

Xpert® Ebola

REF GXEBOLA-CE-10
GXEBOLA-CE-50

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries. All other trademarks are the property of their respective owners.

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

© 2015-2022 Cepheid.

Dichiarazioni relative a marchi di fabbrica, brevetti e copyright

Cepheid[®], il logo Cepheid, GeneXpert[®] e Xpert[®] sono marchi di Cepheid, registrati negli USA e in altri Paesi. Tutti gli altri marchi di fabbrica sono di proprietà dei rispettivi titolari.

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

© 2015-2022 Cepheid.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden

Xpert® Ebola

Solo per uso diagnostico *in vitro*.

1 Nome registrato

Xpert® Ebola

2 Nome comune o usuale

Xpert Ebola Assay (saggio Xpert Ebola)

3 Uso previsto

Il saggio Xpert Ebola è un test che si avvale della reazione a catena della polimerasi dopo retrotrascrizione in tempo reale (RT-PCR) per il rilevamento qualitativo dell'RNA dello Zaire ebolavirus (rilevato in Africa Occidentale nel focolaio epidemico del 2014) in sangue venoso intero in EDTA, sangue periferico ottenuto mediante puntura del dito o tampone buccale di individui con segni e sintomi di malattia da virus Ebola (MVE) in concomitanza con fattori di rischio epidemiologici.

È importante effettuare il test con il saggio Xpert Ebola solo sugli individui che soddisfano i criteri clinici ed epidemiologici per l'analisi dei casi sospetti.

I risultati sono destinati all'identificazione presuntiva dello Zaire ebolavirus. L'identificazione definitiva dell'infezione da Zaire ebolavirus richiede ulteriori test e procedure di conferma in consultazione con gli istituti di sanità pubblica e le altre autorità che ne richiedono notifica. La diagnosi di infezione da Zaire ebolavirus deve essere effettuata in base ad anamnesi, segni, sintomi, probabilità di esposizione e altra evidenza di laboratorio in aggiunta all'identificazione del virus stesso.

I risultati negativi non escludono un'eventuale infezione da Zaire ebolavirus o da altro virus Ebola e non devono essere usati come unica base per le decisioni riguardanti la gestione dei pazienti.

Il livello di virus Ebola presente nel sangue e nel tampone buccale di individui nei primi stadi dell'infezione sistemica non è noto. A causa delle difficoltà nell'ottenere campioni di analisi clinica Ebola-positivi, il saggio Xpert Ebola è stato valutato con un numero limitato di campioni di analisi artificiali inoculati con Zaire ebolavirus vivo o con RNA di Zaire ebolavirus. Il saggio non è stato valutato con sangue e tamponi buccali di individui con infezione da Zaire ebolavirus.

Notifica agli istituti di sanità pubblica – Gli istituti di sanità pubblica locali e nazionali devono ricevere notifica in merito a qualsiasi paziente che si sospetta abbia contratto malattia da virus Ebola. Per avere risultati definitivi su tale positività, sono necessari test di conferma da parte dei laboratori di sanità pubblica, test che potrebbero essere necessari anche per confermare i risultati negativi. Per qualsiasi risultato positivo o negativo del saggio Xpert Ebola, i laboratori devono consultarsi con le autorità di sanità pubblica locali o nazionali sulla necessità di ulteriori test e sui metodi di trasporto appropriati per i campioni di analisi.

4 Riepilogo e spiegazione

La malattia da virus Ebola (MVE) si è manifestata sporadicamente per decenni in focolai epidemici nell'Africa Occidentale, ma l'epidemia attuale è la più vasta mai verificatasi. A marzo 2015, gli individui infettati erano oltre 24.000 e più di 10.000 erano deceduti come conseguenza della malattia. L'MVE ora si è estesa oltre il continente africano, raggiungendo gli USA e l'Europa. Nelle aree endemiche, è alto anche il tributo pagato dagli operatori sanitari, con un tasso di mortalità superiore al 50%.¹ Dalla scoperta iniziale nel 1976, sono state descritte cinque specie di ebolavirus: Zaire, Sudan, Costa d'Avorio (Tai Forest), Bundibugyo e Reston Ebola. Tra queste specie, lo Zaire ebolavirus è quello che ha colpito le aree geografiche più ampie ed è la causa del recente focolaio epidemico.

Il saggio Xpert Ebola si avvale della tecnologia RT-PCR per conseguire alta sensibilità nel rilevamento qualitativo degli acidi nucleici totali dello Zaire ebolavirus nei campioni di analisi.

Per garantire un rilevamento accurato, il saggio Xpert Ebola è stato ideato in modo da rilevare il gene per la glicoproteina (GP) e/o quello per la nucleoproteina (NP). Si ritiene che ogni bersaglio sia presente nel 100% dello Zaire ebolavirus noto.

5 Principio della procedura

Il saggio Xpert Ebola è un test rapido e automatizzato per il rilevamento qualitativo dello Zaire ebolavirus. Il saggio viene eseguito sui sistemi di strumentazione GeneXpert Cepheid.

I sistemi di strumentazione GeneXpert consentono di automatizzare e integrare la preparazione dei campioni, l'amplificazione degli acidi nucleici e il rilevamento della sequenza bersaglio in campioni semplici o complessi mediante PCR dopo retrotrascrizione in tempo reale. I sistemi comprendono uno strumento, un computer e un software già installato per l'esecuzione dei test e la visualizzazione dei risultati. I sistemi richiedono l'uso delle cartucce GeneXpert monouso che contengono i reagenti di PCR dopo retrotrascrizione in tempo reale e in cui si svolgono i processi di retrotrascrizione in tempo reale. Essendo le cartucce chiuse, il rischio di contaminazione crociata tra i campioni è ridotto al minimo. Per una descrizione completa dei sistemi, vedere il *Manuale dell'operatore di GeneXpert Dx* o il *Manuale dell'operatore di GeneXpert Infinity*, come appropriato.

Il saggio Xpert Ebola include i reagenti per il rilevamento degli acidi nucleici totali dello Zaire ebolavirus nei campioni di analisi, oltre a un controllo di adeguatezza dei campioni e un controllo interno per assicurare che l'aggiunta dei campioni e il trattamento del bersaglio siano effettuati correttamente e per monitorare la presenza di inibitori nelle reazioni di retrotrascrizione e PCR. Il controllo per la verifica della sonda (Probe Check Control, PCC) verifica la reidratazione dei reagenti, il riempimento della provetta PCR nella cartuccia, l'integrità della sonda e la stabilità del colorante.

6 Reagenti e strumenti

6.1 Materiali in dotazione



I kit del saggio Xpert Ebola contengono una quantità di reagenti sufficiente per il trattamento di 10 o 50 campioni di analisi o campioni di controllo qualità. Il contenuto dei kit è il seguente.

Cartucce del saggio GeneXpert Ebola con provette di reazione integrate

- Microsfera 1, microsfera 2 e microsfera 3 (liofilizzate)
- Reagente di risciacquo
- Reagente di eluizione
- Reagente legante

10 per kit

- 1 di ciascuna per cartuccia
- 0,5 ml per cartuccia
- 2,0 ml per cartuccia
- 2,0 ml per cartuccia

50 per kit

- 1 di ciascuna per cartuccia
- 0,5 ml per cartuccia
- 2,0 ml per cartuccia
- 2,0 ml per cartuccia

Reagente per il campione di Ebola (reagente del campione)

- Reagente di lisi (guanidinio tiocianato)

10 bottiglie per kit

- 10 flaconi da 2,5 ml

50 bottiglie per kit

- 50 flaconi da 2,5 ml

Pipette di trasferimento da 1 ml monouso

10 per kit

50 per kit

CD

1 per kit

1 per kit

Nota

Le schede dati di sicurezza (Safety Data Sheets, SDS) sono disponibili sul sito www.cepheidinternational.com nella scheda SUPPORT (ASSISTENZA).

Nota

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

7 Conservazione e manipolazione



- Conservare le cartucce e i reagenti del saggio Xpert Ebola Assay a temperature comprese fra 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 versione 4.4a o successiva, Xpertise versione 6.2 o successiva, lettore di codici a barre e manuale dell'operatore.
- Stampante: se fosse necessaria una stampante, contattare l'Assistenza Tecnica di Cepheid per predisporre l'acquisto di una stampante consigliata.
- Tamponi monouso (n. di catalogo SWAB/E-50)
- Vortex
- Candeggina

9 Avvertenze e precauzioni



- Solo per uso diagnostico *in vitro*.
- Tutti i campioni biologici di analisi, comprese le cartucce usate, devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi. Poiché, nella maggior parte dei casi, è impossibile distinguere i potenziali veicoli di infezione, tutti i campioni biologici di analisi devono essere trattati attenendosi alle precauzioni standard. Le linee guida per il trattamento dei campioni di analisi sono disponibili presso l'ente statunitense per la prevenzione e il controllo delle malattie (U.S. Centers for Disease Control and Prevention) e l'istituto per gli standard clinici e di laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute).
- Gli istituti di sanità pubblica locali, regionali e nazionali devono ricevere notifica in merito a qualsiasi paziente che si sospetta abbia contratto malattia da virus Ebola (MVE). Per avere risultati definitivi su tale positività, sono necessari test di conferma da parte dei laboratori di sanità pubblica, test che potrebbero essere necessari anche per confermare i risultati negativi. Per qualsiasi risultato di test positivo per il rilevamento del virus Ebola OPPURE in assenza di rilevamento (risultato negativo), i laboratori devono consultarsi con le autorità di sanità pubblica locali o nazionali sulla necessità di ulteriori test e sui metodi di trasporto appropriati per i campioni di analisi.
- 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.
- Tutti i risultati devono essere interpretati da un operatore addestrato in concomitanza con l'esame dei segni e sintomi clinici del paziente e della relativa anamnesi.
- L'uso di questo saggio è riservato esclusivamente a personale addestrato.
- Quando si tratta più di un campione per volta, aprire una sola cartuccia; aggiungere il campione trattato con il reagente per il campione e chiudere la cartuccia prima di trattare il campione successivo. Cambiarsi i guanti tra un campione e l'altro.
- 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 e i reagenti del saggio.
- Durante il trattamento di sostanze chimiche e la manipolazione di campioni biologici, attenersi alle procedure di sicurezza della propria struttura.
- Non sostituire i reagenti del saggio Xpert Ebola Assay con altri reagenti.
- Non aprire il coperchio della cartuccia del saggio Xpert Ebola Assay se non per l'aggiunta del campione trattato con il reagente per il campione.
- Non usare la cartuccia se appare umida o se la chiusura ermetica del coperchio sembra rotta.
- Non utilizzare una cartuccia che è caduta dopo essere stata estratta dalla confezione.
- Non agitare la cartuccia. Se la cartuccia cade o viene agitata dopo l'apertura del coperchio, si potrebbero ottenere risultati non validi.
- Non utilizzare una cartuccia la cui provetta di reazione sia danneggiata.
- Ciascuna cartuccia monouso del saggio Xpert Ebola Assay serve per l'esecuzione di un singolo test. Non riutilizzare le cartucce usate.
- Ciascuna pipetta monouso serve per il trasferimento di un singolo campione di analisi. Non riutilizzare le pipette monouso usate.
- Ciascun tampone monouso serve per il prelievo e/o il trasferimento di un singolo campione di analisi. Non riutilizzare i tamponi monouso usati.
- Conservare il kit del saggio Xpert Ebola Assay a temperature comprese fra 2 °C e 28 °C



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

Nota Indossare guanti monouso. Applicare al flacone del reagente per il campione un'etichetta con l'identificazione del campione di analisi.

10 Pericoli chimici^{2,3}

- UN
- Avvertenza: ATTENZIONE
- **Indicazioni di pericolo UN GHS**
 - Nocivo se ingerito
 - Può essere nocivo per contatto con la pelle
 - Provoca irritazione oculare
- **Frase di prudenza UN GHS**
 - **Prevenzione**
 - Lavare accuratamente dopo l'uso.
 - **Risposta**
 - In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico.
 - In caso di irritazione della pelle: consultare un medico.
 - IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.
 - Se l'irritazione degli occhi persiste: consultare un medico.

11 Prelievo, trasporto e conservazione dei campioni di analisi

11.1 Prelievo di sangue intero



Prelevare i campioni di analisi di sangue intero mediante venipuntura in provette con EDTA secondo le istruzioni per l'uso del produttore. Il saggio Xpert Ebola richiede un minimo di 100 µL di sangue intero. In alternativa, usare il tampone SWAB/E-50 per prelevare campioni di analisi di sangue mediante puntura del dito. Fare in modo che almeno i 2/3 della testa del tampone assorbano il sangue. Trasferire immediatamente il tampone nel flacone contenente il reagente per il campione (vedere la Figura 1 nella sezione Preparazione dei campioni).

11.2 Tampone buccale

Usare il tampone SWAB/E-50 per prelevare campioni di analisi con tampone buccale secondo le linee guida dell'OMS sul prelievo dei tamponi orali di pazienti con Ebola.* Evitare di toccare i guanti o qualsiasi superficie con la punta del tampone. Nel caso di pazienti viventi, chiedere al paziente di aprire la bocca e inserire immediatamente la punta del tampone all'interno della guancia. Strofinare energicamente con movimenti circolari e pressione costante per almeno 20 secondi con l'intera testa del tampone. Nel caso di pazienti deceduti, sistemare il palmo della mano sotto il mento e spingere verso il basso con decisione per aprire leggermente la bocca. Inserire il tampone all'interno e, sul lato della guancia, strofinare energicamente con movimenti circolari e pressione costante per almeno 20 secondi con l'intera testa del tampone. Ripetere sull'altra guancia, se accessibile.

*Numero di riferimento OMS: WHO/EVD/Guidance/Lab/14.2

Importante Procedere immediatamente con la fase di preparazione dei campioni per garantire che il virus Ebola diventi inattivato.

Nota Indossare guanti monouso. Applicare al flacone del reagente per il campione un'etichetta con l'identificazione del campione di analisi.

Preparazione dei campioni *Sangue intero venoso raccolto in provette contenenti EDTA* – Aprire il coperchio del flacone del reagente per il campione. Trasferire 0,1 ml di sangue inserendo il tampone SWAB/E-50 nella provetta con EDTA e lasciare che assorba il sangue per almeno 5 secondi; trasferire il campione inserendo il tampone preparato nel flacone del reagente per il campione (vedere la Figura 1). Tenere il tampone reggendolo dall'asta e allineare la scanalatura contro il bordo del flacone. Rompere il tampone piegandolo di lato. In alternativa, trasferire 0,1 ml di sangue dalla provetta con EDTA usando una pipetta automatica dotata di puntale con filtro barriera.

Tampone *buccale* – Aprire il coperchio del flacone del reagente per il campione. Inserire il tampone preparato nel reagente per il campione (vedere la Figura 1). Tenere il tampone reggendolo dall'asta e allineare la scanalatura contro il bordo del flacone. Rompere il tampone piegandolo di lato.

Sangue prelevato mediante *puntura del dito* – Usare il tampone SWAB/E-50 per raccogliere il sangue prelevato mediante puntura del dito, lasciando che assorba 0,1 ml di sangue. Assicurarsi che la testa del tampone sia coperta di sangue almeno per 2/3, quindi trasferire il campione inserendo il tampone preparato nel flacone del reagente per il campione (vedere la Figura 1). Tenere il tampone reggendolo dall'asta e allineare la scanalatura contro il bordo del flacone. Rompere il tampone piegandolo di lato.

Nota Usare una garza sterile per ridurre al minimo il rischio di contaminazione.

Chiudere il coperchio del flacone di reagente per il campione e miscelare il campione con il vortex per 10 secondi. Lasciare in incubazione a temperatura ambiente per 20 minuti.

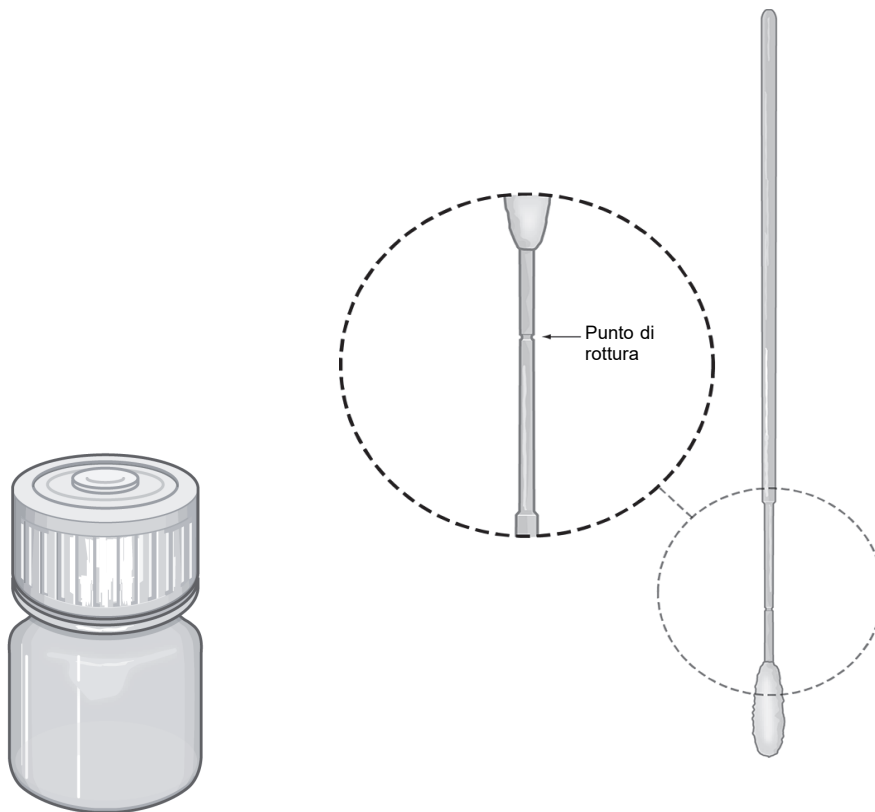


Figura 1. Flacone di reagente per il campione del saggio Xpert Ebola e tampone per il prelievo di campioni di Ebola

11.3 Trasporto e conservazione del campione



Trasportare i campioni trattati con il reagente per il campione ai laboratori di analisi per l'ulteriore trattamento in singole sacche richiudibili, secondo le linee guida dell'OMS per il trasporto di campioni di analisi di Ebola dal titolo "How to safely collect blood samples from persons suspected to be infected with highly infectious blood-borne pathogens (e.g. Ebola)" [Come prelevare in sicurezza campioni di sangue da persone con sospetta infezione da patogeni veicolati dal sangue altamente infettivi (come l'Ebola)]. I campioni di sangue trattati con il reagente per il campione possono essere conservati fino a 72 ore a temperature fra 2 °C e 8 °C e fino a 48 ore a un massimo di 28 °C oppure fino a 24 ore a un massimo di 35 °C. I campioni prelevati con tampone buccale e trattati con il reagente per il campione possono essere conservati fino a 72 ore a temperature fra 2 °C e 8 °C e fino a 24 ore a un massimo di 28 °C.

12 Procedura

12.1 Preparazione della cartuccia

Nota Una sottile pellicola di plastica copre l'anello interno dei fori della cartuccia per il test. Evitare di rimuoverla.

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

1. Indossare guanti protettivi monouso.
2. Controllare che la cartuccia per il test non sia danneggiata. Se danneggiata, non utilizzarla.
3. Applicare alla cartuccia un'etichetta con l'identificazione del campione di analisi.
4. Aprire il coperchio della cartuccia.
5. Con la pipetta di trasferimento da 1 ml (vedere la Figura 2) o una pipetta automatica dotata di puntale con filtro barriera, trasferire 1 ml di campione di analisi trattato con il reagente per il campione nella camera per il campione all'interno della cartuccia (vedere la Figura 3). **NON** versare il campione di analisi direttamente nella camera.

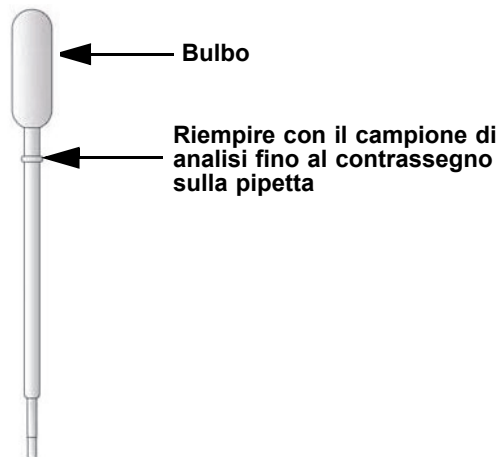


Figura 2. Pipetta di trasferimento da 1 ml del saggio Xpert Ebola

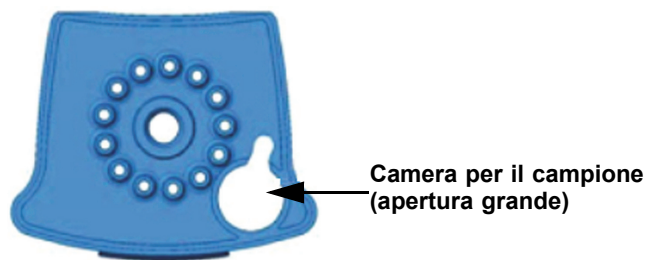


Figura 3. Cartuccia del saggio Xpert Ebola Assay (vista superiore)

12.2 Avvio del test

Importante

Prima di iniziare il test, assicurarsi che il file di definizione del saggio Xpert Ebola Assay sia stato importato nel software.

Questa sezione elenca le fasi principali di esecuzione del test. Per istruzioni dettagliate, consultare il *Manuale dell'operatore di GeneXpert Dx System* o il *Manuale dell'operatore di GeneXpert Infinity System* in base al modello utilizzato.

1. Accendere il sistema di strumentazione GeneXpert.
 - Se si utilizza lo strumento GeneXpert Dx, accendere prima lo strumento e poi il computer. Il software GeneXpert si avvierà automaticamente, oppure potrebbe essere necessario fare doppio clic sull'icona del software GeneXpert Dx sul desktop di Windows®.
 - oppure
 - Se si utilizza lo strumento GeneXpert Infinity, accenderlo. Il software Xpertise si avvierà automaticamente, oppure potrebbe essere necessario fare doppio clic sull'icona del software Xpertise sul desktop di Windows.
2. Connettersi al software del sistema di strumentazione GeneXpert con il proprio nome utente e la password.
3. Nella finestra del sistema GeneXpert, fare clic su **Crea analisi** (GeneXpert Dx) o su **Orders** (Ordini) e **Order Test** (Ordina analisi) (Infinity).
4. Eseguire la scansione dell'ID del paziente (opzionale). Se l'ID del paziente viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente. L'ID del paziente è associato ai risultati del test e viene visualizzato nella finestra **View Results** (Visualizza risultati).
5. Inserire l'ID del campione tramite scansione o manualmente. Se l'ID del campione viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente. L'ID del campione è associato ai risultati del test e viene visualizzato nella finestra **View Results** (Visualizza risultati) così come su tutti i rapporti. Verrà visualizzata la finestra di dialogo **Scan Cartridge** (Esegui scansione del codice a barre della cartuccia).
6. Eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia del saggio Xpert Ebola Assay. Verrà visualizzata la finestra **Create Test** (Crea analisi). Usando le informazioni contenute nel codice a barre, il software riempie automaticamente le caselle corrispondenti ai seguenti campi: **Select Assay** (Seleziona saggio), **Reagent Lot ID** (ID lotto reagente), **Cartridge SN** (N/S cartuccia).
7. Fare clic su **Avvia analisi** (GeneXpert Dx) o su **Submit** (Inoltra) (Infinity). Immettere la password, se richiesto.
8. Per il sistema GeneXpert Infinity, posizionare la cartuccia sul nastro trasportatore. La cartuccia verrà caricata automaticamente, il test verrà eseguito e la cartuccia usata verrà collocata nel contenitore dei rifiuti.

oppure

Per lo strumento GeneXpert Dx:

- A. Aprire lo sportello del modulo dello strumento con la spia verde lampeggiante e caricare la cartuccia.
- B. Chiudere lo sportello. Il test viene avviato e la spia verde smette di lampeggiare. Al termine del test, la spia si spegne.
- C. Attendere che il sistema abbia sbloccato lo sportello del modulo prima di aprirlo. Quindi rimuovere la cartuccia.
- D. Smaltire le cartucce usate negli appositi contenitori per rifiuti biologici attenendosi alla prassi standard del proprio istituto.

13 Visualizzazione e stampa dei risultati

In questa sezione sono elencati i passaggi principali per la visualizzazione e la stampa dei risultati. Per istruzioni dettagliate su come visualizzare e stampare i risultati, consultare il *Manuale dell'operatore di GeneXpert Dx System* o il *Manuale dell'operatore di GeneXpert Infinity System*, a seconda dello strumento utilizzato.

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

14 Controllo qualità

CONTROL

Ciascun test comprende un controllo dell'adeguatezza dei campioni (SAC), un controllo interno Cepheid (CIC) e un controllo per la verifica della sonda (PCC).

- **Controllo dell'adeguatezza dei campioni (SAC)** – Il SAC garantisce che nella camera per il campione siano state aggiunte cellule umane. Il controllo SAC si considera superato se soddisfa i criteri di accettazione convalidati.
- **Controllo interno Cepheid (CIC)** – Assicura che il campione sia stato trattato correttamente. Il controllo CIC è un Armored RNA® sotto forma di microsfera essiccata; è incluso in ciascuna cartuccia e serve per verificare che il virus del campione venga trattato correttamente. Il CIC verifica l'avvenuta lisi dell'Ebola, se l'organismo è presente, e l'adeguato trattamento del campione di analisi. Inoltre, questo controllo rileva l'inibizione della reazione PCR associata al campione di analisi. Il CIC deve essere positivo in un campione negativo e può essere negativo o positivo in un campione positivo. Il controllo CIC si considera superato se soddisfa i criteri di accettazione convalidati.
- **Controllo per la verifica della sonda (PCC, QC1, QC2)** – Prima di iniziare il saggio di PCR dopo retrotrascrizione, il sistema di strumentazione GeneXpert misura il segnale di fluorescenza emesso da due delle sonde (contrassegnate come QC1 e QC2), allo scopo di monitorare la reidratazione delle microsfere, il riempimento delle provette di reazione, l'integrità delle sonde e la stabilità dei coloranti. Poiché le sonde QC1 e QC2 sono misurate al momento della fase di PCR dopo retrotrascrizione (prima della fase PCR in tempo reale), le curve di amplificazione non sono disponibili. 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.
- I campioni di analisi di sangue intero venoso negativi possono essere usati come controlli negativi esterni da analizzare come campioni di analisi di pazienti.
- Per informazioni su come ottenere i materiali opzionali di controllo esterno, contattare l'assistenza tecnica all'indirizzo TechSupport@cepheid.com o su www.cepheid.com nella scheda **SUPPORT** (ASSISTENZA).

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 presentati chiaramente nella finestra **View Results** (Visualizza risultati) (vedere le Figure 4, 5, 6 e 7). I risultati possibili sono riportati nella Tabella 1.

Tabella 1. Risultati del saggio Xpert Ebola Assay e interpretazione

Risultato	Interpretazione
<p>Ebola GP DETECTED, Ebola NP DETECTED (RILEVATO Ebola GP, RILEVATO Ebola NP) oppure Ebola GP DETECTED, Ebola NP NOT DETECTED (RILEVATO Ebola GP, NON RILEVATO Ebola NP) oppure Ebola GP NOT DETECTED, Ebola NP DETECTED (NON RILEVATO Ebola GP, RILEVATO Ebola NP)</p> <p>Vedere la Figura 4, la Figura 5 e la Figura 6.</p>	<p>Sono stati rilevati gli acidi nucleici bersaglio dell'EBOLA.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Il segnale EBOLA di uno o di entrambi i due acidi nucleici bersaglio presenta un Ct nell'intervallo di validità e un endpoint al di sopra dell'impostazione minima. • SAC: NA (non applicabile); il SAC viene ignorato poiché si è verificata l'amplificazione del bersaglio dell'EBOLA. • CIC: NA (non applicabile); il CIC viene ignorato poiché si è verificata l'amplificazione del bersaglio dell'EBOLA. • Verifica della sonda: AMMESSO; tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
<p>Ebola GP NOT DETECTED, Ebola NP NOT DETECTED (NON RILEVATO Ebola GP, NON RILEVATO Ebola NP)</p> <p>Vedere la Figura 7.</p>	<p>Gli acidi nucleici bersaglio dell'EBOLA non sono stati rilevati. Il CIC soddisfa i criteri di accettazione.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SAC: AMMESSO; il SAC ha un valore Ct entro l'intervallo di validità e un endpoint al di sopra dell'impostazione minima. • CIC: AMMESSO; il CIC ha un valore Ct entro l'intervallo di validità e un endpoint al di sopra dell'impostazione minima. • Verifica della sonda: AMMESSO; tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.

Tabella 1. Risultati del saggio Xpert Ebola Assay e interpretazione (continua)

Risultato	Interpretazione
INVALID (NON VALIDO)	<p>È impossibile determinare la presenza o l'assenza degli acidi nucleici bersaglio. Ripetere il test secondo le istruzioni riportate nella sezione Procedura di ripetizione del test.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SAC: RESPINTO; il Ct del SAC non rientra nell'intervallo di validità e l'endpoint è al di sotto dell'impostazione minima. • CIC: AMMESSO; il CIC ha un valore Ct entro l'intervallo di validità e un endpoint al di sopra dell'impostazione minima. • Verifica della sonda: AMMESSO; tutti i risultati della verifica della sonda sono validi. <p>Oppure</p> <ul style="list-style-type: none"> • SAC: AMMESSO; il SAC ha un valore Ct entro l'intervallo di validità e un endpoint al di sopra dell'impostazione minima. • CIC: RESPINTO; il Ct del CIC non rientra nell'intervallo di validità e l'endpoint è al di sotto dell'impostazione minima. • Verifica della sonda: AMMESSO; tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
ERROR (ERRORE)	<p>È impossibile determinare la presenza o l'assenza degli acidi nucleici dell'EBOLA. Ripetere il test secondo le istruzioni riportate nella sezione Procedura di ripetizione del test.</p> <ul style="list-style-type: none"> • EBOLA: NESSUN RISULTATO • SAC: NESSUN RISULTATO • CIC: NESSUN RISULTATO • Verifica della sonda: RESPINTO; una o più delle verifiche delle sonde non sono valide.
NO RESULT (NESSUN RISULTATO)	<p>È impossibile determinare la presenza o l'assenza degli acidi nucleici bersaglio dell'EBOLA. Ripetere il test secondo le istruzioni riportate nella sezione Procedura di ripetizione del test. NO RESULT (NESSUN RISULTATO) indica che i dati raccolti sono insufficienti. Ad esempio, l'operatore ha interrotto un test mentre era in corso.</p> <ul style="list-style-type: none"> • EBOLA: NESSUN RISULTATO • SAC: NESSUN RISULTATO • CIC: NESSUN RISULTATO • Verifica della sonda: NA (non applicabile)

Nota Le schermate del saggio possono variare rispetto alle schermate illustrate in questo foglietto illustrativo, che sono solo a scopo di esempio. QC1 e QC2 nella legenda della Figura 4, della Figura 5, della Figura 6 e della Figura 7 controllano la presenza delle sonde (vedere Controllo per la verifica della sonda nella sezione 14, Controllo qualità); le curve di amplificazione non vengono generate.

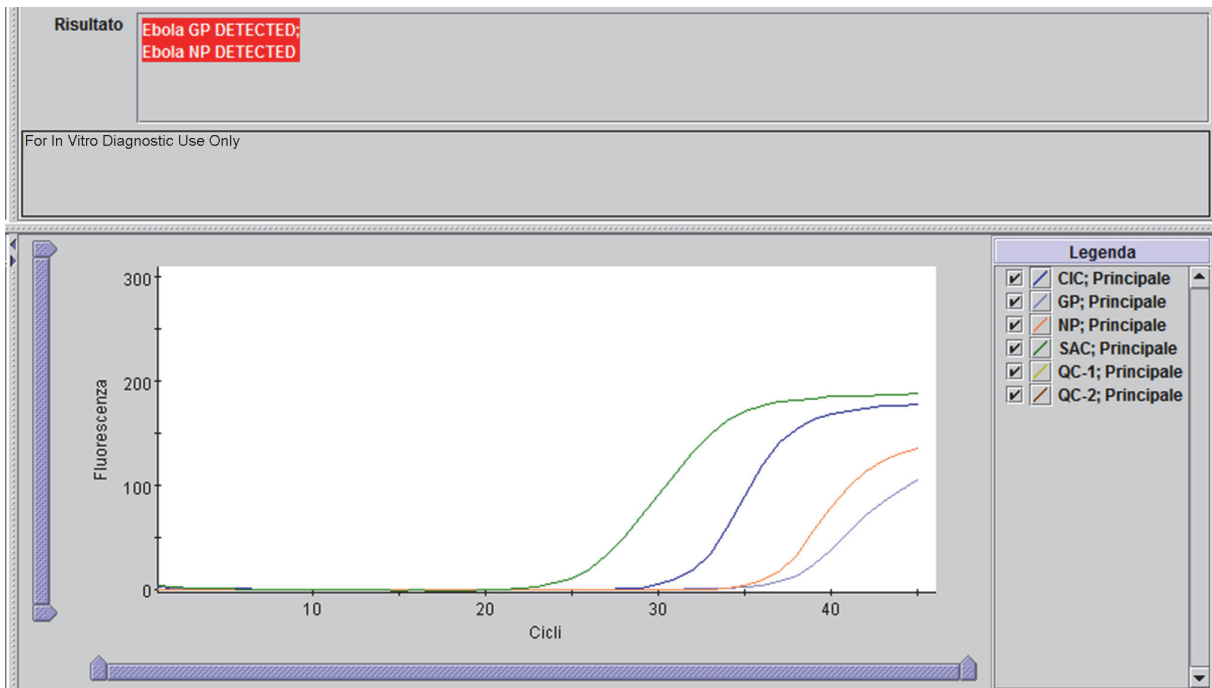


Figura 4. Ebola GP DETECTED, Ebola NP DETECTED (RILEVATO Ebola GP, RILEVATO Ebola NP)

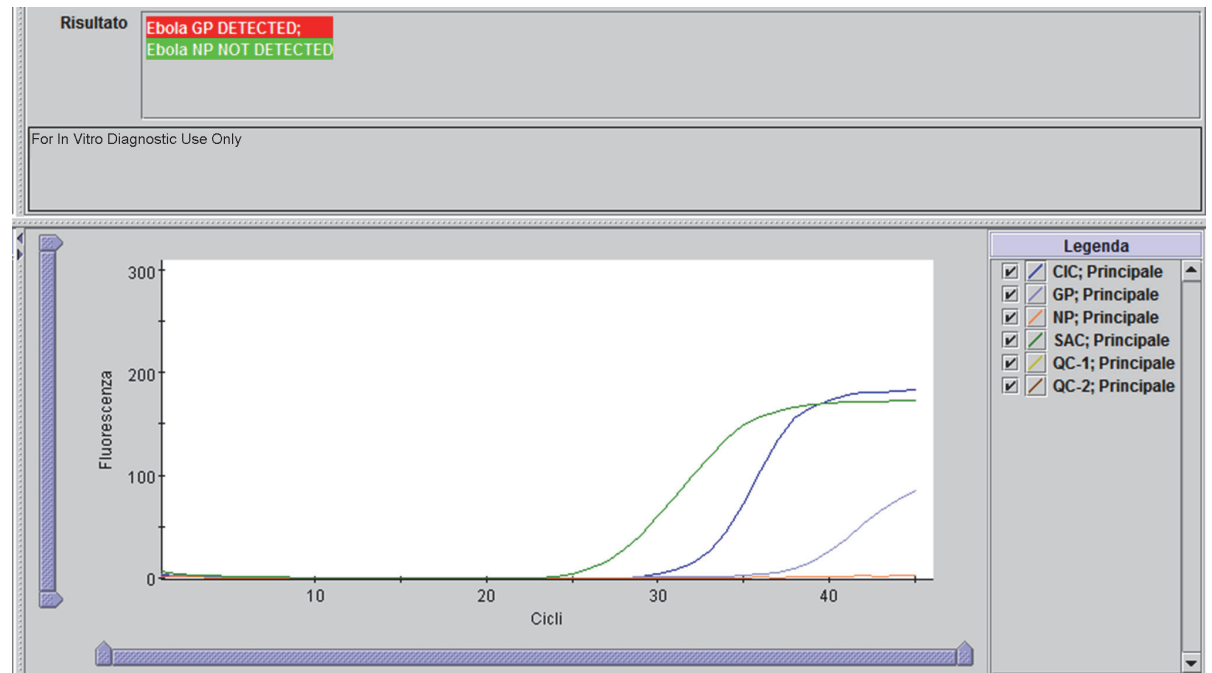


Figura 5. Ebola GP DETECTED, Ebola NP NOT DETECTED (RILEVATO Ebola GP, NON RILEVATO Ebola NP)

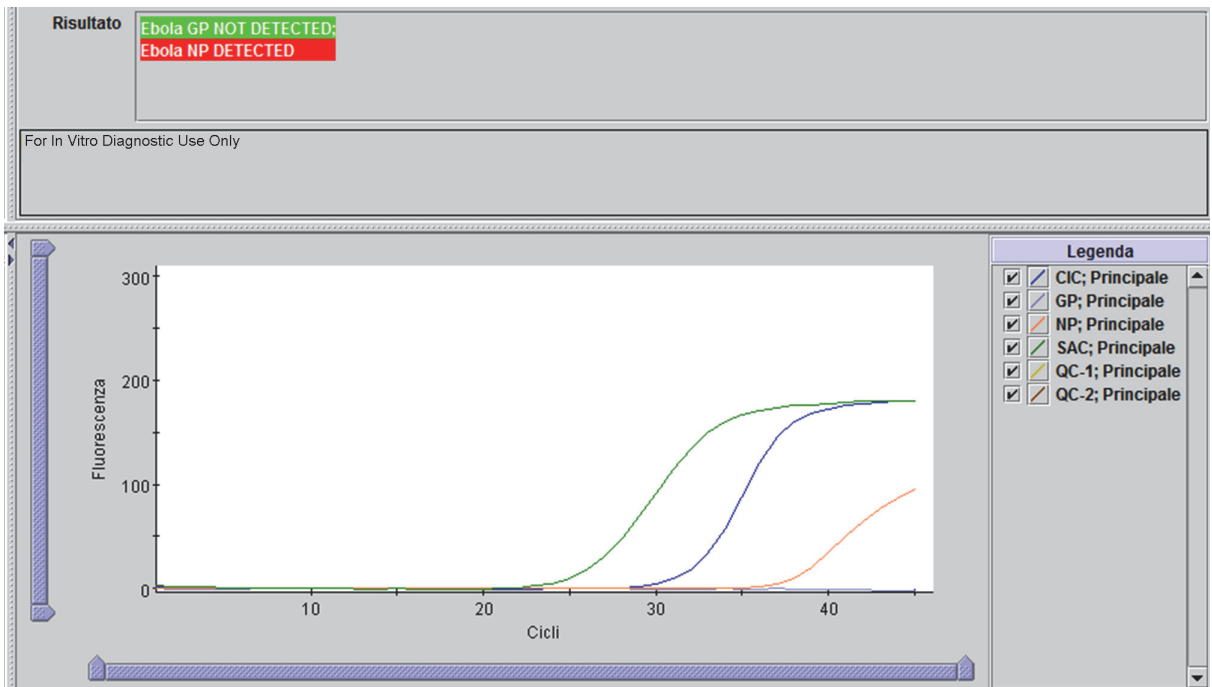


Figura 6. Ebola GP NOT DETECTED, Ebola NP DETECTED (NON RILEVATO Ebola GP, RILEVATO Ebola NP)

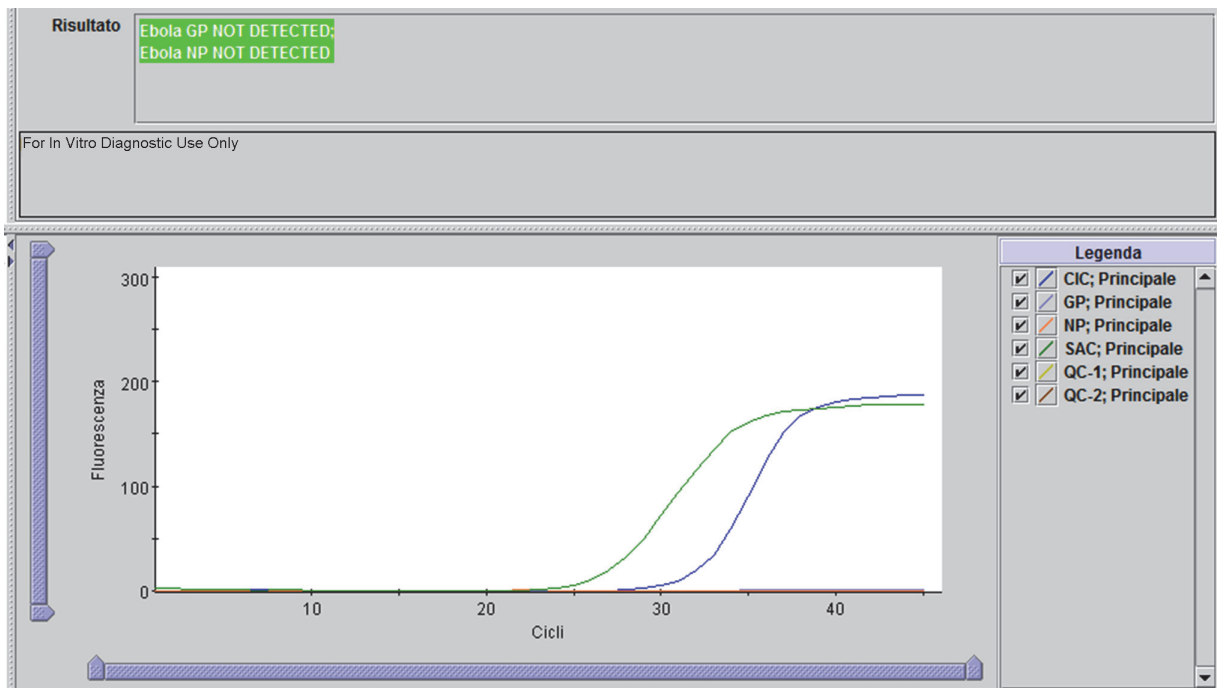


Figura 7. Ebola GP NOT DETECTED, Ebola NP NOT DETECTED (NON RILEVATO Ebola GP, NON RILEVATO Ebola NP)

16 Ripetizioni del test

16.1 Motivi per ripetere il test

Dovesse presentarsi uno qualsiasi dei risultati elencati di seguito, ripetere il test secondo le istruzioni riportate nella sezione 16.2, Procedura di ripetizione del test.

- Un risultato **INVALID** (NON VALIDO) indica uno o più dei seguenti casi:
 - controllo CIC non riuscito;
 - il campione non è stato trattato correttamente o la PCR è stata inibita;
 - controllo SAC non riuscito;
 - aggiunto un volume di campione insufficiente.
- Un risultato **ERROR** (ERRORE) indica che il saggio è stato interrotto. Le cause possibili comprendono: riempimento non corretto della provetta di reazione, rilevamento di un problema di integrità della sonda del reagente o superamento del limite massimo di pressione.
- **NO RESULT** (NESSUN RISULTATO) 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 ripetere il test in caso di risultato **INVALID** (NON VALIDO), **ERROR** (ERRORE) o **NO RESULT** (NESSUN RISULTATO), adoperare una nuova cartuccia (non riutilizzare la cartuccia) e nuovi reagenti.

1. Estrarre la nuova cartuccia dal kit.
2. Vedere la sezione 12.1, Preparazione della cartuccia, e la sezione 12.2, Avvio del test.

17 Caratteristiche prestazionali

17.1 Limite di rilevamento per il sangue intero

Il limite di rilevamento (LoD) del saggio Xpert Ebola è stato determinato sia per l'RNA dello Zaire ebolavirus che per lo Zaire ebolavirus vivo. I test sono stati eseguiti con tre pannelli di diluizioni, ciascuno analizzato con un singolo lotto di kit di reagenti. L'RNA virale purificato dello Zaire ebolavirus Mayinga ottenuto dall'Istituto di salute pubblica svedese è stato diluito in una miscela di reagente per il campione e sangue intero; i virus Ebola 2014/Gueckedou-C05 e 2014/Gueckedou-C07 vivi sono stati diluiti in sangue intero in EDTA. In totale, sono stati analizzati 20 replicati di RNA e 4 replicati di virus vivo per ogni livello e ogni campione di analisi. Il limite di rilevamento misurato con l'RNA è stato stimato come la concentrazione più bassa di RNA di Zaire ebolavirus bersaglio che si poteva distinguere in maniera riproducibile dai campioni negativi con una probabilità del 95% usando l'analisi probit. L'LoD dichiarato per l'RNA di Mayinga è stato confermato analizzando almeno venti replicati diluiti alla concentrazione LoD stimata usando tre lotti di reagenti del saggio Xpert Ebola. Il 95% dei replicati è risultato positivo in un lotto di reagenti e il 100% in due lotti di reagenti. L'LoD stimato del virus vivo è stato confermato come la concentrazione più bassa di unità formanti placche (PFU) per ml di sangue intero in EDTA alla quale almeno 19 replicati su 20 sono risultati positivi. I risultati relativi all'RNA dello Zaire ebolavirus e al virus vivo sono illustrati nella Tabella 2 e nella Tabella 3.

Tabella 2. Limite di rilevamento relativo all'RNA dello Zaire ebolavirus per il saggio Xpert Ebola mediante regressione probit

Campione di analisi	Concentrazione nominale (copie/ml)	Replicati totali (N)	Positivi totali (N)	Tasso di positività (%)	LoD con probabilità del 95% stimato mediante probit (intervallo di confidenza del 95%)
RNA di Zaire ebolavirus Mayinga	700	20	20	100	232,4 copie/ml (IC 95%: 163,1-301,6)
	300	20	20	100	
	150	20	13	65	
	75	20	12	60	
	30	20	9	45	
	15	20	5	25	

Tabella 3. Numero di replicati positivi per livello di Zaire ebolavirus Makona-Gueckedou 07 e 05 in sangue intero con EDTA e conferma del limite di rilevamento

Campione di analisi	Concentrazione nominale (PFU/ml)	Replicati totali (N)	Positivi totali (N)	Tasso di positività (%)	Conferma LoD		
					Concentrazione nominale (PFU/ml)	Replicati totali (N)	Positivi totali (N)
Zaire ebolavirus Makona-Gueckedou 07	50	4	4	100	1,0	20	20
	25	4	4	100			
	12,5	4	4	100			
	1	4	4	100			
	0,1	3	1	33			
	0,01	4	0	0			
Zaire ebolavirus Makona-Gueckedou 05	0,13	4	4	100	0,13	20	20
	0,065	4	4	100			
	0,0325	4	3	75			
	0,01625	4	1	25			

17.2 Limite di rilevamento per i tamponi buccali

Il limite di rilevamento (LoD) dei tamponi buccali del saggio Xpert Ebola è stato determinato per l'RNA dello Zaire ebolavirus. È stato preparato un pannello di diluizione di otto elementi ricavato da un campione di analisi di RNA di Zaire ebolavirus Mayinga, poi analizzato con un singolo lotto di reagenti. Il pannello di diluizione è stato preparato inoculando RNA di Ebola in un pool di tamponi in reagente per il campione nell'intervallo tra 0 e 1.000 copie circa di RNA di Ebola per tampone. L'LoD dei tamponi buccali con RNA è stato stimato usando l'analisi probit. L'LoD dichiarato è stato confermato analizzando almeno 20 replicati diluiti alle concentrazioni LoD stimate usando due lotti di reagenti del saggio Xpert Ebola. L'LoD dichiarato è definito come la concentrazione alla quale il 95% di almeno 20 replicati per lotto di reagente risulta positivo (Tabella 4). Il limite di rilevamento del saggio Xpert Ebola relativamente ai tamponi buccali inoculati con RNA di Zaire ebolavirus Mayinga è risultato essere di 350,0 copie per tampone.

Tabella 4. Limite di rilevamento relativo a tamponi buccali con RNA di Zaire ebolavirus per il saggio Xpert Ebola mediante regressione probit e conferma del limite di rilevamento

Campione di analisi	Concentrazione nominale (copie/tampone)	Replicati totali (N)	Positivi totali (N)	Tasso di positività (%)	LoD con probabilità del 95% mediante probit (intervallo di confidenza del 99,9%)	Conferma LoD			
						Concentrazione nominale (copie/tampone)	Lotto di reagenti	Replicati totali (N)	Positivi totali (N)
RNA di Zaire ebolavirus in tamponi buccali	600	20	20	100	250,0 copie/tampone (IC 99,9%: 149,3-350,0)	350	1	20	20
	400	20	19	95					
	200	20	18	90					
	100	20	18	90					
	50	20	5	25			2	20	20
	25	20	5	25					
	12,5	20	1	5					
	0	20	0	0					

Equivalenza tra tipi di campioni (sangue venoso intero in EDTA e sangue intero da puntura del dito)

Nell'uso del saggio Xpert Ebola, sono state dimostrate prestazioni equivalenti per i due diversi tipi di campioni, ossia sangue venoso intero in EDTA e sangue intero da puntura del dito, da campioni di analisi prelevati da venti individui sani. Il sangue da venipuntura è stato raccolto in provette con EDTA e trasferito nel flacone del reagente per i campioni, mentre il sangue da puntura del dito è stato immediatamente aggiunto al flacone del reagente per i campioni. Entrambi i tipi di campioni sono stati inoculati con RNA di Ebola Mayinga a 1.500 copie/ml e l'analisi è stata eseguita in parallelo. I due tipi di campioni hanno mostrato prestazioni equivalenti.

Intervallo di linearità

La linearità del saggio Xpert Ebola è stata determinata per i bersagli Ebola GP e NP mediante analisi di un pannello di sei elementi preparato con diluizioni seriali di campioni di analisi con RNA di Ebola Mayinga nell'intervallo tra 3×10^2 e 1×10^7 copie/ml di sangue intero. Ogni elemento del pannello è stato analizzato in replicati di sei usando un singolo lotto di reagenti. I risultati sono illustrati nelle Figure 8 e 9 e dimostrano che il saggio è lineare entro un intervallo compreso fra 3×10^2 e 1×10^7 copie/ml con un valore R^2 (che è il prodotto di una curva standard) pari a 0,99 per il bersaglio Ebola GP e 0,98 per il bersaglio Ebola NP.

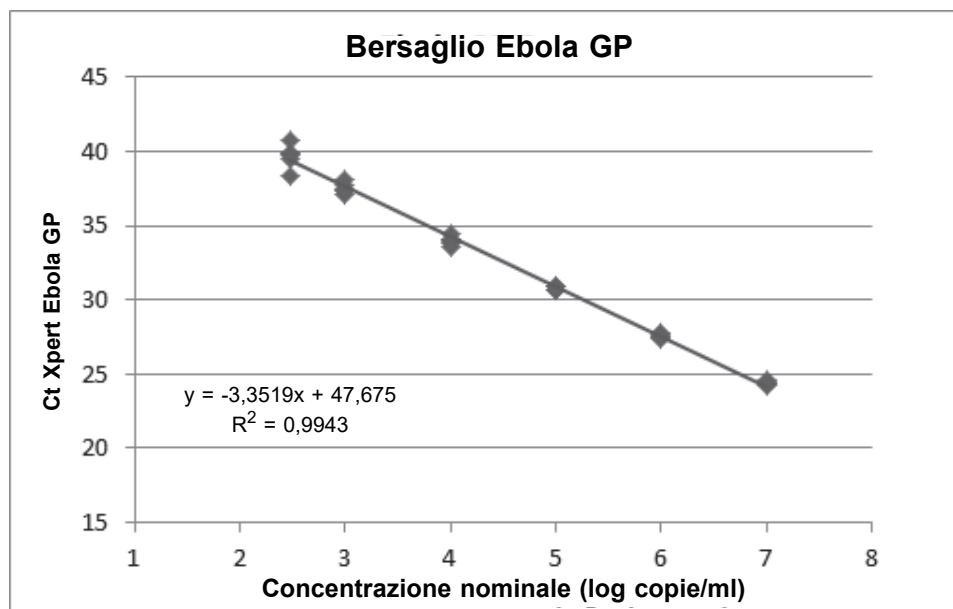


Figura 8. Linearità del bersaglio Xpert Ebola GP

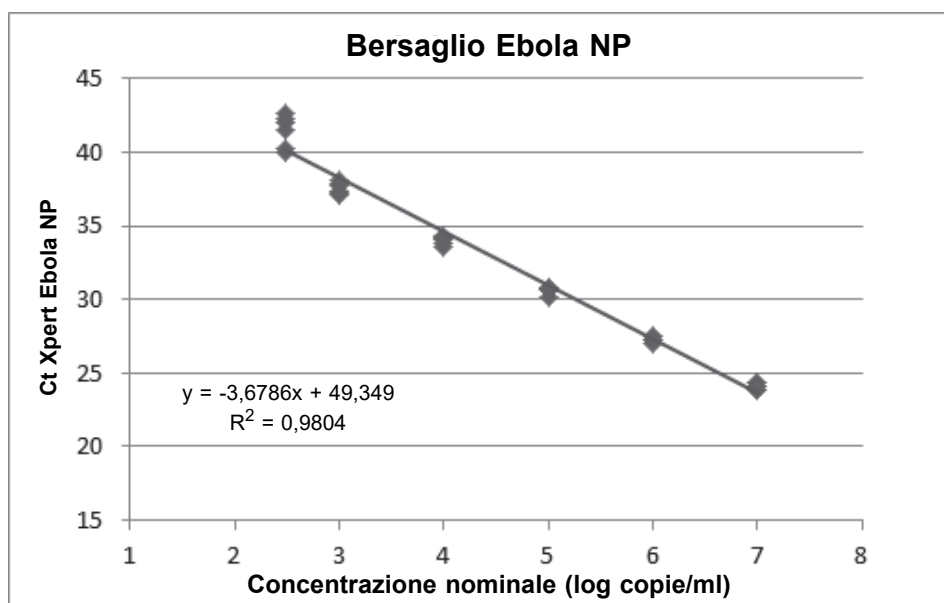


Figura 9. Linearità del bersaglio Xpert Ebola NP

17.3 Reattività analitica (inclusività)

La reattività analitica (inclusività) del saggio Xpert Ebola è stata determinata per quattro ceppi di Zaire ebolavirus diversi dal ceppo Mayinga, disponibili in forma di virus Ebola vivo o di RNA virale. Inoltre, è stata effettuata l'analisi *in silico* di tutte le altre sequenze disponibili di ceppi di Zaire ebolavirus non analizzate. I campioni di test sono stati preparati inoculando ogni singolo campione di analisi in sangue intero Ebola-negativo in EDTA oppure, quando si è usato RNA preparato dal virus, sangue intero Ebola-negativo in EDTA miscelato con reagente per il campione. Ogni campione di analisi è stato analizzato in replicati di 20 e un campione di analisi di controllo negativo, comprendente sangue intero Ebola-negativo in EDTA, è stato analizzato in replicati di tre usando un singolo lotto di kit di reagenti. I risultati del test di campioni di analisi Ebola-positivi sono presentati nella Tabella 5. Tutti i campioni di analisi di controllo Ebola-negativi sono stati refertati come **Ebola GP NOT DETECTED** (NON RILEVATO Ebola GP) ed **Ebola NP NOT DETECTED** (NON RILEVATO Ebola NP).

Tabella 5. Reattività analitica del saggio Xpert Ebola

Ceppo di Zaire ebolavirus	Tipo di campione di analisi	Concentrazione di analisi	Replicati totali (N)	Positivi totali (N)	Tasso di positività (%)
Guinea	Virus vivo	1 x LoD	20	20	100%
Ekron	Virus vivo	3 x LoD	20	20	100%
Gabon	Virus vivo	3 x LoD	20	20	100%
Kikwit	RNA	5 x LoD	20	20	100%

L'analisi *in silico* è stata eseguita per prevedere le prestazioni del saggio Xpert Ebola nel rilevamento di tutte le sequenze di varianti di Zaire ebolavirus disponibili nella GenBank, dai primi dati sulle sequenze di Zaire pubblicati nel 1976 fino alle sequenze dell'attuale focolaio epidemico dell'Africa Occidentale. Le due sequenze di ampliconi Xpert Ebola ricavate dal gene per la glicoproteina (GP) e da quello per la nucleoproteina (NP) dello Zaire ebolavirus sono state sottoposte al BLAST (NCBI). Inoltre, tutte e sei le sequenze di oligonucleotidi del saggio Xpert Ebola sono state confrontate singolarmente mediante allineamento su un database locale contenente tutte le sequenze di Zaire ebolavirus disponibili nella GenBank. Gli analiti mostrano che gli oligonucleotidi NP e GP di Zaire ebolavirus corrispondono interamente a tutte le sequenze di Zaire presenti nella GenBank.

17.4 Specificità analitica (esclusività)

La specificità analitica del saggio Xpert Ebola è stata valutata analizzando virus e batteri non Ebola e ceppi di Ebola non Zaire a livelli clinicamente significativi. I campioni di analisi sono stati preparati inoculando ogni singolo organismo in sangue intero Ebola-negativo in EDTA oppure, quando si è usato RNA/DNA genomico dell'organismo, sangue intero Ebola-negativo in EDTA miscelato con reagente per il campione. I risultati del test di specificità analitica sono illustrati nella Tabella 6 e nella Tabella 7. La specificità analitica del saggio Xpert Ebola per gli organismi valutati è del 100%.

Tabella 6. Determinazione della specificità analitica del saggio Xpert Ebola per campioni di analisi positivi per Ebola non Zaire

Organismo	Tipo di campione di analisi	Concentrazione di test (concentrazione di particelle usate per l'isolamento dell'acido nucleico)	Unità (ng o PFU/ml di sangue intero)	N	Risultati positivi	Risultati negativi
Ebola Costa d'Avorio	Acidi nucleici	546 ^a	ng/ml	3	0	3
Ebola Reston	Acidi nucleici	3,0 x 10 ⁵	PFU/ml	3	0	3

a. Concentrazione di RNA della soluzione madre

Tabella 7. Determinazione della specificità analitica del saggio Xpert Ebola per campioni di analisi non Ebola

Organismo	Tipo di campione di analisi	Concentrazione di test (concentrazione di particelle usate per l'isolamento dell'acido nucleico)	Unità (ng o PFU/ml di sangue intero)	N	Risultati positivi	Risultati negativi
Virus Chikungunya (181/25)	Acidi nucleici	2798 ^a	ng/ml	3	0	3
<i>Coxiella burnetti</i>	Acidi nucleici	50	ng/ml	3	0	3
Virus della febbre emorragica del Congo-Crimea (Dubai)	Acidi nucleici	3,4 x 10 ⁶	PFU/ml	3	0	3
Virus della dengue (tipo 2)	Acidi nucleici	2,7 x 10 ⁶	PFU/ml	3	0	3
<i>Hemophilus influenzae</i>	Acidi nucleici	50	ng/ml	3	0	3
Virus dell'influenza A (H9N2)	Acidi nucleici	1,0 x 10 ⁵	PFU/ml	3	0	3
Virus della febbre di Lassa (Pinneo)	Acidi nucleici	5,7 x 10 ³	PFU/ml	3	0	3
Marburg (Angola)	Acidi nucleici	2,6 x 10 ⁶	PFU/ml	3	0	3
Marburg (Angola)	Virus vivo	5,0 x 10 ^{4b}	PFU/ml	3	0	3
Marburg (Musoke)	Acidi nucleici	6,0 x 10 ⁴	PFU/ml	3	0	3
Marburg (Musoke)	Virus vivo	5,0 x 10 ^{4b}	PFU/ml	3	0	3
Marburg (Ravn)	Acidi nucleici	4,8 x 10 ⁵	PFU/ml	3	0	3
Zanzara	Acidi nucleici	50	ng/ml	3	0	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Acidi nucleici	50	ng/ml	3	0	3
<i>Rickettsia conorii</i>	Acidi nucleici	50	ng/ml	3	0	3
<i>Rickettsia prowazekii</i>	Acidi nucleici	50	ng/ml	3	0	3
<i>Rickettsia typhi</i>	Acidi nucleici	50	ng/ml	3	0	3
Virus della febbre della Rift Valley (SA51)	Acidi nucleici	7,5 x 10 ⁵	PFU/ml	3	0	3

Tabella 7. Determinazione della specificità analitica del saggio Xpert Ebola per campioni di analisi non Ebola (continua)

Organismo	Tipo di campione di analisi	Concentrazione di test (concentrazione di particelle usate per l'isolamento dell'acido nucleico)	Unità (ng o PFU/ml di sangue intero)	N	Risultati positivi	Risultati negativi
<i>Salmonella bongori</i>	Acidi nucleici	50	ng/ml	3	0	3
<i>Salmonella typhi</i>	Acidi nucleici	50	ng/ml	3	0	3
<i>Shigella flexneri tipo 2</i>	Acidi nucleici	50	ng/ml	3	0	3
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Acidi nucleici	50	ng/ml	3	0	3
Zecca	Acidi nucleici	50	ng/ml	3	0	3
Febbre gialla (OBS-6745)	Acidi nucleici	1,0 x 10 ⁶	PFU/ml	3	0	3
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Acidi nucleici	50	ng/ml	3	0	3
<i>Yersinia pestis</i>	Acidi nucleici	50	ng/ml	3	0	3

- a. Concentrazione di RNA della soluzione madre
 b. Concentrazione di test del virus vivo.

Sono state effettuate analisi *in silico* per predire il rischio di reattività crociata degli oligonucleotidi di Zaire bersaglio del saggio Xpert Ebola (GP e NP) rispetto agli ebolavirus non Zaire, oltre a tutti gli agenti patogeni di esclusività elencati nella Tabella 7 e nella Tabella 8. Le analisi mostrano che le sequenze primer e sonda del saggio Xpert Ebola sono specifiche e non dovrebbero produrre risultati falsi positivi allo Zaire ebolavirus con gli organismi valutati.

Tabella 8. Organismi dell'analisi *in silico* di specificità analitica

Organismo
Ebola Sudan-Boniface
Ebola Sudan-Bundibugyo
Ebola Sudan-Gulu
Adenovirus
<i>Borrelia recurrentis</i>
Enterovirus
Virus dell'influenza B
<i>Leptospira genus</i>
Marburg (Ci67)
<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Plasmodium falciparum</i>
<i>Plasmodium malariae</i>
<i>Plasmodium ovale</i>
<i>Plasmodium vivax</i>
<i>Rickettsia africae</i>
Rotavirus
RSV
<i>Trypanosoma</i>
<i>Vibrio cholera</i>

17.5 Sostanze potenzialmente interferenti

È stata valutata la suscettibilità del saggio Xpert Ebola alle interferenze da parte di livelli elevati di sostanze endogene presenti nel sangue intero. Per le sostanze endogene, è stato testato sangue intero Ebola-negativo in EDTA e sangue intero Ebola-positivo in EDTA inoculato con le sostanze. Per preparare i campioni di analisi Ebola-positivi, RNA di Zaire ebolavirus Mayinga (2.500 copie/ml) è stato aggiunto al reagente per il campione successivamente miscelato al sangue intero in EDTA inoculato singolarmente con ciascuna delle sostanze interferenti. In totale sono state valutate cinque sostanze alle concentrazioni indicate nella Tabella 9. Sono stati testati sei replicati di ciascun campione di analisi con un singolo lotto di kit di reagenti. I livelli elevati di sostanze endogene elencati nella Tabella 9 hanno dimostrato di non influire sulla specificità del saggio, né di interferire con il rilevamento dell'Ebola.

Tabella 9. Sostanze endogene e concentrazione analizzata

Sostanze endogene	Concentrazione analizzata
Albumina	90,0 mg/ml
Bilirubina	0,300 mg/ml
DNA umano	4,0 µg/ml
Emoglobina	5,0 mg/ml
Trigliceridi	30,0 mg/ml

17.6 Test di campioni di analisi clinica artificiali

Le caratteristiche prestazionali del saggio Xpert Ebola sono state valutate usando campioni di analisi clinica artificiali. I dati refertati relativamente a tali campioni sono stati ottenuti con metodologie in cieco. A causa della difficoltà nell'ottenere campioni di analisi clinica di pazienti infettati con Ebola, sono stati preparati campioni di analisi artificiali inoculando con ebolavirus vivo o con RNA di ebolavirus i campioni di analisi di sangue intero in EDTA provenienti da diversi individui Ebola-negativi. Il sangue intero è stato inoculato con ebolavirus o RNA virale a varie concentrazioni, da livelli prossimi al limite di rilevamento a livelli elevati (fino a 200 volte il limite di rilevamento [LoD]). Inoltre, sono stati testati campioni di analisi di sangue intero in EDTA non inoculati e provenienti da diversi donatori Ebola-negativi. I campioni di analisi sono stati analizzati in cieco con il saggio Xpert Ebola.

La percentuale di concordanza positiva (PPA) per l'RNA di EBOV Mayinga è stata del 100,0% (50/50, [IC 95%: 92,9-100,0]), per il virus Makona-Gueckedou 05 vivo è stata del 100,0% (50/50, [IC 95%: 92,9-100,0]) e per il virus Makona-Gueckedou 07 vivo è stata dell'84,0% (42/50, [IC 95%: 71,5-97,1]). La percentuale di concordanza negativa è stata del 100,0% (50/50 [IC 97,5%: 92,9-100,0]) in ciascuno studio. La Tabella 10, la Tabella 11 e la Tabella 12 mostrano i risultati dei campioni di analisi negativi e inoculati con Ebola.

Tabella 10. Numero di risultati di test positivi e negativi per campioni di analisi inoculati con RNA di Zaire ebolavirus Mayinga e campioni di analisi di controllo negativi

Concentrazione nominale	N	Risultati positivi		Risultati negativi
0	50	0		50
1 x LoD	25	25		0
3 x LoD	10	10		0
10 x LoD	10	10		0
100 x LoD	5	5		0
				IC 95%
Percentuale di concordanza positiva		50/50	100%	92,9%-100%
Percentuale di concordanza negativa		50/50	100%	92,9%-100%

Tabella 11. Numero di risultati di test positivi e negativi per campioni di analisi inoculati con virus Ebola Makona-Gueckedou 05 e campioni di analisi di controllo negativi

Concentrazione nominale	N	Risultati positivi		Risultati negativi
0	50	0		50
1 x LoD	25	25		0
3 x LoD	10	10		0
10 x LoD	10	10		0
100 x LoD	5	5		0
				IC 95%
Percentuale di concordanza positiva		50/50	100%	92,9%-100%
Percentuale di concordanza negativa		50/50	100%	92,9%-100%

Tabella 12. Numero di risultati di test positivi e negativi per campioni di analisi inoculati con virus Ebola Makona-Gueckedou 07 e campioni di analisi di controllo negativi

Concentrazione nominale	N	Risultati positivi		Risultati negativi
0	50	0		50
2 x LoD	25	21		4
6 x LoD	10	10		0
20 x LoD	10	6		4
200 x LoD	5	5		0
				IC 95%
Percentuale di concordanza positiva		42/50	84,0%	71,5%-97,1%
Percentuale di concordanza negativa		50/50	100%	92,9%-100%

L'esame delle differenze rilevate nei risultati della percentuale di concordanza positiva relativi ai campioni di analisi artificiali inoculati con virus Ebola Makona-Gueckedou 07 (Tabella 12) in confronto agli altri due set di campioni di analisi artificiali (Tabella 10 e Tabella 11) ha dimostrato incoerenze nella preparazione dei campioni di analisi. I tamponi non erano stati immersi completamente nei campioni di analisi contenenti il sangue intero inoculato con virus Ebola Makona-Gueckedou 07, limitando la quantità di campione disponibile per il test. Il test dei campioni di analisi artificiali inoculati con virus Ebola Makona-Gueckedou 07 è stato ripetuto usando 50 singoli campioni di analisi di sangue intero alle concentrazioni e ai volumi finali corretti per ciascun campione di analisi. La Tabella 13 mostra i risultati riepilogativi di ciascuna concentrazione analizzata e le percentuali di concordanza positiva e negativa dello studio ripetuto.

Tabella 13. Riepilogo dei risultati e percentuali di concordanza positiva e negativa dei campioni di analisi clinica artificiali inoculati con virus Ebola Makona-Gueckedou 07 – Texas

Concentrazione nominale	N	Risultati positivi		Risultati negativi
0	6	0		6
1 x LoD	25	20		5
3 x LoD	10	10		0
10 x LoD	10	10		0
100 x LoD	5	5		0
				IC 95%
Percentuale di concordanza positiva		45/50	90,0%	78,6%-95,7%
Percentuale di concordanza negativa		6/6	100%	61,0%-100%

18 Efficacia virucida

L'efficacia del reagente per il campione del saggio Xpert Ebola nell'inattivare l'ebolavirus (EBOV) dopo 20 minuti di incubazione nel reagente per il campione è stata valutata aggiungendo $4,6 \times 10^6$ PFU di Zaire ebolavirus Guinea vivo a 2,5 ml di reagente per il campione. Dopo l'inattivazione, la miscela EBOV/reagente per il campione è stata sottoposta a dialisi usando un dispositivo rapido monouso di dialisi all'equilibrio. Il controllo usato nell'esperimento di inattivazione è lo Zaire ebolavirus Kikwit vivo ($\sim 1 \times 10^7$ PFU/ml) diluito 10 volte in tampone di lisi AVL completo e inattivato per 5 minuti a 90 °C. Lo Zaire ebolavirus Guinea vivo ($4,6 \times 10^6$ PFU) è stato usato come controllo positivo. L'efficienza virucida del reagente per il campione è stata studiata aggiungendo la miscela di virus e reagente per il campione a cellule Vero E6 confluenti e monitorando l'effetto citopatico (CPE) nell'arco di 2 passaggi (7 giorni + 7) in replicati di tre.

Il reagente per il campione del saggio Xpert Ebola ha inattivato completamente il virus EBOV aggiunto e ha dimostrato un'efficacia del 100% per un massimo di 6 logaritmi di EBOV.

19 Limitazioni del saggio

- I risultati negativi del test non escludono un'eventuale infezione da ebolavirus e non devono essere usati come unica base per il trattamento o per altre decisioni riguardanti la gestione dei pazienti.
- Tutti i risultati devono essere interpretati da un operatore addestrato in concomitanza con anamnesi, segni e sintomi clinici del paziente.
- Questo test è stato valutato esclusivamente per l'uso con campioni di analisi di sangue intero e tamponi buccali umani.
- I campioni di analisi di pazienti sottoposti ad agenti terapeutici o vaccini basati su sequenze di acidi nucleici derivate dallo Zaire ebolavirus possono esibire risultati falsi positivi o altri risultati di test che possono confondere.
- Questo è un test qualitativo e non fornisce il valore quantitativo del virus nel campione.
- L'interpretazione dei risultati del saggio Xpert Ebola deve prendere in considerazione la possibilità di risultati falsi positivi o falsi negativi.
- I risultati falsi positivi possono verificarsi a causa di contaminazione crociata da parte di organismi bersaglio, dei rispettivi acidi nucleici o degli ampliconi PCR.
- La mancata osservanza delle procedure di analisi può portare a risultati errati.
- Gli inibitori presenti nei campioni possono portare a risultati falsi negativi.
- Un campione di analisi che sia stato prelevato, manipolato, conservato in modo improprio, lo scambio di campioni o la presenza di un numero di organismi nel campione di analisi inferiore al limite di rilevamento del test possono produrre risultati errati. Per evitare risultati erranei, è necessario attenersi scrupolosamente alle istruzioni descritte in questo foglietto illustrativo.
- 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.

20 Riferimenti bibliografici

1. WHO Ebola Situation Reports <http://apps.who.int/ebola/en/ebola-situation-reports>.
2. 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)).
3. 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 centrali Cepheid

Sede centrale globale

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

Sede centrale europea

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

22 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 sul Service Tag (etichetta di servizio) del computer
















Informazioni di contatti

USA
Telephone: + 1 888 838 3222
Email: techsupport@cepheid.com

Francia
Telephone: + 33 563 825 319
Email: 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.

23 Tabella dei simboli

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



Cepheid
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



