

Xpert[®] Xpress SARS-CoV-2/ Flu/RSV

REF XPCOV2/FLU/RSV-10

Istruzioni per l'uso

Per l'uso con i sistemi GeneXpert[®] Dx o GeneXpert[®] Infinity

IVD CE

Dichiarazioni relative a marchi di fabbrica, brevetti e copyright

Trademark, Patents, and Copyright Statements

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

All other trademarks are the property of their respective owners.

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

© 2020-2022 Cepheid.

See Section 26, Revision History for a description of changes.

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

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

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

© 2020-2022 Cepheid.

Per una descrizione delle modifiche apportate, vedere Sezione 26, Cronologia delle revisioni.

Xpert[®] Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV

1 Nome registrato

Xpert[®] Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV

2 Nome comune o usuale

Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV

3 Destinazione d'uso

Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV è un test di RT-PCR multiplex real time destinato alla differenziazione e al rilevamento qualitativo e simultaneo dell'RNA virale del virus SARS-CoV-2, del virus dell'influenza A, del virus dell'influenza B e del virus respiratorio sinciziale (RSV) in campioni da tampone nasale, tampone nasofaringeo o lavaggio/aspirato nasale prelevati da individui con sospetto di infezione virale respiratoria. I segni e i sintomi clinici dell'infezione virale respiratoria causata dal virus SARS-CoV-2, dai virus influenzali e dall'RSV possono essere simili.

I risultati consentono di identificare e differenziare simultaneamente l'RNA del virus SARS-CoV-2, del virus dell'influenza A, del virus dell'influenza B e dell'RSV in campioni clinici. I risultati positivi indicano la presenza del virus identificato, ma non escludono un'infezione batterica o un'infezione concomitante da altri patogeni non rilevati dal test.

I risultati negativi non escludono la possibilità di infezione da virus SARS-CoV-2, virus dell'influenza A, virus dell'influenza B e/o RSV e non devono pertanto essere usati come unica base per il trattamento o per altre decisioni riguardanti la gestione dei pazienti. I risultati negativi devono essere interpretati congiuntamente alle osservazioni cliniche, all'anamnesi del paziente e/o alle informazioni epidemiologiche.

4 Riepilogo e spiegazione

Il 31 dicembre 2019 fu inizialmente segnalato all'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) un focolaio epidemico di malattia respiratoria di eziologia ignota originatosi in Cina, nella città di Wuhan, provincia di Hubei.¹ Le autorità cinesi identificarono un nuovo coronavirus (2019-nCoV), che da quel momento in poi si diffuse a livello globale per dare origine alla pandemia della malattia da coronavirus 2019 (COVID-19). La malattia da COVID-19 è associata a varie manifestazioni cliniche, tra cui infezione asintomatica, lieve infezione delle alte vie respiratorie, grave malattia delle basse vie respiratorie comprendente polmonite e insufficienza respiratoria e, in alcuni casi, decesso. Il Comitato internazionale per la tassonomia dei virus (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV) ha rinominato il virus SARS-CoV-2.²

L'influenza è un'infezione virale contagiosa delle vie respiratorie. La trasmissione dell'influenza avviene principalmente per diffusione aerea (ovvero, per tosse o per starnuti) e prevalentemente durante i mesi invernali. I sintomi generalmente includono febbre, brividi, cefalea, malessere generalizzato, tosse e congestione dei seni nasali. Sebbene siano meno comuni, possono anche essere presenti sintomi gastrointestinali (ovvero nausea, vomito o diarrea), specialmente nei bambini. La comparsa dei sintomi, in genere, avviene entro due giorni dal contatto con una persona infetta. La polmonite può insorgere come complicanza secondaria all'influenza, provocando un aumento della morbilità e della mortalità nelle popolazioni pediatriche, geriatriche e immunocompromesse.^{3,4}

I virus dell'influenza sono classificati secondo i tipi A, B e C; tra questi, i primi due sono la causa della maggior parte delle infezioni nell'uomo. Il virus dell'influenza A (Flu A) è il tipo più comune di virus influenzale nell'uomo; è generalmente responsabile delle epidemie influenzali stagionali e può causare pandemie. I virus Flu A possono infettare anche gli animali, ad esempio volatili, suini ed equini. Le infezioni dovute al virus dell'influenza B si limitano in genere all'uomo e causano meno frequentemente epidemie.⁵ I virus dell'influenza A vengono ulteriormente suddivisi in sottotipi sulla base di due proteine superficiali: emoagglutinina (H) e neuraminidasi (N). L'influenza stagionale è normalmente causata dai sottotipi H1, H2, H3, N1 e N2 del virus dell'influenza A.

Il virus respiratorio sinciziale (RSV), appartenente alla famiglia Pneumoviridae (precedentemente Paramyxoviridae) costituito da due ceppi (sottogruppi A e B), provoca anch'esso una malattia contagiosa che colpisce prevalentemente neonati e anziani immunocompromessi (ad esempio, pazienti con malattie polmonari croniche o sottoposti a trattamento per condizioni cliniche che indeboliscono il sistema immunitario).⁶ Il virus può rimanere infettivo per ore su pianali e giocattoli ed è in grado di causare infezioni sia delle alte vie respiratorie (come il raffreddore), sia delle basse vie respiratorie (come la bronchiolite e la polmonite).⁶ Entro i due anni di età, la maggior parte dei bambini è già stata infettata dall'RSV; tuttavia, poiché l'immunità sviluppata contro questo virus è debole, sia i bambini sia gli adulti rimangono vulnerabili a possibili infezioni future.⁶ I sintomi compaiono da quattro a sei giorni dopo l'infezione, che è generalmente autolimitante e nei neonati ha una durata di una o due settimane circa. Negli adulti, l'infezione dura 5 giorni circa e si manifesta con sintomi corrispondenti a quelli del raffreddore, come rinorea, affaticamento, cefalea e febbre. La stagione dell'RSV è più o meno simile a quella dell'influenza: l'incidenza aumenta infatti a partire dall'autunno per ridursi successivamente all'inizio della primavera.^{5,6}

Programmi di sorveglianza attiva e precauzioni per la prevenzione delle infezioni sono essenziali per prevenire la trasmissione del SARS-CoV-2, dell'influenza e dell'RSV. L'uso di saggi in grado di fornire risultati rapidi per l'identificazione dei pazienti affetti da questi virus può essere importante ai fini di un controllo efficace, della scelta del trattamento idoneo e della prevenzione di focolai epidemici di vaste proporzioni.

Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV è un test diagnostico molecolare *in vitro* che contribuisce all'identificazione e alla differenziazione dell'RNA dei virus Flu A, Flu B, RSV e SARS-CoV-2 basandosi su una tecnologia di amplificazione degli acidi nucleici ampiamente utilizzata. Il test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV contiene primer, sonde e controlli interni utilizzati nella RT-PCR per il rilevamento qualitativo e la differenziazione *in vitro* dell'RNA dei virus Flu A, Flu B, RSV e SARS-CoV-2 in campioni di analisi delle alte vie respiratorie.

5 Principio della procedura

Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV è un test diagnostico automatizzato *in vitro* per il rilevamento qualitativo e la differenziazione dell'RNA dei virus Flu A, Flu B, RSV e SARS-CoV-2. Il test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV si esegue sui sistemi di strumentazione GeneXpert. I primer e le sonde del test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV sono progettati per amplificare e rilevare sequenze uniche in: geni del nucleocapside (N2) e dell'envelope (E) del genoma del virus SARS-CoV-2, matrice (M) dell'influenza A, proteina di base della polimerasi (PB2) dell'influenza A, proteina acida (PA) dell'influenza A, matrice (M) dell'influenza B, proteina non strutturale (NS) dell'influenza B e nucleocapsidi dell'RSV A e dell'RSV B.

I sistemi di strumentazione GeneXpert consentono di automatizzare e integrare la preparazione dei campioni, l'estrazione, l'amplificazione degli acidi nucleici e l'identificazione della sequenza bersaglio in campioni semplici o complessi, utilizzando i saggi di RT-PCR e PCR real time. 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 di cartucce monouso contenenti i reagenti per la RT-PCR, in cui si svolgono i processi di RT-PCR. Grazie alle cartucce isolate ermeticamente nel contenuto, il rischio di contaminazione crociata tra i campioni è ridotto al minimo. Per una descrizione completa dei sistemi, consultare il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx* o il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Infinity*.

Il test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV include i reagenti per il rilevamento dell'RNA dei virus Flu A, Flu B, RSV e SARS-CoV-2 in campioni di analisi da tampone nasale, tampone nasofaringeo o lavaggio/aspirato nasale. La cartuccia utilizzata dallo strumento GeneXpert include anche un controllo per il trattamento dei campioni (SPC) e un controllo per la verifica della sonda (PCC). L'SPC serve a controllare l'idoneità del trattamento del campione e a monitorare la presenza di potenziali inibitori nella reazione di RT-PCR. L'SPC garantisce inoltre che le condizioni di reazione della RT-PCR (temperatura e tempo) siano adeguate alla reazione di amplificazione e che i reagenti della RT-PCR siano funzionali. Il PCC verifica la reidratazione dei reagenti e il riempimento delle provette per la PCR; conferma inoltre la presenza, nella cartuccia, di tutti i componenti di reazione, monitorando anche l'integrità delle sonde e la stabilità dei coloranti.

Il campione di analisi da tampone nasale, tampone nasofaringeo o lavaggio/aspirato nasale viene prelevato e inserito in una provetta di trasporto contenente 3 ml di mezzo di trasporto virale o 3 ml di soluzione fisiologica. Il campione di analisi viene brevemente miscelato capovolgendo per 5 volte la provetta di raccolta. Utilizzando la pipetta di trasferimento fornita in dotazione, il campione viene trasferito nella camera per il campione della cartuccia Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV. La cartuccia GeneXpert viene caricata nella piattaforma del sistema di strumentazione GeneXpert, dove viene eseguita l'analisi automatizzata, senza intervento manuale, del campione e la RT-PCR real time per il rilevamento dell'RNA virale.

6 Reagenti e strumenti

6.1 Materiali in dotazione

Il kit Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV contiene reagenti sufficienti per il trattamento di 10 campioni di analisi o campioni di controllo qualità. Il contenuto del kit è il seguente:

Cartucce Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV con provette di reazione integrate	10
Microsfera 1, microsfera 2 e microsfera 3 (liofilizzate)	1 di ciascuna per cartuccia
Reagente di lisi	1,0 ml per cartuccia
Reagente legante	1,0 ml per cartuccia
Reagente di eluizione	3,0 ml per cartuccia
Reagente di lavaggio	0,4 ml per cartuccia
Pipette di trasferimento monouso	10-12 per kit
Volantino	1 per kit
Istruzioni per individuare (e importare) l'ADF e la documentazione come, ad esempio, il foglietto illustrativo sul sito www.cepheid.com	
Istruzioni di riferimento rapido	2 per kit
Solo per gli utenti del sistema GeneXpert Xpress	

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

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

7 Conservazione e manipolazione

- Conservare le cartucce Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV a 2-28 °C.
- Aprire il coperchio della cartuccia solo immediatamente prima di eseguire il test.
- Non utilizzare cartucce bagnate o che presentano perdite.

8 Materiali necessari ma non forniti

- Tampone floccato in nylon (Copan P/N 502CS01, 503CS01) o equivalente
- Mezzo di trasporto virale, 3 ml (Copan P/N 330C) o equivalente
- Soluzione fisiologica 0,9% (p/v), 3 ml
- Nasopharyngeal Sample Collection Kit for Viruses (Cepheid P/N SWAB/B-100, Copan P/N 305C) o equivalente
- Nasal Sample Collection Kit for Viruses (Cepheid P/N SWAB/F-100, Copan P/N 346C) o equivalente
- Sistemi GeneXpert Dx o GeneXpert Infinity (il numero di catalogo varia in base alla configurazione): strumento GeneXpert, computer, lettore di codici a barre e manuale dell'operatore.

Per il sistema GeneXpert Dx: Software GeneXpert Dx versione 4.7b o successiva

Per i sistemi GeneXpert Infinity-80 e Infinity-48s: Software Xpertise versione 6.4b o successiva

9 Materiali disponibili non in dotazione

Controlli esterni sotto forma di virus inattivati sono disponibili presso ZeptoMetrix (Buffalo, NY).

- Controllo positivo esterno: N. di catalogo NATFRC-6C (NATrol Flu/RSV/SARS-CoV-2)
- Controllo negativo esterno: N. di catalogo NATCV9-6C (Coxsackievirus A9)

10 Avvertenze e precauzioni

10.1 Avvertenze di carattere generale

- Per uso diagnostico *in vitro*.
- I risultati positivi indicano la presenza dell'RNA di influenza A, influenza B, RSV o SARS-CoV-2.
- Le caratteristiche prestazionali di questo test sono state stabilite con i tipi di campioni di analisi da tampone nasale e nasofaringeo. Le prestazioni di questo saggio con altri tipi di campioni di analisi non sono state valutate.
- 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 manipolati utilizzando le precauzioni standard. Le linee guida per il trattamento dei campioni di analisi sono disponibili presso i Centri per il controllo e la prevenzione delle malattie negli Stati Uniti (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)⁷ e l'Istituto per gli standard clinici e di laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute).⁸
- Durante il trattamento di sostanze chimiche e la manipolazione di campioni biologici di analisi, rispettare le procedure di sicurezza previste dalla struttura sanitaria di pertinenza.
- Consultare il personale addetto allo smaltimento dei rifiuti ambientali del proprio istituto per il corretto smaltimento delle cartucce usate, che potrebbero contenere il materiale amplificato. Le strutture sanitarie sono tenute a informarsi in merito alle normative sullo smaltimento dei rifiuti pericolosi in vigore nei rispettivi Paesi.

10.2 Campioni di analisi

- Durante il trasporto dei campioni di analisi, mantenere le condizioni di conservazione corrette per garantire l'integrità dei campioni stessi (vedere Sezione 12. Prelievo, trasporto e conservazione dei campioni di analisi). La stabilità dei campioni di analisi in condizioni di spedizione diverse da quelle consigliate non è stata valutata.

10.3 Saggio/Reagente

- Aprire il coperchio della cartuccia Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV solo per aggiungere il campione.
- Non utilizzare una cartuccia che sia caduta dopo essere stata estratta dalla confezione.
- Non agitare la cartuccia. Se la cartuccia cade o viene agitata dopo l'apertura del coperchio, si potrebbero ottenere risultati indeterminati.
- Non applicare l'etichetta con l'ID del campione sul coperchio o sull'etichetta del codice a barre della cartuccia.
- Non utilizzare una cartuccia che presenta l'etichetta del codice a barre danneggiata.
- Non utilizzare una cartuccia la cui provetta di reazione è danneggiata.
- Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza.
- Ogni cartuccia monouso Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV viene utilizzata per l'esecuzione di un solo test. Non riutilizzare le cartucce usate.
- Ogni pipetta monouso viene utilizzata per trasferire un solo campione di analisi. Non riutilizzare le pipette monouso.
- Non usare la cartuccia se appare umida o se sembra che il sigillo del coperchio sia stato rotto.
- Indossare camice da laboratorio e guanti puliti. Cambiare i guanti tra una manipolazione e l'altra di ciascun campione di analisi.
- In caso di fuoriuscita di campioni di analisi o di controlli, indossare dei guanti e assorbire la fuoriuscita con salviette di carta. Pulire, quindi, accuratamente l'area contaminata con una soluzione di candeggina per uso domestico al 10% appena preparata. Prevedere un tempo di contatto minimo di due minuti. Accertarsi che l'area di lavoro sia asciutta prima di utilizzare l'etanolo denaturato al 70% per rimuovere i residui di candeggina. Lasciare asciugare completamente la superficie prima di proseguire. Oppure, seguire le prassi standard del proprio istituto previste

in caso di contaminazione o fuoriuscita. Per le apparecchiature, seguire le raccomandazioni del produttore per la decontaminazione dell'apparecchiatura.

- I campioni biologici di analisi, i dispositivi di trasferimento e le cartucce usate devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi adottando le precauzioni standard. Attenersi alle procedure di smaltimento dei rifiuti ambientali del proprio istituto per il corretto smaltimento delle cartucce usate e dei reagenti non utilizzati. Questi materiali potrebbero essere considerati rifiuti chimici pericolosi richiedenti uno specifico smaltimento. Se i regolamenti nazionali o regionali non forniscono istruzioni chiare sul corretto smaltimento, i campioni biologici di analisi e le cartucce usate devono essere smaltiti in base alle linee guida dell'OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità) sulla manipolazione e lo smaltimento dei rifiuti medici.

11 Pericoli chimici^{9,10}

Parola: ATTENZIONE

Indicazioni di pericolo UN GHS

- Nocivo se ingerito.
- Può essere nocivo per contatto con la pelle.
- Provoca irritazione oculare.

Frasi di prudenza UN GHS

Prevenzione

- Lavare accuratamente le mani 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.

12 Prelievo, trasporto e conservazione dei campioni di analisi

La correttezza di prelievo, conservazione e trasporto dei campioni di analisi è essenziale ai fini delle prestazioni della presente analisi. Il prelievo inadeguato dei campioni di analisi, la loro manipolazione impropria e/o il loro trasporto non corretto possono generare falsi risultati. Vedere la sezione 12.1 per la procedura di raccolta con tampone nasofaringeo, la sezione 12.2 per la procedura di raccolta con tampone nasale e la sezione 12.3 per la procedura di lavaggio/aspirazione nasale.

I campioni di analisi da tampone nasale, tampone nasofaringeo o lavaggio/aspirato nasale possono essere conservati a temperatura ambiente (15-30 °C) per 24 ore in mezzo di trasporto virale o 48 ore in soluzione fisiologica fino all'esecuzione del test sui sistemi di strumentazione GeneXpert. In alternativa, i campioni di analisi da tampone nasofaringeo, tampone nasale e lavaggio/aspirato nasale possono essere conservati in frigorifero (2-8 °C) per un massimo di sette giorni, in mezzo di trasporto virale o soluzione fisiologica, fino all'esecuzione del test sui sistemi di strumentazione GeneXpert.

Consultare il documento "WHO Laboratory Biosafety Guidance Related to the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)". [https://www.who.int/publications-detail/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-2019-\(covid-19\)](https://www.who.int/publications-detail/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-2019-(covid-19))

12.1 Procedura di prelievo con tampone nasofaringeo

1. Inserire il tampone in una delle narici, infilandolo nel nasofaringe posteriore (vedere la Figura 1).

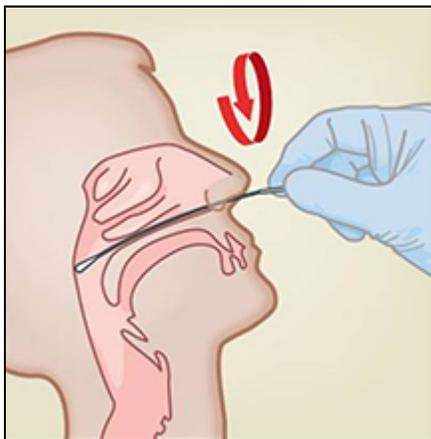


Figura 1. Prelievo con tampone nasofaringeo

2. Ruotare il tampone strofinando con decisione contro il nasofaringe per diverse volte. Estrarre il tampone e collocarlo nella provetta contenente 3 ml di mezzo di trasporto virale o 3 ml di soluzione fisiologica.
3. Spezzare il tampone sulla linea indicata e tappare bene la provetta di raccolta del campione di analisi.

12.2 Procedura di prelievo con tampone nasale

1. Inserire un tampone nasale per circa 1-1,5 cm in una narice. Far ruotare il tampone contro la superficie interna della narice per 3 secondi, premendo un dito sulla sua superficie esterna (vedere la Figura 2).



Figura 2. Prelievo con tampone nasale per la prima narice

2. Ripetere per l'altra narice con lo stesso tampone, applicando una pressione all'esterno della stessa (vedere la Figura 3). Per evitare la contaminazione del campione di analisi, la punta del tampone deve toccare solo l'interno della narice.



Figura 3. Prelievo con tampone nasale per la seconda narice

3. Estrarre il tampone e collocarlo nella provetta contenente 3 ml di mezzo di trasporto virale o 3 ml di soluzione fisiologica. Spezzare il tampone sulla linea indicata e tappare bene la provetta di raccolta del campione di analisi.

12.3 Procedura di prelievo di lavaggio/aspirato nasale

1. I campioni di analisi da lavaggio/aspirato nasale possono essere prelevati seguendo la prassi standard dell'istituto. Inoltre, consultare le linee guida dell'OMS per la raccolta di campioni di analisi da lavaggio/aspirato nasale di provenienza umana.
2. https://www.who.int/influenza/human_animal_interface/virology_laboratories_and_vaccines/guidelines_collection_h5n1_humans/en/
3. Utilizzando una pipetta di trasferimento pulita, trasferire 600 µl di campione nella provetta contenente 3 ml di mezzo di trasporto virale o 3 ml di soluzione fisiologica, quindi chiudere la provetta.

13 Procedura

13.1 Preparazione della cartuccia

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

1. Estrarre una cartuccia dalla confezione.
2. Controllare che la provetta di trasporto del campione di analisi sia chiusa.
3. Miscelare il campione di analisi capovolgendo rapidamente la provetta di trasporto per 5 volte. Aprire il tappo della provetta di trasporto del campione di analisi.
4. Aprire il coperchio della cartuccia.
5. Estrarre la pipetta di trasferimento dalla busta.
6. Schiacciare il bulbo superiore della pipetta di trasferimento **fino ad appiattirlo completamente**. Continuando a mantenere il bulbo completamente appiattito, inserire la punta della pipetta nella provetta di trasporto del campione di analisi (vedere la Figura 4).

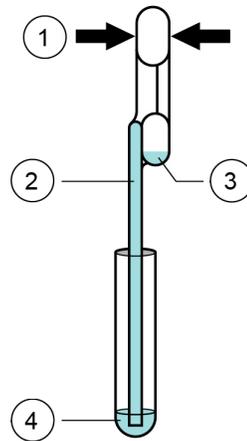


Figura 4. Pipetta di trasferimento

Numero	Descrizione
1	Schiacciare qui.
2	Pipetta
3	Bulbo serbatoio di raccolta
4	Campione

- Mantenendo la pipetta sotto la superficie del liquido, rilasciare lentamente il bulbo superiore per riempire la pipetta di campione prima di estrarla dalla provetta. È possibile che un po' di liquido entri nel serbatoio di raccolta (vedere la Figura 4). Ciò non rappresenta un problema. Controllare che la pipetta non contenga bolle d'aria.
- Per trasferire il campione all'interno della cartuccia, schiacciare completamente ancora una volta il bulbo superiore del bulbo della pipetta, fino a che il bulbo non risulti completamente piatto, per svuotare il contenuto della pipetta (300 µl) nell'apertura grande della cartuccia (camera per il campione) rappresentata nella Figura 5. Un po' di liquido potrebbe rimanere nel serbatoio di raccolta. Smaltire la pipetta usata.



Figura 5. Cartuccia di Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV (vista dall'alto)

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

- Chiudere il coperchio della cartuccia.

13.2 Controlli esterni

I controlli esterni descritti nella Sezione 9 sono disponibili ma non vengono forniti in dotazione e possono essere utilizzati in accordo con gli organismi di accreditamento locali, nazionali e regionali, a seconda del caso.

Per eseguire un controllo utilizzando il test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV, procedere nel modo seguente.

1. Miscelare il controllo capovolgendo rapidamente la provetta del controllo esterno per 5 volte. Aprire il tappo della provetta del controllo esterno.
2. Aprire il coperchio della cartuccia.
3. Adoperando una pipetta di trasferimento pulita, trasferire un'aliquota di campione di controllo esterno (300 µl) nell'apertura grande della cartuccia (camera per il campione) rappresentata nella Figura 5.
4. Chiudere il coperchio della cartuccia.

13.3 Avvio del test

Nota Prima di iniziare il test, assicurarsi che il sistema contenga moduli con software GeneXpert Dx versione 4.7b o successiva o software Infinity Xpertise 6.4b o versione successiva e che il file di definizione del saggio Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV sia stato importato nel software.

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

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

1. Accendere il sistema di strumentazione GeneXpert:
 - Se si utilizza lo *strumento GeneXpert Dx*, accendere prima lo strumento e poi il computer. Accedere al sistema operativo di Windows. Il software GeneXpert potrà avviarsi automaticamente; in caso contrario, fare doppio clic sull'icona del collegamento di GeneXpert Dx sul desktop di Windows®.
 - oppure
 - Se si utilizza lo *strumento GeneXpert Infinity*, accenderlo facendo ruotare in senso orario l'interruttore di alimentazione fino a portarlo nella posizione ON (di accensione). Per avviare il software, fare doppio clic sull'icona del collegamento del software Xpertise sul desktop di Windows.
2. Accedere al software del sistema. Comparirà la schermata di accesso. Digitare il nome utente e la password.
3. Nella finestra del **sistema GeneXpert**, fare clic su **Crea analisi (Create Test)** (GeneXpert Dx) o **Ordini (Orders)** seguito da **Ordina test (Order Test)** (Infinity).
4. Eseguire la scansione o digitare l'ID paziente (Patient ID) (opzionale). Se l'ID paziente (Patient ID) viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente. L'ID paziente (Patient ID) viene visualizzato nella finestra **Visualizza risultati (View Results)** ed è associato ai risultati del test.
5. Inserire l'ID campione (Sample ID) tramite scansione o manualmente. Se l'ID campione (Sample ID) viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente. L'ID campione (Sample ID) è riportato sul lato sinistro della finestra Visualizza risultati (View Results) ed è associato al risultato del test.
6. Eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV. Utilizzando le informazioni contenute nel codice a barre, il software compila automaticamente le caselle relative ai seguenti campi: ID lotto reagente (Reagent Lot ID), N/S cartuccia (Cartridge S/N), Data di scadenza (Expiration Date) e Saggio selezionato (Selected Assay).

Nota Se non è possibile eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV, ripetere il test con una nuova cartuccia.

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

Per lo *strumento GeneXpert Dx*:

- a) Individuare il modulo con la spia verde lampeggiante, aprire lo sportello del modulo dello strumento e caricare la cartuccia.
- b) Chiudere lo sportello. Il test viene avviato e la spia verde smette di lampeggiare. Al termine del test, la spia verde si spegne e lo sportello si sblocca. Rimuovere la cartuccia.

- c) Smaltire le cartucce usate negli appositi contenitori dei rifiuti dei campioni attenendosi alla prassi standard del proprio istituto.

Per il sistema GeneXpert Infinity

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

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

14 Visualizzazione e stampa dei risultati

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

15 Controllo qualità

15.1 Controlli interni

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

Controllo per il trattamento dei campioni (SPC) - Assicura che il campione sia stato trattato correttamente. L'SPC verifica che il trattamento del campione sia avvenuto correttamente. Questo controllo rileva inoltre l'inibizione del saggio di PCR real time associata al campione, garantisce che le condizioni di reazione della PCR (temperatura e tempo) siano adeguate alla reazione di amplificazione e che i reagenti PCR siano funzionali. L'SPC deve essere positivo in un campione negativo e può essere negativo o positivo in un campione positivo. L'SPC si considera superato se soddisfa i criteri di accettazione convalidati.

Controllo per la verifica della sonda (PCC) – Prima che inizi la reazione PCR, il sistema GeneXpert misura il segnale di fluorescenza emesso dalle sonde, allo scopo di monitorare la reidratazione delle microsferi, il riempimento delle provette di reazione, l'integrità delle sonde e la stabilità dei coloranti. Il PCC si considera superato se soddisfa i criteri di accettazione convalidati.

15.2 Controlli esterni

I controlli esterni devono essere usati in conformità con i requisiti degli organismi di accreditamento locali, regionali e nazionali pertinenti.

16 Interpretazione dei risultati

I risultati vengono interpretati automaticamente dal sistema GeneXpert e sono chiaramente visualizzati nella finestra **Visualizza risultati (View Results)**. Il test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV fornisce i risultati in base al rilevamento dei rispettivi bersagli genici secondo gli algoritmi.

Il formato in cui vengono presentati i risultati del test può variare in base alla scelta del test da parte dell'operatore (Xpert Xpress_SARS-CoV-2_Flu_RSV, Xpert Xpress_SARS-CoV-2_Flu o Xpert Xpress_SARS-CoV-2).

Nella Tabella 1 sono riportati i risultati che si potrebbero ottenere selezionando la modalità di test **Xpert Xpress SARS-CoV-2_Flu_RSV**.

Tabella 1. Possibili risultati per Xpert Xpress SARS-CoV-2_Flu_RSV e interpretazione

Risultato	Interpretazione
SARS-CoV-2 POSITIVO (SARS-CoV-2 POSITIVE)	<p>L'RNA bersaglio del SARS-CoV-2 è stato rilevato.</p> <ul style="list-style-type: none"> Il segnale di SARS-CoV-2 ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima. SPC: NA (non applicabile); l'SPC viene ignorato perché si è verificata l'amplificazione del bersaglio per SARS-CoV-2. Verifica della sonda: AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
Influenza A POSITIVO (Flu A POSITIVE)	<ul style="list-style-type: none"> Il segnale dell'influenza A per il bersaglio RNA di influenza A1 o per il bersaglio RNA di influenza A2 oppure i segnali per entrambi i bersagli RNA hanno un Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione della soglia. SPC - NA; l'SPC viene ignorato perché si è verificata l'amplificazione del bersaglio per l'influenza A. Verifica della sonda - AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
Influenza B POSITIVO (Flu B POSITIVE)	<ul style="list-style-type: none"> Il segnale di influenza B ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima. SPC: NA; l'SPC viene ignorato perché si è verificata l'amplificazione del bersaglio per l'influenza B. Verifica della sonda: AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
RSV POSITIVO (RSV POSITIVE)	<ul style="list-style-type: none"> Il segnale dell'RSV ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima. SPC: NA; l'SPC viene ignorato perché si è verificata l'amplificazione del bersaglio per l'RSV. Verifica della sonda: AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
SARS-CoV-2 NEGATIVO (SARS-CoV-2 NEGATIVE); Influenza A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE); Influenza B NEGATIVO (Flu B NEGATIVE); RSV NEGATIVO (RSV NEGATIVE)	<p>L'RNA bersaglio del SARS-CoV-2 non è stato rilevato; l'RNA bersaglio dell'influenza A non è stato rilevato; l'RNA bersaglio dell'influenza B non è stato rilevato; l'RNA bersaglio dell'RSV non è stato rilevato.</p> <ul style="list-style-type: none"> Gli RNA bersaglio di SARS-CoV-2, influenza A, influenza B e RSV non sono stati rilevati. SPC - AMMESSO (PASS); l'SPC ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima. Verifica della sonda - AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.

Risultato	Interpretazione
NON VALIDO (INVALID)	<p>L'SPC non soddisfa i criteri di accettazione e non è stato rilevato nessun bersaglio. Ripetere l'analisi in base alla Procedura di ripetizione dell'analisi, sezione 17.2.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SPC: RESPINTO (FAIL); l'SPC e i segnali di SARS-CoV-2, influenza A, influenza B e RSV non hanno un valore Ct compreso nell'intervallo valido e l'endpoint è inferiore all'impostazione minima. • Verifica della sonda - AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
ERRORE (ERROR)	<p>È impossibile determinare la presenza o l'assenza dell'RNA di SARS-CoV-2, influenza A, influenza B e RSV. Ripetere l'analisi in base alla Procedura di ripetizione dell'analisi, sezione 17.2.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SARS-CoV-2: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • Influenza A: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • Influenza B: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • RSV: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • SPC: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • Verifica della sonda: RESPINTO (FAIL)^a; uno o tutti i risultati di verifica della sonda hanno dato esito negativo.
NESSUN RISULTATO (NO RESULT)	<p>È impossibile determinare la presenza o l'assenza dell'RNA di SARS-CoV-2, influenza A, influenza B e RSV. Ripetere l'analisi in base alla Procedura di ripetizione dell'analisi, sezione 17.2. NESSUN RISULTATO (NO RESULT) indica che i dati raccolti sono insufficienti. Ad esempio, l'operatore ha interrotto un test in corso.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SARS-CoV-2: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • Influenza A: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • Influenza B: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • RSV: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • SPC: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • Verifica della sonda: NA
<p>Se l'SPC è negativo e i risultati sono positivi per un bersaglio qualsiasi, si considerano validi i risultati per tutti i bersagli.</p>	

^a Se la verifica della sonda viene superata, l'errore è causato dal superamento dell'intervallo accettabile da parte del limite massimo di pressione, dalla mancata aggiunta del campione o dal guasto di un componente del sistema.

Nella Tabella 2 sono riportati i risultati che si potrebbero ottenere selezionando la modalità di test **Xpert Xpress_SARS-CoV-2_Flu**.

Tabella 2. Possibili risultati di Xpert Xpress_SARS-CoV-2_Flu e interpretazione

Risultato	Interpretazione
SARS-CoV-2 POSITIVO (SARS-CoV-2 POSITIVE)	<p>L'RNA bersaglio del SARS-CoV-2 è stato rilevato.</p> <ul style="list-style-type: none"> Il segnale di SARS-CoV-2 ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima. SPC: NA (non applicabile); l'SPC viene ignorato perché si è verificata l'amplificazione del bersaglio per SARS-CoV-2. Verifica della sonda: AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
Influenza A POSITIVO (Flu A POSITIVE)	<ul style="list-style-type: none"> Il segnale dell'influenza A per il bersaglio RNA di influenza A1 o per il bersaglio RNA di influenza A2 oppure i segnali per entrambi i bersagli RNA hanno un Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione della soglia. SPC - NA; l'SPC viene ignorato perché si è verificata l'amplificazione del bersaglio per l'influenza A. Verifica della sonda - AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
Influenza B POSITIVO (Flu B POSITIVE)	<ul style="list-style-type: none"> Il segnale di influenza B ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima. SPC: NA; l'SPC viene ignorato perché si è verificata l'amplificazione del bersaglio per l'influenza B. Verifica della sonda: AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
SARS-CoV-2 NEGATIVO (SARS-CoV-2 NEGATIVE); Influenza A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE); Influenza B NEGATIVO (Flu B NEGATIVE)	<p>L'RNA bersaglio di SARS-CoV-2 non è stato rilevato; l'RNA bersaglio dell'influenza A non è stato rilevato; l'RNA bersaglio dell'influenza B non è stato rilevato.</p> <ul style="list-style-type: none"> Gli RNA bersaglio di SARS-CoV-2, influenza A e influenza B non sono stati rilevati. SPC - AMMESSO (PASS); l'SPC ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima. Verifica della sonda - AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
NON VALIDO (INVALID)	<p>L'SPC non soddisfa i criteri di accettazione e non è stato rilevato nessun bersaglio. Ripetere l'analisi in base alla Procedura di ripetizione dell'analisi, sezione 17.2.</p> <ul style="list-style-type: none"> SPC: RESPINTO (FAIL); l'SPC e i segnali di SARS-CoV-2, influenza A e influenza B non hanno un valore Ct compreso nell'intervallo valido e l'endpoint è inferiore all'impostazione minima. Verifica della sonda - AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.

Risultato	Interpretazione
ERRORE (ERROR)	<p>È impossibile determinare la presenza o l'assenza dell'RNA di SARS-CoV-2, influenza A e influenza B. Ripetere l'analisi in base alla Procedura di ripetizione dell'analisi, sezione 17.2.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SARS-CoV-2: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • Influenza A: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • Influenza B: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • SPC: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • Verifica della sonda: RESPINTO (FAIL)^a; uno o tutti i risultati di verifica della sonda hanno dato esito negativo.
NESSUN RISULTATO (NO RESULT)	<p>È impossibile determinare la presenza o l'assenza dell'RNA di SARS-CoV-2, influenza A e influenza B. Ripetere l'analisi in base alla Procedura di ripetizione dell'analisi, sezione 17.2. NESSUN RISULTATO (NO RESULT) indica che i dati raccolti sono insufficienti. Ad esempio, l'operatore ha interrotto un test in corso.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SARS-CoV-2: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • Influenza A: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • Influenza B: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • SPC: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • Verifica della sonda: NA
<p>Se l'SPC è negativo e i risultati sono positivi per un bersaglio qualsiasi, si considerano validi i risultati per tutti i bersagli.</p>	

^a Se la verifica della sonda viene superata, l'errore è causato dal superamento dell'intervallo accettabile da parte del limite massimo di pressione, dalla mancata aggiunta del campione o dal guasto di un componente del sistema.

Nella Tabella 3 sono riportati i risultati che si potrebbero ottenere selezionando la modalità di test **Xpert Xpress_SARS-CoV-2**.

Tabella 3. Possibili risultati per Xpert Xpress_SARS-CoV-2 e interpretazione

Risultato	Interpretazione
SARS-CoV-2 POSITIVO (SARS-CoV-2 POSITIVE)	<p>L'RNA bersaglio del SARS-CoV-2 è stato rilevato.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Il segnale di SARS-CoV-2 ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima. • SPC: NA (non applicabile); l'SPC viene ignorato perché si è verificata l'amplificazione del bersaglio per SARS-CoV-2. • Verifica della sonda: AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
SARS-CoV-2 NEGATIVO (SARS-CoV-2 NEGATIVE)	<p>L'RNA bersaglio del SARS-CoV-2 non è stato rilevato.</p> <ul style="list-style-type: none"> • L'RNA bersaglio del SARS-CoV-2 non è stato rilevato. • SPC – AMMESSO (PASS); l'SPC ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima. • Verifica della sonda - AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
NON VALIDO (INVALID)	<p>L'SPC non soddisfa i criteri di accettazione e il SARS-CoV-2 non è stato rilevato. Ripetere l'analisi in base alla Procedura di ripetizione dell'analisi, sezione 17.2.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SPC: RESPINTO (FAIL); l'SPC e i segnali di SARS-CoV-2 non hanno un valore Ct compreso nell'intervallo valido e l'endpoint è inferiore all'impostazione minima. • Verifica della sonda - AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
ERRORE (ERROR)	<p>Non è possibile determinare la presenza o l'assenza dell'RNA di SARS-CoV-2. Ripetere l'analisi in base alla Procedura di ripetizione dell'analisi, sezione 17.2.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SPC: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • Verifica della sonda: RESPINTO (FAIL)^a; uno o tutti i risultati di verifica della sonda hanno dato esito negativo.
NESSUN RISULTATO (NO RESULT)	<p>È impossibile determinare la presenza o l'assenza dell'RNA di SARS-CoV-2, influenza A e influenza B. Ripetere l'analisi in base alla Procedura di ripetizione dell'analisi, sezione 17.2. NESSUN RISULTATO (NO RESULT) indica che i dati raccolti sono insufficienti. Ad esempio, l'operatore ha interrotto un test in corso.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SARS-CoV-2: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • SPC: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) • Verifica della sonda: NA

^a Se la verifica della sonda viene superata, l'errore è causato dal superamento dell'intervallo accettabile da parte del limite massimo di pressione, dalla mancata aggiunta del campione o dal guasto di un componente del sistema.

È possibile eseguire il test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV per rilevare SARS-CoV-2, influenza e RSV selezionando **Xpert Xpress_SARS-CoV-2_Flu_RSV** dal menu **Seleziona analisi (Select Test)**; solo SARS-CoV-2 e influenza selezionando **Xpert Xpress_SARS-CoV-2_Flu**; o solo SARS-CoV-2 selezionando **Xpert Xpress_SARS-CoV-2**. La modalità di test Xpert Xpress_SARS-CoV-2 include una funzione di termine anticipato del saggio (Early Assay Termination, EAT) grazie alla quale i risultati si ottengono in un tempo minore nei campioni di analisi ad alto titolo, qualora il segnale proveniente dal bersaglio SARS-CoV-2 raggiunga una soglia predeterminata prima del completamento di tutti e 45 i cicli di PCR. Quando i titoli di SARS-CoV-2 sono sufficientemente alti per attivare la funzione EAT, è possibile che non si visualizzi la curva di amplificazione SPC e che i relativi risultati non siano refertati.

17 Ripetizioni del test

17.1 Motivi per ripetere il test

Qualora dovesse presentarsi uno dei risultati elencati di seguito, ripetere il test secondo le istruzioni riportate nella Sezione 17.2, Procedura di ripetizione del test.

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

Se un controllo esterno non sortisce l'esito desiderato, ripetere il test di controllo esterno e/o contattare Cepheid per ricevere assistenza.

17.2 Procedura di ripetizione del test

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

Utilizzare il campione residuo dalla provetta con il mezzo di trasporto del campione di analisi originale oppure una nuova provetta con il controllo esterno.

1. Indossare un paio di guanti puliti. Prendere una cartuccia Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV nuova e una pipetta di trasferimento nuova.
2. Controllare che la provetta di trasporto del campione di analisi o la provetta con il controllo esterno sia chiusa.
3. Miscelare il campione capovolgendo rapidamente per 5 volte la provetta con il mezzo di trasporto del campione di analisi o la provetta con il controllo esterno. Aprire il tappo della provetta di trasporto del campione di analisi o della provetta con il controllo esterno.
4. Aprire il coperchio della cartuccia.
5. Adoperando una pipetta di trasferimento pulita (fornita in dotazione), trasferire il campione (un'aliquota) nella camera della cartuccia con l'apertura grande (camera del campione).
6. Chiudere il coperchio della cartuccia.

18 Limitazioni

- Le prestazioni del test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV sono state stabilite solo in campioni di analisi da tampone nasale e nasofaringeo. L'uso del test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV non è stato valutato con altri tipi di campioni di analisi e le caratteristiche prestazionali non sono note.
- I campioni di analisi da lavaggio/aspirato nasale sono considerati campioni accettabili per l'uso con il test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV, tuttavia le prestazioni con queste tipologie di campioni non sono state definite.
- Così come accade per qualsiasi test molecolare, le mutazioni a carico delle regioni bersaglio per il test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV potrebbero influenzare il legame con i primer e/o con le sonde; di conseguenza il virus potrebbe non essere rilevato oppure potrebbe essere rilevato in modo meno prevedibile.
- Questo test non è in grado di escludere malattie causate da altri agenti patogeni batterici o virali.

- Le prestazioni di questo test sono state convalidate solo tramite le procedure fornite nel presente foglietto illustrativo. Qualsiasi modifica apportata a queste procedure può alterare le prestazioni del test.
- Risultati errati del test potrebbero verificarsi a causa di errori di prelievo dei campioni di analisi, mancata osservanza delle procedure consigliate per il prelievo, la manipolazione e la conservazione dei campioni, errori tecnici o scambio di campioni. La rigorosa osservanza delle istruzioni del presente foglietto illustrativo è necessaria per evitare risultati erranei.
- Risultati falsi negativi possono verificarsi se il virus è presente a livelli inferiori al limite di rilevamento del test.
- I risultati negativi non escludono la possibilità di infezione da SARS-CoV-2, virus influenzali o RSV e non devono pertanto essere usati come unica base per il trattamento o per altre decisioni riguardanti la gestione dei pazienti.
- I risultati del test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV devono essere correlati all'anamnesi clinica, ai dati epidemiologici e agli altri dati a disposizione del medico che valuta il paziente.
- L'acido nucleico virale può persistere in vivo, indipendentemente dalla vitalità del virus. Il rilevamento del target o dei target degli analiti non implica che il virus o i virus corrispondenti siano infettivi o siano gli agenti eziologici dei sintomi clinici.
- Questo test è stato valutato esclusivamente per l'uso con materiale derivante da campioni di analisi umani.
- Questo è un test qualitativo e non fornisce il valore quantitativo del microrganismo rilevato.
- Questo test non è stato valutato per il monitoraggio del trattamento dell'infezione.
- Questo test non è stato valutato per lo screening del sangue o degli emoderivati per il rilevamento della presenza di SARS-CoV-2, virus influenzali o RSV.
- L'effetto delle sostanze interferenti è stato valutato solo per le sostanze elencate nella documentazione del saggio. L'interferenza ad opera di sostanze diverse da quelle riportate può causare risultati erranei.
- I risultati degli studi analitici con campioni artificiali con infezione concomitante hanno dimostrato la possibile interferenza competitiva quando SARS-CoV-2, i virus influenzali o l'RSV erano presenti a livelli 1X LoD.
- La reattività crociata con i microrganismi delle vie respiratorie diversi da quelli riportati nel presente documento può causare risultati erranei.
- La recente esposizione del paziente al vaccino antinfluenzale FluMist® o ad altri vaccini antinfluenzali con virus attenuato vivo può provocare risultati positivi inaccurati.
- Poiché il test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV non è in grado di differenziare tra i bersagli genici N2 ed E, la presenza di altri coronavirus nel lignaggio B, genere Betacoronavirus, che includono il SARS-CoV-1 può determinare un risultato falso positivo. Al momento nessuno di questi altri coronavirus sembra circolare nella popolazione umana.
- Questo test non è destinato alla differenziazione dei sottogruppi dell'RSV, dei sottotipi del virus dell'influenza A né dei lignaggi del virus dell'influenza B. Se è richiesta la differenziazione degli specifici sottotipi e ceppi influenzali o dell'RSV, è necessario eseguire ulteriori analisi in base alle prescrizioni delle unità sanitarie pubbliche statali o locali.
- I mezzi di trasporto dei campioni di analisi contenenti tiocianato di guanidina (GTC) possono interferire con il test determinando risultati falsi negativi.
- Mezzi di trasporto alternativi, non identificati nel presente foglietto illustrativo, devono essere convalidati per l'uso con Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV.
- Qualsiasi mezzo di trasporto alternativo precedentemente convalidato con altri test Cepheid potrebbe comunque richiedere una convalida per l'uso con Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV.
- Le prestazioni di questo dispositivo non sono state valutate in una popolazione vaccinata contro il COVID-19.

19 Caratteristiche prestazionali

19.1 Valutazione clinica

Le prestazioni del test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV sono state valutate utilizzando campioni clinici di archivio da tampone nasofaringeo (NF) e tampone nasale (NS) in mezzo di trasporto virale. I campioni di archivio sono stati selezionati consecutivamente in base alla data e al risultato dell'analita precedentemente noto. Un totale di 240 campioni di analisi da tampone nasofaringeo e 239 da tampone nasale sono stati analizzati con Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV parallelamente a un test di RT-PCR a marchio CE per SARS-CoV-2 e al test Xpert Xpress Flu/RSV con metodica randomizzata e in cieco.

Sono state determinate la percentuale di concordanza positiva (PPA) e la percentuale di concordanza negativa (NPA) confrontando i risultati del test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV con i risultati di un test RT-PCR per SARS-CoV-2 a marchio CE per il bersaglio SARS-CoV-2 e con i risultati del test Xpert Xpress Flu/RSV per i bersagli, rispettivamente, influenza A, influenza B e RSV.

Per i campioni di analisi da tampone NF, Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV ha dimostrato una PPA e una NPA, rispettivamente, del 97,9% e del 100,0% per SARS-CoV-2, 100,0% e 100,0% per l'influenza A, 100,0% e 99,0% per l'influenza B, 100,0% e 100,0% per RSV (Tabella 4).

Tabella 4. Risultati delle prestazioni di Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV utilizzando campioni di tampone NF

Bersaglio	Numero di campioni di analisi da tampone NF	TP	FP	TN	FN	PPA (IC al 95%)	NPA (IC al 95%)
SARS-CoV-2	240	46	0	193	1	97,9% (88,9%-99,6%)	100,0% (98,1%-100,0%)
Influenza A	240	48	0	192	0	100% (92,6% - 100,0%)	100,0% (98,0% - 100,0%)
Influenza B	240	46	2	192	0	100,0% (92,3% - 100,0%)	99,0% (96,3%-99,7%)
RSV	240	47	0	193	0	100,0% (92,4% - 100,0%)	100,0% (98,1%-100,0%)

TP: Vero positivo; FP: Falso positivo; TN: Vero negativo; FN: Falso negativo; IC: Intervallo di confidenza

Per i campioni di analisi da tampone NS, Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV ha dimostrato una PPA e una NPA, rispettivamente, del 97,9% e del 100,0% per SARS-CoV-2; 100,0% e 100,0% per l'influenza A, 100,0% e 100,0% per l'influenza B, 100,0% e 100,0% per RSV (Tabella 5).

Tabella 5. Risultati delle prestazioni di Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV utilizzando campioni di analisi da tampone NS

Bersaglio	Numero di campioni di analisi da tampone NS	TP	FP	TN	FN	PPA (IC al 95%)	NPA (IC al 95%)
SARS-CoV-2	239	47	0	191	1	97,9% (89,1%-99,6%)	100,0% (98,0% - 100,0%)
Influenza A	239	48	0	191	0	100,0% (92,6% - 100,0%)	100,0% (98,0% - 100,0%)
Influenza B	239	47	0	192	0	100,0% (92,4% - 100,0%)	100,0% (98,0% - 100,0%)
RSV	239	48	0	191	0	100,0% (92,6% - 100,0%)	100,0% (98,0% - 100,0%)

20 Prestazioni analitiche

20.1 Sensibilità analitica (limite di rilevamento)

La sensibilità analitica del test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV è stata valutata con un lotto di reagente e diluizioni limitanti di sei virus respiratori (NATrol SARS-CoV-2, influenza A H1, influenza H3, influenza B, RSV A e RSV B) in una matrice costituita da un pool di campioni clinici negativi da tampone NF, seguendo le indicazioni riportate nel documento EP17-A2 dell'Istituto per gli Standard Clinici e di Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI). I valori di LoD stimati, come determinato con l'analisi di regressione Probit, sono stati verificati utilizzando due lotti di reagenti per Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV. I valori di LoD verificati per i virus analizzati sono riepilogati nella Tabella 6.

Tabella 6. Limite di rilevamento di Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV

Virus/Ceppo	Concentrazione LoD
SARS-CoV-2 (USA-WA1/2020)	131 copie/ml
Influenza A/California/7/2009	0,004 TCID ₅₀ /ml
Influenza A/Victoria/3611/2011	0,087 TCID ₅₀ /ml
Influenza B/Mass/2/2012	0,04 TCID ₅₀ /ml
RSV A/2/Australia/61	0,43 TCID ₅₀ /ml
RSV B/Wash/18537/62	0,22 TCID ₅₀ /ml

20.2 Reattività analitica (inclusività)

L'inclusività di Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV è stata valutata utilizzando l'analisi *in silico* degli ampliconi del saggio in relazione a 48.461 sequenze di SARS-CoV-2 disponibili nel database genetico GISAID per due bersagli: E e N2.

Per l'analisi del bersaglio E, 113 sequenze sono state escluse a causa di nucleotidi ambigui, il che ha ridotto il totale a 48.348 sequenze. Delle 48.348 sequenze GISAID, 48.108 (99,5%) erano una corrispondenza esatta dell'amplicone del bersaglio E di SARS-CoV-2 generato con il test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV. Per 223 sequenze sono state osservate mancate corrispondenze a singolo nucleotide e per 17 sequenze sono state osservate due mancate corrispondenze. Delle 17 sequenze con due mancate corrispondenze, due sequenze contenevano 2 mancate corrispondenze nella regione del primer diretto, tre sequenze contenevano un dinucleotide 'GA' nel primer inverso e dodici sequenze contenevano un dinucleotide 'AA' che rientrava tra gli oligonucleotidi utilizzati nel saggio. Si ritiene che nessuna di queste mancate corrispondenze influisca sulle prestazioni del saggio.

Per l'analisi del bersaglio N2, 129 sequenze sono state escluse a causa di nucleotidi ambigui, il che ha ridotto il totale utilizzato nella valutazione a 48.332 sequenze. Delle 48.332 sequenze GISAID, 47.962 (99,2%) erano una corrispondenza esatta dell'amplicone del bersaglio N2 di SARS-CoV-2 generato con il test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV. Per 369 sequenze sono state osservate mancate corrispondenze con singoli nucleotidi e per una sequenza sono state osservate tre (3) mancate corrispondenze. Per quanto riguarda l'unica sequenza con tre posizioni varianti, due dei nucleotidi con mancata corrispondenza si trovano nella regione della sonda e potrebbero avere un impatto sul legame con la sonda. Si prevede che nessuna delle altre mancate corrispondenze abbia un impatto negativo sulle prestazioni del saggio.

L'inclusività di Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV per il virus RSV e per i virus influenzali corrisponde a quella riportata per la valutazione della reattività analitica del test Xpert Xpress Flu/RSV.

La reattività analitica del test Xpert Xpress Flu/RSV è stata valutata a fronte di molteplici ceppi di influenza A H1N1 (stagionale pre-2009), influenza A H1N1 (pandemica 2009), influenza A H3N2 (stagionale), influenza aviaria A (H5N1, H5N2, H6N2, H7N2, H7N3, H2N2, H7N9 e H9N2), influenza B (ceppi rappresentativi dei lignaggi Victoria e Yamagata) e sottogruppi A e B del virus respiratorio sinciziale (RSV A e RSV B) a livelli vicini al LoD analitico. Un totale di 53 ceppi, inclusi 48 virus dell'influenza (35 di influenza A e 13 di influenza B) e 5 ceppi di RSV, sono stati analizzati in questo studio con il test Xpert Xpress Flu/RSV. Sono stati analizzati tre replicati per ciascun ceppo. Tutti i ceppi dei virus influenzali e dell'RSV sono risultati positivi in tutti e tre i replicati, ad eccezione di un ceppo H1N1 dell'influenza A (A/New Jersey/8/76), che è risultato positivo in 2 dei 3 replicati a 0,1 TCID₅₀/ml. I risultati sono riportati nella Tabella 7. La reattività crociata prevista dalle analisi *in silico* ha dimostrato un'omologia di sequenza del 100% per ulteriori ceppi pH1N1.

Tabella 7. Reattività analitica (inclusività) del test Xpert Xpress Flu/RSV

Virus	Ceppo	Concentrazione target	Risultato		
			Influenza A	Influenza B	RSV
Controllo senza template		N/A	NEG	NEG	NEG
Influenza A H1N1 (pre-2009)	A/suina/Iowa/15/30	0,1 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG
	A/WS/33	0,1 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG
	A/PR/8/34	0,1 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG
	A/Mal/302/54	0,1 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG
	A/Denver/1/57	0,1 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG
	A/New Jersey/8/76	0,1 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG
	A/New Caledonia/20/1999	0,1 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG
	A/New York/55/2004	0,1 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG
	A/Solomon Island/3/2006	0,1 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG
	A/Taiwan/42/06	0,1 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG
A/Brisbane/59/2007	0,1 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG	
Influenza A H1N1 (pdm2009)	A/suina/NY/02/2009	0,1 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG
	A/Colorado/14/2012	0,1 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG
	A/Washington/24/2012	0,1 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG
Influenza A H3N2 (stagionale)	A/Aichi/2/68	2,0 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG
	A/Hong Kong/8/68	2,0 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG
	A/Port Chalmers/1/73	2,0 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG
	A/Hawaii/15/2001	2,0 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG
	A/Wisconsin/67/05	2,0 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG
	A/Brisbane/10/2007	2,0 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG
	A/Minnesota/11/2010 (H3N2)v	2,0 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG
	A/Indiana/08/2011 (H3N2)v	2,0 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG
	A/Texas/50/2012	2,0 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG
Influenza aviaria A	A/anatra/Hunan/795/2002 (H5N1)	≤ 1 pg/μl ^a	POS	NEG	NEG
	A/pollo/Hubei/327/2004 (H5N1)	≤ 1 pg/μl ^a	POS	NEG	NEG
	A/Anhui/01/2005 (H5N1)	≤ 1 pg/μl ^a	POS	NEG	NEG
	A/occhialino giapponese/Hong Kong/1038/2006 (H5N1)	≤ 1 pg/μl ^a	POS	NEG	NEG
	A/anatra selvatica/WI/34/75 (H5N2)	≤ 1 pg/μl ^a	POS	NEG	NEG
	A/pollo/CA431/00 (H6N2)	≤ 1 pg/μl ^a	POS	NEG	NEG

Virus	Ceppo	Concentrazione target	Risultato		
			Influenza A	Influenza B	RSV
	A/anatra/LTC-10-82743/1943 (H7N2)	≤ 1 pg/μl ^a	POS	NEG	NEG
	A/pollo/NJ/15086-3/94 (H7N3)	≤ 1 pg/μl ^a	POS	NEG	NEG
	A/Anhui/1/2013 (H7N9)	N/A ^b	POS	NEG	NEG
	A/Shanghai/1/2013 (H7N9)	N/A ^b	POS	NEG	NEG
	A/pollo/Corea/38349-p96323/ 1996(H9N2)	≤ 1 pg/μl ^a	POS	NEG	NEG
	A/anatra selvatica/NY/6750/78 (H2N2)	≤ 1 pg/μl ^a	POS	NEG	NEG
Influenza B	B/Lee/40	1,0 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG
	B/Allen/45	1,0 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG
	B/GL/1739/54	1,0 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG
	B/Maryland/1/59	1,0 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG
	B/Panama/45/90 ^c	1,0 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG
	B/Florida/07/2004 ^d	1,0 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG
	B/Florida/02/06 ^c	1,0 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG
	B/Florida/04/06 ^d	1,0 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG
	B/Hong Kong/5/72	1,0 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG
	B/Wisconsin/01/2011 ^d	1,0 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG
	B/Malesia/2506/04 ^c	1,0 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG
	B/Taiwan/2/62	1,0 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG
	B/Brisbane/60/2008 ^c	1,0 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG
RSV A	RSV-A/NY (dati clinici non noti)	3,0 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS
	RSV-A/WI/629-8-2/2007	3,0 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS
	RSV-A/WI/629-11-1/2008	3,0 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS
RSV B	RSV-B/WV14617/85	7,0 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS
	RSV-B/CH93(18)-18	7,0 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS

^a RNA virale purificato in matrice di fondo simulata è stato usato per i virus dell'influenza aviaria A a causa delle norme di biosicurezza.

^b Virus di influenza aviaria A (H7N9) inattivato senza titolo virale è stato diluito 100.000 volte in matrice di fondo simulata e analizzato a causa delle norme di biosicurezza.

^c Noto lignaggio Victoria.

^d Noto lignaggio Yamagata.

20.3 Specificità analitica (esclusività)

È stata condotta un'analisi *in silico* per le possibili reazioni crociate con tutti gli organismi elencati nella Tabella 8, mappando singolarmente i primer e le sonde nel test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV alle sequenze scaricate dal database GISAID. I primer e le sonde non sono specifici per SARS-CoV-2 e identificheranno i SARS-coronavirus umani e quelli del pipistrello. Non si prevede alcuna potenziale reattività crociata accidentale con gli altri organismi elencati nella Tabella 8 sulla base dell'analisi *in silico*.

Tabella 8. Microrganismi per la specificità analitica di Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV

Microrganismi appartenenti alla stessa famiglia genetica	Organismi con priorità elevata
Coronavirus umano 229E	Adenovirus (es. C1 Ad. 71)
Coronavirus umano OC43	Metapneumovirus umano (hMPV)
Coronavirus umano HKU1	Virus parainfluenzali 1-4
Coronavirus umano NL63	Influenza A
SARS-coronavirus	Influenza B
MERS-coronavirus	Influenza C
Coronavirus del pipistrello	Enterovirus (es. EV68)
	Virus respiratorio sinciziale
	Rhinovirus
	<i>Chlamydia pneumoniae</i>
	<i>Haemophilus influenzae</i>
	<i>Legionella pneumophila</i>
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
	<i>Streptococcus pyogenes</i>
	<i>Bordetella pertussis</i>
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
	<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)
	Parechovirus
	<i>Candida albicans</i>
	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>
	<i>Legionella non-pneumophila</i>
	<i>Bacillus anthracis</i> (antrace)
	<i>Moraxella catarrhalis</i>
	<i>Neisseria elongata</i> e <i>N. meningitidis</i>
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
	<i>Streptococcus salivarius</i>
	<i>Leptospira</i>
	<i>Chlamydia psittaci</i>

Microrganismi appartenenti alla stessa famiglia genetica	Organismi con priorità elevata
	<i>Coxiella burnetii</i> (febbre Q)
	<i>Staphylococcus aureus</i>

La specificità analitica di Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV per i virus dell'influenza A, B e RSV corrisponde a quella riportata per la valutazione dell'esclusività analitica del test Xpert Xpress Flu/RSV. La specificità analitica del test Xpert Xpress Flu/RSV è stata valutata analizzando un pannello di 44 colture costituite da 16 ceppi virali, 26 ceppi batterici e due ceppi di lievito rappresentativi degli agenti patogeni respiratori comuni o di quelli potenzialmente rilevabili nel tratto nasofaringeo. Sono stati analizzati tre replicati di ciascun ceppo batterico e di lievito a concentrazioni $\geq 1 \times 10^6$ CFU/ml, con l'eccezione di un ceppo che è stato analizzato a 1×10^5 CFU/ml (*Chlamydia pneumoniae*). Sono stati analizzati tre replicati di ciascun virus a concentrazioni $\geq 1 \times 10^5$ TCID₅₀/ml. La specificità analitica è stata del 100%. I risultati sono riportati nella Tabella 9.

Tabella 9. Specificità analitica del test Xpert Xpress Flu/RSV

Microrganismo	Concentrazione	Influenza A	Influenza B	RSV
<i>Controllo senza template</i>	N/A	NEG	NEG	NEG
Adenovirus tipo 1	1,12E+06 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG
Adenovirus tipo 7	1,87E+05 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG
Coronavirus umano OC43	2,85E+05 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG
Coronavirus umano 229E	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG
Cytomegalovirus	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG
Echovirus	3,31E+07 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG
Enterovirus	3,55E+05 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG
Virus di Epstein-Barr	7,16E+07 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG
Virus dell'herpes simplex	8,90E+05 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG
Virus del morbillo	6,31E+05 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG
Metapneumovirus umano	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG
Virus della parotite	6,31E+06 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG
Virus parainfluenzale umano tipo 1	1,15E+06 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG
Virus parainfluenzale umano tipo 2	6,31E+05 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG
Virus parainfluenzale umano tipo 3	3,55E+06 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG

Microorganismo	Concentrazione	Influenza A	Influenza B	RSV
Rinovirus tipo 1A	1,26E+05 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1,00E+06 CFU/ml	NEG	NEG	NEG
<i>Burkholderia cepacia</i>	3,30E+06 CFU/ml	NEG	NEG	NEG
<i>Candida albicans</i>	3,20E+06 CFU/ml	NEG	NEG	NEG
<i>Candida parapsilosis</i>	3,00E+06 CFU/ml	NEG	NEG	NEG
<i>Bordetella pertussis</i>	3,30E+06 CFU/ml	NEG	NEG	NEG
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1,00E+05 CFU/ml	NEG	NEG	NEG
<i>Citrobacter freundii</i>	3,30E+06 CFU/ml	NEG	NEG	NEG
<i>Corynebacterium sp.</i>	3,30E+06 CFU/ml	NEG	NEG	NEG
<i>Escherichia coli</i>	1,00E+07 CFU/ml	NEG	NEG	NEG
<i>Enterococcus faecalis</i>	1,30E+06 CFU/ml	NEG	NEG	NEG
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,00E+06 CFU/ml	NEG	NEG	NEG
<i>Lactobacillus reuteri</i>	1,00E+06 CFU/ml	NEG	NEG	NEG
<i>Legionella spp.</i>	1,00E+06 CFU/ml	NEG	NEG	NEG
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1,00E+07 CFU/ml	NEG	NEG	NEG
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> (non virulento)	1,00E+06 CFU/ml	NEG	NEG	NEG
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,00E+06 CFU/ml	NEG	NEG	NEG
<i>Neisseria meningitidis</i>	2,15E+06 CFU/ml	NEG	NEG	NEG
<i>Neisseria mucosa</i>	1,00E+07 CFU/ml	NEG	NEG	NEG
<i>Propionibacterium acnes</i>	2,40E+07 CFU/ml	NEG	NEG	NEG
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3,70E+06 CFU/ml	NEG	NEG	NEG
<i>Staphylococcus aureus</i> (produttore di proteina A)	2,20E+06 CFU/ml	NEG	NEG	NEG
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3,40E+06 CFU/ml	NEG	NEG	NEG
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	4,00E+06 CFU/ml	NEG	NEG	NEG
<i>Streptococcus agalactiae</i>	3,50E+06 CFU/ml	NEG	NEG	NEG
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,00E+06 CFU/ml	NEG	NEG	NEG
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,00E+07 CFU/ml	NEG	NEG	NEG
<i>Streptococcus salivarius</i>	1,00E+07 CFU/ml	NEG	NEG	NEG
<i>Streptococcus sanguinis</i>	3,10E+06 CFU/ml	NEG	NEG	NEG

20.4 Interferenza competitiva

È stata valutata l'interferenza competitiva del Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV provocata dalle infezioni concomitanti analizzando singoli ceppi di SARS-CoV-2, influenza A, influenza B o RSV a 1X LoD in presenza di differenti ceppi bersaglio a concentrazione maggiore in una matrice di fondo simulata. La concentrazione al LoD era di 131 copie/ml per il SARS-CoV-2 ed era compresa tra 0,004 TCID₅₀/ml e 0,43 TCID₅₀/ml per i ceppi dei virus influenzali e dell'RSV; i ceppi competitivi sono stati valutati a 10⁴ unità titolo (copie/ml, TCID₅₀/ml, CEID₅₀/ml o UFP/ml). La concentrazione corrispondente di RNA (copie/ml) per i ceppi di influenza e RSV è stata determinata tramite ddPCR.

L'interferenza competitiva analitica è stata valutata utilizzando un ceppo di SARS-CoV-2 (inattivato USA-WA1/2020), influenza A H3 (H3/Victoria/361/2011), influenza B (B/Mass/02/2012), RSV A (RSV-A/2/Australia/61) e RSV B (RSV-B/Wash/18537/62). Sono stati analizzati replicati di 20 per ciascun ceppo target e per ciascuna combinazione di ceppi competitivi. La distribuzione binomiale normale con 20 campioni replicati al LoD è compresa tra 17 e 20 risultati positivi in base alla distribuzione binomiale con $N=20$, $p=0,95$ ($X\sim\text{Bin}(20, 0,95)$). Pertanto, set di 20 campioni con 16 o meno campioni positivi sarebbero rari e costituirebbero indicazione di un effetto competitivo inibitore dovuto alla presenza di alti livelli di un analita competitivo. Di seguito è riportato un riepilogo dei risultati:

Tabella 10. Riepilogo dei risultati per l'interferenza competitiva

		Rilevazioni corrette (n/20)					
		Ceppo analizzato al LoD e interferente a:					
Ceppo analizzato al LoD	Ceppo interferente	10 ⁴ * (2,1e7 cp/ml)	10 ³ * (2,1e6 cp/ml)	10 ² * (2,1e5 cp/ml)	10 * (2,1e4 cp/ml)	1 * (2,1e3 cp/ml)	0,1 * (2,1e2 cp/ml)
Influenza B	Influenza A	6/20	20/20				
RSV A	Influenza A	9/20	17/20				
RSV B	Influenza A	11/20	18/20				
SARS-CoV-2	Influenza A	6/20	17/20	20/20			
Ceppo analizzato al LoD	Ceppo interferente	10 ⁴ * (5,2e7 cp/ml)	10 ³ * (5,2e6 cp/ml)	10 ² * (5,2e5 cp/ml)	10 * (5,2e4 cp/ml)	1 * (5,2e3 cp/ml)	0,1 * (5,2e2 cp/ml)
Influenza A	Influenza B	1/20	4/20	8/20	9/19	15/20	20/20
RSV A	Influenza B	0/20	0/20	3/20	18/20		
RSV B	Influenza B	7/20	8/20	11/20	18/20		
SARS-CoV-2	Influenza B	3/20	4/20	11/20	17/20	20/20	
Ceppo analizzato al LoD	Ceppo interferente	10 ⁴ * (3,7e7 cp/ml)	10 ³ * (3,7e6 cp/ml)	10 ² * (3,7e5 cp/ml)	10 * (3,7e4 cp/ml)	1 * (3,7e3 cp/ml)	0,1 * (3,7e2 cp/ml)
Influenza A	RSV A	15/20	12/20	20/20			
Influenza B	RSV A	15/20	17/20				
SARS-CoV-2	RSV A	17/20	19/20				
Ceppo analizzato al LoD	Ceppo interferente	10 ⁴ * (1,1e7 cp/ml)	10 ³ * (1,1e6 cp/ml)	10 ² * (1,1e5 cp/ml)	10 * (1,1e4 cp/ml)	1 * (1,1e3 cp/ml)	0,1 * (1,1e2 cp/ml)
Influenza A	RSV B	9/20	7/20	6/20	14/20	20/20	
Influenza B	RSV B	10/20	10/20	16/20	19/20		
SARS-CoV-2	RSV B	17/20	16/20	15/20	20/20		
Ceppo analizzato al LoD	Ceppo interferente	10 ⁴ *	10 ³ *	10 ² *	10 *	1 *	0,1 *
Influenza A	SARS-CoV-2	19/20					
Influenza B	SARS-CoV-2	18/20					
RSV A	SARS-CoV-2	19/20					

		Rilevazioni corrette (n/20)					
		Ceppo analizzato al LoD e interferente a:					
Ceppo analizzato al LoD	Ceppo interferente	10 ⁴ * (2,1e7 cp/ml)	10 ³ * (2,1e6 cp/ml)	10 ² * (2,1e5 cp/ml)	10 * (2,1e4 cp/ml)	1 * (2,1e3 cp/ml)	0,1 * (2,1e2 cp/ml)
RSV B	SARS-CoV-2	19/20					

* Le unità per la concentrazione di ciascun organismo sono le seguenti: Influenza A H3 - CEID₅₀/ml; influenza B e RSV B - TCID₅₀/ml; RSV A- UFP/ml; SARS-CoV-2 - copie/ml

Il testo in *corsivo* indica gli effetti inibitori

Il testo in **grassetto** indica l'assenza di inibizione (SARS-CoV-2 analizzato a >19/20)

Influenza A/Victoria/361/2011 a una concentrazione di 1x10⁴ CEID₅₀/ml (2,1e7 copie/ml) ha inibito influenza B, RSV A, RSV B e SARS-CoV-2 al LoD.

Flu B/Mass/2/2012, alle concentrazioni riportate nella Tabella 10, ha inibito SARS-CoV-2, influenza A, RSV A e RSV B alle concentrazioni al LoD di questi bersagli.

RSV A/2/Australia/61 a una concentrazione di 1x10⁴ UFP/ml (3,7e7 copie/ml) ha inibito SARS-CoV-2, influenza A e influenza B al LoD.

RSV-B/Wash/18537/62, alle concentrazioni riportate nella Tabella 10, ha inibito SARS-CoV-2, influenza A e influenza B alle concentrazioni al LoD di questi bersagli.

20.5 Sostanze potenzialmente interferenti

Le sostanze potenzialmente interferenti che potrebbero essere presenti nel tratto nasofaringeo (o essere introdotte durante il prelievo e la manipolazione dei campioni di analisi) e interferire con l'accurata identificazione di SARS-CoV-2, Flu A, Flu B e RSV sono state valutate selezionando un'analisi diretta su Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV. Anche altre sostanze erano state precedentemente valutate sul saggio Xpert Xpress Flu/RSV.

Le sostanze potenzialmente interferenti nel tratto nasale e nasofaringeo possono includere, tra le altre: sangue, muco o secrezioni nasali e farmaci per naso e gola utilizzati per alleviare congestione, secchezza nasale, irritazione o sintomi di asma e allergia, come pure antibiotici e antivirali. I campioni positivi e negativi sono stati preparati in una matrice nasale simulata. I campioni negativi (N = 8) sono stati analizzati in presenza di ciascuna sostanza per determinare l'effetto sulle prestazioni del controllo per il trattamento dei campioni (SPC). I campioni positivi (N = 8) sono stati analizzati per ogni sostanza con i virus inoculati a 3X il LoD analitico determinato per ciascun ceppo. I campioni positivi analizzati con Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV includevano un ceppo di SARS-CoV-2, due ceppi del virus dell'influenza A, un ceppo del virus dell'influenza B e due ceppi di RSV (RSV A e RSV B), mentre quelli testati con Xpert Xpress Flu/RSV erano costituiti da sei ceppi di virus influenzale (quattro dell'influenza A e due dell'influenza B) e quattro ceppi di RSV (due di RSV A e due di RSV B). Le sostanze valutate sono elencate nella Tabella 11 insieme alle concentrazioni finali e ai principi attivi analizzati. Nessuna di queste sostanze ha causato interferenza con le prestazioni del saggio alle concentrazioni analizzate in questo studio. Tutti i replicati positivi e negativi sono stati correttamente identificati usando i test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV e/o Xpert Xpress Flu/RSV.

Tabella 11. Sostanze potenzialmente interferenti con il test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV e/o il test Xpert Xpress Flu/RSV

Sostanza/Classe	Descrizione/Principio attivo	Concentrazione analizzata
Controllo	Matrice nasale simulata	100% (v/v)
Broncodilatatore beta-adrenergico	Salbutamolo solfato	0,83 mg/ml (equivalente a 1 dose al giorno)
Sangue	Sangue (umano)	2% (v/v)
Sistema di trasporto universale BD	Mezzo di trasporto	100% (v/v)
Remel M4®	Mezzo di trasporto	100% (v/v)

Sostanza/Classe	Descrizione/Principio attivo	Concentrazione analizzata
Remel M4RT®	Mezzo di trasporto	100% (v/v)
Remel M5®	Mezzo di trasporto	100% (v/v)
Remel M6®	Mezzo di trasporto	100% (v/v)
Pasticche per la gola, analgesico e anestetico orale ^a	Benzocaina, mentolo	1,7 mg/ml
Mucina ^a	Proteina mucina purificata (ghiandola sottomandibolare bovina o suina)	0,1% (p/v) ^b
Unguento nasale antibiotico ^a	Mupirocina	10 mg/ml
Spray nasale salino ^a	Cloruro di sodio (0,65%)	15% (v/v)
Spray nasale Anefrin	Ossimetazolina, 0,05%	15% (v/v)
Gocce nasali contenenti PHNY	Fenilefrina, 0,5%	15% (v/v)
Farmaci antivirali Tamiflu ^a	Zanamivir	7,5 mg/ml
Antibatterico sistemico	Tobramicina	4 µg/ml
Gel nasale Zicam	Luffa operculata, Galphimia glauca, Histaminum hydrochloricum, Sulfur	15% (p/v)
Corticosteroide nasale	Fluticasone propionato	5 µg/ml

^a Sostanze/principi attivi e concentrazioni che sono state valutate con il test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV.

^b Non è stata osservata alcuna interferenza con le prestazioni di Xpert Xpress Flu/RSV a una concentrazione del 2,5%.

20.6 Contaminazione da carry-over

Studi sul carry-over per stabilire che le cartucce GeneXpert isolate ermeticamente nel contenuto e monouso siano in grado di prevenire la contaminazione da carry-over sono stati condotti per i precedenti test Xpert sviluppati per i sistemi GeneXpert, incluso Xpert Xpress Flu/RSV. Gli studi hanno dimostrato che un campione negativo, se preceduto da un campione positivo con valori molto elevati nello stesso modulo GeneXpert, non ha determinato alcun carry-over.

21 Riproducibilità

La riproducibilità del test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV è stata stabilita in tre centri utilizzando un pannello di 9 componenti comprendente un campione negativo, quattro campioni a bassa positività (~1x LoD) e quattro campioni a positività moderata (~3x LoD). Il campione negativo era costituito da una matrice simulata senza microrganismo bersaglio o RNA bersaglio. I campioni positivi erano campioni artificiali in una matrice simulata utilizzando NATrol SARS-CoV-2 (ZeptoMetrix) inattivato, virus in coltura Influenza A/California/7/2009, Influenza B/Mass/2/2012 e RSV B/Wash/18537/62.

L'analisi è stata condotta in sei (6) giorni, utilizzando tre (3) lotti di cartucce Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV presso tre (3) centri partecipanti ciascuno con due (2) operatori per produrre un totale di 144 osservazioni per componente del pannello (3 centri x 2 operatori x 3 lotti x 2 giorni/lotto x 2 sessioni x 2 ripetizioni = 144 osservazioni/componente del pannello). I risultati dello studio sono riepilogati nella Tabella 12.

Tabella 12. Riepilogo dei risultati di riproducibilità - Percentuale di concordanza

Campione	Centro 1			Centro 2			Centro 3			% concordanza totale ^a per campione
	Op 1	Op 2	Centro	Op 1	Op 2	Centro	Op 1	Op 2	Centro	
Negativi	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)
SARS-CoV-2 - Pos. basso	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	95,8% (23/24)	100% (47/47)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	99,3% (143/144)
SARS-CoV-2 - Pos. moder.	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (143/143)
Influenza A - Pos. basso	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	91,7% (22/24)	91,7% (22/24)	91,7% (44/48)	95,8% (23/24)	100% (24/24)	97,9% (47/48)	96,5% (139/144)
Influenza A - Pos. moder	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (47/47)	95,8% (23/24)	100% (24/24)	97,9% (47/48)	99,3% (142/143) ^b
Influenza B - Pos. basso	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)
Influenza B - Pos. moder	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)
RSV - Pos. basso	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (47/47)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (143/143)
RSV - Pos. moder	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)

^a La concordanza è stata calcolata come percentuale di risultati osservati che erano concordanti con i risultati attesi.

^b Tre campioni con nessun risultato valido (2 indeterminati) [SARS-CoV-2 pos. moder. (1); Influenza A pos. moder. (1); RSV pos. basso (1)].

22 Riferimenti bibliografici

1. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/index.html>. Accessed February 9, 2020.
2. bioRxiv. (<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.02.07.937862v1>). Accessed March 3, 2020.
3. Petric M, Comanor L, Petti CA. Role of the laboratory in diagnosis of influenza during seasonal epidemics and potential pandemics. *J Infect Dis*. 2006;194:S98-110.
4. Schweiger B, Zadow I, Heckler R, et al. Application of a fluorogenic PCR assay for typing and subtyping of influenza viruses in respiratory samples. *J Clin Micro*. 2000;38:1552-1558.
5. <http://www.cdc.gov/flu/about/viruses/types.htm>. Accessed on May 19, 2016.
6. <http://www.cdc.gov/RSV/index.html>. Accessed on March 14, 2013.
7. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (are riferimento all'ultima edizione). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (fare riferimento all'ultima edizione).
9. REGOLAMENTO (CE) N. 1272/2008 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 16 dicembre 2008 relativo alla classificazione, all'etichettatura e all'imballaggio delle sostanze e delle miscele che modifica e abroga le direttive 67/548/CEE e 1999/45/CE e che reca modifica al regolamento (CE) n. 1907/2006.
10. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

23 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

24 Assistenza Tecnica

Prima di contattare il Supporto Tecnico di Cepheid, raccogliere le seguenti informazioni:

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

Stati Uniti

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

Francia

Telefono: +33 563 825 319
Email: support@cepheideurope.com

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

25 Tabella dei simboli

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



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Phone: + 1 408 541 4191

Fax: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telephone: + 33 563 825 300

Fax: + 33 563 825 301

www.cephheidinternational.com



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



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



26 Cronologia delle revisioni

Descrizione delle modifiche: 302-5159, da Rev. D a Rev. E

Finalità: Aggiunta di simboli e indirizzi.

Sezione	Descrizione della modifica
25	Aggiunta del simbolo dell'importatore svizzero, del simbolo CH REP e dei relativi indirizzi.