

Xpert® MTB/RIF

REF GXMTB/RIF-10

REF GXMTB/RIF-50

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid.
Windows[®] is a trademark of Microsoft Corporation.

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

Copyright © 2011-2023 Cepheid. All rights reserved.

Dichiarazioni relative a marchi di fabbrica, brevetti e copyright

Cepheid[®], il logo Cepheid, GeneXpert[®] e Xpert[®] sono marchi di fabbrica di Cepheid.
Windows[®] è un marchio di fabbrica di Microsoft Corporation.

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

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



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Svezia

Tel.: +46 8 6843 7000
Fax: +46 8 6843 7010

Assistenza Tecnica: TechSupport@cepheid.com

Xpert® MTB/RIF

Dispositivo medico per uso diagnostico *in vitro*

Nome registrato

Saggio Xpert® MTB/RIF

Nome comune o usuale

Saggio Xpert MTB/RIF

A. Uso previsto

Il saggio Xpert MTB/RIF per l'uso con i sistemi Cepheid GeneXpert®, è un test diagnostico *in-vitro* nested-PCR in tempo reale, semiquantitativo, per il rilevamento di:

- DNA del complesso del *Mycobacterium tuberculosis* in campioni di espettorato fresco o sedimenti concentrati preparati da espettorato indotto o spontaneo, positivi o negativi allo striscio per bacilli acido-resistenti (AFB)
- Mutazioni del gene *rpoB* associate alla resistenza alla rifampicina in campioni di pazienti a rischio di resistenza alla rifampicina

Il saggio Xpert MTB/RIF è previsto per l'uso con campioni di analisi di pazienti non sottoposti a trattamento con sospetto clinico di tubercolosi (TB). L'utilizzo del saggio Xpert MTB/RIF per il rilevamento di *M. tuberculosis* (MTB) o la determinazione della suscettibilità alla rifampicina non è stato convalidato per i pazienti che ricevono un trattamento per la tubercolosi.

B. Riepilogo e spiegazione

A livello mondiale, circa 2 miliardi di persone sono positive per MTB.¹ Ogni anno quasi 9 milioni di persone sviluppano la malattia attiva e 2 milioni di persone muoiono per causa sua. L'MTB attiva, che è prevalentemente di natura polmonare, è una malattia altamente infettiva con trasmissione per via aerea. Data la natura infettiva della MTB, una diagnosi rapida e accurata è un elemento importante per il trattamento e il controllo della malattia.

Il trattamento prevede la somministrazione prolungata di farmaci multipli ed è in genere altamente efficace. Tuttavia, ceppi di MTB possono diventare resistenti a uno o più farmaci, rendendo molto difficile la cura. Nella terapia antitubercolotica vengono comunemente usati i seguenti quattro farmaci di prima linea:

- Isoniazide (INH)
- Rifampicina (RIF)
- Etambutolo (EMB)
- Pirazinamide (PZA)

La resistenza alla RIF si verifica raramente in isolamento e di solito indica la resistenza ad un certo numero di altri farmaci anti-TB.² La resistenza alla RIF è più comunemente osservata nei ceppi multifarmaco-resistenti (MDR-TB) ed ha una frequenza segnalata di più del 95% in tali isolati.^{3,4,5} La MDR-TB è definita come una tubercolosi causata da un ceppo batterico resistente ad almeno INH e RIF. In genere, la resistenza alla RIF o ad altri farmaci di prima linea indica la necessità di eseguire test di sensibilità completi, compresi i test rispetto agli agenti di seconda linea.

Il rilevamento molecolare della MTB e di mutazioni del gene *rpoB* associate alla resistenza alla RIF aumentano la velocità di diagnosi sia della tubercolosi sensibile ai farmaci che di MDR. Con il saggio Xpert MTB/RIF ciò può essere eseguito in meno di 2,5 ore su campioni di espettorato fresco e su sedimenti preparati. Un rapido rilevamento della MTB e della resistenza a RIF consente al personale medico di prendere decisioni critiche di gestione dei pazienti relative alla terapia nell'ambito di una sola visita medica.

C. Principio della procedura

I sistemi di strumentazione GeneXpert consentono di integrare e automatizzare il trattamento dei campioni, l'amplificazione degli acidi nucleici e il rilevamento delle sequenze bersaglio in campioni semplici o complessi utilizzando PCR e RT-PCR in tempo reale. Il sistema è composto da uno strumento, un personal computer, un lettore di codici a barre e un software già installato per l'esecuzione di analisi su campioni raccolti e per la visualizzazione dei risultati. Il sistema richiede l'uso di cartucce GeneXpert monouso che contengono i reagenti PCR e ospitano il processo reattivo. Poiché le cartucce sono isolate ermeticamente nel contenuto, non sussiste alcun rischio di contaminazione crociata tra campioni. Per una descrizione completa del sistema, vedere il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dxo* o il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Infinity*.

Xpert MTB/RIF include i reagenti per il rilevamento dell'MTB e la resistenza alla RIF, oltre a un controllo per il trattamento dei campioni (SPC) utilizzato per verificare che i batteri bersaglio vengano 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 del saggio Xpert MTB/RIF amplificano una porzione del gene *rpoB* contenente la regione "core" di 81 coppie di basi. Le sonde sono in grado di distinguere tra la sequenza conservata di tipo selvatico ("wild type") e le mutazioni nella regione core che potrebbero essere associate alla resistenza a RIF.

D. Reagenti e strumenti

D.1 Materiale fornito



Il kit del saggio Xpert MTB/RIF (GXMTB/RIF-10) contiene reagenti sufficienti per il trattamento di 10 campioni di analisi dei pazienti o di controllo qualità, mentre il kit del saggio Xpert MTB/RIF (GXMTB/RIF-50) è sufficiente per il trattamento di 50 campioni di analisi dei pazienti o di controllo qualità. I kit Xpert MTB/RIF contengono i seguenti elementi:

Cartucce Xpert MTB/RIF con provette di reazione integrate	10 per kit	50 per kit
• Microsfera 1 e Microsfera 2 (liofilizzate)	2 di ciascuna per cartuccia	2 di ciascuna per cartuccia
• Microsfera 3 (liofilizzata)	1 per cartuccia	1 per cartuccia
• Reagente 1	4,0 ml per cartuccia	4,0 ml per cartuccia
• Reagente 2	4,0 ml per cartuccia	4,0 ml per cartuccia
Flaconi di reagente per il campione	10 per kit	50 per kit
• Reagente per il campione (RC)	8 ml per flacone	8 ml per flacone
• Idrossido di sodio		
• Isopropanolo		
Pipette di trasferimento monouso	12 per kit	60 per kit
CD	1 per kit	1 per kit
• File di definizione del saggio (Assay Definition File, ADF)		
• Istruzioni per l'importazione dei file ADF all'interno del software		
• Istruzioni per l'uso (foglietto illustrativo)		

Nota

Il reagente per il campione (RC) può essere incolore o di colore variabile tra giallo e ambra. Il colore può intensificarsi con il tempo ma non ha alcun effetto sulle prestazioni.

Nota

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

Nota

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

Nota

Le pipette di trasferimento presentano un'unica tacca corrispondente al volume minimo di campione trattato necessario per il trasferimento alla cartuccia. Utilizzarle solo per questo scopo. Tutte le altre pipette devono essere fornite dal laboratorio.

D.2 Conservazione e manipolazione



- Conservare il contenuto del kit Xpert MTB/RIF a una temperatura compresa tra 2–28 °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.
- Le cartucce sono stabili fino a 6 settimane a una temperatura compresa tra 2–45 °C dopo l'apertura della sacca.

E. Materiali necessari ma non forniti

- Sistema GeneXpert Dx o sistema 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 versione 4.0 o successiva
 - Per il sistema GeneXpert Infinity-48: software Xpertise versione 4.3 o successiva
 - Per i sistemi GeneXpert Infinity-80 e Infinity-48s: software Xpertise versione 6.0 o successiva
- Stampante: Se è necessaria una stampante, rivolgersi al rappresentante commerciale di Cepheid per predisporre l'acquisto di una stampante consigliata.
- Contenitori di raccolta sterili a tenuta stagna con tappo a vite per campioni di analisi
- Guanti monouso e protezione per gli occhi
- Etichette e/o pennarello indelebile
- Pipette sterili per il trattamento del campione

F. Avvertenze, precauzioni e pericoli chimici

F.1 Avvertenze e precauzioni




- Tutti i campioni di analisi biologici, 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)⁶ e l'istituto per gli standard clinici e di laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute).⁷
- Per manipolare campioni di analisi e reagenti, indossare guanti protettivi monouso, camici da laboratorio e protezione per gli occhi. Lavarsi accuratamente le mani dopo avere manipolato i campioni di analisi e i reagenti del saggio.
- Attenersi alle procedure di sicurezza del proprio istituto per l'utilizzo e la manipolazione di sostanze chimiche e campioni biologici.
- Le prestazioni del saggio Xpert MTB/RIF per il rilevamento del complesso MTB non sono state dimostrate da campioni di analisi non respiratori quali sangue, LCS, feci o urine. Le prestazioni del saggio Xpert MTB/RIF non sono state valutate per campioni di analisi trattati con metodi diversi da quelli descritti in questo foglietto illustrativo.
- Quando si analizza più di un campione per volta, aprire soltanto una cartuccia, aggiungere il campione trattato con reagente e chiudere il coperchio della cartuccia prima di analizzare il campione successivo. Cambiarsi i guanti tra un campione e l'altro.
- Non aprire il coperchio della cartuccia Xpert MTB/RIF tranne durante l'aggiunta di campione trattato.
- Non utilizzare una cartuccia caduta dopo essere stata estratta dal kit.
- Non utilizzare una cartuccia che sia caduta, sia stata agitata o il cui contenuto si sia versato dopo aver aggiunto il campione trattato. Agitando la cartuccia o facendola cadere dopo averne aperto il coperchio, si potrebbero ottenere risultati falsi o indeterminati.
- Non usare la cartuccia se appare bagnata o in assenza della tenuta ermetica del suo coperchio.
- Non utilizzare una cartuccia la cui provetta di reazione è danneggiata.
- Ogni cartuccia Xpert MTB/RIF viene utilizzata per l'esecuzione di un solo test. Non riutilizzare le cartucce usate.
- Controllare i requisiti regionali e nazionali sullo smaltimento dei rifiuti medici e dei rifiuti pericolosi. Qualora le normative non forniscano indicazioni precise sul corretto smaltimento, i campioni di analisi o le cartucce usate dovranno essere trattati come potenziali veicoli di trasmissione di agenti infettivi. Le cartucce usate vanno smaltite come rifiuti chimico-sanitari pericolosi, in contenitori dei rifiuti durevoli, seguendo le linee guida dell'OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità) sullo smaltimento e la manipolazione dei rifiuti medici.



F.2 Pericoli chimici^{8,9}**Reagente per il campione:**

Il reagente per il campione contiene idrossido di sodio (pH > 12,5) e isopropanolo.

- Pittogrammi di pericolo UN GHS: 
- Avvertenza: PERICOLO
- **Indicazioni di pericolo UN GHS**
 - Liquido e vapori infiammabili
 - Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari
 - Provoca gravi lesioni oculari
 - Sospettato di provocare alterazioni genetiche.
 - Sospettato di nuocere alla fertilità o al feto.
 - Può provocare danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta
- **Frase di prudenza UN GHS**
 - Prevenzione
 - Procurarsi le istruzioni specifiche prima dell'uso.
 - Non manipolare prima di avere letto e compreso tutte le avvertenze.
 - Tenere lontano da fonti di calore/scintille/fiamme libere/superfici riscaldate. Non fumare.
 - Tenere il recipiente ben chiuso.
 - Non respirare la nebbia, i vapori e/o gli aerosol.
 - Lavare accuratamente dopo l'uso.
 - Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.
 - Utilizzare i dispositivi di protezione individuale richiesti.
 - Risposta
 - In caso di incendio: usare mezzi di estinzione appropriati.
 - IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione.
 - Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico.
 - IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle/fare una doccia.
 - Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente.
 - Trattamento specifico (vedere le informazioni supplementari di pronto soccorso).
 - IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.
 - IN CASO DI INGESTIONE: sciacquare la bocca. NON provocare il vomito.
 - In caso di esposizione o di possibile esposizione: consultare un medico.
 - In caso di malessere, consultare un medico.
- Stoccaggio/Smaltimento
 - Smaltire prodotto e/o recipiente in conformità con normative locali, regionali, nazionali e/o normative internazionali.

G. Raccolta, trasporto e conservazione dei campioni di analisi



Con questo saggio è possibile elaborare espettorato sedimentato risospeso o fresco. Per determinare la quantità adeguata di campione, vedere Tabella 1.

Tabella 1. Volume di campione di analisi richiesto

Tipo di campione di analisi	Volume minimo per un'analisi	Volume minimo totale per analisi e ri-analisi
Espettorato sedimentato	0,5 ml	1 ml
Espettorato fresco	1 ml	2 ml

Nota Per raccogliere campioni di analisi adeguati di espettorato fresco, seguire le istruzioni fornite in questa sezione. Il paziente deve essere seduto o in piedi.

G.1 Conservazione e trasporto



Trasportare e conservare i campioni di analisi a 2–8 °C prima del trattamento, ogni qualvolta possibile. Se necessario, i campioni di analisi possono essere conservati a un massimo di 35 °C per ≤ 3 giorni e poi a 2–8 °C per 4–10 giorni.

G.2 Procedura di prelievo dei campioni di analisi

1. Far sciacquare due volte la bocca al paziente con acqua.
2. Aprire il coperchio del contenitore di raccolta dell'espettorato.
3. Chiedere al paziente di inspirare profondamente, tossire energicamente e espettorare il materiale nel contenitore. Evitare sversamenti o imbrattamenti all'esterno del contenitore.
4. Fissare il coperchio sul dispositivo di raccolta e inviare il contenitore all'area di analisi.

H. Procedure di analisi

H.1 Preparazione dei sedimenti di espettorato

Nota Scartare i campioni di analisi contenenti evidenti particelle di cibo o altre particelle solide.

Requisiti di volume: con il saggio Xpert MTB/RIF possono essere analizzati sedimenti di espettorato preparato secondo il metodo di Kent e Kubica¹⁰ e risospeso in tampone fosfato 67 mM/H₂O. Dopo la risospensione, conservare almeno 0,5 ml di sedimento risospeso per il saggio Xpert MTB/RIF.

1. Etichettare ciascuna cartuccia di Xpert MTB/RIF con l'ID del campione. Vedere la Figura 1.

Nota Scrivere sui lati della cartuccia o applicare un'etichetta con l'ID. Non applicare l'etichetta sul coperchio della cartuccia o coprire il codice a barre 2D presente sulla cartuccia.

2. Utilizzando una pipetta sterile, trasferire almeno 0,5 ml del pellet dal totale risospeso in una provetta conica con tappo a vite per il saggio Xpert MTB/RIF. In alternativa, l'intero campione può essere trattato nella provetta originale.



Nota I sedimenti risospesi non immediatamente analizzati devono essere conservati a 2–8 °C. Non conservare per più di 12 ore.

3. Utilizzando una pipetta di trasferimento, trasferire 1,5 ml di reagente per il campione (RC) Xpert MTB/RIF in 0,5 ml di sedimento risospeso.
4. Scuotere vigorosamente per 10–20 volte o agitare in vortex per almeno 10 secondi.

Nota Un singolo scuotimento è rappresentato da un movimento in avanti e indietro.

5. Lasciare il campione in incubazione per 10 minuti a temperatura ambiente, quindi scuoterlo vigorosamente per 10–20 volte oppure agitarlo in vortex per almeno 10 secondi.
6. Lasciare il campione in incubazione a temperatura ambiente per altri 5 minuti.

H.2 Preparazione del campione di espettorato

Nota Scartare i campioni di analisi contenenti evidenti particelle di cibo o altre particelle solide.

1. Etichettare ciascuna cartuccia di Xpert MTB/RIF con l'ID del campione. Vedere la Figura 1.

Nota Scrivere sui lati della cartuccia o applicare un'etichetta con l'ID. Non applicare l'etichetta sul coperchio della cartuccia o coprire il codice a barre 2D presente sulla cartuccia.



Figura 1. Annotazione sulla cartuccia con un pennarello indelebile

2. In un contenitore di raccolta dell'espettorato a tenuta stagna:
 - A. Aprire con cautela il coperchio del contenitore di raccolta dell'espettorato.



Figura 2. Apertura del contenitore del campione

- B. Versare circa 2 volte il volume del reagente per il campione nell'espettorato (diluizione RC:espettorato = 2:1).

Nota Scartare il reagente per il campione avanzato e il flacone in un contenitore dei rifiuti chimici.

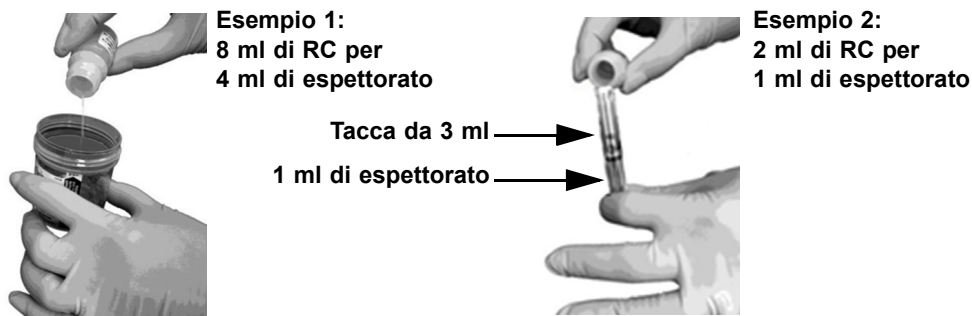


Figura 3. Esempi di diluizioni 2:1

- C. Riposizionare e fissare il coperchio.
- D. Scuotere vigorosamente per 10–20 volte o agitare in vortex per almeno 10 secondi.

Nota Un singolo scuotimento è rappresentato da un movimento in avanti e indietro.

3. Incubare il campione per 10 minuti a temperatura ambiente, quindi scuoterlo vigorosamente per 10–20 volte o agitarlo in vortex per almeno 10 secondi.
4. Lasciare il campione in incubazione a temperatura ambiente per altri 5 minuti.

H.3 Preparazione della cartuccia

Nota

Se si utilizza un sistema GeneXpert Dx, iniziare il test entro 4 ore dall'introduzione del campione nella cartuccia. Se si utilizza un sistema GeneXpert Infinity, accertarsi di avviare il test e mettere la cartuccia sul trasportatore entro 30 minuti dall'aggiunta del campione trattato con reagente alla cartuccia. Il software Xpertise tiene traccia del periodo di stabilità rimanente, in modo che i test vengano eseguiti prima della scadenza a bordo di quattro ore.

1. Aprire il coperchio della cartuccia e poi il contenitore del campione.
2. Usando la pipetta di trasferimento fornita, aspirare il campione liquefatto fino alla tacca sulla pipetta. Non procedere con il trattamento del campione in presenza di un volume insufficiente. Vedere la Figura 4.



Figura 4. Aspirazione fino alla tacca sulla pipetta

3. Trasferire il campione nell'apposita camera della cartuccia Xpert MTB/RIF. Dispensare il campione lentamente in modo da contenere il rischio di formazione di aerosol. Vedere la Figura 5.



Figura 5. Dispensazione del campione liquefatto decontaminato nella camera della cartuccia per il campione

4. Chiudere bene il coperchio della cartuccia.

Importante

Se si utilizza un sistema GeneXpert Dx, assicurarsi di caricare la cartuccia nello strumento e di iniziare l'analisi entro 4 ore dalla preparazione della cartuccia. Se si utilizza un sistema GeneXpert Infinity, accertarsi di avviare il test e mettere la cartuccia sul trasportatore entro 30 minuti dall'aggiunta del campione trattato con reagente alla cartuccia. Il software Xpertise tiene traccia del periodo di stabilità rimanente, in modo che i test vengano eseguiti prima della scadenza a bordo di quattro ore.

H.4 Avvio del test

Importante Assicurarsi che il file di definizione del saggio (ADF) Xpert MTB/RIF sia importato 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*.

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

1. Accendere lo strumento GeneXpert.
 - Se si utilizza lo strumento GeneXpert Dx, accendere prima lo strumento e poi il computer. Il software GeneXpert si avvierà automaticamente, oppure potrà essere necessario fare doppio clic sull'icona del collegamento 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 Dx, fare clic su **Crea analisi (Create Test)** (GeneXpert Dx) o **Ordini (Orders)** e **Ordina test (Order Test)** (Infinity). Verrà visualizzata la finestra Crea analisi (Create Test).
 4. Eseguire la scansione dell'ID paziente (Patient ID) o digitarlo. Se l'ID paziente (Patient ID) viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente. L'ID paziente (Patient ID) è associato ai risultati del test e viene visualizzato nella finestra Visualizza risultati (View Results) e in tutti i rapporti.
 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) sarà associato ai risultati del test e riportato nella finestra Visualizza risultati (View Results) e su tutti i rapporti.
 6. Eseguire la scansione del codice a barre sulla cartuccia Xpert MTB/RIF. 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 SN) e Data di scadenza (Expiration Date).
 7. Fare clic su **Avvia analisi (Start Test)** (GeneXpert Dx) o **Inoltra (Submit)** (Infinity). Se richiesto, 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 per rifiuti biologici attenendosi alla prassi standard del proprio presidio.

H.5 Smaltimento delle cartucce usate

1. Gettare le cartucce usate in un contenitore rigido per rifiuti a rischio biologico, seguendo le procedure standard della propria struttura. Vedere la Figura 6.



Figura 6. Smaltire correttamente le cartucce usate

2. Non bruciare le cartucce usate. Vedere la Figura 7.



Figura 7. Non bruciare le cartucce usate

3. Non gettare le cartucce usate in discarica a cielo aperto o interrata. Vedere la Figura 8.



Figura 8. Non gettare le cartucce usate in discarica

H.6 Visualizzazione e stampa dei risultati

In questa sezione sono elencati i passaggi principali per la visualizzazione e la stampa dei risultati. Per istruzioni più dettagliate 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 del modello utilizzato.

Nota Se per la refertazione dei risultati si utilizza un sistema LIS, confermare che i risultati del LIS coincidano con quelli del sistema per l'ID del paziente; in presenza di conflitti, refertare solo i risultati del sistema.

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.

I. Controllo qualità

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).

SPC: assicura che il campione sia stato analizzato correttamente. Il controllo SPC contiene spore non infettive, presenti in ogni cartuccia sotto forma di pellet di spore essiccate, per verificare il corretto trattamento dell'MTB. L'SPC verifica che sia avvenuta la lisi dell'MTB in presenza degli organismi e verifica l'adeguatezza dell'analisi del campione. Inoltre, questo controllo rileva l'inibizione del saggio di PCR in tempo reale associata al campione 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. Il risultato del test è **NON VALIDO (INVALID)** se l'SPC non viene rilevato in un test negativo.

PCC: prima che inizi la reazione PCR, il sistema di strumentazione 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.

J. Interpretazione dei risultati

Il sistema di strumentazione GeneXpert genera i risultati dai segnali fluorescenti misurati e da algoritmi di calcolo incorporati. I risultati vengono presentati nella finestra Visualizza risultati. Vedere la Figura 9, la Figura 10 e la Figura 11 per esempi specifici e la Tabella 2 per un elenco di tutti i possibili risultati.

Tabella 2. Risultati e interpretazioni del saggio Xpert MTB/RIF

Risultato	Interpretazione
MTB RILEVATO MEDIO; Rif Resistance NON RILEVATO (MTB DETECTED MEDIUM; Rif Resistance NOT DETECTED) Vedere la Figura 9.	Il bersaglio MTB è presente nel campione: <ul style="list-style-type: none"> • Non è stata rilevata alcuna mutazione nel gene rpoB. • SPC: NA (non applicabile). Non è necessario un segnale SPC perché l'amplificazione MTB può competere con questo controllo. • Verifica della sonda: RIUSCITO (PASS). Tutti i risultati della verifica della sonda sono riusciti.
MTB RILEVATO BASSO; Rif Resistance RILEVATO (MTB DETECTED LOW; Rif Resistance DETECTED) Vedere la Figura 10.	Il bersaglio MTB è presente nel campione: <ul style="list-style-type: none"> • È stata rilevata una mutazione nel gene rpoB che rientra nell'impostazione del valore delta del ciclo soglia (Ct). • SPC: NA (non applicabile). Non è necessario un segnale SPC perché l'amplificazione MTB può competere con questo controllo. • Verifica della sonda: RIUSCITO (PASS). Tutti i risultati della verifica della sonda sono riusciti.

Tabella 2. Risultati e interpretazioni del saggio Xpert MTB/RIF

Risultato	Interpretazione
MTB RILEVATO; Rif Resistance INCERTO (MTB DETECTED; Rif Resistance INDETERMINATE)	<p>Il bersaglio MTB è presente nel campione:</p> <ul style="list-style-type: none"> Impossibile determinare la resistenza a RIF a causa di un rilevamento del segnale insufficiente. SPC: NA (non applicabile). Non è necessario un segnale SPC perché l'amplificazione MTB può competere con questo controllo. Verifica della sonda: RIUSCITO (PASS). Tutti i risultati della verifica della sonda sono riusciti.
MTB non rilevato (MTB Not Detected) Vedere la Figura 11.	<p>Il bersaglio MTB non è stato rilevato nel campione.</p> <ul style="list-style-type: none"> SPC: RIUSCITO (PASS). L'SPC soddisfa i criteri di accettazione. Verifica della sonda: RIUSCITO (PASS). Tutti i risultati della verifica della sonda sono riusciti.
NON VALIDO (INVALID)	<p>Non è possibile determinare la presenza o l'assenza di MTB. L'SPC non soddisfa i criteri di accettazione, il campione non è stato trattato correttamente o la PCR è stata inibita. Ripetere l'analisi. Vedere la Sezione J.2, Procedura di ripetizione del test.</p> <ul style="list-style-type: none"> MTB NON VALIDO (MTB INVALID): Non è possibile determinare la presenza o l'assenza di DNA di MTB. SPC: NON RIUSCITO (FAIL). Il risultato del bersaglio per MTB è negativo e il Ct per SPC non rientra nel range di validità. Verifica della sonda: RIUSCITO (PASS). Tutti i risultati della verifica della sonda sono riusciti.
ERRORE (ERROR)	<p>Non è possibile determinare la presenza o l'assenza di MTB. Ripetere l'analisi. Vedere la Sezione J.2, Procedura di ripetizione del test.</p> <ul style="list-style-type: none"> MTB: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) SPC: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) Verifica della sonda: NON RIUSCITO (FAIL). Uno o tutti i risultati di verifica della sonda non sono validi. <p>Nota: Se la verifica della sonda ha avuto esito positivo, l'errore è dovuto a un guasto di un componente del sistema.</p>
NESSUN RISULTATO (NO RESULT)	<p>Non è possibile determinare la presenza o l'assenza di MTB. Ripetere l'analisi. Vedere la Sezione J.2, Procedura di ripetizione del test. 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"> MTB: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) SPC: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) Verifica della sonda: NA (non applicabile)

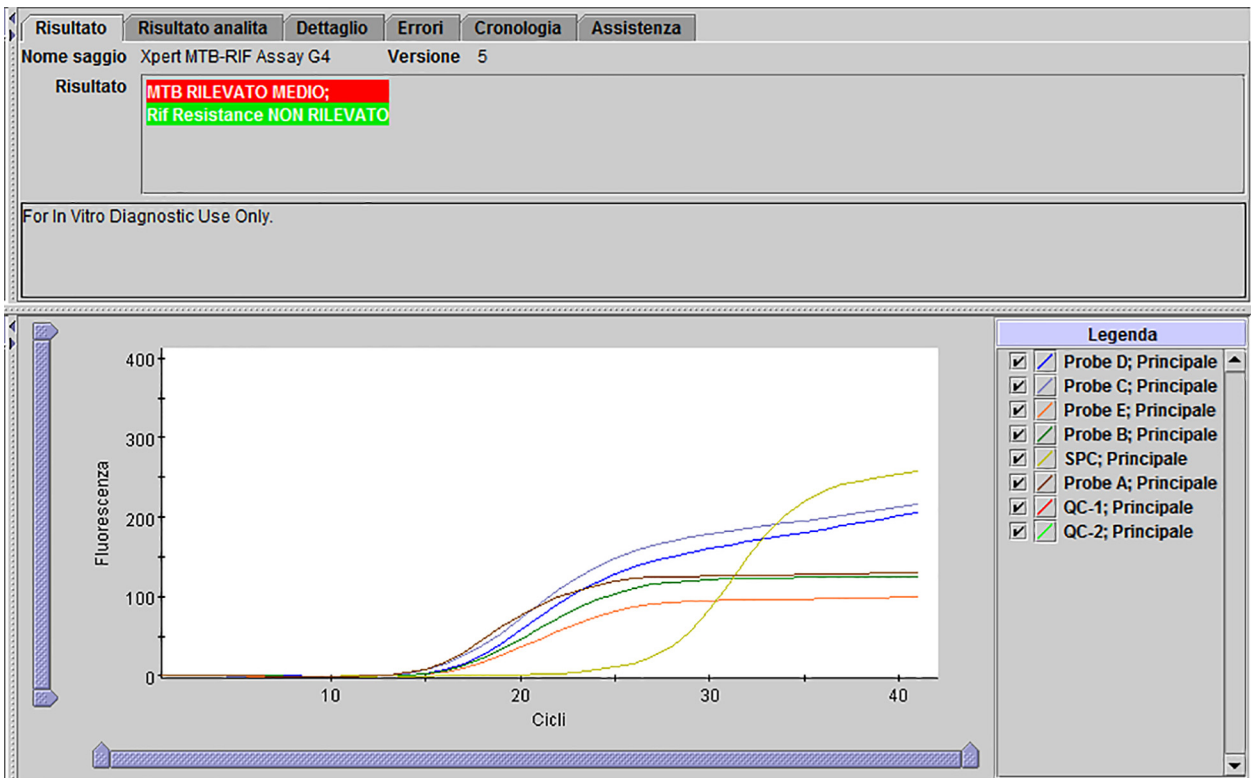


Figura 9. MTB RILEVATO MEDIO; Rif Resistance NON RILEVATO (GeneXpert Dx, vista utente dettagliata)

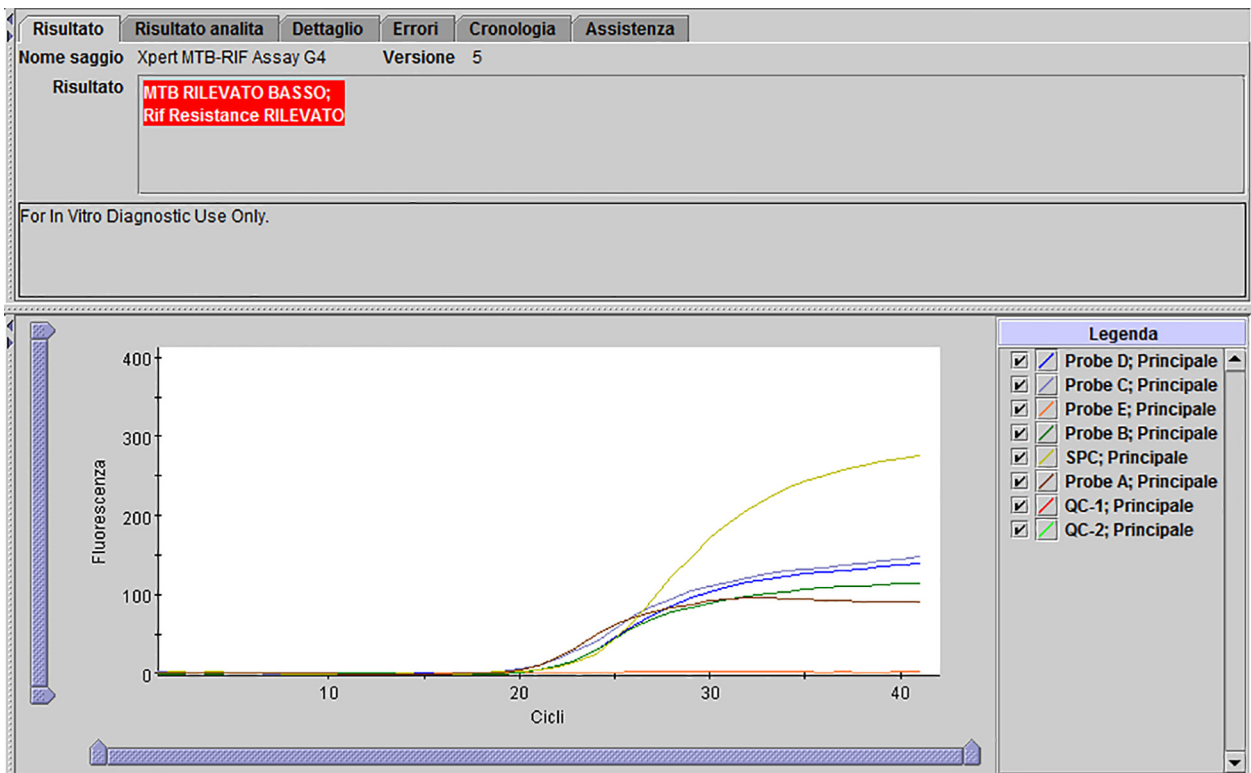


Figura 10. MTB RILEVATO BASSO; Rif Resistance RILEVATO (GeneXpert Dx, vista utente dettagliata)

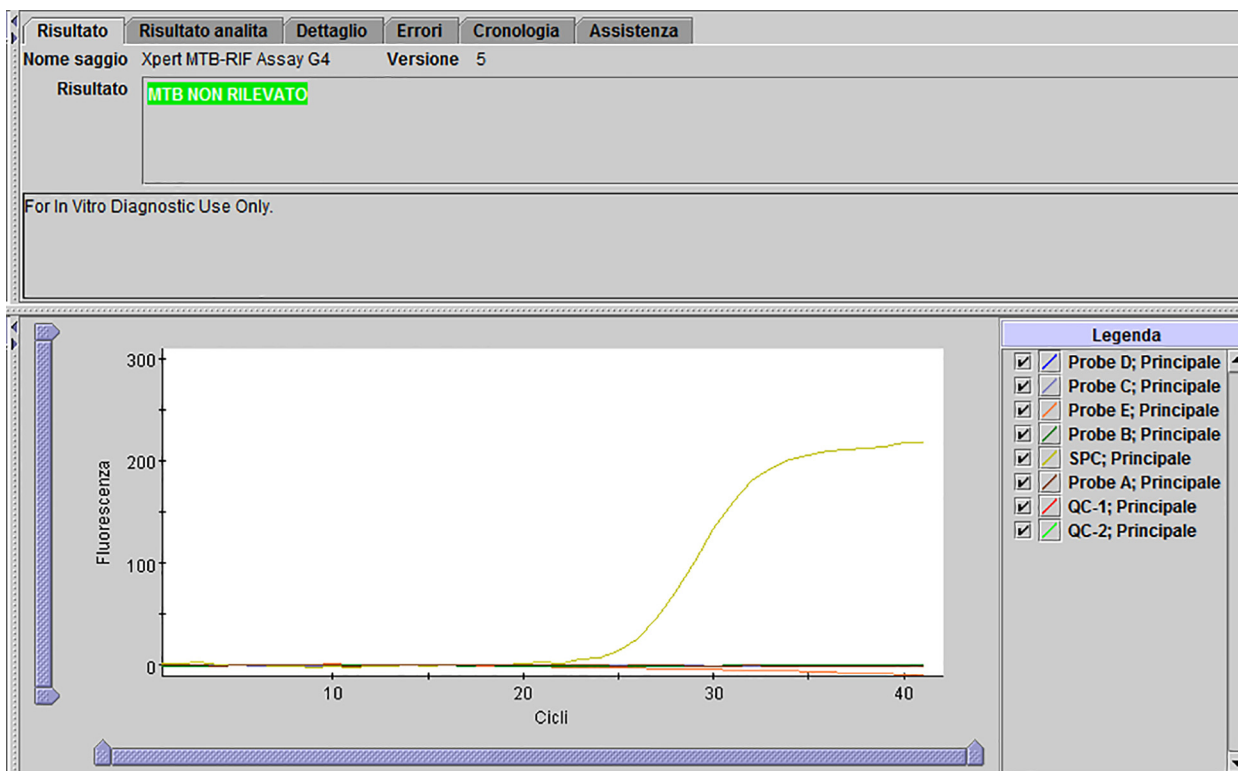


Figura 11. MTB NON RILEVATO (GeneXpert Dx, vista utente dettagliata)

J.1 Motivi per ripetere il saggio

Il saggio va ripetuto con una nuova cartuccia quando si verifica uno dei risultati seguenti:

- Un risultato **NON VALIDO (INVALID)** indica che l'SPC non è stato superato. Il campione non è stato trattato correttamente o la PCR è stata inibita.
- Un risultato **ERRORE (ERROR)** indica che il controllo per la verifica della sonda non è stato superato e il saggio è stato interrotto, probabilmente a causa del riempimento inadeguato della provetta di reazione; che è stato individuato un problema a livello di integrità della sonda, che sono stati superati i limiti massimi di pressione o che è presente un errore del modulo GeneXpert.
- **NESSUN RISULTATO (NO RESULT)** indica che i dati raccolti sono insufficienti. Ad esempio, l'operatore ha interrotto un test in corso.

J.2 Procedura di ripetizione del test

Se si dispone di un avanzo di espettorato fresco o di sedimento ricostituito, usare sempre reagente per il campione nuovo per decontaminare e liquefare l'espettorato prima di eseguire il saggio. Vedere la Sezione H.1, Preparazione dei sedimenti di espettorato o la Sezione H.2, Preparazione del campione di espettorato.

Se l'avanzo di campione trattato con RC è sufficiente e non sono ancora trascorse 4 ore dall'aggiunta iniziale di RC al campione, si può usare il campione avanzato per preparare e trattare una nuova cartuccia. Per la ri-analisi usare sempre una cartuccia nuova. Vedere la Sezione H.3, Preparazione della cartuccia.

Nota Se si utilizza uno strumento Infinity, la ripetizione del test deve essere avviata su moduli designati come moduli STAT riservati.

K. Limitazioni

Le prestazioni di Xpert MTB/RIF sono state validate utilizzando le procedure fornite in questo foglio illustrativo. Qualsiasi modifica apportata a queste procedure può alterare le prestazioni dell'analisi. I risultati di Xpert MTB/RIF devono essere interpretati contestualmente agli altri dati clinici e di laboratorio a disposizione del medico.

Il rilevamento dell'MTB dipende dal numero di organismi presenti nel campione, pertanto l'affidabilità dei risultati dipende dalla correttezza della raccolta, manipolazione e conservazione del campione. Risultati errati dell'analisi potrebbero verificarsi a causa di errori di raccolta del campione, mancata osservanza della procedura di raccolta del campione consigliata, manipolazione o conservazione errata, errori tecnici, scambio di campioni o materiale di partenza insufficiente. Per evitare risultati errati, è necessario attenersi scrupolosamente alle istruzioni descritte in questo foglietto illustrativo.

Un risultato positivo del test non indica necessariamente la presenza di organismi vitali. Tale risultato è tuttavia indicativo della presenza di MTB e di resistenza alla RIF.

I risultati del test potrebbero essere condizionati da una terapia antibiotica antecedente o concomitante. Perciò, con questa analisi non è possibile valutare l'esito di una terapia, poiché il DNA potrebbe persistere anche dopo la terapia antimicrobica.

Eventuali mutazioni o polimorfismi nei siti di legame del primer o delle sonde potrebbero influire sul rilevamento di ceppi di MTB multifarmaco-resistenti o resistenti alla RIF nuovi o sconosciuti, con un conseguente risultato falso negativo.

Per i risultati semiquantitativi **MTB RILEVATO BASSO (MTB DETECTED LOW)** o **MTB RILEVATO MOLTO BASSO (MTB DETECTED VERY LOW)** con **Resistenza RIF RILEVATA (RIF Resistance DETECTED)** potrebbe essere necessario confermare i risultati della resistenza alla rifampicina mediante DST o altro metodo, in particolare quando il sospetto clinico di MDR-TB è basso.

L. Caratteristiche prestazionali

Questa sezione elenca le caratteristiche prestazionali e le limitazioni del saggio Xpert MTB/RIF.

L.1 Prova delle prestazioni cliniche

Le caratteristiche prestazionali del saggio Xpert MTB/RIF per il rilevamento di TB e resistenza alla RIF sono state valutate presso cinque centri in Asia, Europa, Africa e America del Sud.¹¹

Lo studio è stato eseguito in base al protocollo FIND (Foundation for Innovative New Diagnostics) *Xpert MTB Evaluation Study: Evaluation of the FIND/Cepheid Xpert MTB assay for the detection of pulmonary TB in sputum of symptomatic adults* (Studio di valutazione di Xpert MTB – Valutazione del saggio FIND/Cepheid Xpert MTB per il rilevamento della TB polmonare nell'espettorato di pazienti adulti sintomatici).

I soggetti includevano individui con sintomi di TB polmonare e a rischio di multiresistenza agli antibiotici. Dai soggetti ritenuti idonei sono stati ottenuti tre campioni di espettorato da analizzare con il saggio Xpert MTB/RIF e i test di riferimento.

Le prestazioni del saggio Xpert MTB/RIF sono state confrontate con:

- analisi microscopica dello striscio ZN¹²
- coltura liquida (Becton Dickinson BACTEC™ 960 MGIT™) e solida (Löwenstein-Jenson)¹³
- test di sensibilità al farmaco (DST) sulla proporzione L-J o su MGIT a coprire almeno quattro farmaci di prima linea¹⁴
- test NAAT standard (Gen-Probe Amplified Mycobacterium TB Direct Test e Roche AMPLICOR® MTB Test), quando eseguiti

I campioni includevano espettorato raccolto per analisi di routine da pazienti con sospetta infezione tubercolotica e a rischio di TB multiresistente agli antibiotici.

L.2 Risultati complessivi

Un totale di 1448 campioni di espettorato sono stati testati per MTB e resistenza alla RIF mediante il saggio Xpert MTB/RIF, analisi microscopica e coltura batterica dello striscio. Presso tre dei centri partecipanti, i campioni sono stati valutati anche con il test per MTB AMPLICOR (UCT, Sudafrica e India) o il test diretto per MTB amplificato (Azerbaijan). Dei 1448 partecipanti, 563 presentavano striscio e coltura positivi alla TB (S+C+), 170 presentavano striscio negativo e coltura positiva alla TB (S-C+) e in 618 la TB è stata esclusa. I restanti 97 pazienti sono stati trattati per TB sulla base dei sintomi clinici e durante il trattamento della TB hanno evidenziato miglioramenti, ma non sono stati testati mediante analisi microscopica dello striscio o coltura; questi pazienti non sono inclusi nelle analisi dei dati presenti nelle tabelle.

L.3 Risultati del rilevamento di MTB

Complessivamente, se si considera una combinazione dei risultati ricavati da tre campioni di espettorato per paziente, il saggio Xpert MTB/RIF ha dimostrato una sensibilità tra i campioni a coltura positiva pari al 97,3% (713/733). Nei pazienti con S+C+ la sensibilità del saggio Xpert MTB/RIF è stata del 99,5% (560/563); nei pazienti con S-C+ la sensibilità è stata del 90,0% (153/170). La specificità del saggio Xpert MTB/RIF nei pazienti non TB è stata del 97,9% (605/618). Vedere la Tabella 3.

Tabella 3. Prestazioni del saggio Xpert MTB/RIF su campioni di espettorato^{a,b}

Centro	Sensibilità S+C+	Sensibilità S-C+	Specificità
Perù	100% (199/199) [98,1%-100%]	83,3% (10/12) [55,2%-95,3%]	100% (102/102) [96,4%-100%]
Azerbaijan	100% (76/76) [95,2%-100%]	92,3% (60/65) [83,2%-96,7%]	95,8% (69/72) [88,5%-98,6%]
Sudafrica-1	99,0% (95/96) [94,3%-99,8%]	90,4% (47/52) [79,4%-95,8%]	98,4% (186/189) [95,4%-99,5%]
Sudafrica-2	100% (30/30) [88,6%-100%]	86,7% (13/15) [62,1%-96,3%]	97,3% (213/219) [94,2%-98,7%]
India	98,8% (160/162) [95,6%-99,7%]	88,5% (23/26) [71,0%-96,0%]	97,2% (35/36) [85,8%-99,5%]
Totale	99,5% (560/563) [98,4%-99,8%]	90,0% (153/170) [84,6%-93,7%]	97,9% (605/618) [96,4%-98,8%]

a. Rappresenta i risultati di 3 analisi Xpert, 3 strisci e 4 colture.

b. S=striscio; C=coltura

Se si considera un solo campione di espettorato diretto, la sensibilità del saggio Xpert MTB/RIF è stata del 97,8% (545/557) nei pazienti S+C+ e del 73,1% (122/167) nei pazienti S-C+. La specificità nei pazienti non TB è stata del 99,0% (605/611).

L.4 Resistenza a RIF

Complessivamente, se si considera una combinazione dei risultati ricavati da tre campioni di espettorato per paziente, il saggio Xpert MTB/RIF ha dimostrato una sensibilità di rilevamento della resistenza alla RIF tra pazienti con resistenza fenotipica alla RIF pari al 96,1% (195/203). La specificità del saggio Xpert MTB/RIF in pazienti con sensibilità fenotipica alla RIF è stata del 98,6% (502/509). Vedere la Tabella 4.

Tabella 4. Prestazioni del saggio Xpert MTB/RIF su campioni di espettorato^a

Centro	Sensibilità in casi di resistenza a RIF	Specificità in casi di sensibilità a RIF
Perù	100% (16/16) [80,6%-100%]	98,4% (190/193) [95,5%-99,5%]
Azerbaijan	95,5% (42/44) [84,9%-98,7%]	98,9% (90/91) [94,0%-99,8%]
Sudafrica-1	93,8% (15/16) [71,7%-98,9%]	100% (126/126) [97,0%-100%]
Sudafrica-2	100% (3/3) [43,8%-100%]	100% (38/38) [90,8%-100%]
India	96,0% (119/124) [90,9%-98,3%]	95,1% (58/61) [86,5%-98,3%]
Totale	96,1% (195/203) [92,4%-98,0%]	98,6% (502/509) [97,2%-99,3%]

a. Rappresenta i risultati di 3 analisi Xpert, 3 strisci e 4 colture.

Se si considera un solo campione di espettorato diretto, la sensibilità del saggio Xpert MTB/RIF per la resistenza alla RIF è stata del 97,2% (141/145) nei pazienti resistenti alla RIF. La specificità nei pazienti sensibili alla RIF è stata del 98,3% (412/419). Vedere Tabella 5.

Tabella 5. Prestazioni del saggio Xpert MTB/RIF su campioni di espettorato^a

Centro	Sensibilità in casi di resistenza a RIF	Specificità in casi di sensibilità a RIF
Perù	100% (16/16) [80,6%-100%]	98,4% (180/183) [95,3%-99,4%]
Azerbaijan	97,4% (38/39) [86,8%-99,5%]	98,7% (74/75) [92,8%-99,8%]
Sudafrica-1	90,9% (10/11) [62,3%-98,4%]	98,1% (102/104) [93,3%-99,5%]
Sudafrica-2	100% (1/1) [20,7%-100%]	100% (23/23) [85,7%-100%]
India	97,4% (76/78) [91,1%-99,3%]	97,1% (33/34) [85,1%-99,5%]
Totale	97,2% (141/145) [93,1%-98,9%]	98,3% (412/419) [96,6%-99,2%]

a. Rappresenta i risultati di 1 analisi Xpert diretta, 3 strisci e 4 colture.

I risultati del saggio Xpert MTB/RIF su campioni provenienti dai centri in cui sono state eseguite anche analisi NAAT, sono mostrati nella Tabella 6. Il risultato dell'analisi NAAT è mostrato a scopo di confronto.

Tabella 6. Confronto tra le prestazioni del saggio Xpert MTB/RIF e del NAAT alternativo su campioni di espettorato

Statistica	Test ^a	Azerbaijan	Sudafrica-1	India	Totale
Sensibilità S+C+	Xpert(3)	100% (76/76) [95,2%-100%]	99,0% (95/96) [94,3%-99,8%]	98,8% (160/162) [95,6%-99,7%]	99,1% (331/334) [97,4%-99,8%]
	Xpert(1)	97,3% (73/75) [90,8%-99,3%]	96,8% (92/95) [91,1%-98,9%]	98,8% (159/161) [95,6%-99,7%]	97,9% (324/331) [95,7%-99,2%]
	NAAT	100% (76/76) [95,2%-100%]	93,7% (89/95) [86,9%-97,1%]	94,2% (147/156) [89,4%-96,9%]	95,4% (312/327) [92,3%-97,4%]
Sensibilità S-C+	Xpert(3)	92,3% (60/65) [83,2%-96,7%]	90,4% (47/52) [79,4%-95,8%]	88,5% (23/26) [71,0%-96,0%]	90,9% (130/143) [85,0%-95,1%]
	Xpert(1)	68,8% (44/64) [56,6%-78,8%]	86,3% (44/51) [74,3%-93,2%]	69,2% (18/26) [50,0%-83,5%]	75,2% (106/141) [67,2%-82,1%]
	NAAT	66,2% (43/65) [54,0%-76,5%]	45,7% (16/35) [30,5%-61,8%]	72,0% (18/25) [52,4%-85,7%]	61,6% (77/125) [52,5%-70,2%]
Specificità	Xpert(3)	95,8% (69/72) [88,5%-98,6%]	98,4% (186/189) [95,4%-99,5%]	97,2% (35/36) [85,8%-99,5%]	97,6% (290/297) [95,2%-99,1%]
	Xpert(1)	97,2% (69/71) [90,3%-99,2%]	99,5% (185/186) [97,0%-99,9%]	100% (35/35) [90,1%-100%]	99,0% (289/292) [97,0%-99,8%]
	NAAT	95,8% (69/72) [88,5%-98,6%]	100% (187/187) [98,0%-100%]	100% (36/36) [90,4%-100%]	99,0% (292/295) [97,1%-99,8%]

a. Xpert(3) = risultati di 3 analisi Xpert, 3 strisci e 4 colture; Xpert(1) = risultati di 1 analisi Xpert diretta, 3 strisci e 4 colture; NAAT = ProbeTec (Azerbaijan) e AMPLICOR (Sudafrica e India); i "borderline" NAAT sono trattati come negativi.

Delle analisi eseguite con il saggio Xpert MTB/RIF nell'ambito di questo studio, il 96,5% (4327/4484) è riuscito al primo tentativo. I restanti 157 hanno dato risultati indeterminati al primo tentativo. 108 dei 157 campioni hanno dato risultati validi alla ri-analisi. Il tasso complessivo di riuscita dell'analisi è stato del 98,9% (4435/4484).

L.5 Sostanze interferenti

È stato eseguito uno studio per verificare i potenziali effetti inibitori delle sostanze che potrebbero essere presenti nell'espettorato analizzato con il saggio Xpert MTB/RIF. Questi includono, ma non sono limitati a: sangue, pus, cellule mammarie ed emoglobina. Queste sostanze sono state analizzate in concentrazione finale nel campione pari al 5% (sangue, pus, cellule mammarie) o allo 0,2% (emoglobina) per determinare un effetto, se presente, sulle prestazioni di Xpert MTB/RIF. Ciascuna sostanza è stata aggiunta a un campione contenente circa 5 volte il limite di rilevamento (LoD) di cellule BCG bersaglio ed è stata analizzata in duplicato.

Nessun effetto inibitore è stato osservato per alcuna delle sostanze potenzialmente interferenti.

L.6 Sensibilità analitica

Sono stati effettuati ulteriori studi per determinare l'intervallo di confidenza del 95% per il limite di rilevamento (LoD) analitico di questo saggio. Il limite di rilevamento è definito come il numero più basso di unità formanti colonie (CFU) per campione che possono essere riproducibilmente distinte da campioni negativi con confidenza del 95%. Il LoD analitico è stato determinato analizzando 20 replicati di diverse concentrazioni di cellule di *M. tuberculosis* aggiunte a campioni clinici di espettorato negativi. Alle condizioni dello studio, i risultati indicano che la stima del punto LoD per *M. tuberculosis* è di 131 CFU/ml con un intervallo di confidenza del 95% compreso tra 106,2 CFU e 176,4 CFU. I livelli di stima e confidenza sono stati determinati utilizzando la regressione logistica con i dati (numero di positivi per numero di analisi a ciascun livello) presi a diverse concentrazioni.

Gli intervalli di confidenza sono stati determinati utilizzando le stime di probabilità massima dei parametri del modello logistico usando la matrice di grande varianza e covarianza dei campioni.

L.7 Specificità analitica (esclusività)

Le colture di 18 ceppi di micobatteri non tubercolotici, NTM (precedentemente MOTT), sono state analizzate con il saggio Xpert MTB/RIF. Due o più replicati di ciascun isolato sono stati addizionati a campioni di espettorato negativi e analizzati a una concentrazione di 10⁶ CFU/ml. Vedere la Tabella 7.

Tabella 7. Ceppi NTM analizzati per la specificità

Ceppi NTM testati (10 ⁶ CFU/ml)			
1	<i>M. avium</i> , SmT Mc2, 2500	10	<i>M. genevenses</i> , #51233
2	<i>M. avium</i> , SmD Mc2, 2501	11	<i>M. xenopi</i> , #2278
3	<i>M. intracellulare</i> , #35790	12	<i>M. szulgai</i> , Cap E9-1997
4	<i>M. intracellulare</i> , #35771	13	<i>M. celatum</i> , #51131
5	<i>M. kansasii</i> , #12478	14	<i>M. marinum</i> , Cap E10
6	<i>M. scrofulaceum</i> , Cap E5-1985	15	<i>M. simiae</i> , #25275
7	<i>M. malmoense</i> , #29571	16	<i>M. asiaticum</i> , E1-1985
8	<i>M. fortuitum</i> , #35754	17	<i>M. thermoresistabile</i> , e22-1985
9	<i>M. chelonae</i> , #35749	18	<i>M. flavescens</i> , PoH 193D

Alle condizioni di questo studio, tutti gli isolati NTM sono stati segnalati come negativi per MTB.

Inoltre, allo scopo di determinare se alte concentrazioni di NTM possano interferire con il rilevamento di bassi livelli di TB, i ceppi elencati nella Tabella 7 sono stati miscelati con il ceppo della TB H37Rv in espettorato per ottenere una concentrazione finale di 10⁶ CFU/ml NTM e 200 CFU/ml H37Rv.

I ceppi NTM analizzati per la capacità di interferire con il rilevamento della TB includevano:

- *M. avium*, SmT Mc2, 2500
- *M. avium*, SmD Mc2, 2501
- *M. intracellulare*, #35790
- *M. intracellulare*, #35771
- *M. kansasii*, #12478
- *M. malmoense*, #29571

Cinque dei sei ceppi non interferivano con il rilevamento di 200 CFU/ml di *M. tuberculosis*; pertanto i segnali erano gli stessi di quelli per il ceppo H37Rv analizzato da solo. Il sesto, *M. malmoense*, ha prodotto una debole interferenza a 10⁶ CFU/ml ma nessuna a 10⁵ CFU/ml o inferiore. Pertanto, non vi è alcuna interferenza nel rilevamento di *M. tuberculosis* anche con 10⁵ CFU/ml di NTM.

Organismi non micobatterici (n = 59) che rappresentano un'ampia gamma di patogeni, contaminanti comuni e microflora comunemente presente nell'espettorato o nella bocca sono stati analizzati ad una concentrazione di 10⁶ copie di DNA per volume di reazione finale. Tutti gli organismi sono stati correttamente identificati come negativi per MTB dal saggio Xpert MTB/RIF. Nello studio sono stati inclusi controlli positivi e negativi. La specificità è stata del 100%.

L.8 Specie/ceppi analizzati per la specificità

La Tabella 8 mostra specie e ceppi analizzati per la specificità.

Tabella 8. Specie/ceppi analizzati per la specificità

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Haemophilus parahemolyticus</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Actinomyces meyeri</i>	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Bordetella parapertussis</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Staphylococcus capitis</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Listeria grayi</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus equi</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Neisseria lactamica</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	<i>Streptococcus constellatus</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Escherichia coli</i> (ceppo tipo 2)	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Streptococcus uberis</i>
<i>Escherichia coli</i> O157H7 (ceppo tipo 1)	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	

L.9 Inclusività analitica

I campioni di DNA provenienti da un totale di 79 ceppi di MTB sono stati analizzati sul GX usando un protocollo Xpert MTB/RIF modificato per l'analisi del DNA. I componenti della reazione finale e le condizioni del ciclo di PCR erano invariati rispetto al protocollo progettato per l'analisi di campioni dei pazienti. Settanta dei ceppi provenivano dalla raccolta OMS/TDR e 9 dalla raccolta del laboratorio presso la University of Medicine and Dentistry of New Jersey (UMDNJ). Collettivamente, questi ceppi rappresentavano isolati provenienti da 31 Paesi e contenevano 37 isolati resistenti a RIF composti da 13 mutazioni uniche della regione core del gene *rpoB*. Queste includono tutte le mutazioni uniche del gene *rpoB* che si trovano nel database TDR. Le reazioni negative utilizzavano acqua come campione.

La miscela della reazione finale conteneva 90 copie genomiche degli isolati in 100 µl di volume totale.

Tabella 9 mostra che Xpert MTB/RIF ha rilevato correttamente tutti i ceppi di MTB ed ha identificato correttamente gli isolati resistenti alla RIF.

Tabella 9. Rilevamento di ceppi di MTB e isolati resistenti alla RIF

		Risultati GeneXpert			
		Positivo per MTB		Negativo per MTB	
		RIF rilevata	RIF non rilevata		
Riferimento	MTB +	Resistenza a RIF	37	0	0
		Sensibilità a RIF	0	42	0
	MTB -		0	0	52

L.10 Inattivazione analitica di micobatteri in campioni di espettorato

La capacità di disinfezione del reagente per il campione Xpert MTB/RIF è stata determinata utilizzando un metodo standardizzato quantitativo di coltura tubercolicida.¹⁵ I campioni di espettorato sono stati addizionati con un'elevata concentrazione di *M. bovis* vitale, miscelati con reagente per il campione in un rapporto di 2:1 e incubati per 15 minuti. Dopo l'incubazione, la miscela di reagente per il campione/espettorato è stata neutralizzata mediante diluizione e filtrazione e successivamente sottoposta a coltura. La vitalità degli organismi *M. bovis* dall'espettorato trattato è stata ridotta di almeno 6 log rispetto al controllo non trattato.

Ciascun laboratorio deve determinare l'efficacia delle proprietà di disinfezione del reagente del campione utilizzando propri metodi standardizzati e deve osservare le raccomandazioni delle normative di biosicurezza.

M. Riferimenti bibliografici

1. WHO report 2008. http://www.who.int/tb/publications/global_report/2008
2. Anti-tuberculosis resistance in the world: fourth global report. WHO/HTM/TB/2008.394
3. Morris SL, Bai G, Suffys P, Portillo-Gomez L, Fairchok M, Rouse D. *Molecular mechanisms of multidrug resistance in clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis*. J Infect Dis 1995; 171:954-60.
4. Ashok Rattan, Awdhesh Kalia, and Nishat Ahmad. *Multidrug-Resistant Mycobacterium tuberculosis: Molecular Perspectives*, Emerging Infectious Diseases, Vol.4 No.2, <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol4no2/rattan.htm>
5. Francis J. Curry National Tuberculosis Center and California Department of Public Health, 2008: *Drug-Resistant Tuberculosis, A Survival Guide for Clinicians*, Second Edition.
6. 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.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
8. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
9. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpart Z).
10. Kent PT, Kubica GP 1985. Public Health Mycobacteriology—*A Guide for Level III Laboratory*, Centers of Disease Control, Atlanta, Publication no. PB 86-216546.
11. Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, Nicol MP, et al. *Rapid Molecular Detection of Tuberculosis and Rifampin Resistance*. N Engl J Med 2010;363:1005-15.
12. Laboratory Services in Tuberculosis Control: Part II, Microscopy WHO/TB/98.258; p 1-61.
13. Laboratory Services in Tuberculosis control: Part III Culture. WHO/TB/98.258. p 1- 74.
14. NCCLS, Susceptibility testing of Mycobacteria, Nocardia, and other Aerobic Actinomycetes: Approved Standard. NCCLS document M24-A (ISBN 1- 56238-500-3). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087 – 1898, USA. 2003.
15. Banada, P. et al. Containment of Bioaerosol Infection Risk by the Xpert MTB/RIF Assay and Its Applicability to Point-of-Care Settings. Journal of Clinical Microbiology. 2010. 48:10. 3551-3557.

N. 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

O. 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.

P. Tabella dei simboli

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



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Svezia
Tel.: +46 8 6843 7000
Fax: +46 8 6843 7010



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



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



