

Xpert® vanA/vanB

REF GXVANA/B-CE-10

Trademarks, Patents and Copyright Statements

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

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

Copyright © Cepheid 2011-2023. All rights reserved.

Dichiarazioni relative a marchi di fabbrica, brevetti e copyright

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

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

Copyright © Cepheid 2011-2023. Tutti i diritti riservati.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden
Product of Sweden

Xpert® vanA/vanB

Esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*

1. Nome registrato

Xpert® vanA/vanB

2. Nome comune o usuale

Saggio Xpert vanA/vanB

3. Uso previsto

Il saggio Cepheid Xpert vanA/vanB eseguito sui sistemi di strumentazione GeneXpert® è un test diagnostico qualitativo *in vitro* concepito per il rapido rilevamento dei geni della resistenza alla vancomicina (*vanA/vanB*) in campioni di analisi di tamponi rettali e perianali prelevati da pazienti a rischio di colonizzazione intestinale da batteri resistenti alla vancomicina. Il test utilizza la reazione a catena della polimerasi (PCR) automatizzata e in tempo reale per il rilevamento dei geni *vanA* e *vanB* che possono essere associati agli enterococchi resistenti alla vancomicina (Vancomycin-Resistant Enterococci, VRE). Il saggio Xpert vanA/vanB è previsto come ausilio per il riconoscimento, la prevenzione e il controllo della colonizzazione di microrganismi resistenti alla vancomicina in ambito sanitario. Il saggio Xpert vanA/vanB non è previsto per la diagnosi di VRE, né può essere usato per indirizzare o monitorare il trattamento delle infezioni da VRE. Sono necessarie colture complementari solo per ottenere i microrganismi da utilizzare per la tipizzazione epidemiologica, l'analisi della suscettibilità e per l'ulteriore identificazione di conferma del VRE.

4. Riepilogo e spiegazione

Gli enterococchi resistenti alla vancomicina (VRE) sono diventati una delle principali cause di infezioni ospedaliere in particolare nei reparti di terapia intensiva (ICU). Gli enterococchi rappresentano oltre un terzo delle infezioni nei reparti di terapia intensiva secondo il National Nosocomial Infection Survey del 2004¹. Le infezioni causate da VRE sono state associate a maggiore morbilità, mortalità, tempi di degenza e costi ospedalieri. Il rischio di colonizzazione da VRE è stato attribuito all'uso di molteplici classi di antimicrobici inclusi i glicopeptidi, le cefalosporine di terza generazione e gli antibiotici con potente attività anti-anaerobica. La diffusione di VRE avviene attraverso il contatto con individui colonizzati o infetti all'interno di una struttura sanitaria. Pertanto, molte strutture sanitarie stanno mettendo in atto programmi di sorveglianza attiva per identificare i portatori di VRE e isolarli in modo appropriato per ridurre la trasmissione del patogeno. Nell'ambito dei programmi di screening mediante sorveglianza attiva, i pazienti vengono sottoposti a controlli tramite tamponi perianali o rettali al momento del ricovero, una volta alla settimana nel reparto di terapia intensiva, dopo aver ricevuto la terapia antimicrobica e alla dimissione.

5. Principio della procedura

I sistemi di strumentazione GeneXpert consentono di automatizzare e integrare la purificazione dei campioni, l'amplificazione degli acidi nucleici e il rilevamento della sequenza bersaglio in campioni semplici o complessi, usando i saggi di PCR in tempo reale e RT-PCR (reazione a catena della polimerasi dopo retrotrascrizione). I sistemi sono composti da uno strumento, un personal computer e un software precaricato per l'esecuzione dei test sui campioni raccolti e per la visualizzazione dei risultati. I sistemi richiedono l'uso di cartucce Xpert monouso che contengono i reagenti PCR e ospitano il processo PCR. Essendo le cartucce isolate ermeticamente nel contenuto, il rischio di contaminazione crociata tra i campioni è escluso. Per una descrizione completa del sistema, consultare il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx* o il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Infinity*.

Il saggio Xpert vanA/vanB include i reagenti per il rilevamento dei geni della resistenza *vanA* e *vanB*, oltre a un controllo per il trattamento dei campioni (SPC) utilizzato per verificare che i batteri bersaglio siano stati trattati in modo adeguato e monitorare la presenza di sostanze inibitrici nella reazione 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.

I primer e le sonde del saggio Xpert vanA/vanB rilevano le sequenze nei geni della resistenza alla vancomicina/teicoplanina (*vanA*, *vanB*).

6. Reagenti e strumenti

6.1 Materiale fornito



Il kit per il saggio Xpert *vanA/vanB* contiene reagenti sufficienti per il trattamento di 10 campioni di analisi o campioni di controllo qualità.

Il contenuto del kit è il seguente:

Cartucce del saggio Xpert <i>vanA/vanB</i> con provette di reazione integrate	10
• Microsfera 1, 2 e 3 (liofilizzate)	1 di ciascun tipo per cartuccia
• Reagente 1	3,0 ml per cartuccia
• Reagente 2 (idrossido di sodio)	3,0 ml per cartuccia
Reagente per il campione	1 x 1,7 ml
CD	1 per kit
• File di definizione del saggio (Assay Definition File, ADF)	
• Istruzioni per l'importazione dell'ADF nel software GX	
• Istruzioni per l'uso (foglietto illustrativo)	

Nota

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

Nota

L'albumina di siero bovino (BSA) presente nelle microsfere di questo prodotto è stata prodotta esclusivamente da plasma bovino di origine statunitense. Anche la produzione della BSA avviene negli USA. 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.

6.2 Conservazione e manipolazione



- Le cartucce e i reagenti del saggio Xpert *vanA/vanB* vanno conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 28 °C.
- Non utilizzare i reagenti o le cartucce oltre la data di scadenza.
- Aprire il coperchio della cartuccia solo immediatamente prima di eseguire il test.
- Utilizzare la cartuccia e i reagenti entro 30 minuti dall'apertura del coperchio.
- Non utilizzare i reagenti se appaiono torbidi o scoloriti.

7. Materiali necessari ma non forniti

- Sistema GeneXpert Dx o sistema GeneXpert Infinity (il numero di catalogo varia in base alla configurazione): Strumento GeneXpert, computer con software proprietario GeneXpert versione 1.6b o superiore, lettore a penna per codici a barre e manuale dell'operatore.
- Stampante: qualora fosse necessario l'uso di una stampante, contattare l'Assistenza Clienti di Cepheid per predisporre l'acquisto di una stampante consigliata.
- Miscelatore vortex
- Pipette di trasferimento sterili monouso
- Dispositivo di prelievo dei campioni Cepheid (numero di parte 900-0370)

8. Avvertenze e precauzioni



- Tutti i campioni biologici di analisi, comprese le cartucce usate, devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi. Poiché, nella maggior parte dei casi, è impossibile distinguere i potenziali veicoli di infezione, tutti i campioni biologici di analisi devono essere trattati 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)^{2, 3}.

- Attenersi alle procedure di sicurezza del proprio istituto per l'utilizzo e la manipolazione di sostanze chimiche e campioni biologici.
- Il saggio Xpert vanA/vanB non fornisce risultati sulla sensibilità. Colture e test di sensibilità richiedono infatti tempi di esecuzione più lunghi.
- Non sostituire i reagenti Xpert vanA/vanB con altri reagenti.
- Non aprire il coperchio della cartuccia Xpert vanA/vanB tranne quando si aggiunge il campione o si ripete il test.
- Non utilizzare le cartucce dopo averle fatte cadere o agitate in seguito all'aggiunta del campione.
- Non utilizzare una cartuccia la cui provetta di reazione è danneggiata.
- Utilizzare una cartuccia monouso Xpert vanA/vanB per l'esecuzione di un solo test. Non riutilizzare le cartucce usate.
- ⓧ • I campioni biologici di analisi, i dispositivi di trasferimento e le cartucce usate devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi adottando le precauzioni standard. Attenersi alle procedure di smaltimento dei rifiuti ambientali 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.
- Conservare il kit Xpert vanA/vanB a una temperatura compresa tra 2 °C e 28 °C.
- Aprire il coperchio della cartuccia solo immediatamente prima di eseguire il test.

9. Pericoli chimici^{7,8}

- Pittogramma di pericolo UN GHS: 
- Avvertenza: ATTENZIONE
- **Indicazioni di pericolo UN GHS**
 - Nocivo se ingerito.
 - Provoca irritazione cutanea.
 - Provoca grave irritazione oculare.
- **Frase di prudenza UN GHS**
 - **Prevenzione**
 - Lavare accuratamente dopo l'uso.
 - Non mangiare, né bere, né fumare durante l'uso.
 - Non disperdere nell'ambiente.
 - Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.
 - **Risposta**
 - IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: Lavare abbondantemente con acqua e sapone.
 - Togliersi di dosso gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.
 - Trattamento specifico (vedere le informazioni supplementari di pronto soccorso).
 - In caso di irritazione della pelle: Consultare un medico.
 - IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: Sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.
 - Se l'irritazione degli occhi persiste: Consultare un medico
 - IN CASO DI INGESTIONE: accompagnata da malessere: contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico.
 - Sciacquare la bocca.
 - **Stoccaggio/smaltimento**
 - Smaltire prodotto e/o recipiente in conformità con normative locali, regionali, nazionali e/o normative internazionali.

10. Raccolta, trasporto e conservazione dei campioni di analisi

Per raccogliere campioni di analisi adeguati, attenersi rigorosamente alle istruzioni fornite in questa sezione.

Per i campioni rettali:

1. Raccogliere i campioni di analisi dei tamponi usando il dispositivo di prelievo dei campioni Cepheid (codice prodotto Cepheid 900-0370).
2. Inserire con attenzione i tamponi circa 2,5 cm oltre lo sfintere anale (in modo che la punta in cotone non sia più visibile) e ruotare delicatamente 3 volte per assicurare l'uniformità del campione su entrambi i tamponi.
3. Reinserire i tamponi nel contenitore dei campioni.
4. Etichettare i contenitori con l'ID dei campioni e inviarli al laboratorio.
5. Conservare i campioni di analisi dei tamponi ad una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C. I campioni di analisi dei tamponi sono stabili fino a 5 giorni se conservati tra 2 °C e 8 °C.



Per i campioni di analisi perianali:

1. Raccogliere i campioni di analisi dei tamponi usando il dispositivo di prelievo dei campioni Cepheid (codice prodotto Cepheid 900-0370).
2. Allargare i glutei per esporre la regione perianale, quindi usando entrambi i tamponi, strisciare i tamponi completamente intorno alla superficie perianale assicurandosi di strisciare una superficie la più ampia possibile.
3. Reinserire i tamponi nel contenitore dei campioni.
4. Etichettare i contenitori con l'ID dei campioni e inviarli al laboratorio.
5. Conservare i campioni di analisi dei tamponi ad una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C. I campioni di analisi dei tamponi sono stabili fino a 5 giorni se conservati tra 2 °C e 8 °C.



11. Procedura

11.1 Preparazione della cartuccia

Importante Iniziare il test entro 30 minuti dall'aggiunta del reagente per il campione nella cartuccia.

Per i tamponi rettali/perianali:

Nota È necessario un solo tampone.

Per aggiungere il campione alla cartuccia (Xpert vanA/vanB), procedere nel modo seguente.

1. Estrarre dal kit la cartuccia e il reagente per il campione.
2. Rimuovere un tampone dal contenitore di trasporto.
3. Inserire il tampone nella provetta contenente il reagente per il campione.

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

4. Tenere il tampone per lo stelo vicino al bordo della provetta, sollevare il tampone di alcuni millimetri dal fondo della provetta, quindi spingere lo stelo contro il bordo della provetta per romperlo. Accertarsi che il tampone sia sufficientemente corto da consentire di chiudere bene il tappo.
5. Chiudere il coperchio e miscelare in vortex ad alta velocità per 10 secondi.
6. Aprire il coperchio della cartuccia. Usando una pipetta di trasferimento sterile monouso, trasferire l'intero contenuto del reagente per il campione alla camera per il campione della cartuccia Xpert vanA/vanB.
7. Chiudere il coperchio della cartuccia.

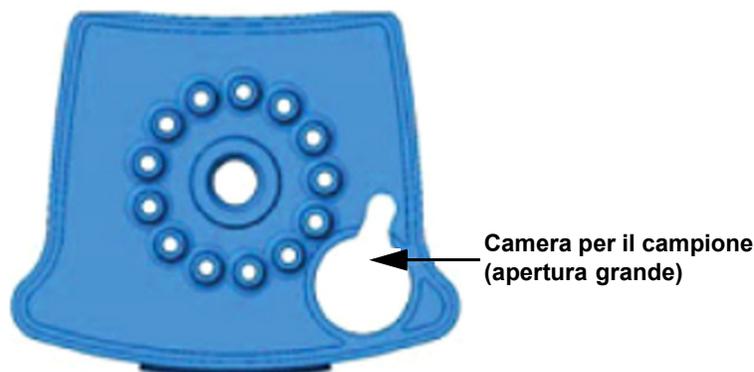


Figura 1. Cartuccia Xpert vanA/vanB (vista dall'alto)

11.2 Avvio del test

Importante

Prima di iniziare il test, verificare che la definizione del saggio Xpert vanA/vanB sia stata importata nel software.

In questa sezione sono elencati i passaggi principali di esecuzione del test. 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.

1. Accendere lo strumento GeneXpert.
 - Se si utilizza lo strumento GeneXpert Dx, accendere prima lo strumento GX Dx e poi il computer. Il software GeneXpert si avvierà automaticamente oppure potrebbe essere necessario fare doppio clic sull'icona della scorciatoia del software GeneXpert Dx sul desktop di Windows®.
 - oppure
 - Se si utilizza lo strumento GeneXpert Infinity, accenderlo. Il software GeneXpert si avvierà automaticamente, oppure potrà essere necessario fare doppio clic sull'icona del collegamento del software Xpertise sul desktop di Windows.
2. Connettersi al software del sistema di strumentazione GeneXpert usando il proprio nome utente e la password.
3. Nella finestra del sistema GeneXpert, fare clic su **Crea analisi (Create Test)** (GeneXpert Dx) o **Ordini (Orders)** e **Ordina analisi (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) è associato ai risultati del test e viene visualizzato nella finestra Visualizza risultati (View Results).
5. Eseguire la scansione o digitare l'ID del campione (Sample ID). Se l'ID campione (Sample ID) viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente. L'ID campione (Sample ID) è associato ai risultati del test e viene visualizzato nella finestra Visualizza risultati (View Results) e in tutti i rapporti. Viene visualizzata la finestra di dialogo Esegui scansione del codice a barre della cartuccia (Scan Cartridge Barcode).
6. Eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia del saggio Xpert vanA/vanB. Usando le informazioni contenute nel codice a barre, il software riempie automaticamente le caselle corrispondenti ai seguenti campi: Seleziona saggio (Select Assay), ID lotto reagente (Reagent Lot ID), N/S cartuccia (Cartridge S/N) e Data di scadenza (Expiration Date).
7. Fare clic su **Avvia analisi (Start Test)** (GeneXpert Dx) o **Inoltra (Submit)** (Infinity). Digitare la propria password nella finestra di dialogo visualizzata.
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 dei rifiuti per campioni di analisi, attenendosi alla prassi standard del proprio presidio.

12. 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 del sistema GeneXpert Dx* o il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Infinity*, a seconda dello strumento utilizzato.

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

13. Controllo qualità

13.1 Controlli di qualità incorporati

CONTROL

Ciascun test comprende un controllo per il trattamento dei campioni (Sample Processing Control, SPC) e un controllo per la verifica della sonda (Probe Check Control, PCC).

- **Controllo per il trattamento dei campioni (SPC)** — Assicura che il campione sia stato analizzato correttamente. Il controllo SPC contiene spore di *Bacillus globigii*, presenti in ogni cartuccia sotto forma di pellet di spore essiccate, per verificare il corretto trattamento dei batteri del campione. Il controllo SPC accerta l'avvenuta lisi dei batteri resistenti alla vancomicina in presenza degli organismi e verifica che il trattamento dei campioni di analisi sia adeguato. Questo controllo rileva inoltre l'inibizione del saggio di PCR in tempo reale associata ai campioni di analisi. 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® Dx misura il segnale di fluorescenza emesso dalle sonde, allo scopo di monitorare la reidratazione delle microsferi, il riempimento delle provette di reazione, l'integrità della sonda e la stabilità dei coloranti. La verifica della sonda si considera riuscita qualora siano soddisfatti i criteri di accettazione assegnati.

14. Interpretazione dei risultati

I risultati vengono interpolati automaticamente dal sistema GeneXpert, dai segnali fluorescenti misurati e dagli algoritmi di calcolo incorporati e vengono visualizzati nella finestra Visualizza risultati (View Results) (Figura 2, Figura 3, Figura 4 e Figura 5). I risultati possibili sono:

Tabella 1. Risultati e interpretazione

Risultato	Interpretazione
vanA POSITIVO (vanA POSITIVE) Figura 2	Il DNA del bersaglio <i>vanA</i> è stato rilevato. <ul style="list-style-type: none"> • vanA POSITIVO (vanA POSITIVE) — Il bersaglio per <i>vanA</i> presenta un Ct entro il range di validità e un endpoint al di sopra del valore minimo impostato. • SPC — NA (non applicabile): l'SPC viene ignorato, dato che l'amplificazione di <i>vanA</i> può competere con questo controllo. • Verifica della sonda — AMMESSO (PASS): tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
vanB POSITIVO (vanB POSITIVE) Figura 4	Il DNA del bersaglio <i>vanB</i> è stato rilevato. <ul style="list-style-type: none"> • vanB POSITIVO (vanB POSITIVE) — Il bersaglio per <i>vanB</i> presenta un Ct entro il range di validità e un endpoint al di sopra del valore minimo. • SPC — NA (non applicabile): l'SPC viene ignorato, dato che l'amplificazione di <i>vanB</i> può competere con questo controllo. • Verifica della sonda — AMMESSO (PASS): tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.

Tabella 1. Risultati e interpretazione

Risultato	Interpretazione
vanA POSITIVO, vanB POSITIVO (vanA POSITIVE, vanB POSITIVE)	<p>I DNA del bersaglio per <i>vanA</i> e <i>vanB</i> sono stati rilevati.</p> <ul style="list-style-type: none"> <i>vanA</i> POSITIVO (<i>vanA</i> POSITIVE) — Il bersaglio per <i>vanA</i> presenta un Ct entro il range di validità e un endpoint al di sopra del valore minimo. <i>vanB</i> POSITIVO (<i>vanB</i> POSITIVE) — Il bersaglio per <i>vanB</i> presenta un Ct entro il range di validità e un endpoint al di sopra del valore minimo. SPC — NA (non applicabile): l'SPC viene ignorato, dato che l'amplificazione di <i>vanA</i> e/o <i>vanB</i> può competere con questo controllo. Verifica della sonda – AMMESSO (PASS): tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
NEGATIVO (NEGATIVE) Figura 3	<p>I DNA del bersaglio per <i>vanA</i> e <i>vanB</i> non sono stati rilevati. L'SPC soddisfa i criteri di accettazione.</p> <ul style="list-style-type: none"> NEGATIVO (NEGATIVE) — Nessun DNA del bersaglio per <i>vanA</i> o <i>vanB</i> è stato rilevato. SPC — AMMESSO (PASS); il controllo SPC presenta un Ct entro il range di validità e un endpoint al di sopra del valore minimo impostato. Verifica della sonda — AMMESSO (PASS): tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
NON VALIDO (INVALID)	<p>Non è possibile determinare la presenza o l'assenza di <i>vanA/vanB</i>; ripetere il test attenendosi alle istruzioni della seguente sezione "Procedura di ripetizione del test". L'SPC non soddisfa i criteri di accettazione, il campione non è stato trattato correttamente o la PCR è stata inibita.</p> <ul style="list-style-type: none"> NON VALIDO (INVALID) — La presenza o l'assenza di DNA di <i>vanA</i> o <i>vanB</i> non può essere determinata. SPC — RESPINTO (FAIL); i risultati del bersaglio per <i>vanA</i> e <i>vanB</i> sono negativi e il Ct per SPC non rientra nel range di validità e l'endpoint è al di sotto del valore minimo. Verifica della sonda — AMMESSO (PASS): tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
ERRORE (ERROR) Figura 5	<p>Non è possibile determinare la presenza o l'assenza di <i>vanA/vanB</i>; ripetere il test attenendosi alle istruzioni della seguente sezione "Procedura di ripetizione del test". Il controllo per la verifica della sonda non ha funzionato, probabilmente a causa del riempimento inadeguato della provetta di reazione, dell'individuazione di un problema a livello di integrità della sonda o del superamento dei limiti massimi di pressione.</p> <ul style="list-style-type: none"> <i>vanA</i> — NESSUN RISULTATO (NO RESULT) <i>vanB</i> — NESSUN RISULTATO (NO RESULT) SPC — NESSUN RISULTATO (NO RESULT) Verifica della sonda — RESPINTO* (FAIL); uno o tutti i risultati della verifica della sonda non sono validi. *Se la verifica della sonda è riuscita, l'errore è dovuto a un guasto di un componente del sistema.
NESSUN RISULTATO (NO RESULT)	<p>Non è possibile determinare la presenza o l'assenza di <i>vanA/vanB</i>; ripetere il test attenendosi alle istruzioni della seguente sezione "Procedura di ripetizione del test". La quantità di dati raccolta non è sufficiente per generare i risultati del test (l'operatore, per esempio, ha interrotto l'esecuzione di un test).</p> <ul style="list-style-type: none"> <i>vanA</i> — NESSUN RISULTATO (NO RESULT) <i>vanB</i> — NESSUN RISULTATO (NO RESULT) SPC — NESSUN RISULTATO (NO RESULT) Verifica della sonda — NA (non applicabile)

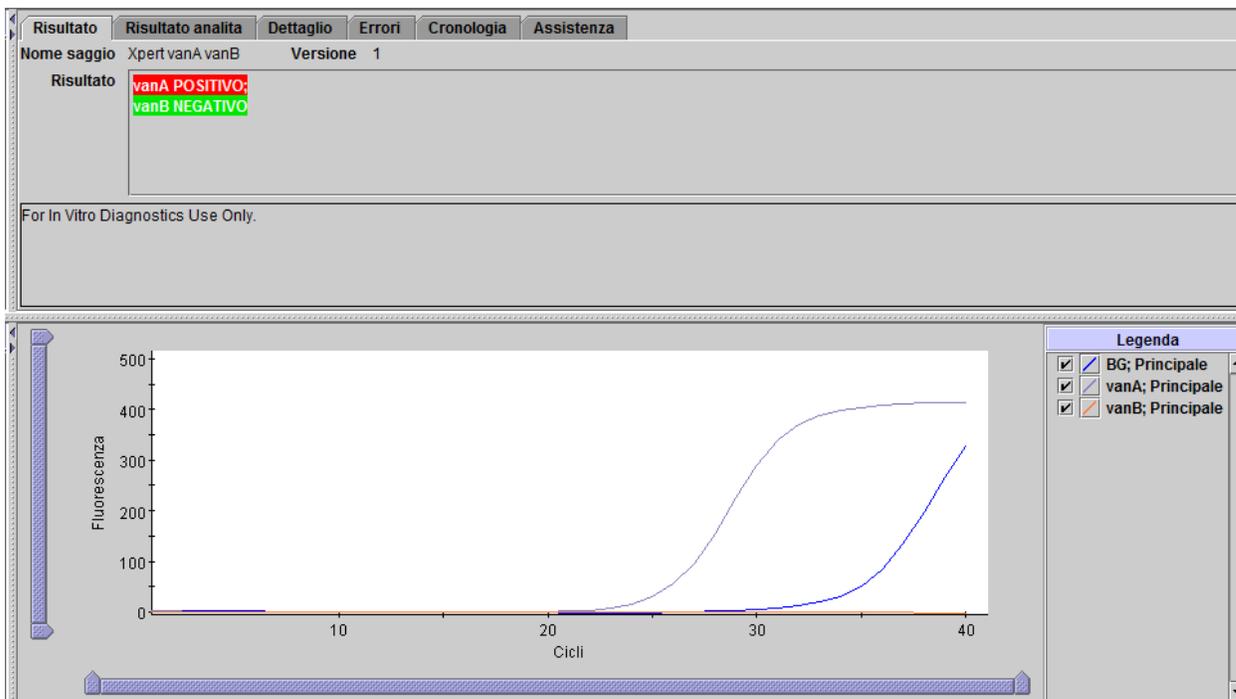


Figura 2. Esempio di risultato *vanA* positivo e *vanB* negativo

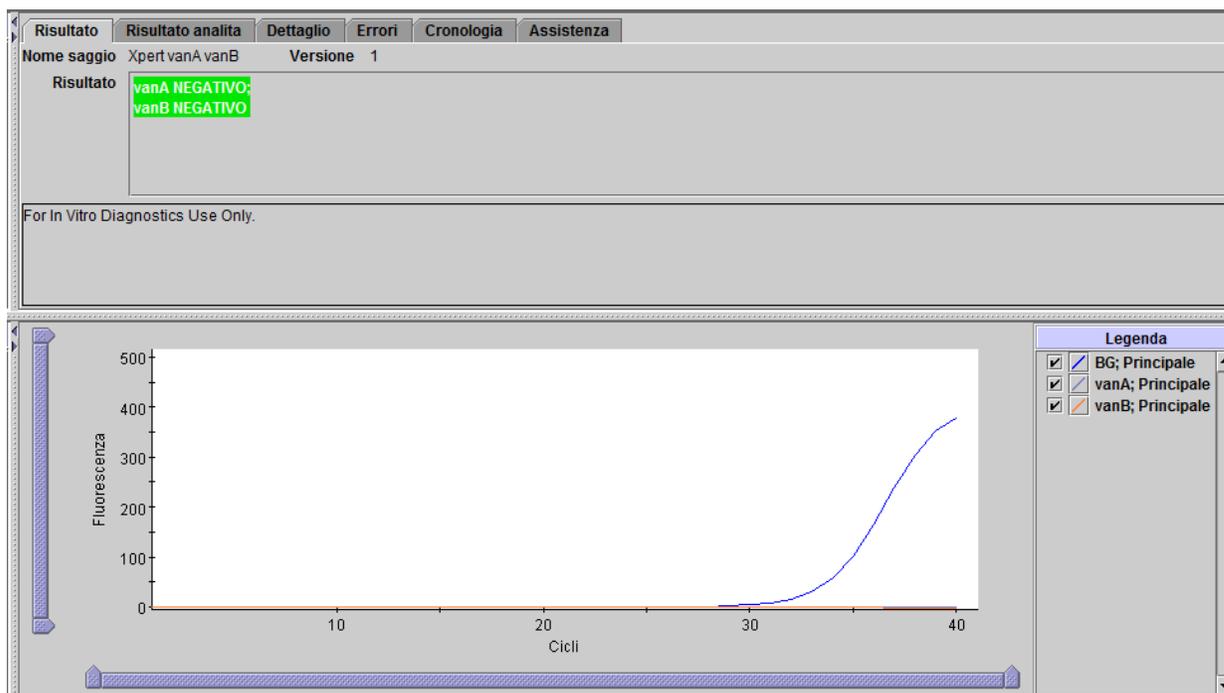


Figura 3. Esempio di risultato *vanA* e *vanB* negativo

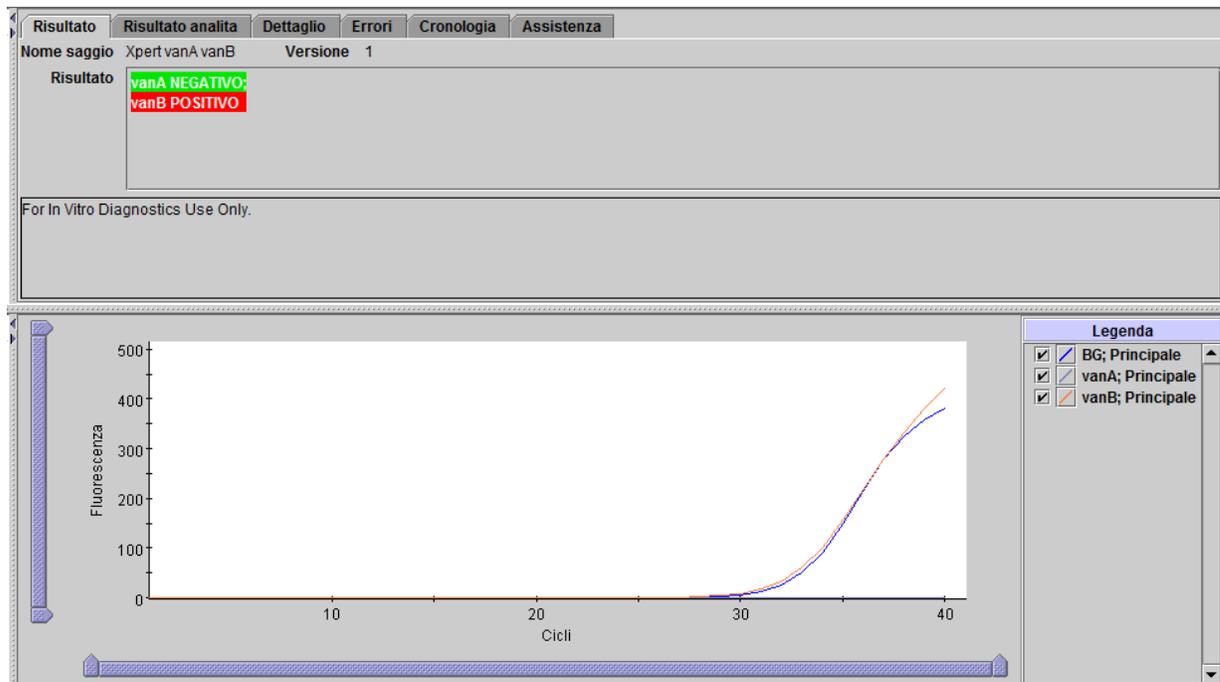


Figura 4. Esempio di risultato *vanA* negativo e *vanB* positivo



Figura 5. Esempio di risultato con errore

15. Ripetizioni del test

15.1 Motivi per ripetere il test

Se si ottiene uno dei risultati riportati qui di seguito, ripetere il test attenendosi alle istruzioni riportate nella sezione seguente intitolata Sezione 15.2, Procedura di ripetizione del test.

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

Il risultato **ERRORE (ERROR)** indica che il controllo per la verifica della sonda non ha avuto esito positivo e il saggio è stato interrotto, probabilmente a causa del riempimento inadeguato della provetta di reazione, dell'individuazione di un problema a livello di integrità della sonda o del superamento dei limiti massimi di pressione.

NESSUN RISULTATO (NO RESULT) indica che i dati raccolti sono insufficienti. Ad esempio, l'operatore ha interrotto un test in corso.

15.2 Procedura di ripetizione del test

Per ripetere entro 3 ore un test con risultato indeterminato, usare una nuova cartuccia Xpert vanA/vanB (non riutilizzare la cartuccia) e un nuovo flaconcino di reagente per il campione. Trasferire tutto il contenuto rimanente dalla camera del campione a un nuovo reagente per il campione. Agitare con il vortex e aggiungere l'intero contenuto del reagente per il campione alla camera del campione della nuova cartuccia Xpert vanA/vanB.

16. Limitazioni

- Le prestazioni del saggio Xpert vanA/vanB sono state convalidate solo tramite le procedure fornite in questo foglietto illustrativo. Qualsiasi modifica apportata a queste procedure può alterare le prestazioni dell'analisi. I risultati del saggio Xpert vanA/vanB devono essere interpretati insieme ad altri dati clinici e di laboratorio a disposizione del medico.
- Si possono ottenere risultati del test erronei come conseguenza di una raccolta dei campioni di analisi inadeguata, della mancata osservanza delle procedure consigliate per la raccolta, la manipolazione e la conservazione dei campioni, di errori tecnici, di commistione dei campioni o a causa di una presenza di microrganismi nel campione di analisi troppo esigua per essere rilevata dal test. La rigorosa osservanza delle istruzioni del presente foglietto illustrativo è necessaria per evitare risultati erronei.
- Il rilevamento di VRE dipende dal numero di microrganismi presenti nel campione, pertanto l'affidabilità dei risultati dipende dalla corretta raccolta, manipolazione e conservazione dei campioni di analisi.
- La ripetizione del saggio Xpert vanA/vanB in presenza dei risultati **NON VALIDO (INVALID)**, **ERRORE (ERROR)** o **NESSUN RISULTATO (NO RESULT)** dipende dalla prassi e dai protocolli dei singoli presidi. Dovrebbero essere disponibili procedure alternative. Per la coltura si dovranno collocare i rimanenti campioni di analisi dei tamponi in opportuni sistemi di trasporto, per un periodo massimo di 4 giorni.
- Un risultato positivo non presuppone necessariamente la presenza di microrganismi vitali. Può comunque essere indicativo della presenza di VRE.
- I risultati positivi di Xpert vanA/vanB per vanB in assenza di vanA possono essere dovuti a microrganismi diversi da VRE. Si raccomanda di eseguire la conferma della coltura su questi microrganismi.
- Come descritto in letteratura, è possibile trovare alcuni batteri aerobici e anaerobici contenenti il gene vanB^{4,5,6}, e che quindi vengono rilevati da questo test, tuttavia, la rilevanza clinica di tali risultati è sconosciuta. È stato indicato che i batteri anaerobici positivi per il gene vanB potrebbero costituire un serbatoio di fattori determinanti la resistenza alla vancomicina¹, ma questa ipotesi rimane da dimostrare.
- Il test del saggio Xpert vanA/vanB deve essere utilizzato come ausilio, in aggiunta agli altri metodi disponibili. Mutazioni o polimorfismi nelle regioni leganti il primer o la sonda possono compromettere il rilevamento di varianti nuove o sconosciute di VRE e generare risultati falsi negativi.
- L'uso di altri sistemi di raccolta e trasporto dei campioni di analisi diversi dal dispositivo di raccolta dei campioni Cepheid non è raccomandato e non è stato convalidato.
- Il saggio Xpert vanA/vanB rileva il gene vanA, non il microorganismo; perciò, i geni vanA trasportati da non enterococchi, come i ceppi di Staphylococcus aureus resistenti alla vancomicina, possono anche causare un risultato positivo.
- Dato il fattore di diluizione associato alla procedura di ripetizione del test, è possibile che i campioni positivi per vanA e vanB prossimi o equivalenti al limite di rilevamento (LoD) del saggio Xpert vanA/vanB causino risultati falsi negativi in occasione della ripetizione del test.
- I risultati del test possono anche essere influenzati dalla terapia antibiotica concomitante o dal numero di microrganismi presenti nel campione di analisi che possono essere al di sotto del limite di rilevamento del test.

17. Caratteristiche prestazionali

17.1 Prestazioni cliniche

Le caratteristiche prestazionali del saggio Xpert vanA/vanB sono state determinate in uno studio analitico prospettico multicentrico, articolato su quattro presidi negli Stati Uniti e uno in Europa, confrontando il saggio Xpert per vanA/vanB sul sistema GeneXpert (saggio Xpert vanA/vanB) con la coltura. Per essere arruolati nello studio, i campioni di analisi dovevano provenire da individui con colture indicate e/o ordinate, secondo le prassi istituzionali.

Un campione di tampone è stato utilizzato per il test con il saggio Xpert *vanA/vanB*. Il secondo tampone è stato inviato a un laboratorio centrale per la coltura ad eccezione del sito in Europa. Al ricevimento nel sito centrale per la coltura, il tampone è stato usato per inoculare una piastra di bile-esculina-azide agar con vancomicina e poi è stato posto nel brodo con bile-esculina contenente vancomicina. Dopo 24 ore di incubazione a + 35 °C il brodo è stato posto in sottocoltura su bile-esculina-azide agar con vancomicina ed esaminato a 24 ore e 48 ore. Dopo la colorazione di Gram e il test PYR, i VRE presunti sono stati identificati utilizzando strisce API20S (BioMérieux, Francia). La determinazione di *vanA* e/o *vanB* è stata effettuata con E-test (AB Biodisk, Svezia) per la vancomicina e la teicoplanina.

17.2 Risultati complessivi

Un totale di 878 campioni di tamponi rettali sono stati testati per VRE con il saggio Xpert *vanA/vanB* e confrontati al metodo di coltura diretta. Un totale di 878 campioni di tamponi rettali sono stati testati per VRE con il saggio Xpert *vanA/vanB* e confrontati al metodo di coltura arricchita.

Un totale di 429 campioni di tamponi perianali sono stati testati per VRE con il saggio Xpert *vanA/vanB* e confrontati al metodo di coltura diretta. Un totale di 430 campioni di tamponi perianali sono stati testati per VRE con il saggio Xpert *vanA/vanB* e confrontati al metodo di coltura arricchita.

Sensibilità, specificità, valore predittivo positivo (PPV) e valore predittivo negativo (NPV) del saggio Xpert *vanA/vanB* sono forniti in Tabella 2 e Tabella 3.

Tabella 2. Caratteristiche prestazionali del saggio Xpert *vanA/vanB* per tipi di campioni di analisi e metodo di coltura diretta

Xpert <i>vanA/vanB</i> vs. coltura diretta <i>vanA</i> con IC del 95%				
	Sensibilità	Specificità	PPV	NPV
Perianale	98,1% (51/52) (89,7% - 100,0%)	93,4% (352/377) (90,4% - 95,7%)	67,1% (51/76) (55,4% - 77,5%)	99,7% (352/353) (98,4% - 100,0%)
Rettale	96,5% (83/86) (90,1% - 99,3%)	91,5% (725/792) (89,4% - 93,4%)	55,3% (83/150) (47,0% - 63,4%)	99,6% (725/728) (98,8% - 99,9%)
Totale	97,1% (134/138) (92,7% - 99,2%)	91,2% (1077/1169) (90,4% - 93,6%)	59,3% (134/226) (52,6% - 65,8%)	99,6% (1077/1081) (99,1% - 99,9%)
Xpert <i>vanA/vanB</i> vs. coltura diretta <i>vanB</i> con IC del 95%				
	Sensibilità	Specificità	PPV	NPV
Perianale	25% (1/4) (0,6% - 80,6%) ^a	94,1% (400/425) (91,4% - 96,2%)	3,8% (1/26) (0,1% - 19,6%)	99,3% (400/403) (97,8% - 99,8%)
Rettale	100% (13/13) (79,4% - 100,0%)	83,9% (726/865) (81,3% - 86,3%)	8,6% (13/152) (4,6% - 14,2%)	100% (726/726) (99,6% - 100,0%)
Totale	82,4% (14/17) (56,6% - 96,2%)	87,3% (1126/1290) (85,3% - 89,1%)	7,9% (14/178) (4,4% - 12,8%)	99,7% (1126/1129) (99,2% - 99,9%)
Xpert <i>vanA/vanB</i> vs. coltura diretta <i>vanA/vanB</i> con IC del 95%				
	Sensibilità	Specificità	PPV	NPV
Perianale	92,9% (52/56) (82,7% - 98,0%)	88,7% (331/373) (85,1% - 91,8%)	55,3% (52/94) (44,7% - 65,6%)	98,8% (331/335) (97,0% - 99,7%)
Rettale	99,0% (96/97) (94,4% - 100,0%)	79,3% (619/781) (76,2% - 82,1%)	37,2% (96/258) (31,3% - 43,4%)	99,8% (619/620) (99,1% - 100,0%)
Totale	96,7% (148/153) (92,5% - 98,9%)	82,3% (950/1154) (80,0% - 84,5%)	42,0% (148/352) (36,8% - 47,4%)	99,5% (950/955) (98,8% - 99,8%)

^a Il fattore principale che ha contribuito alla minore sensibilità pari al 25% nel rilevamento di *vanB* nei campioni di analisi perianali è stato il basso numero di campioni positivi a *vanB* mediante coltura. Nel complesso, c'è stata una bassa prevalenza di *vanB* nella popolazione dello studio.

Tabella 3. Caratteristiche prestazionali del saggio Xpert vanA/vanB pertipi di campioni di analisi e metodo di coltura arricchita

Xpert vanA/vanB vs. vanA con coltura arricchita e IC del 95%				
	Sensibilità	Specificità	PPV	NPV
Perianale	90,6% (58/64) (80,7% - 96,5%)	95,1% (348/366) (92,3% - 97,1%)	76,3% (58/76) (65,2% - 85,3%)	98,3% (348/354) (96,3% - 99,4%)
Rettale	92,0% (103/112) (85,3% - 96,3%)	94,0% (720/766) (92,1% - 95,6%)	69,1% (103/149) (61,0% - 76,4%)	98,8% (720/729) (97,7% - 99,4%)
Totale	91,5% (161/176) (86,3% - 95,2%)	94,3% (1068/1132) (92,8% - 95,6%)	71,6% (161/225) (65,2% - 77,4%)	98,6% (1068/1083) (97,7% - 99,2%)
Xpert vanA/vanB vs. vanB con coltura arricchita e IC del 95%				
	Sensibilità	Specificità	PPV	NPV
Perianale	25% (1/4) (0,6% - 80,6%) ^a	94,1% (401/426) (91,5% - 96,2%)	3,8% (1/26) (0,1% - 18,6%)	99,3% (401/404) (97,8% - 99,8%)
Rettale	100% (13/13) (79,4% - 100,0%)	83,9% (726/865) (81,3% - 86,3%)	8,6% (13/152) (4,6% - 14,2%)	100% (726/726) (99,6% - 100,0%)
Totale	82,4% (14/17) (56,6% - 96,2%)	87,3% (1127/1291) (85,4% - 89,1%)	7,9% (14/178) (4,4% - 12,8%)	99,7% (1127/1130) (99,2% - 99,9%)
Xpert vanA/vanB vs. vanA/vanB con coltura arricchita e IC del 95%				
	Sensibilità	Specificità	PPV	NPV
Perianale	86,8% (59/68) (76,4% - 93,8%)	90,3% (327/362) (86,8% - 93,2%)	62,8% (59/94) (52,2% - 72,5%)	97,3% (327/336) (95,0% - 98,8%)
Rettale	94,3% (115/122) (88,5% - 97,7%)	81,2% (614/756) (78,2% - 83,9%)	44,7% (115/257) (38,6% - 51,1%)	98,9% (614/621) (97,7% - 99,5%)
Totale	91,6% (174/190) (86,6% - 95,1%)	84,2% (941/1118) (81,9% - 86,3%)	49,6% (174/351) (44,2% - 54,9%)	98,3% (941/957) (97,3% - 99,0%)

^a Il fattore principale che ha contribuito alla minore sensibilità del 25% nel rilevamento di vanB nei campioni di analisi perianali è stato il basso numero di campioni positivi a vanB mediante coltura. Nel complesso, c'è stata una bassa prevalenza di vanB nella popolazione dello studio.

18. Specificità analitica

Quarantadue ceppi batterici e fungini sono stati raccolti, quantificati e testati utilizzando il saggio Xpert vanA/vanB. I ceppi provenivano dall'ATCC (American Type Culture Collection), dalla CCUG (Culture Collection, Università di Göteborg, Svezia), dalla DSMZ (Deutsche Sammlung Von Mikroorganismen und Zellkulturen, Germania) e dai CDC (Centers for Disease Control and Prevention).

I microrganismi testati sono stati identificati come Gram-positivi (22), Gram-negativi (18), compresi i ceppi resistenti agli antibiotici di *Pseudomonas* spp. e *Acinetobacter* spp. e lievito (2). I microrganismi sono poi stati ulteriormente classificati come aerobici (24), anaerobici (14) o microaerofili (2). Nelle specie testate erano inclusi due (2) ceppi sensibili alla vancomicina rappresentativi di *E. faecalis* e *E. faecium*.

Tutti i ceppi sono stati testati in triplicato con concentrazioni comprese tra $8,5 \times 10^8$ e $2,3 \times 10^{10}$ CFU/tampone. I lieviti sono stati testati a circa 10^7 cellule per tampone. Nello studio sono stati inclusi controlli positivi e negativi. Nelle condizioni dello studio, tutti gli isolati sono stati segnalati come "vanA NEGATIVO" (vanA NEGATIVE) e "vanB NEGATIVO" (vanB NEGATIVE). La specificità analitica è stata del 100%.

19. Sensibilità analitica

Sono stati condotti studi per determinare gli intervalli di confidenza del 95% per il limite di rilevamento analitico (LoD) di *Enterococcus faecium* (*vanA*) e *Enterococcus faecalis* (*vanB*) diluiti in una matrice fecale di origine umana, rilevabile con il saggio Xpert *vanA/vanB*. La matrice fecale consisteva in feci liquide umane autoclavate (*vanA* negative e *vanB* negative con il saggio Xpert *vanA/vanB*) con diluizione 1:10 in tampone Tris. Il limite di rilevamento (LoD) viene definito come il minor numero di unità formanti colonia (CFU) per tampone che possono essere distinte in modo riproducibile dai campioni negativi, con un livello di confidenza del 95%.

Il LoD analitico è stato stimato utilizzando da 4 a 10 replicati per ciascuna diluizione. Il LoD è stato confermato eseguendo un totale di 20 replicati alla concentrazione di LoD stimata.

Nelle condizioni di questo studio, il limite di rilevamento per il saggio Xpert *vanA/vanB* su un campione di tampone rettale simulato è di 37 CFU per il bersaglio *vanA* e di 112 CFU per il bersaglio *vanB*.

20. Sostanze interferenti

Sedici sostanze esogene occasionalmente utilizzate o presenti nelle feci sono state testate allo scopo di rilevare eventuali interferenze con il saggio Xpert *vanA/vanB*. Le sostanze testate sono elencate nella Tabella 1. Nessuna delle 16 sostanze testate ha mostrato interferenze rilevabili con *vanA*. Tuttavia, due delle sedici sostanze esogene, crema di idrocortisone (idrocortisone all'1%) e Pepto-Bismol® (subsalicilato di bismuto al 1-5%), possono potenzialmente interferire con *vanB*. Quando testate nello studio sull'interferenza, la crema di idrocortisone e Pepto-Bismol® hanno mostrato valori Ct leggermente superiori rispetto al controllo del tampone.

Tabella 4. Sostanze testate per interferenza con Xpert *vanA/vanB*

Sostanza	Sostanza
Sangue intero Karolinska University Hospital	Vaselina Unilever
Mucina (porcina) Sigma	Dulcolax® Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals
Kaopectate® Chatterm	Preparation H® in salviette Wyeth Consumer Healthcare
Imodium® McNeil-PPC	Vancomicina Fluka
Fleet® CB Fleet Company	Metronidazolo Actavis
Grassi fecali Karolinska University Hospital	Anusol® Plus TM Warner-Lambert Company
K-Y Jelly/Gelée® McNeil-PPC	Solfato di bario per sospensione ad alta densità E-Z-HDTM E-Z-EM Canada
Crema di Idrocortisone Longs Drugs ^a	Pepto-Bismol® Proctor & Gamble ^a

^a Quando testati nello studio Interference, i risultati hanno mostrato valori Ct leggermente più alti rispetto al controllo del tampone.

21. Riferimenti bibliografici

1. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 to June 2004, issued October 2004. *Am J Infect Control*. 2004; 32:470-485.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
4. Stinear TP, Olden DC, Johnson PD, Davies JK, Grayson ML. Enterococcal *vanB* Resistance Locus in Anaerobic Bacteria in Human Feces. *The Lancet*. 2001. 357:855-856.
5. Ballard SA, Grabsch EA, Johnson PDR, Grayson ML. Comparison of Three PCR Primer Sets for Identification of *vanB* Gene Carriage in Feces and Correlation with Carriage of Vancomycin-Resistant Enterococci: Interference by *vanB*-Containing Anaerobic Bacilli. *Antimicrob Agents and Chemother*. 2005. 49(1): 77-81.
6. Domingo M.-C, Huletsky A, Bernal A, Giroux A, Boudreau DK, Picard FJ, Bergeron MG. Characterization of a Tn5382-like Transposon Containing the *vanB2* Gene Cluster in a *Clostridium* Strain Isolated from Human Faeces. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2005. 55(4):466-74.
7. REGULATION (EO) 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/EC (amending Regulations (EO) No 1907/2007)
8. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R, pt. 1910, subpt. Z).

22. Ubicazione delle sedi centrali Cepheid

Sede centrale globale

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

Sede centrale europea

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

23. Assistenza Tecnica

Prima di contattare l'Assistenza Tecnica di Cepheid, raccogliere le seguenti informazioni:

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

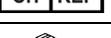
Informazioni di contatto

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

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

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

24. Tabella dei simboli

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



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Svezia

Prodotto in Svezia



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



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



