trasferiti nelle camere designate della cartuccia Xpert EV. Il sistema GeneXpert Dx esegue la preparazione del campione lisando il virus e l'SPC (pseudovirus di RNA incapsidato), legando l'RNA alla matrice di cattura ed eluendo l'RNA. L'RNA viene miscelato con reagenti per RT liofilizzati e trasferito nella provetta di reazione per la preparazione del cDNA. Il cDNA viene quindi miscelato con reagenti per PCR liofilizzati e trasferito in una provetta di reazione per la PCR in tempo reale e il rilevamento. I primer EV e la sonda amplificano e rilevano una regione di consenso della regione non tradotta 5' dell'enterovirus (UTR). Il test richiede circa 2,5 ore.

6 Reagenti

6.1 Materiali in dotazione



Il kit del saggio Xpert EV (GXEV-100N-10) contiene reagenti sufficienti per il trattamento di 10 campioni. Il contenuto del kit è il seguente.

Cartucce Xpert EV con annesse provette di reazione	10 cartucce per kit
• Microsfera 1, microsfera 2, microsfera 3, microsfera 4, microsfera 5 (liofilizzate)	1 di ciascuna per cartuccia
Reagente legante (etanolo) (1)	10 × 1 ml
Reagente di lavaggio (2)	10 × 3,2 ml
Reagente di eluizione (3)	10 × 2,0 ml
Reagente di lisi (guanidinio tiocianato) (4)	10 × 300 µl
CD	1 per kit
<ul style="list-style-type: none"> • File di definizione del saggio (Assay Definition File, ADF) • Istruzioni per l'importazione degli ADF nel software GeneXpert • Istruzioni per l'uso (foglietto illustrativo) 	

Nota

Le schede dati di sicurezza (Safety Data Sheets, SDS) sono disponibili nei siti www.cepheid.com o www.cepheidinternational.com nella scheda **ASSISTENZA (SUPPORT)**.

Nota

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

7 Conservazione e manipolazione

- Conservare le cartucce e i reagenti Xpert EV a una temperatura compresa tra 2 °C e 28 °C.
- Aprire le cartucce solo immediatamente prima di eseguire il test.
- Utilizzare cartucce e reagenti entro 30 minuti dall'apertura della confezione.
- Non utilizzare le cartucce o i reagenti oltre la data di scadenza.
- Non utilizzare i reagenti se appaiono torbidi o scoloriti.

8 Materiali necessari ma non forniti


- Sistema GeneXpert Dx (il numero di catalogo varia a seconda della configurazione): Strumento GeneXpert, computer, lettore di codici a barre e Manuale dell'operatore
- Stampante: Se è necessaria una stampante, rivolgersi al rappresentante commerciale di Cepheid per predisporre l'acquisto della stampante consigliata.

- Pipetta da 200 µl
- Puntali per pipette da 200 µl sterili

9 Avvertenze e precauzioni

- Solo per uso diagnostico *in vitro*.
- Non sostituire i reagenti Xpert EV con altri reagenti.
- Aprire il coperchio della cartuccia Xpert EV solo quando viene aggiunto il campione e i reagenti.
- Non caricare una cartuccia Xpert EV che è caduta o è stata agitata in seguito all'aggiunta del campione e dei reagenti.
- Non caricare la cartuccia se presenta la provetta di reazione danneggiata.
- Non aprire le cartucce Xpert EV usate.
- ⊘ • Non riutilizzare le cartucce Xpert EV usate.
- Non congelare e scongelare i campioni di analisi più di due volte.
- Non utilizzare campioni centrifugati.
- ⚠ • Il reagente di lisi contiene guanidina tiocianato che, se combinato con candeggina, può causare la formazione di composti altamente reattivi. Se il liquido che contiene questo reagente si versa, pulire l'area con detergente da laboratorio e acqua.
- ☠ • Tutti i campioni biologici di analisi, comprese le cartucce usate, devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi. Tutti i campioni biologici di analisi devono essere maneggiati adottando le precauzioni standard. Le linee guida per il trattamento dei campioni di analisi sono disponibili presso l'ente statunitense per la prevenzione e il controllo delle malattie (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)⁵ e l'istituto per gli standard clinici e di laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute).⁶
- 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 della propria struttura sanitaria per il corretto smaltimento delle cartucce usate e dei reagenti non utilizzati. Questi materiali potrebbero essere considerati rifiuti chimici pericolosi per il cui smaltimento sarà necessario 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^{7,8}

- Pittogramma di pericolo UN GHS: 
- Avvertenza: PERICOLO
- **Indicazioni di pericolo UN GHS**
 - Liquido e vapori facilmente infiammabili.
 - Nocivo se ingerito.
 - Provoca irritazione cutanea.
 - Provoca grave irritazione oculare.
 - Nocivo se inalato.
 - Può provocare sonnolenza o vertigini.
 - Sospettato di provocare alterazioni genetiche.
 - Tossico per gli organismi acquatici.
 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

Frase di prudenza UN GHS

- **Prevenzione**
 - Procurarsi istruzioni specifiche prima dell'uso.
 - Non manipolare prima di avere letto e compreso tutte le avvertenze.
 - Evitare di respirare nebbie, vapori e/o aerosol.
 - Lavare accuratamente dopo l'uso.

- Non mangiare, né bere, né fumare durante l'uso.
- Utilizzare soltanto all'aperto o in luogo ben ventilato.
- Non disperdere nell'ambiente.
- Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.
- Utilizzare i dispositivi di protezione individuale richiesti.
- **Risposta**
 - IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione.
 - In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico.
 - IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua e sapone.
 - Togliersi di dosso gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.
 - Trattamento specifico (vedere le informazioni supplementari di pronto soccorso).
 - 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 INGESTIONE: accompagnata da malessere: contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico.
 - Sciacquare la bocca.
 - In caso di esposizione o di possibile esposizione: consultare un medico.
- **Stoccaggio/Smaltimento**
 - Conservare in un luogo ben ventilato. Tenere il recipiente ben chiuso.
 - Conservare sotto chiave.
 - Smaltire prodotto e/o recipiente in conformità con normative locali, regionali, nazionali e/o normative internazionali.

11 Prelievo, trasporto e conservazione dei campioni di analisi

Raccogliere il LCS in un contenitore sterile e trasportarlo in laboratorio secondo la normale procedura operativa della propria struttura sanitaria. Conservare i campioni a 2-8 °C fino al momento del test o congelare i campioni se il test non verrà eseguito entro 72 ore dalla raccolta. Non congelare e scongelare i campioni di analisi più di due volte. Non si consiglia di sottoporre a centrifugazione il campione di analisi.

12 Procedura

12.1 Preparazione della cartuccia

Per inserire il campione e i reagenti nella cartuccia (Figura 1), procedere nel modo seguente.

1. Prendere una cartuccia e i reagenti dalla confezione.
2. Aprire la fiala del reagente legante (1) ruotando e spezzando il cappuccio.
3. Introdurre la punta della fiala del reagente legante (1) nella camera della cartuccia 1 e spremere la fiala fino a svuotarla di tutto il contenuto.
4. Aprire la fiala del reagente di lavaggio (2) ruotando e spezzando il cappuccio.
5. Introdurre la punta della fiala del reagente di lavaggio (2) nella camera della cartuccia 2 e spremere la fiala fino a svuotarla di tutto il contenuto.
6. Aprire la fiala del reagente di eluizione (3) ruotando e spezzando il cappuccio.
7. Introdurre la punta della fiala del reagente di eluizione (3) nella camera della cartuccia 3 e spremere la fiala fino a svuotarla di tutto il contenuto.
8. Con la pipetta da 200 µl, aggiungere 140 µl di reagente di lisi (4) nella camera della cartuccia 4S. Gettare il flaconcino del reagente di lisi (4).

9. Con la pipetta da 200 µl, aggiungere 140 µl di campione nella camera della cartuccia 4S. Per evitare la formazione di grosse bolle d'aria, tenere il puntale della pipetta sulla sommità della camera e dispensare lentamente il campione.
10. Chiudere il coperchio della cartuccia.

Importante Accertarsi di collocare la cartuccia all'interno dello strumento GeneXpert Dx e di avviare il test entro 30 minuti dall'aggiunta dei reagenti.

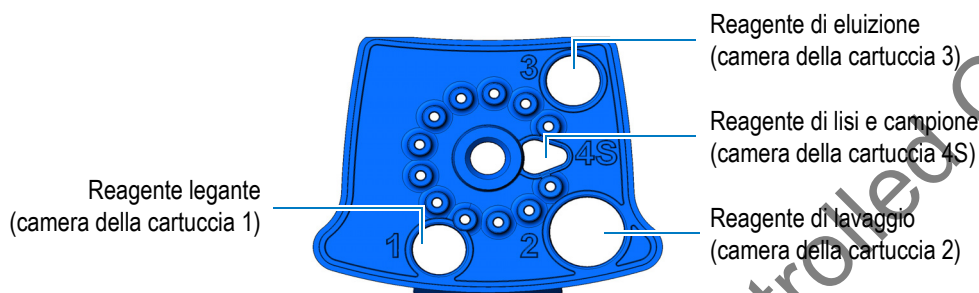


Figura 1. Cartuccia Xpert EV (vista dall'alto)

12.2 Avvio del test

Nota Prima di iniziare il test, accertarsi che la definizione del saggio Xpert EV sia importata nel software (consultare le istruzioni fornite con il CD relativo al saggio). Se non si dispone del CD relativo al saggio Xpert EV, contattare l'assistenza tecnica di Cepheid.

Questa sezione elenca le fasi principali di esecuzione del test. Per istruzioni dettagliate, vedere il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx*.

1. Accendere il computer, quindi lo strumento GeneXpert Dx.
2. Sul desktop di Windows® fare doppio clic sull'icona del collegamento GeneXpert Dx.
3. Effettuare l'accesso al software del sistema GeneXpert Dx inserendo il nome utente e la password.
4. Nella finestra del sistema GeneXpert Dx, fare clic su **Crea analisi (Create Test)**. Viene visualizzata la finestra di dialogo Esegui scansione del codice a barre della cartuccia (Scan Cartridge Barcode).
5. Eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia Xpert EV. Verrà visualizzata la finestra Crea analisi (Create Test). Usando le informazioni contenute nel codice a barre, il software riempie automaticamente le caselle seguenti: Selezione saggio (Select Assay), ID lotto reagente (Reagent Lot ID), N/S cartuccia (Cartridge S/N) e Data di scadenza (Expiration Date).
6. Nella casella ID campione (Sample ID), effettuare la scansione o immettere l'ID del campione. Accertarsi di digitare correttamente l'ID del campione. L'ID del campione sarà associato ai risultati del test e riportato nella finestra Visualizza risultati (View Results) e su tutti i rapporti.
7. Fare clic su **Avvia analisi (Start Test)**. 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 del modulo. Accertarsi che la spia verde lampeggiante diventi fissa.
10. Al termine del test, la spia del modulo dello strumento si spegne.
11. Attendere che il sistema abbia sbloccato lo sportello del modulo prima di aprirlo, quindi rimuovere la cartuccia.
12. Per gettare via la cartuccia attenersi alle linee guida sulla sicurezza del laboratorio.

13 Visualizzazione e stampa dei risultati

Per istruzioni dettagliate sulle modalità di visualizzazione e stampa dei risultati, vedere il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx*.

14 Controllo qualità

CONTROL

I requisiti del controllo di qualità devono essere eseguiti in conformità con le normative locali, regionali e nazionali o i requisiti di accreditamento e le procedure standard di controllo di qualità del laboratorio.

Ciascun test comprende due controlli interni per convalidare il saggio: Controllo per il trattamento dei campioni/controllo interno e verifica della sonda. I campioni del test vengono controllati in base alle seguenti procedure:

- Controllo per il trattamento dei campioni/controllo interno (SPC/IC)**-L'SPC/IC è un pseudovirus di RNA incapsidato sotto forma di una microsfera essiccata ed è incluso in ciascuna cartuccia. L'SPC/IC verifica l'adeguatezza della lisi del bersaglio EV e dell'elaborazione del campione, e rileva l'interferenza del saggio.
Tale controllo viene miscelato al campione per verificare che il campione sia trattato in modo adeguato e per monitorare l'integrità del saggio di RT-PCR. L'SPC/IC si considera accettato se soddisfa i criteri di accettazione validati. Tenere presente che nel software del sistema GeneXpert Dx, CIC è il nome che indica l'SPC/IC.
- Verifica della sonda**-Prima dell'avvio della reazione PCR, il sistema esegue una verifica della sonda sia sul bersaglio EV sia sull'SPC/IC per confermare la reidratazione delle microsfere dei reagenti e il riempimento della provetta di reazione. Ogni verifica della sonda si considera accettata se soddisfa i criteri di accettazione validati.
- Controlli esterni**-I controlli esterni devono essere utilizzati per la formazione, i test di competenza e il controllo di qualità esterno del sistema GeneXpert Dx. I controlli esterni devono essere usati in conformità con i requisiti degli organismi di accreditamento locali, regionali e nazionali pertinenti. I controlli esterni possono essere preparati diluendo il Coxsackievirus ceppo A9 (Bozek) o Coxsackievirus ceppo A6 CG (Gdula) con LCS di paziente negativo noto o LCS sintetico (ad es. SeraCare Life Sciences Inc. - Numero di catalogo HSP-515) a circa 10^6 - 10^8 TCID₅₀/ml con un intervallo EV C_t di 32 - 35 per il saggio Xpert EV.

15 Interpretazione dei risultati

I risultati sono disponibili nella finestra Visualizza risultati (View Results) del sistema GeneXpert Dx. I possibili risultati sono descritti in questa sezione.

Nota

Nella finestra Visualizza risultati (View Results) del sistema GeneXpert Dx, l'SPC/IC viene visualizzato come CIC nella colonna Nome dell'analita (Analyte Name).

Attenzione



I risultati ottenuti con il saggio Xpert EV dovranno essere utilizzati esclusivamente in aggiunta alle osservazioni cliniche e alle altre informazioni a disposizione del medico. I risultati Xpert EV positivi non escludono altre cause di meningite, inclusi batteri, micobatteri, altri virus (ad es. i virus della famiglia dell'herpes, gli arbovirus, il virus parotitico, ecc.) e funghi.

Tabella 1. Risultati e interpretazione di Xpert EV

Risultato	Interpretazione
POSITIVO (POSITIVE) Figura 2	L'acido nucleico bersaglio EV viene rilevato (sistema GeneXpert Dx- finestra Visualizza risultati (View Results)). Notare che l'SPC/IC è visualizzato come CIC.): <ul style="list-style-type: none"> EV – POS CIC (SPC/IC) – NA (Quando il titolo EV è elevato, l'RT-PCR dell'SPC potrebbe essere soppresso.) Verifica della sonda – AMMESSO (PASS) I risultati Xpert EV positivi non escludono altre cause di meningite, inclusi batteri, micobatteri, altri virus (ad es. i virus della famiglia dell'herpes, gli arbovirus, il virus parotitico, ecc.) e funghi.
NEGATIVO (NEGATIVE) Figura 3	L'acido nucleico bersaglio EV non viene rilevato, ma l'SPC soddisfa i criteri di accettazione (sistema GeneXpert Dx-finestra Visualizza risultati (View Results)). Notare che l'SPC/IC viene visualizzato come CIC.): <ul style="list-style-type: none"> EV – NEG CIC (SPC/IC) – AMMESSO (PASS) Verifica della sonda – AMMESSO (PASS) I risultati Xpert EV negativi non escludono che l'enterovirus sia la causa della meningite ma indicano che l'enterovirus non è stato identificato.

Tabella 1. Risultati e interpretazione di Xpert EV (continua)

Risultato	Interpretazione
NON VALIDO (INVALID) Figura 4	La presenza o l'assenza di acido nucleico bersaglio EV non può essere determinata. Ripetere il test con un campione supplementare. L'SPC/IC non soddisfa i criteri di accettazione, il campione non è stato trattato correttamente o la PCR è stata inibita (sistema GeneXpert Dx-finestra Visualizza risultati (View Results). Notare che l'SPC/IC viene visualizzato come CIC.): <ul style="list-style-type: none"> • EV – NON VALIDO (INVALID) • CIC (SPC/IC) – RESPINTO (FAIL) • Verifica della sonda – AMMESSO (PASS)
ERRORE (ERROR)	La presenza o l'assenza di acido nucleico bersaglio EV non può essere determinata. Ripetere il test con un campione supplementare. Il controllo per la verifica della sonda non ha avuto esito positivo probabilmente perché è stato rilevato il riempimento inadeguato della provetta di reazione, un problema di integrità della sonda o il saggio è stato interrotto. <ul style="list-style-type: none"> • EV – NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • CIC (SPC/IC) – NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • Verifica della sonda – RESPINTO (FAIL)
NESSUN RISULTATO (NO RESULT)	La presenza o l'assenza di acido nucleico bersaglio EV non può essere determinata. Ripetere il test con un campione supplementare. La quantità di dati raccolta non è sufficiente per generare i risultati del test (l'operatore, per esempio, ha interrotto l'esecuzione di un test): <ul style="list-style-type: none"> • EV – NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • CIC (SPC/IC) – NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • Verifica della sonda – NA

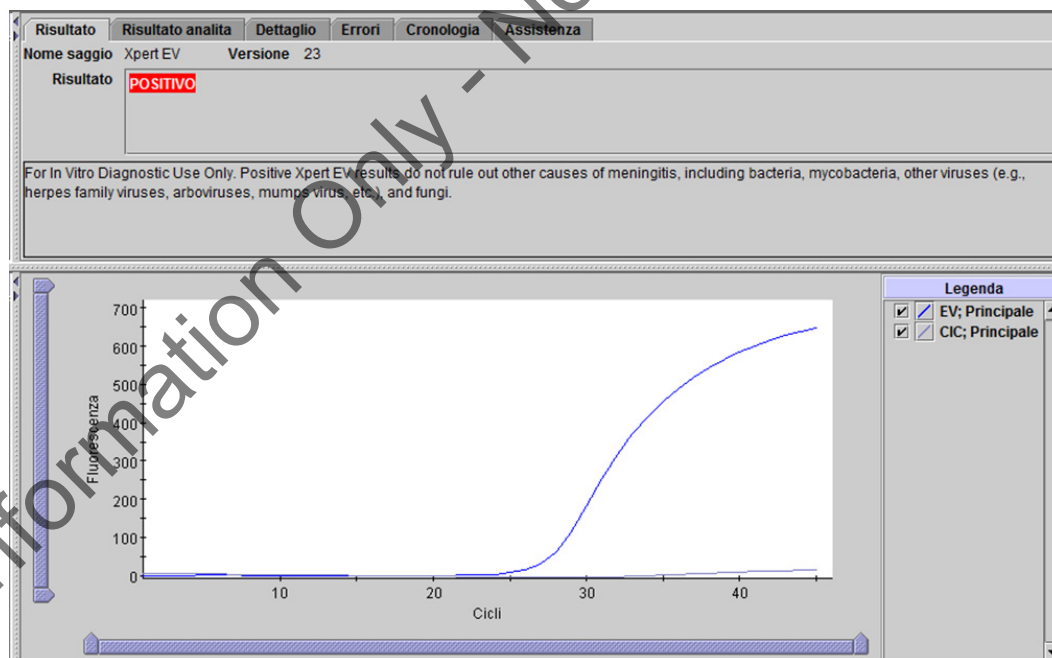


Figura 2. Risultato positivo Xpert EV
(Sistema GeneXpert® Dx-finestra Visualizza risultati (View Results).
Notare che l'SPC/IC è visualizzato come CIC.)

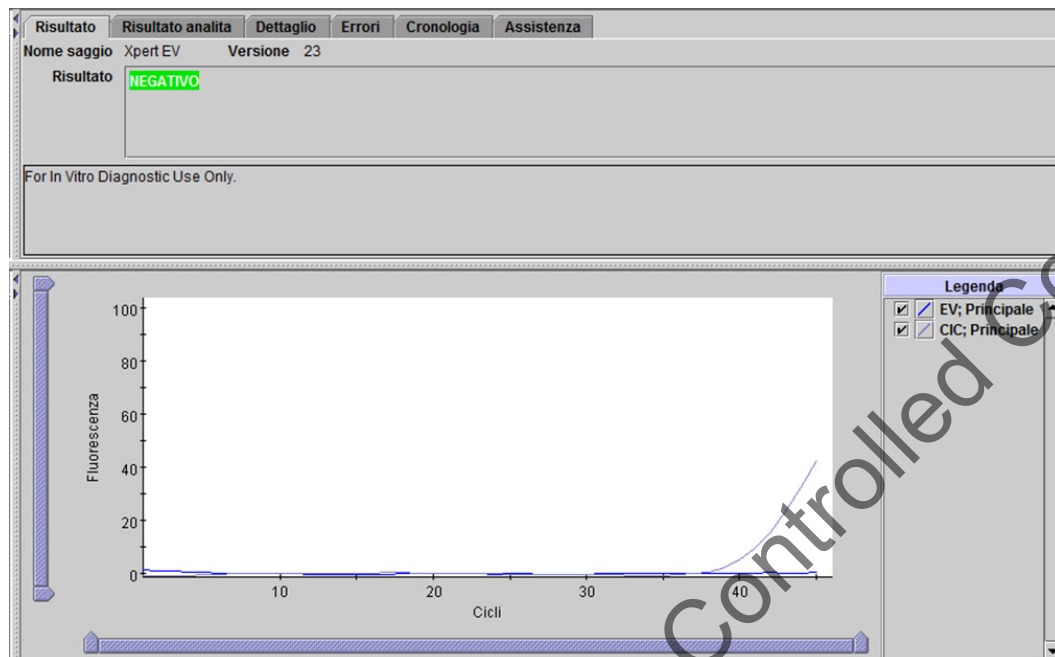


Figura 3. Risultato negativo
 (Sistema GeneXpert® Dx - finestra Visualizza risultati (View Results).
 Notare che l'SPC/IC viene visualizzato come CIC.)

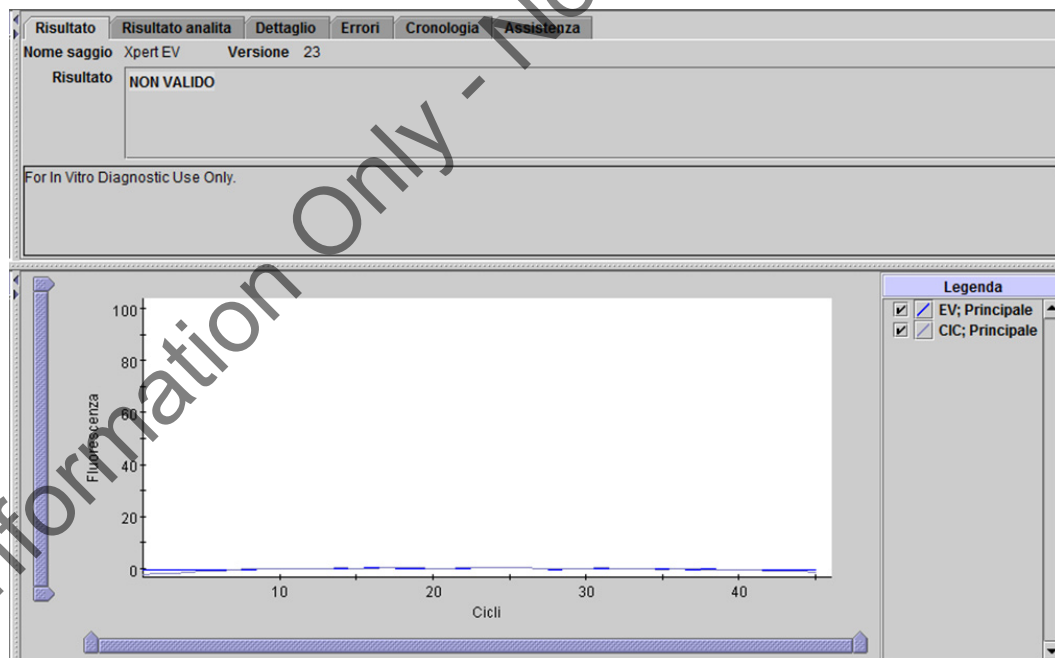


Figura 4. Risultato non valido Xpert EV
 (Sistema GeneXpert® Dx - finestra Visualizza risultati (View Results).
 Notare che l'SPC/IC viene visualizzato come CIC.)

16 Motivi per ripetere il saggio

16.1 Motivi per ripetere il test

Se vengono generati i seguenti risultati, ripetere il test con un nuovo campione:

- Un risultato **NON VALIDO (INVALID)** indica che i controlli SPC/IC non sono stati superati. Il campione non è stato trattato correttamente o la PCR è stata inibita.

- Il risultato **ERRORE (ERROR)** indica che il controllo per la verifica della sonda non ha avuto esito positivo e il saggio è stato interrotto, probabilmente a causa del riempimento inadeguato della provetta di reazione, dell'individuazione di un problema a livello di integrità della sonda o del superamento dei limiti massimi di pressione.
- **NESSUN RISULTATO (NO RESULT)** indica che i dati raccolti sono insufficienti. Ad esempio, l'operatore ha interrotto un test in corso.

17 Limitazioni

- I risultati del saggio Xpert EV devono essere interpretati insieme ad altri dati clinici e di laboratorio a disposizione del medico. Il risultato positivo del saggio Xpert EV non esclude la presenza di altri patogeni quali batteri nel LCS. Come con qualsiasi saggio molecolare, è sempre possibile ottenere risultati falso positivi. In letteratura sono stati riportati rari casi di meningite virale batterica mista simultanea.^{9, 10, 11} Le prestazioni del saggio Xpert EV sono state convalidate utilizzando soltanto le procedure fornite in questo foglietto illustrativo e il sistema Cepheid GeneXpert Dx. Non devono essere apportare modifiche a queste procedure in quanto si potrebbero compromettere le prestazioni del test.
- Il saggio Xpert EV deve essere utilizzato soltanto per il rilevamento di enterovirus. I risultati negativi dei test non escludono la presenza di enterovirus. Il presente test non esclude la possibilità di meningite indotta da herpes o meningite fungina. Per escludere tali infezioni sono necessari ulteriori test.
- Risultati erronei del test possono derivare da una raccolta impropria dei campioni di analisi; dalla mancata osservanza delle procedure consigliate per la raccolta, la manipolazione e la conservazione dei campioni; da errori tecnici; dallo scambio accidentale dei campioni o dalla presenza di un numero eccessivamente basso (inferiore alla soglia di rilevamento del test) di organismi nel campione di analisi. La rigorosa osservanza delle istruzioni del presente foglietto illustrativo è necessaria per evitare risultati erronei.
- Mutazioni o polimorfismi nelle regioni leganti il primer o la sonda possono compromettere il rilevamento di varianti nuove o sconosciute e possono generare risultati falsi negativi.

Attenzione



Come con altre procedure diagnostiche, i risultati ottenuti con il saggio Xpert EV dovranno essere utilizzati esclusivamente in aggiunta alle osservazioni cliniche e alle altre informazioni a disposizione del medico. I risultati Xpert EV positivi non escludono altre cause di meningite, inclusi batteri, micobatteri, altri virus (ad es. i virus della famiglia dell'herpes, gli arbovirus, il virus parotitico, ecc.) e funghi.

18 Sostanze interferenti

Sono stati condotti degli studi sulle sostanze potenzialmente interferenti rilevate nel liquido cerebrospinale (LCS). Le sostanze analizzate erano globuli bianchi, proteine, sangue intero ed emoglobina. Il contenuto di WBC è stato analizzato utilizzando i leucociti (cellule di leucemia umana K562) addizionati al LCS.

Per far fronte a potenziali interferenze dovute a rachicentesi con sangue, sono stati analizzati campioni di LCS umano contaminati con vari livelli (fino a 125.000 RBC/mm³) di sangue.

Gli intervalli di concentrazione e le sostanze interferenti rilevate nel LCS normale sono indicati nella Tabella 2. Sono anche indicati gli intervalli potenziali rinvenuti nel liquido cerebrospinale durante la meningite. Ciascuna sostanza è stata addizionata a livelli che potrebbero essere riscontrati in pazienti normali o affetti da meningite.

Tutti i test sono stati eseguiti con LCS arricchito con sierotipo di enterovirus CVA9 a 80 TCID₅₀/ml (~3x LOD).

Tabella 2. Campioni di sostanze endogene potenzialmente interferenti analizzate con Xpert EV

Sostanza	Intervallo di concentrazione rilevato nel LCS normale	Potenziale intervallo di concentrazione nel LCS (durante la meningite)	Campione testato con Xpert EV	Concentrazione analizzata
WBC	0-5 cellule/mm ³	5-5000 cellule/mm ³	Cellule K562	Cellule/mm ³ : 0, 3,57, 35,7, 357, 7140
Proteine LCS	13-40 mg/dl	15-217 mg/dl	BSA: IgG (rapporto 1:1)	Concentrazione di proteine mg/dl 0, 30, 300, 1071
Sangue	Nessuno	Non applicabile	14 LCS umani da rachicentesi con sangue	Dallo 0% a circa il 2,5% v/v di sangue

Tabella 2. Campioni di sostanze endogene potenzialmente interferenti analizzate con Xpert EV (continua)

Sostanza	Intervallo di concentrazione rilevato nel LCS normale	Potenziale intervallo di concentrazione nel LCS (durante la meningite)	Campione testato con Xpert EV	Concentrazione analizzata
Emoglobina	12-18 g/dl RBC	Non applicabile tranne che per rachicentesi con sangue	Emoglobina (polvere ferrosa) addizionata al LCS	HgB g/dl 0, 0,36, 0,71, 2,14, 3,6 [Rappresenta approssimativamente w/v di sangue nel LCS, rispettivamente: 0%, 2,5%, 5%, 15%, 25%]

Come indicato nella Tabella 3, risultati positivi per enterovirus sono stati ottenuti persino quando nel saggio era stato introdotto il livello più alto di sostanza potenzialmente interferente.

Tabella 3. Risultati dello studio con sostanze endogene potenzialmente interferenti testate con Xpert EV

Sostanza interferente	Concentrazione	EV C _t
Nessuna (Controllo n = 8)	Non applicabile	36,1
Proteina (n = 4)	1071 mg/dl	38,2
WBC (n = 4)	7140 cellule/mm ³	37,2
Rachicentesi con sangue, campione di analisi 1	2,5% v/v sangue	35,9
Rachicentesi con sangue, campione di analisi 2	2,5% v/v sangue	35,0
Rachicentesi con sangue, campione di analisi 3	2,5% v/v sangue	35,3
Emoglobina (n = 4)	3,6 g/dl	36,9

19 Caratteristiche prestazionali

19.1 Prestazioni cliniche

Le caratteristiche prestazionali del saggio Xpert EV sono state determinate in uno studio sperimentale multicentrico condotto presso sei strutture sanitarie.

Per essere arruolato nello studio clinico, un paziente deve aver ricevuto una puntura lombare a causa dei sintomi di meningite e deve essere stato sottoposto a un test EV e/o un test di coltura virale prescritto dal medico. Dal paziente deve essere stato prelevato un volume sufficiente di LCS in eccesso (maggiore o uguale a 0,5 ml) e il paziente deve aver fornito il consenso informato scritto. I campioni dei pazienti sono stati esclusi se il liquido cerebrospinale per il test dell'acido nucleico era stato centrifugato o se il saggio Xpert EV e i saggi per la determinazione della verità clinica non sono stati eseguiti entro lo stesso ciclo di congelamento-scongelo del campione. È stata anche considerata l'anamnesi clinica dei pazienti: segni e sintomi clinici; giorni dall'insorgenza dei sintomi; temperatura massima; cronologia dei contatti; RBC LCS, WBC e differenziale; glucosio LCS e proteine totali; coltura batterica LCS e colorazione di Gram; glucosio nel sangue e coltura virale di altri campioni, se disponibili.

Un paziente è stato definito affetto da meningite EV (diagnosi clinica) se sono stati soddisfatti i seguenti criteri: evidenza clinica coerente con meningite, risultati di laboratorio per colorazione di Gram dell'LCS, coltura batterica dell'LCS, glucosio LCS, rapporto glucosio nel sangue dell'LCS, concentrazione totale di proteine dell'LCS, conta dei leucociti dell'LCS e rilevamento di un genoma EV nell'LCS e/o coltura EV dell'LCS positiva.

Inizialmente, per l'arruolamento, sono stati presentati 475 pazienti. Quarantuno pazienti non hanno soddisfatto i criteri di inclusione allo studio e sono stati successivamente eliminati dall'analisi lasciando 434 soggetti analizzabili di cui 255 hanno ricevuto risultati da tutti i test sopra descritti.

È stato arruolato un totale di 199 pazienti prospettici eleggibili, 133 pazienti hanno ricevuto i 6 risultati di laboratorio per la valutazione della "verità clinica". La sensibilità e la specificità clinica di Xpert EV sono indicate nella Tabella 4.

Tabella 4. Valutazione di campioni clinici prospettici rispetto alla “Diagnosi clinica”

Diagnosi clinica ^a			
Xpert EV		+	-
	+	26	3
	-	1	103
Totali		27	106

Sensibilità clinica: 96,3% (26/27); IC del 95% 81,0 - 99,9%
 Specificità clinica: 97,2% (103/106); IC del 95% 91,9 - 99,4%

È stato arruolato un totale di 235 pazienti retrospettivi eleggibili, 122 pazienti hanno ricevuto i 6 risultati di laboratorio per la valutazione della “verità clinica”. La sensibilità e la specificità clinica di Xpert EV sono indicate nella Tabella 5.

Tabella 5. Campioni clinici provenienti da banche e raccolti in modo prospettico valutati rispetto alla “Diagnosi clinica”

Diagnosi clinica ^a			
Xpert EV		+	-
	+	23	3
	-	0	96
Totali		23	99

Sensibilità clinica: 100% (23/23); IC del 95% 85,2 - 100%
 Specificità clinica: 97,0% (96/99); IC del 95% 91,4 - 99,4%

- a. Un paziente è stato definito affetto da meningite EV (diagnosi clinica) se sono stati soddisfatti i seguenti criteri: evidenza clinica coerente con meningite, risultati di laboratorio per colorazione di Gram dell'LCS, coltura batterica dell'LCS, glucosio LCS, rapporto glucosio nel sangue dell'LCS, concentrazione totale di proteine dell'LCS, conta dei leucociti dell'LCS e rilevamento di un genoma EV nell'LCS e/o coltura EV dell'LCS positiva.

Ciascuno dei 133 campioni clinici prospettici e dei 122 campioni clinici provenienti da banche e raccolti in modo prospettico è stato raggruppato in base all'età. La sensibilità e la specificità clinica di ciascun gruppo di età sono indicate nella Tabella 6.

Tabella 6. Prestazioni cliniche del saggio Xpert EV in riferimento a “Diagnosi clinica” per età

Età	Campioni clinici prospettici		Campioni clinici raccolti in modo prospettico e provenienti da banche	
	Sensibilità clinica	Specificità clinica	Sensibilità clinica	Specificità clinica
Neonatale (meno di 2 mesi)	100,0% (14/14)	96,0% (24/25)	100,0% (4/4)	90,0% (18/20)
Pediatrico (da 2 mesi a 17 anni)	92,3% (12/13)	97,2% (69/71)	100,0% (14/14)	98,1% (51/52)
Adulti (dai 18 anni in su)	(0/0)	100,0% (10/10)	100,0% (5/5)	100,0% (27/27)
Totale	96,3% (26/27)	97,2% (103/106)	100% (23/23)	97,0% (96/99)

Le colture virali sono state eseguite nel 73,7% (320/434) dei campioni idonei; i campioni rimanenti contenevano un LCS insufficiente per la coltura. Campioni di LCS provenienti da 263 soggetti con sufficiente volume in eccesso sono stati inviati a un laboratorio centrale designato per la coltura virale. Inoltre, le colture virali di 114 campioni di pazienti sono state eseguite presso i siti di arruolamento. Nei siti di arruolamento e nel laboratorio centrale sono state eseguite le colture virali di 57 di questi 114 soggetti. Cinquantasei su 57 soggetti hanno riportato risultati di coltura concordanti, un soggetto ha riportato risultati discrepanti nella coltura locale e centrale.

Il laboratorio centrale ha utilizzato fiale di Super E-Mix Shell per la coltura virale e le cellule sono state colorate con anticorpo anti pan-enterovirus. Le cellule positive per l'anticorpo anti pan-enterovirus sono state ulteriormente colorate con l'anticorpo di immunofluorescenza indiretta per l'identificazione di enterovirus. Ciascun sito di arruolamento ha utilizzato la propria procedura standard per la coltura virale.

Dei 199 campioni prospettici idonei, 131 avevano risultati di coltura virale. Non vi erano risultati discrepanti tra i test di coltura virale dei siti di arruolamento e del laboratorio centrale. Le concordanze positiva e negativa tra l'Xpert EV e la coltura virale sono indicate nella Tabella 7.

Tabella 7. Campioni clinici prospettici valutati rispetto alla coltura virale

Coltura virale			
		+	-
Xpert EV	+	8	13
	-	0	110
Totali		8	123

Concordanza positiva: 100,0% (8/8) IC del 95% 63,1-100,0%

Concordanza negativa: 89,4% (110/123) IC del 82,65-94,3%

Dei 235 campioni retrospettivi idonei, 211 avevano risultati di coltura virale. Le concordanze positiva e negativa tra l'Xpert EV e la coltura virale sono indicate nella Tabella 8.

Tabella 8. Campioni clinici provenienti da banche e raccolti in modo prospettico valutati rispetto alla coltura virale

Coltura virale			
		+	-
Xpert EV	+	22	35
	-	1	153
Totali		23	188

Concordanza positiva: 95,7% (22/23) IC del 95% 78,1-99,9%

Concordanza negativa: 81,4% (153/188) IC del 95% 75,1-86,7%

I 434 pazienti idonei sono raggruppati per età e sesso; il numero e la percentuale di casi positivi sono calcolati e riportati nella Tabella 9.

Tabella 9. Valori attesi per Xpert EV in popolazione con segni e sintomi coerenti con la meningite

Intervallo di età (anni)	Sesso	Risultati Xpert EV		Totale
		Nr. positivi (%)	Nr. negativi (%)	
< 1	M	34 (29,3)	82 (70,7)	116
	F	26 (28,3)	66 (71,7)	92
1 - 5	M	8 (25,0)	24 (75,0)	32
	F	3 (11,1)	24 (88,9)	27

Tabella 9. Valori attesi per Xpert EV in popolazione con segni e sintomi coerenti con la meningite (continua)

Intervallo di età (anni)	Sesso	Risultati Xpert EV		Totale
		Nr. positivi (%)	Nr. negativi (%)	
6 - 10	M	3 (31,4)	24 (68,6)	35
	F	3 (17,6)	14 (82,4)	17
11 - 15	M	8 (33,3)	16 (66,7)	24
	F	3 (15,0)	17 (85,0)	20
16 - 21	M	3 (20,0)	12 (80,0)	15
	F	3 (25,0)	9 (75,0)	12
>21	M	2 (10,0)	18 (90,0)	20
	F	3 (12,5)	21 (87,5)	24
Totale		107 (24,7)	327 (75,3)	434

19.2 Test di reattività analitica/sierotipo di enterovirus

Un totale di 60 sierotipi di enterovirus sono stati testati con il saggio Xpert EV. Le diluizioni di stock virale sono state analizzate in replicati di 3 per ciascun sierotipo al LOD presunto. Le diluizioni sono state effettuate in campioni umani EV negativi riuniti in pool. La sensibilità analitica stimata è mostrata in Tabella 10 sotto.

Sessanta dei sierotipi sono stati testati e le TCID₅₀/ml stimate alle quali questi sierotipi possono essere rilevati sono mostrate in Tabella 10.

Tabella 10. Sensibilità analitica stimata

Specie	Sierotipo	TCID ₅₀ /ml stimata
A	Coxsackie A3	5,01
A	Coxsackie A5	12,59
A	Coxsackie A6	12,59
A	Coxsackie A7	3,33
A	Coxsackie A10	2,81
A	Coxsackie A12	19,95
A	Coxsackie A14	0,10
A	Coxsackie A16	0,002
A	EV 71	0,16
B	Coxsackie A9	20,00
B	Coxsackie B1	4,00
B	Coxsackie B2	0,20
B	Coxsackie B3	0,028
B	Coxsackie B4	0,40
B	Coxsackie B5	0,04
B	Coxsackie B6	0,01
B	Echo 1	0,10
B	Echo 2	0,032
B	Echo 3	200,00
B	Echo 4	0,00032

Tabella 10. Sensibilità analitica stimata (continua)

Specie	Sierotipo	TCID ₅₀ /ml stimata
B	Echo 5	0,032
B	Echo 6	200,00
B	Echo 7	2,00
B	Echo 8	0,10
B	Echo 9	2,00
B	Echo 11	40,00
B	Echo 12	1,58
B	Echo 13	0,01
B	Echo 14	0,0005
B	Echo 15	0,0032
B	Echo 16	0,0005
B	Echo 17	0,05
B	Echo 18	0,0002
B	Echo 19	2,51
B	Echo 20	0,032
B	Echo 21	1,00
B	Echo 24	0,02
B	Echo 25	0,50
B	Echo 26	0,032
B	Echo 27	0,00032
B	Echo 29	5,01
B	Echo 30	0,01
B	Echo 31	0,0032
B	Echo 32	0,10
B	Echo 33	0,05
B	EV 69	0,0002
C	Coxsackie A11	0,11
C	Coxsackie A13	13,27
C	Coxsackie A15	0,0032
C	Coxsackie A17	1,58
C	Coxsackie A18	0,02
C	Coxsackie A19	0,03
C	Coxsackie A20	0,002
C	Coxsackie A21	0,03
C	Coxsackie A22	0,02
C	Coxsackie A24	0,10
D	EV 68	199,53
D	EV 70	2,00
Poliovirus	Poliovirus 1 ^a	2,00
Poliovirus	Poliovirus 2 ^a	0,40

Tabella 10. Sensibilità analitica stimata (continua)

Specie	Sierotipo	TCID ₅₀ /ml stimata
Poliovirus	Poliovirus 3 ^a	20,00



- a. AVVERTENZA - Quando si lavora con i Poliovirus, accertarsi che vengano seguite adeguate procedure di contenimento a livello di biosicurezza.

20 Specificità analitica

Le sequenze primer e sonda utilizzate nel saggio Xpert EV non rilevano l'acido nucleico estratto dai seguenti organismi noti per causare sintomi simili alla meningite: EBV, HSV-1, HSV-2, HHV-6, HHV-7, AdV-2, Morbillo, Parotite, Parainfluenza 1-3, Influenza A, Influenza B, VZV, CMV, Streptococco di gruppo B, *Haemophilus influenzae* B, *H. influenzae* non-B, *Escherichia coli*, *Neisseria meningitidis*, *Citrobacter freundii*, e *Citrobacter koseri*, né il test Xpert EV genera alcun amplicone rilevabile quando "interi organismi" dei patogeni elencati sono stati trattati attraverso la cartuccia Xpert EV. La tabella seguente presenta gli organismi testati e la concentrazione di ciascun organismo testato.

Interi organismi sono stati testati per rilevare la specificità nel saggio Xpert EV e le concentrazioni di organismi testati sono indicate nella Tabella 11.

Tabella 11. Specificità analitica del saggio Xpert EV

Organismo	N. organismi/test
HHV-6	3,1 x 10 ⁶ particelle
HHV-7	1,4 x 10 ⁷ particelle
CMV	700 TCID ₅₀
EBV	140 TCID ₅₀
HSV-1	1,4 x 10 ⁵ TCID ₅₀
HSV-2	1,4 x 10 ⁵ TCID ₅₀
AdV-2	1,4 x 10 ¹² TCID ₅₀
Morbillo	700 TCID ₅₀
Parotite	1,4 x 10 ⁴ TCID ₅₀
Parainfluenza 1	1,4 x 10 ³ TCID ₅₀
Parainfluenza 2	7 x 10 ³ TCID ₅₀
Parainfluenza 3	1,4 x 10 ⁴ TCID ₅₀
Influenza A	3,5 x 10 ⁴ TCID ₅₀
Influenza B	3,5 x 10 ⁴ TCID ₅₀
VZV	14 TCID ₅₀
Streptococco di gruppo B	7 x 10 ⁶ cellule
<i>H. influenzae</i> B	7 x 10 ⁶ cellule
<i>H. influenzae</i> non-B	7 x 10 ⁵ cellule
<i>E. coli</i>	7 x 10 ⁶ cellule
<i>N. meningitidis</i>	7 x 10 ⁶ cellule
<i>C. freundii</i>	7 x 10 ⁶ cellule
<i>C. koseri</i>	7 x 10 ⁶ cellule

21 Sensibilità analitica

Per sensibilità analitica, o limite di rilevamento (LOD), si intende la concentrazione minima, o la quantità di analita che, in base alla dimostrazione fornita dall'analisi di laboratorio, è distinta in modo riproducibile da un campione negativo con un livello di confidenza del 95%. Le diluizioni sono state effettuate in campioni umani EV negativi riuniti in pool. Per la determinazione della confidenza statistica del LOD, sono stati eseguiti replicati di 20, insieme a 20 campioni EV negativi. I campioni analizzati erano Coxsackievirus A6 (CVA6), Coxsackievirus A9 (CVA9), Coxsackievirus A17 (CVA17), Enterovirus 70 (EV70) e Poliovirus 1 (PV1). Non tutti i 63 sierotipi sono stati analizzati in numeri statisticamente significativi, dal momento che i siti di legame di primer e sonda sono conservati in tutti i sierotipi e la lunghezza dell'amplicone è la stessa per tutti i sierotipi, pertanto ci si aspetterebbe che l'efficienza di amplificazione sia la stessa per tutti i sierotipi. I cinque sierotipi sopra indicati sono stati selezionati in modo da rappresentare ciascuna delle specie di enterovirus CVA6 (A), CVA9 (B), CVA17 (C), EV70 (D) e PV1 (poliovirus).

Il LOD dei cinque (5) sierotipi, uno da ciascuna delle specie di enterovirus è indicato nella Tabella 12.

Tabella 12. Limite di rilevamento dei cinque (5) sierotipi

Sierotipo	Limite di rilevamento (TCID ₅₀ /ml)
CVA9	80,0
EV70	1,3
PV1	4,0
CVA17	1,0
CVA6	33,0

22 Riproducibilità

La riproducibilità è stata valutata in uno studio multicentrico, in cieco, utilizzando un pannello di precisione costituito da quattro campioni. Tre siti hanno analizzato ciascun pannello tre volte al giorno in 10 giorni di test, per un totale di 90 risultati per campione di pannello. Il pannello di precisione consisteva in un campione negativo e tre campioni positivi, ciascuno con un sierotipo EV specifico addizionato a LCS sintetico a una concentrazione vicina al limite di rilevamento.

La percentuale di concordanza, i valori medi di Ct per ciascuna concentrazione, le deviazioni standard associate, il coefficiente percentuale di variazione tra i giorni e tra i siti dello studio multicentrico sulla riproducibilità sono indicati nella Tabella 13.

Tabella 13. Riepilogo dei primi risultati di riproducibilità dello studio

Numero di campioni correttamente classificati				Tra i giorni			Tra centri		Totale	
Sierotipo (TCID ₅₀ /ml)	Centro 1	Centro 2	Centro 3	Media Ct EV	DS	% CV	DS	% CV	DS	% CV
Negativo (Negative)	30/30	30/30	30/30							
CVA6 (134)	30/30	30/30	29/29 ^a	35,0	0,343	0,98%	0,175	0,50%	1,101	3,15%
CVA9 (320)	30/30	30/30	30/30	34,4	0	0,00%	0	0,00%	0,61	1,77%
CVA17 (3)	30/30	30/30	29/29 ^a	33,8	0	0,00%	0	0,00%	0,414	1,22%
Concordanza totale	120/120	120/120	118/118							
% concordanza	100,00%	100,00%	100,00%							

a. Due campioni non hanno generato alcun risultato su GeneXpert.

Per provare ulteriormente il sistema, è stato eseguito un secondo studio. Uno studio di riproducibilità interno è stato condotto in quattro diversi giorni su più strumenti GeneXpert (31) e moduli ICORE (121). Due sottotipi di virus interi rappresentativi (cioè, Cocksackievirus CVA9 e Enterovirus EV70) sono stati addizionati in LCS umano negativo per creare campioni simulati a 2 x LOD e a 4 x LOD. Il campione negativo è stato testato 20 volte mentre due campioni positivi alle due concentrazioni sono stati testati cinque (5) volte al giorno. Dei campioni totali testati, vi erano due campioni con la dicitura “Non valido (Invalid)” e tre campioni con la dicitura “Nessun risultato (No Result)” dalle definizioni di controllo del software dello strumento. Dei 157 risultati refertabili, 155 sono stati classificati correttamente.

Il livello di concordanza, i valori medi di Ct per ciascuna concentrazione, le deviazioni standard associate e il coefficiente percentuale di variazione per ciascun giorno sono indicati nella Tabella 14.

Tabella 14. Riepilogo dei risultati del secondo studio di riproducibilità

ID campione di analisi		Concordanza totale-Risultati C _t					% concordanza totale
		Giorno 1	Giorno 2	Giorno 3	Giorno 4	Tutti i giorni	
Negativo (Negative)	Concordanza totale	20/20	18/18 ^a	20/20	20/20	78/78	100%
	Media	NA	NA	NA	NA	NA	
	DS	NA	NA	NA	NA	NA	
	% CV	NA	NA	NA	NA	NA	
CA9 2X LOD	Concordanza totale	4/5 ^b	5/5	4/5 ^b	5/5	18/20	90%
	Media	36,65	36,54	36,53	36,54	36,56	
	DS	0,56	0,46	0,21	0,69	0,48	
	% CV	1,53%	1,26%	0,57%	1,89%	1,31%	
CA9 4X LOD	Concordanza totale	5/5	5/5	5/5	4/4 ^c	19/19	100%
	Media	34,98	35,56	35,52	35,03	35,28	
	DS	0,58	0,67	0,7	0,3	0,6	
	% CV	1,52%	1,88%	1,97%	0,86%	1,70%	
EV70 2X LOD	Concordanza totale	5/5	5/5	5/5 ^d	5/5	20/20	100%
	Media	37,38	37,3	37,55	36,88	37,2	
	DS	1,78	0,74	2,01	0,81	1,3	
	% CV	4,76%	1,98%	5,35%	2,20%	3,49%	
EV70 4X LOD	Concordanza totale	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%
	Media	36,50	36,60	36,12	35,94	36,29	
	DS	0,58	0,97	0,29	0,84	0,72	
	% CV	1,59%	2,65%	0,80%	2,34%	1,98%	
Numero di strumenti utilizzati		10	11	10	10	31	
Numero di moduli utilizzati		40	41	41	40	121	

- a. Sessioni totali = 21, 2 - Nessun risultato, 1 - Non valido
 b. Sessioni totali = 5, 1 risultato negativo invece di positivo
 c. Sessioni totali = 5, 1 - Non valido
 d. Sessioni totali = 6, 1 - Nessun risultato

23 Riferimenti bibliografici

1. Viral (“Aseptic”) Meningitis. Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Infectious Diseases: Respiratory and Enteric Viruses Branch. http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/revb/enterovirus/viral_meningitis.htm (accessed April 11, 2006).
2. Rotbart HA. Viral meningitis. *Semin Neurol.* 2000; 20(3): 277-92.
3. Romero JR, Rotbart HA. Enteroviruses. In: Murray PR, Baron EJ, eds. *Manual of Clinical Microbiology.* 8th edition. Washington, DC: American Society for Microbiology, 2003: 1427-1438.
4. Robinson CC, Willis M, Meagher A, et al. Impact of rapid polymerase chain reaction results on management of pediatric patients with enteroviral meningitis. *Pediatric Infectious Disease Journal.* 2002; 21: 283-6.
5. 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.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
7. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
8. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
9. Wright HT, McAllister RM, Ward R. “Mixed” Meningitis: Report of a Case with Isolation of Haemophilus Influenzae Type B and ECHO Virus Type 9 from the Cerebrospinal Fluid. *New England Journal of Medicine.* 1962; 267: 142-144.
10. Sferra TJ, Pacini DL. Simultaneous recovery of bacteria and viral pathogens from cerebrospinal fluid. *Pediatric Infectious Disease Journal.* 1988; 7: 552-556.
11. Dronkert ML, Ketel AG, de Groot R. Simultaneous occurrence of group B Streptococcus and echovirus 20. *European Journal of Pediatrics.* 1996; 155: 915.

24 Ubicazione delle sedi centrali Cepheid

Sede centrale globale

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
Stati Uniti
Telefono: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Sede centrale europea

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Francia
Telefono: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

25 Assistenza Tecnica

Prima di contattare l'Assistenza Tecnica 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






















Informazioni di contatto

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

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

Le informazioni di contatto di tutti gli uffici di Assistenza Tecnica di Cepheid sono disponibili nel sito:
www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

26 Tabella dei simboli

Simbolo	Significato
	Numero di catalogo
	Dispositivo medico per uso diagnostico <i>in vitro</i>
	Non riutilizzare
	Codice lotto
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Attenzione
	Produttore
	Paese di produzione
	Contenuto sufficiente per <n> test
	Controllo
	Data di scadenza
	Marchio CE - Conformità europea
	Limiti di temperatura
	Rischi biologici
	Solo per uso su prescrizione
	Pericolo di liquidi infiammabili
	Attenzione
	Pericolo derivante dall'inalazione
	Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea
	Rappresentante autorizzato in Svizzera
	Importatore



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA
Telefono: +1 408.541.4191
Fax: +1 408.541.4192



Cepheid Europe S.A.S.
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Francia
Telefono: +33 563 825 300
Fax: +33 563 825 301
Email: support@cepheideurope.com



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



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



For Information Only - Not a Controlled Copy