

Xpert® EV

REF GXEV-100N-10

For Information Only - Not a Controlled Copy



Cepheid® Wyrób medyczny do
diagnostyki *in vitro*



300-5052-PL, Wersja L kwiecień 2021

Trademark, Patents and Copyright Statements

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

Windows® is a trademark of Microsoft Corporation.

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

Copyright © 2007-2021 Cepheid. All rights reserved.

Oświadczenia o znakach towarowych, patentach i prawach autorskich

Cepheid®, logo Cepheid, GeneXpert® i Xpert® są znakami towarowymi firmy Cepheid.

Windows® jest znakiem towarowym firmy Microsoft Corporation.

NABYWCA TEGO PRODUKTU UZYSKUJE NIEZBYWALNE PRAWO DO UŻYWANIA TEGO PRODUKTU ZGODNIE Z NINIEJSZĄ ULOTKĄ INFORMACYJNĄ. NABYWCA NIE UZYSKUJE ŻADNYCH INNYCH PRAW W SPOSÓB WYRAŹNY, DOROZUMIANY LUB PRZEZ ESTOPPEL. PONADTO NABYWCA TEGO PRODUKTU NIE UZYSKUJE ŻADNYCH PRAW DO ODSPRZEDAŻY TEGO PRODUKTU.

Copyright © 2007-2021 Cepheid. Wszelkie prawa zastrzeżone.

Xpert® EV

Do badań diagnostycznych *in vitro*.



1 Nazwa zastrzeżona

Xpert® EV

2 Nazwa powszechna

Test Xpert EV

3 Przeznaczenie

Cepheid® Xpert EV to test wykorzystujący reakcję łańcuchową polimerazy z odwrotną transkrypcją (RT-PCR) wykonywany w systemie GeneXpert® Dx do przypuszczalnego wykrywania jakościowego RNA enterowirusa (EV) w próbkach płynu mózgowo-rdzeniowego (PMR) pobranych od osób z objawami przedmiotowymi i podmiotowymi zapalenia opon mózgowych. Ten test w połączeniu z innymi wynikami laboratoryjnymi i informacjami klinicznymi może stanowić pomoc w laboratoryjnym diagnozowaniu zakażenia enterowirusem u pacjentów z klinicznym podejrzeniem zapalenia opon mózgowych lub zapalenia opon mózgowych i mózgu. Nie określono charakterystyki testu w przypadku pacjentów z obniżoną odpornością lub z immunosupresją.

Przestroga



Wyniki uzyskane przy pomocy testu Xpert EV powinny stanowić wyłącznie uzupełnienie obserwacji klinicznej oraz innych informacji dostępnych dla lekarza. Wyniki dodatnie testu Xpert EV nie wykluczają innych przyczyn zapalenia opon mózgowych, w tym bakterii, prątków, innych wirusów (np. wirusów z rodziny herpes, arbowirusów czy wirusa świnki) i grzybów.

4 Podsumowanie i objaśnienie

Cepheid® Xpert EV to test wykorzystujący reakcję łańcuchową polimerazy z odwrotną transkrypcją (RT-PCR) do wykrywania RNA enterowirusa w próbkach płynu mózgowo-rdzeniowego (PMR). Enterowirus jest taksonomicznie zaklasyfikowany jako należący do wirusów obejmujących wirusy polio, wirusy Cocksackie, echowirusy i enterowirusy.³ Enterowirusy powodują szeroki zakres zakażeń i najczęściej przenoszą się poprzez bezpośredni kontakt z wydzielinami z dróg oddechowych osoby zakażonej.¹ Powszechnymi objawami są gorączka, silny ból głowy, sztywny kark, światłowstręt spowodowany jasnym światłem, senność lub dezorientacja oraz nudności i wymioty. U niemowląt objawy obejmują gorączkę, niepokój lub poirytowanie, trudności w przebudzaniu się lub utratę apetytu.¹ Podczas gdy większość zakażeń przebiega bezobjawowo lub powoduje nieznaczne choroby gorączkowe, prowadzą one często do hospitalizacji, szczególnie w przypadku noworodków i dzieci. Około 90% przypadków wirusowego zapalenia opon mózgowych jest spowodowanych enterowirusami;² enterowirusy są najpowszechniejszą przyczyną zapalenia opon mózgowych w Stanach Zjednoczonych z około 30 000 do 50 000 hospitalizacji każdego roku.³ Enterowirusowe zapalenie opon mózgowych zwykle ustępuje samoistnie po 7–10 dniach. Jednakże przypadki niewirusowego zapalenia opon mózgowych, na przykład bakteryjne zapalenie opon mózgowych, mogą być poważne i mogą prowadzić do niepełnosprawności lub zgonu w razie braku prawidłowego leczenia, dlatego zapalenie opon mózgowych należy traktować poważnie.¹

Test na obecność enterowirusa, w połączeniu z obserwacją kliniczną i innymi informacjami klinicznymi, może pomóc lekarzom w identyfikowaniu pacjentów z enterowirusowym zapaleniem opon mózgowych oraz ułatwić opiekę nad pacjentami.⁴

5 Zasada procedury

System GeneXpert Dx automatyzuje i integruje oczyszczanie próbki, amplifikowanie kwasu nukleinowego i wykrywanie sekwencji docelowej w próbkach prostych lub złożonych przy pomocy techniki real-time PCR i testów RT-PCR. System składa się z aparatu, komputera oraz wstępnie zainstalowanego oprogramowania umożliwiających wykonywanie badań pobranych próbek i wyświetlanie wyników. System wymaga stosowania jednorazowych kartridży GeneXpert® testu Xpert, które zawierają odczynniki do reakcji PCR oraz w których odbywa się reakcja PCR. Ponieważ kartridże są samowystarczalne, ryzyko zanieczyszczenia krzyżowego między próbkami jest wyeliminowane. Pełny opis systemu można znaleźć w *instrukcji obsługi systemu GeneXpert® Dx*.

Test Xpert EV umożliwia wykrywanie RNA enterowirusa (EV) (niepodlegający translacji region [UTR] 5' genomu enterowirusa między nukleotydem 452 a 596) w próbkach PMR. Test zawiera odczynniki, startery i sondy umożliwiające równoczesne wykrywanie kwasu nukleinowego badanego wirusa EV oraz kontroli przetwarzania próbki/kontroli wewnętrznej (SPC/IC). Test zawiera kontrolę SPC/IC, która umożliwia weryfikację prawidłowości przetwarzania badanego wirusa oraz służy do monitorowania obecności substancji powodujących hamowanie reakcji RT-PCR, co pozwala uniknąć uzyskania wyniku fałszywie ujemnego. (Należy pamiętać, że w oprogramowaniu systemu GeneXpert® Dx kontrola SPC/IC jest wyświetlana jako CIC). Test zawiera również kontrolę sondy, która weryfikuje nawadnianie odczynników, integralność sondy i napełnienie komory reakcyjnej kartridża.

Aby wykonać badanie, próbka PMR i cztery odczynniki są przenoszone do odpowiednich komór kartridża testu Xpert EV. System GeneXpert Dx przygotowuje próbkę, wykonując lizę wirusa i kontroli SPC (pseudowirus z enkapsydowanym RNA), wiążąc RNA z matrycą wychwytywania i wykonując elucję RNA. RNA jest mieszany z suchymi odczynnikami do reakcji RT i przenoszony do komory reakcyjnej w celu przygotowania cDNA. cDNA jest następnie mieszany z suchymi odczynnikami do reakcji PCR i przenoszony do komory reakcyjnej w celu przeprowadzenia reakcji real-time PCR i wykrywania. Startery i sonda EV amplifikują i wykrywają region konsensusu niepodlegającego translacji regionu 5' (UTR) enterowirusa. Badanie trwa około 2,5 godziny.

6 Odczynniki

6.1 Materiały dostarczone



Zestaw testu Xpert EV (GXEV-100N-10) zawiera odczynniki w ilości wystarczającej do przetworzenia 10 próbek. Zestaw zawiera następujące elementy:

Kartridże testu Xpert EV ze zintegrowanymi komorami reakcyjnymi	10 kartridży/zestaw
• Kulka 1, kulka 2, kulka 3, kulka 4, kulka 5 (liofilizowane)	Po 1 na kartridż
Odczynnik wiążący (etanol) (1)	10 × 1 ml
Odczynnik do przemywania (2)	10 × 3,2 ml
Odczynnik do elucji (3)	10 × 2,0 ml
Odczynnik do lizy (tiocyjanian guanidyny) (4)	10 × 300 µl
Płyta CD	1 na zestaw
• Plik definicji testu (ADF)	
• Instrukcja importowania pliku ADF do oprogramowania GeneXpert	
• Instrukcja użycia (ulotka informacyjna)	

Uwaga

Karty charakterystyki substancji niebezpiecznej (SDS) są dostępne na stronie internetowej www.cepheid.com lub www.cepheidinternational.com na karcie **WSPARCIE (SUPPORT)**.

Uwaga

Albumina surowicy bydlęcej (BSA) zawarta w kulkach w tym produkcie została uzyskana i wytworzona wyłącznie z osocza wołowego pochodzącego z USA. Zwierząt nie karmiono białkiem pochodzącym od przeżuwaczy ani od innych zwierząt; zwierzęta przebadano zarówno przed ubojem, jak i po nim. Podczas przetwarzania nie nastąpiło wymieszanie materiału z innymi materiałami pochodzącymi od zwierząt.

7 Przechowywanie i obsługa

- Kartridże i odczynniki testu Xpert EV należy przechowywać w temperaturze 2–28 °C.
- Kartridż można otworzyć dopiero wtedy, gdy użytkownik będzie gotowy do wykonania badania.
- Kartridża i odczynników należy użyć w ciągu 30 minut od momentu otwarcia opakowania.
- Nie używać kartridży lub odczynników po upływie daty ważności.
- Nie używać żadnych odczynników, które uległy zmętnieniu lub przebarwieniu.

8 Materiały wymagane, ale niedostarczone

- System GeneXpert Dx (numer katalogowy zależy od konfiguracji): aparat GeneXpert, komputer, skaner kodów kreskowych i instrukcja obsługi
- Drukarka: jeśli wymagana jest drukarka, informacji o zakupie zalecanej drukarki udzieli przedstawiciel handlowy firmy Cepheid.
- Pipeta 200 µl
- Sterylne końcówki pipety 200 µl

9 Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.
- Nie wolno zastępować odczynników testu Xpert EV innymi odczynnikami.
- Nie wolno otwierać wieczka kartridża testu Xpert EV w celu innym niż dodanie próbki i odczynników.
- Nie używać kartridża testu Xpert EV, jeśli po dodaniu próbki i odczynników został on upuszczony lub wstrząśnięty.
- Nie używać kartridża, jeśli jego komora reakcyjna jest uszkodzona.
- Nie otwierać użytych kartridży testu Xpert EV.
- ⊗ • Nie używać ponownie zużytych kartridży testu Xpert EV.
- Nie poddawać próbek cyklowi zamrażania i rozmrażania więcej niż dwa razy.
- Nie używać próbek, które zostały odwirowane.
- ⚠ • Odczynnik do lizy zawiera tioocyanian guanidyny, który może tworzyć wysoce reaktywne związki w połączeniu z wybielaczem. W razie rozlania cieczy zawierającej ten odczynnik należy wyczyścić obszar przy pomocy detergentu laboratoryjnego i wody.
- ☠ • Wszystkie próbki biologiczne, w tym użyte kartridże, należy traktować jako mogące przenosić czynniki zakaźne. Wszystkie próbki biologiczne należy obsługiwać z zachowaniem standardowych środków ostrożności. Wytyczne dotyczące obsługi próbek można uzyskać w amerykańskiej agencji Centers for Disease Control and Prevention⁵ oraz w instytucie Clinical and Laboratory Standards Institute.⁶
- Próbkę biologiczną, wyroby do przenoszenia i użyte kartridże należy traktować jako mogące przenosić czynniki zakaźne i wymagające zachowania standardowych środków ostrożności. Należy przestrzegać obowiązujących w placówce procedur dotyczących odpadów środowiskowych w zakresie odpowiedniego usuwania użytych kartridży i nieużytych odczynników. Te materiały mogą stanowić niebezpieczne odpady chemiczne, których usuwanie musi się odbywać zgodnie z określonymi krajowymi lub regionalnymi przepisami dotyczącymi usuwania. Jeśli krajowe lub regionalne przepisy nie regulują kwestii dotyczących odpowiedniego usuwania, wówczas próbki biologiczne i użyte kartridże należy usuwać zgodnie z wytycznymi Światowej Organizacji Zdrowia (World Health Organization, WHO) dotyczącymi obsługi i usuwania odpadów medycznych.

10 Zagrożenia chemiczne^{7,8}

- Piktogramy GHS ONZ określające rodzaj zagrożenia: 
- Hasło ostrzegawcze: NIEBEZPIECZEŃSTWO
- **Zwroty GHS ONZ wskazujące rodzaj zagrożenia**
 - Wysoce łatwopalna ciecz i pary
 - Działa szkodliwie po połknięciu
 - Działa drażniąco na skórę
 - Działa drażniąco na oczy
 - Działa szkodliwie w następstwie wdychania
 - Może wywoływać uczucie senności lub zawroty głowy
 - Podejrzuje się, że powoduje wady genetyczne.
 - Działa toksycznie na organizmy wodne
 - Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki

- **Zwroty GHS ONZ wskazujące środki ostrożności**
 - **Zapobieganie**
 - Przed użyciem zapoznać się ze specjalnymi środkami ostrożności.
 - Nie używać przed zapoznaniem się i zrozumieniem wszystkich środków bezpieczeństwa.
 - Unikać wdychania mgły, par i/lub rozpylonej cieczy.
 - Dokładnie umyć po użyciu.
 - Nie jeść, nie pić ani nie palić podczas używania produktu.
 - Stosować wyłącznie na zewnątrz lub w dobrze wentylowanym pomieszczeniu.
 - Unikać uwolnienia do środowiska.
 - Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.
 - Stosować wymagane środki ochrony indywidualnej.
 - **Reagowanie**
 - W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: Wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić warunki do odpoczynku w pozycji umożliwiającej swobodne oddychanie.
 - W przypadku złego samopoczucia skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub z lekarzem.
 - W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ: Umyć dużą ilością wody z mydłem.
 - Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem.
 - Zastosować określone instrukcje (patrz informacje uzupełniające dotyczące pierwszej pomocy).
 - W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
 - W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Kontynuować płukanie.
 - W przypadku utrzymywania się działania drażniącego na oczy: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
 - W PRZYPADKU POŁKNIECIA: W przypadku złego samopoczucia natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub z lekarzem.
 - Wypłukać usta.
 - W PRZYPADKU narażenia lub styczności: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
 - **Przechowywanie/usuwanie**
 - Przechowywać w dobrze wentylowanym miejscu. Przechowywać pojemnik szczelnie zamknięty.
 - Przechowywać pod zamknięciem.
 - Zawartość/pojemnik usuwać zgodnie z miejscowymi/regionalnymi/krajowymi/międzynarodowymi przepisami.

11 Pobieranie, transportowanie i przechowywanie próbek

Pobrać PMR do sterylnego pojemnika i przetransportować do laboratorium zgodnie ze standardową procedurą działania obowiązującą w laboratorium. Przechowywać próbki w temperaturze 2–8 °C do momentu wykonania badania lub zamrozić próbki, jeśli badanie nie zostanie wykonane w ciągu 72 godzin od momentu pobrania. Nie poddawać próbek cyklowi zamrażania i rozmrażania więcej niż dwa razy. Odwirowanie próbki nie jest zalecane.

12 Procedura

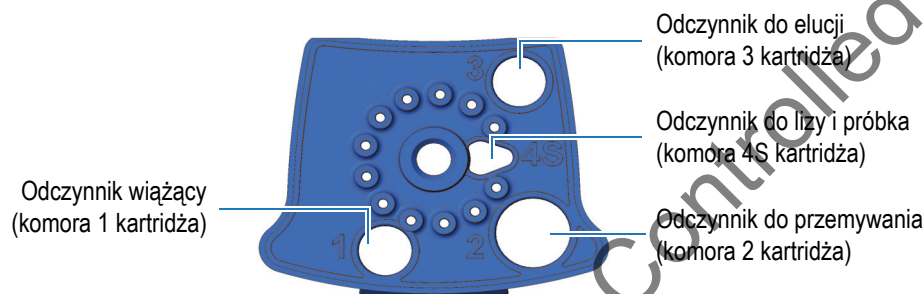
12.1 Przygotowywanie kartridża

Aby dodać próbkę i odczynniki do kartridża (Ilustracja 1):

1. Wyjąć kartridż i odczynniki z opakowania.
2. Otworzyć ampulkę z odczynnikiem wiążącym (1), przekręcając i odłamując zatyczkę.
3. Włożyć końcówkę ampulki z odczynnikiem wiążącym (1) do komory 1 kartridża i ścisnąć ampulkę do momentu opróżnienia całej zawartości.
4. Otworzyć ampulkę z odczynnikiem do przemywania (2), przekręcając i odłamując zatyczkę.
5. Włożyć końcówkę ampulki z odczynnikiem do przemywania (2) do komory 2 kartridża i ścisnąć ampulkę do momentu opróżnienia całej zawartości.
6. Otworzyć ampulkę z odczynnikiem do elucji (3), przekręcając i odłamując zatyczkę.

7. Włożyć końcówkę ampułki z odczynnikiem do elucji (3) do komory 3 kartridża i ścisnąć ampulkę do momentu opróżnienia całej zawartości.
8. Przy pomocy pipety 200 µl dodać 140 µl odczynnika do lizy (4) do komory 4S kartridża. Wyrzucić fiolkę odczynnika do lizy (4).
9. Przy pomocy pipety 200 µl dodać 140 µl próbki do komory 4S kartridża. Aby zapobiec tworzeniu się dużych pęcherzyków powietrza, należy trzymać końcówkę pipety w górnej części komory i powoli dozować próbkę.
10. Zamknąć wieczko kartridża.

Ważne Należy załadować kartridż do aparatu GeneXpert Dx i rozpocząć badanie w ciągu 30 minut od momentu dodania odczynników.



Ilustracja 1. Kartridż testu Xpert EV (widok z góry)

12.2 Rozpoczynanie badania

Uwaga Przed rozpoczęciem badania należy się upewnić, że plik definicji testu Xpert EV został zaimportowany do oprogramowania (instrukcję można znaleźć na płycie CD dostarczonej z testem). W razie braku płyty CD dostarczonej z testem Xpert EV należy się skontaktować z Centrum wsparcia klienta firmy Cepheid.

Niniejszy punkt zawiera opis podstawowych kroków umożliwiających wykonanie badania. Szczegółowe instrukcje można znaleźć w *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Dx*.

1. Włączyć komputer, a następnie włączyć aparat GeneXpert Dx.
2. Na pulpicie systemu Windows® dwukrotnie kliknąć ikonę skrótu oprogramowania GeneXpert Dx.
3. Zalogować się do oprogramowania systemu GeneXpert Dx, podając nazwę użytkownika i hasło.
4. W oknie systemu GeneXpert Dx kliknąć **Nowe badanie (Create Test)**. Pojawi się okno dialogowe Skanowanie kodu kreskowego kartridża (Scan Cartridge Barcode).
5. Zeskanować kod kreskowy na kartridżu testu Xpert EV. Zostanie wyświetlone okno Nowe badanie (Create Test). Na podstawie informacji zawartych w kodzie kreskowym oprogramowanie automatycznie wypełni następujące pola: Wybór testu (Select Assay), Identyfikator serii odczynników (Reagent Lot ID), Numer seryjny kartridża (Cartridge SN) i Data ważności (Expiration Date).
6. W polu Identyfikator próbki (Sample ID) zeskanować lub wprowadzić identyfikator próbki (Sample ID). Upewnić się, że wprowadzony identyfikator próbki (Sample ID) jest prawidłowy. Identyfikator próbki (Sample ID) jest powiązany z wynikami badania i wyświetlany w oknie Wyświetlanie wyników (View Results) oraz na wszystkich raportach.
7. Kliknąć **Rozpocznij badanie (Start Test)**. Wpisać hasło w wyświetlonym oknie dialogowym.
8. Otworzyć drzwiczki modułu aparatu z migającą zieloną kontrolką i załadować kartridż.
9. Zamknąć drzwiczki modułu. Upewnić się, że zielona kontrolka świeci światłem ciągłym.
10. Po zakończeniu badania kontrolka modułu aparatu przestanie świecić.
11. Poczekać, aż system zwolni blokadę drzwiczek, a następnie otworzyć drzwiczki modułu i wyjąć kartridż.
12. Wyrzucić kartridż, przestrzegając wytycznych dotyczących bezpieczeństwa obowiązujących w laboratorium.

13 Wyświetlanie i drukowanie wyników

Szczegółowe instrukcje dotyczące wyświetlania i drukowania wyników można znaleźć w *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Dx*.

14 Kontrola jakości

CONTROL

Wykonywane kontrole jakości muszą spełniać wymagania przepisów lokalnych, regionalnych i/lub krajowych oraz wymagania organizacji akredytacyjnych i standardowych procedur kontroli jakości obowiązujących w laboratorium.

Każdy test zawiera dwie kontrole wewnętrzne umożliwiające zatwierdzenie testu: kontrolę przetwarzania próbki/kontrolę wewnętrzną oraz kontrolę sondy. Próbki do badania są kontrolowane zgodnie z następującymi procedurami:

- **Kontrola przetwarzania próbki/kontrola wewnętrzna (SPC/IC)** — Kontrola SPC/IC to pseudowirus z enkapsydowanym RNA w postaci suchej kulki, która jest umieszczona w każdym kartridżu. Kontrola SPC/IC weryfikuje prawidłowość lizy badanego wirusa EV oraz przetwarzanie próbki, a także wykrywa interferencje testu.
Jest ona mieszana z próbą w celu kontrolowania prawidłowości przetwarzania próbki i monitorowania integralności testu RT-PCR. Kontrola SPC/IC zakończy się powodzeniem, jeśli spełni zatwierdzone kryteria akceptacji. Należy pamiętać, że w oprogramowaniu systemu GeneXpert Dx kontrola SPC/IC jest wyświetlana jako CIC.
- **Kontrola sondy** — Przed rozpoczęciem reakcji PCR system wykonuje kontrolę sondy dla sekwencji docelowej wirusa EV oraz kontroli SPC/IC w celu zweryfikowania nawodnienia kulek odczynników i napełnienia komory reakcyjnej. Każda kontrola sondy zakończy się powodzeniem, jeśli spełni zatwierdzone kryteria akceptacji.
- **Kontrole zewnętrzne** — Kontrole zewnętrzne mogą być stosowane do szkoleń, testowania biegłości i wykonywania zewnętrznych kontroli jakości w systemie GeneXpert Dx. Kontrole zewnętrzne należy stosować zgodnie z lokalnymi, stanowymi lub federalnymi organizacjami akredytującymi, w zależności od okoliczności. Kontrole zewnętrzne można przygotować poprzez rozcieńczenie szczepu Bozek wirusa Cocksackie A9 lub szczepu C.G. (Gdula) wirusa Cocksackie A6 ze znanym ujemnym PMR pobranym od pacjenta lub syntetycznym PMR (np. SeraCare Life Sciences Inc., numer katalogowy HSP-515) do około 10–1000 TCID₅₀/ml, co daje wartość C_t dla wirusa EV w zakresie 32–35 dla testu Xpert EV.

15 Interpretacja wyników

Wyniki są dostępne w oknie Wyświetlanie wyników (View Results) systemu GeneXpert Dx. Możliwe wyniki opisano w niniejszym punkcie.

Uwaga

W oknie Wyświetlanie wyników (View Results) systemu GeneXpert Dx kontrola SPC/IC jest wyświetlana jako CIC w kolumnie Nazwa parametru (Analyte Name).

Przeostroga



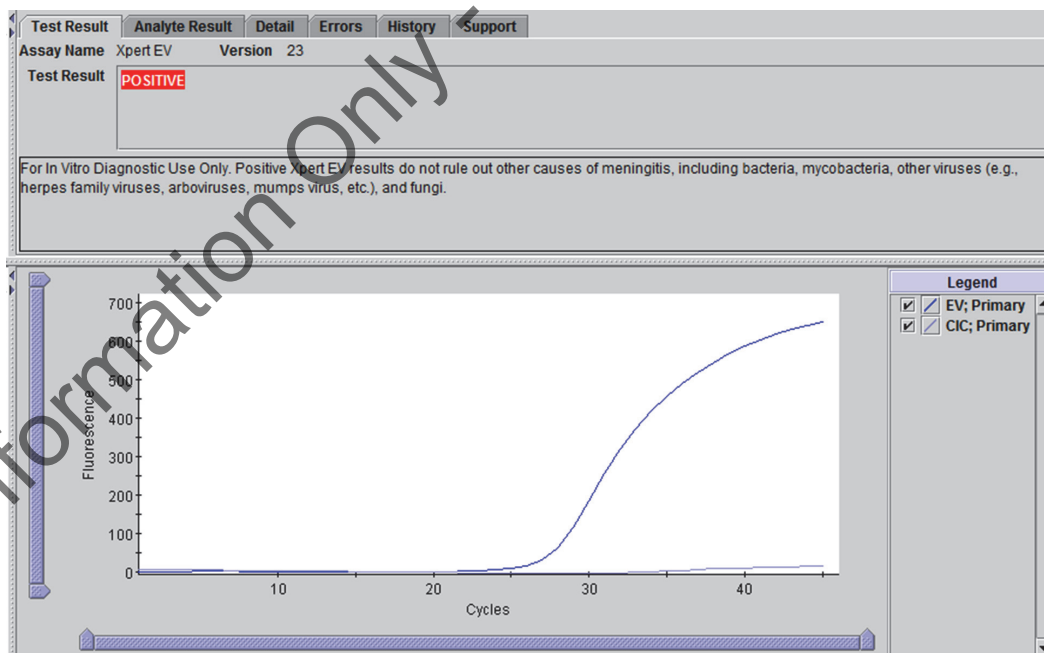
Wyniki uzyskane przy pomocy testu Xpert EV powinny stanowić wyłącznie uzupełnienie obserwacji klinicznej oraz innych informacji dostępnych dla lekarza. Wyniki dodatnie testu Xpert EV nie wykluczają innych przyczyn zapalenia opon mózgowych, w tym bakterii, prątków, innych wirusów (np. wirusów z rodziny herpes, arbowirusów czy wirusa świnki) i grzybów.

Tabela 1. Wyniki testu Xpert EV i ich interpretacja

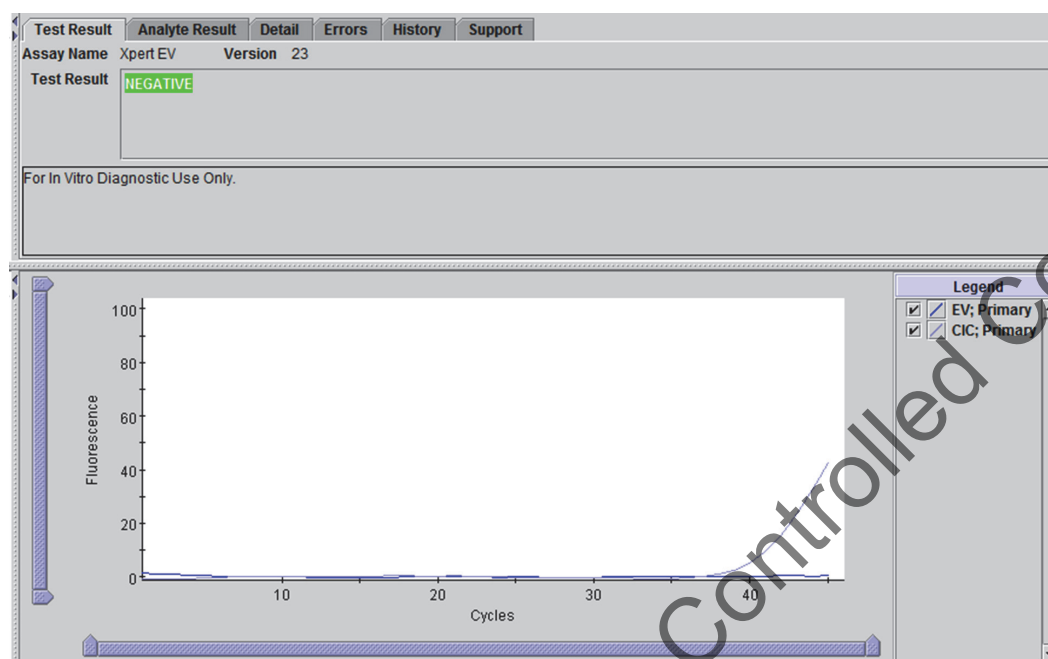
Wynik	Interpretacja
WYNIK DODATNI (POSITIVE) Ilustracja 2	Sekwencja docelowa kwasu nukleinowego wirusa EV została wykryta (system GeneXpert Dx — okno Wyświetlanie wyników (View Results)). Należy pamiętać, że kontrola SPC/IC jest wyświetlana jako CIC): • EV — DODATNI (POS) • CIC (SPC/IC) — NIE DOTYCZY (NA) (jeśli miano wirusa EV jest wysokie, może nastąpić supresja reakcji RT-PCR dla kontroli SPC). • Kontrola sondy — POWODZENIE (PASS) • Wyniki dodatnie testu Xpert EV nie wykluczają innych przyczyn zapalenia opon mózgowych, w tym bakterii, prątków, innych wirusów (np. wirusów z rodziny herpes, arbowirusów czy wirusa świnki) i grzybów.
WYNIK UJEMNY (NEGATIVE) Ilustracja 3	Sekwencja docelowa kwasu nukleinowego wirusa EV nie została wykryta, ale kontrola SPC spełnia kryteria akceptacji (system GeneXpert Dx — okno Wyświetlanie wyników (View Results)). Należy pamiętać, że kontrola SPC/IC jest wyświetlana jako CIC): • EV — UJEMNY (NEG) • CIC (SPC/IC) — POWODZENIE (PASS) • Kontrola sondy — POWODZENIE (PASS) • Wyniki ujemne testu Xpert EV nie wykluczają enterowirusa jako przyczyny zapalenia opon mózgowych, a jedynie oznaczają, że enterowirus nie został wykryty.

Tabela 1. Wyniki testu Xpert EV i ich interpretacja (ciąg dalszy)

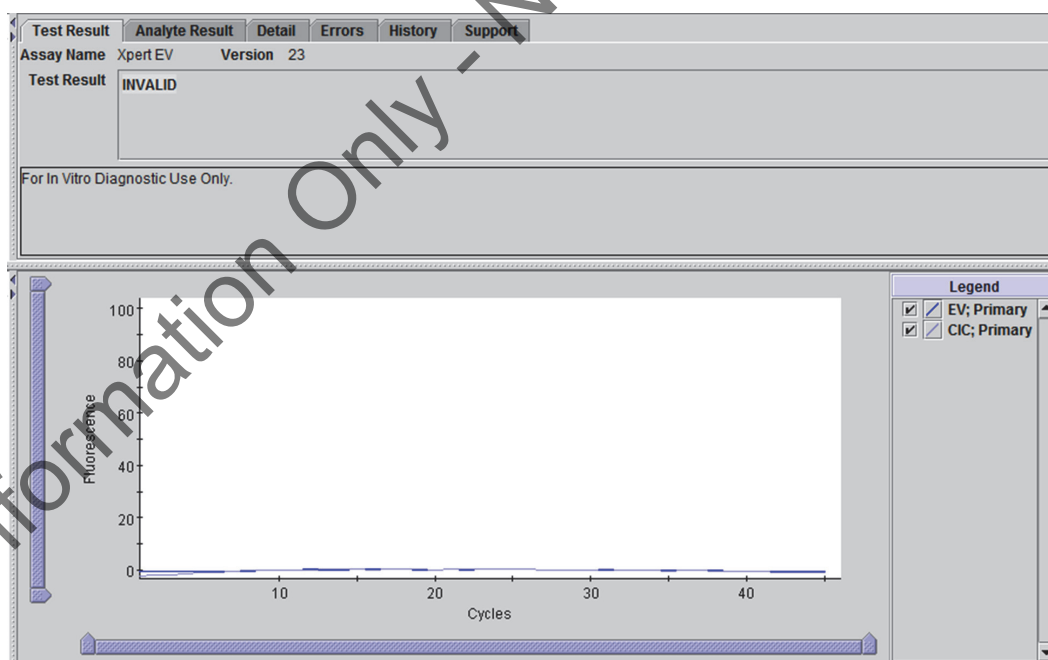
Wynik	Interpretacja
NIEWAŻNY (INVALID) Ilustracja 4	Nie można określić obecności ani nieobecności sekwencji docelowej kwasu nukleinowego wirusa EV; należy powtórzyć badanie z użyciem dodatkowej próbki. Kontrola SPC/IC nie spełniła kryteriów akceptacji, próbka nie została poprawnie przetworzona lub nastąpiło zahamowanie reakcji PCR (system GeneXpert Dx — okno Wyświetlanie wyników (View Results). Należy pamiętać, że kontrola SPC/IC jest wyświetlana jako CIC): • EV — NIEWAŻNY (INVALID) • CIC (SPC/IC) — NIEPOWODZENIE (FAIL) • Kontrola sondy — POWODZENIE (PASS)
BŁĄD (ERROR)	Nie można określić obecności ani nieobecności sekwencji docelowej kwasu nukleinowego wirusa EV; należy powtórzyć badanie z użyciem dodatkowej próbki. Kontrola sondy zakończyła się niepowodzeniem prawdopodobnie z powodu niewłaściwego napełnienia komory reakcyjnej, wykrycia błędu dotyczącego integralności sondy lub przerwania badania: • EV — BRAK WYNIKU (NO RESULT) • CIC (SPC/IC) — BRAK WYNIKU (NO RESULT) • Kontrola sondy — NIEPOWODZENIE (FAIL)
BRAK WYNIKU (NO RESULT)	Nie można określić obecności ani nieobecności sekwencji docelowej kwasu nukleinowego wirusa EV; należy powtórzyć badanie z użyciem dodatkowej próbki. Nie można uzyskać wyniku badania z powodu zgromadzenia niewystarczających danych (taka sytuacja może wystąpić na przykład wtedy, gdy operator zatrzymał badanie będące w toku): • EV — BRAK WYNIKU (NO RESULT) • CIC (SPC/IC) — BRAK WYNIKU (NO RESULT) • Kontrola sondy — NIE DOTYCZY (NA)



Ilustracja 2. Wynik dodatni testu Xpert EV
 (System GeneXpert® Dx — okno Wyświetlanie wyników (View Results).
 Należy pamiętać, że kontrola SPC/IC jest wyświetlana jako CIC).



Ilustracja 3. Wynik ujemny
(System GeneXpert® Dx — okno Wyświetlanie wyników (View Results).
Należy pamiętać, że kontrola SPC/IC jest wyświetlana jako CIC).



Ilustracja 4. Wynik nieważny testu Xpert EV
(System GeneXpert® Dx — okno Wyświetlanie wyników (View Results).
Należy pamiętać, że kontrola SPC/IC jest wyświetlana jako CIC).

16 Sytuacje, w których należy powtórzyć badanie

16.1 Sytuacje, w których należy powtórzyć badanie

Powtórzyć badanie z użyciem świeżej próbki w przypadku uzyskania następujących wyników:

- Wynik **NIEWAŻNY (INVALID)** oznacza, że kontrola SPC/IC się nie powiodła. Próbka nie została poprawnie przetworzona lub nastąpiło zahamowanie reakcji PCR.
- Wynik **BŁĄD (ERROR)** oznacza niepowodzenie kontroli sondy i przerwanie badania prawdopodobnie spowodowane niewłaściwym napełnieniem komory reakcyjnej, wykryciem błędu dotyczącego integralności sondy odczynnika lub przekroczeniem wartości granicznej ciśnienia maksymalnego.
- **BRAK WYNIKU (NO RESULT)** oznacza, że zgromadzono niewystarczające dane. Taka sytuacja może wystąpić na przykład wtedy, gdy operator zatrzymał badanie będące w toku.

17 Ograniczenia

- Wyniki testu Xpert EV należy interpretować z uwzględnieniem innych danych laboratoryjnych i klinicznych dostępnych dla klinicysty. Wynik dodatni testu Xpert EV nie wyklucza obecności innego patogenu, takiego jak bakteria, w PMR. Podobnie jak w przypadku każdego testu molekularnego wyniki fałszywie dodatnie są zawsze możliwe. W literaturze były opisywane rzadkie przypadki równoczesnego mieszanego bakteryjno-wirusowego zapalenia opon mózgowych.^{9, 10, 11} Skuteczność testu Xpert EV zatwierdzono wyłącznie przy pomocy procedur opisanych w niniejszej ulotce informacyjnej w systemie GeneXpert Dx firmy Cepheid. Nie należy modyfikować tych procedur, ponieważ może to wpłynąć na skuteczność testu.
- Test Xpert EV jest przeznaczony wyłącznie do wykrywania enterowirusa. Wyniki ujemne testu nie wykluczają obecności enterowirusa. Ten test nie wyklucza możliwości opryszczkowego zapalenia opon mózgowych lub grzybiczego zapalenia opon mózgowych; aby wykluczyć te zakażenia, należy wykonać dodatkowe badania.
- Błędne wyniki badania mogą być spowodowane niewłaściwym pobraniem próbki, nieprzestrzeganiem zalecanych procedur pobierania, obsługi i przechowywania próbki, błędem technicznym, wymieszaniem próbek bądź zbyt małą liczbą drobnoustrojów w próbce uniemożliwiającej ich wykrycie przez test. Uważne przestrzeganie instrukcji zawartych w niniejszej ulotce informacyjnej pozwoli uniknąć uzyskania błędnych wyników.
- Mutacje lub polimorfizmy w regionach wiązania starterów lub sond mogą wpływać na wykrywanie nowych lub nieznanach wariantów, co może prowadzić do uzyskania wyniku fałszywie ujemnego.

Przeostroga



Podobnie jak w przypadku innych procedur diagnostycznych wyniki uzyskane przy pomocy testu Xpert EV powinny stanowić wyłącznie uzupełnienie obserwacji klinicznej oraz innych informacji dostępnych dla lekarza. Wyniki dodatnie testu Xpert EV nie wykluczają innych przyczyn zapalenia opon mózgowych, w tym bakterii, prątków, innych wirusów (np. wirusów z rodziny herpes, arbowirusów czy wirusa świnki) i grzybów.

18 Substancje interferujące

Przeprowadzono badania pod kątem potencjalnie interferujących substancji występujących w PMR. Do badanych substancji należały: krwinki białe, białko, krew pełna i hemoglobina. Zawartość krwinek białych badano z użyciem leukocytów (ludzkie komórki białaczkowe K562) dodanych do PMR.

Aby uwzględnić potencjalne interferencje powodowane skrwawionym PMR, badano próbki ludzkiego PMR zanieczyszczonego różnymi stężeniami (maksymalnie 125 000 krwinek czerwonych/mm³) krwi.

Zakresy stężeń i substancje interferujące wykryte w normalnym PMR przedstawia Tabela 2. Przedstawiono również potencjalne zakresy występujące w PMR w przypadku zapalenia opon mózgowych. Każdą substancję dodano na poziomach, które mogą występować u pacjentów bez zapalenia opon mózgowych oraz z zapaleniem opon mózgowych.

Wszystkie badania wykonano z użyciem PMR z dodatkiem enterowirusa serotypu CVA9 w mianie 80 TCID₅₀/ml (około 3 × LoD).

Tabela 2. Próbkę potencjalnie interferujących substancji endogenicznych badane przy pomocy testu Xpert EV

Substancja	Zakres stężeń w normalnym PMR	Potencjalny zakres stężeń w PMR (w przypadku zapalenie opon mózgowych)	Próbka badana przy pomocy testu Xpert EV	Badane stężenia
Krwinki białe	0–5 komórek/mm ³	5–5000 komórek/mm ³	Komórki K562	Komórki/mm ³ : 0, 3,57, 35,7, 357, 7140
Białka w PMR	13–40 mg/dl	15–217 mg/dl	BSA: IgG (stosunek 1:1)	Stężenie białek mg/dl 0, 30, 300, 1,071
Krew	Brak	Nie dotyczy	Ludzki skrwawiony PMR (14)	0% do około 2,5% obj./obj. krwi
Hemoglobina	12–18 g/dl krwinek czerwonych	Nie dotyczy z wyjątkiem skrwawionego PMR	Hemoglobina (proszek zawierający żelazo) dodana do PMR	HgB g/dl 0, 0,36, 0,71, 2,14, 3,6 [Reprezentuje przybliżoną ilość obj./obj. krwi w PMR, odpowiednio: 0%, 2,5%, 5%, 15%, 25%]

Jak przedstawiono w Tabeli 3, wyniki dodatnie pod kątem enterowirusa uzyskano nawet po wprowadzeniu najwyższego poziomu potencjalnie interferującej substancji do testu.

Tabela 3. Wyniki badania z potencjalnie interferującymi substancjami endogenicznymi badanymi przy pomocy testu Xpert EV

Substancja interferująca	Stężenie	Wartość C _t dla wirusa EV
Brak (kontrola n = 8)	Nie dotyczy	36,1
Białko (n = 4)	1071 mg/dl	38,2
Krwinki białe (n = 4)	7140 komórek/mm ³	37,2
Skrwawiony PMR, próbka 1	2,5% obj./obj. krwi	35,9
Skrwawiony PMR, próbka 2	2,5% obj./obj. krwi	35,0
Skrwawiony PMR, próbka 3	2,5% obj./obj. krwi	35,3
Hemoglobina (n = 4)	3,6 g/dl	36,9

19 Charakterystyka testu

19.1 Skuteczność kliniczna

Charakterystykę testu Xpert EV określono w wieloośrodkowym badaniu klinicznym w sześciu instytucjach.

W badaniu zarejestrowano pacjentów, którzy mieli wykonane nakłucie lędźwiowe z powodu objawów zapalenia opon mózgowych oraz w przypadku których lekarz zlecił wykonanie testu pod kątem wirusa EV i/lub testu z użyciem hodowli wirusa. Pacjent musiał mieć wystarczającą nadmierną objętość PMR (co najmniej 0,5 ml) i musiał wyrazić świadomą zgodę na piśmie. Próbkę pacjentów wykluczono, jeśli PMR do badania kwasu nukleinowego został odwirowany lub jeśli test Xpert EV i testy do potwierdzania prawdziwości klinicznej nie zostały wykonane w tym samym cyklu zamrożenia/rozmrózenia próbki. Wzięto pod uwagę również historię kliniczną pacjentów: kliniczne objawy przedmiotowe i podmiotowe; liczbę dni od momentu wystąpienia objawów; maksymalną temperaturę; historię kontaktów; liczbę krwinek czerwonych i krwinek białych w PMR oraz wartość różnicy; poziom glukozy i całkowity poziom białek w PMR; wyniki hodowli bakterii i barwienia metodą Grama z użyciem PMR; poziom glukozy we krwi; wyniki hodowli wirusa z użyciem innych próbek, jeśli były dostępne.

Pacjenta uznano za cierpiącego na enterowirusowe zapalenie opon mózgowych (diagnoza kliniczna) w przypadku spełnienia następujących kryteriów: dowody kliniczne odpowiadające zapaleniu opon mózgowych, wyniki laboratoryjne barwienia metodą Grama z użyciem PMR, wyniki hodowli bakterii z użyciem PMR, poziom glukozy w PMR, współczynnik poziomu glukozy w PMR do poziomu glukozy we krwi, stężenie całkowitych białek w PMR, liczba leukocytów w PMR oraz wykrycie genomu wirusa EV w PMR i/lub wynik dodatni hodowli wirusa EV z użyciem PMR.

Początkowo 475 pacjentów zostało zgłoszonych do zarejestrowania. 41 pacjentów nie spełniło kryteriów włączenia do badania i zostało wykluczonych z analizy, co dało 434 uczestników biorących udział w analizie, spośród których dla 255 uzyskano wyniki wszystkich badań opisanych powyżej.

Łącznie zarejestrowano 199 zakwalifikowanych prospektywnych pacjentów, a dla 133 pacjentów uzyskano 6 wyników laboratoryjnych pod kątem oceny prawdziwości klinicznej. Kliniczną czułość i swoistość testu Xpert EV przedstawia Tabela 4.

Tabela 4. Prospektywne próbki kliniczne ocenione w odniesieniu do diagnozy klinicznej

Diagnoza kliniczna ^a			
Xpert EV	+		
	+	26	3
	-	1	103
Łącznie		27	106

Czułość kliniczna: 96,3% (26/27); 95% CI 81,0–99,9%

Swoistość kliniczna: 97,2% (103/106); 95% CI 91,9–99,4%

Łącznie zarejestrowano 235 zakwalifikowanych pacjentów retrospektywnych, a dla 122 pacjentów uzyskano 6 wyników laboratoryjnych pod kątem oceny prawdziwości klinicznej. Kliniczną czułość i swoistość testu Xpert EV przedstawia Tabela 5.

Tabela 5. Zdeponowane prospektywnie pobrane próbki kliniczne ocenione w odniesieniu do diagnozy klinicznej

Diagnoza kliniczna ^a			
Xpert EV	+		-
	+	23	3
	-	0	96
Łącznie		23	99

Czułość kliniczna: 100% (23/23); 95% CI 85,2–100%

Swoistość kliniczna: 97,0% (96/99); 95% CI 91,4–99,4%

- a. Pacjenta uznano za cierpiącego na enterowirusowe zapalenie opon mózgowych (diagnoza kliniczna) w przypadku spełnienia następujących kryteriów: dowody kliniczne odpowiadające zapaleniu opon mózgowych, wyniki laboratoryjne barwienia metodą Grama z użyciem PMR, wyniki hodowli bakterii z użyciem PMR, poziom glukozy w PMR, współczynnik poziomu glukozy w PMR do poziomu glukozy we krwi, stężenie całkowitych białek w PMR, liczba leukocytów w PMR oraz wykrycie genomu wirusa EV w PMR lub wynik dodatni hodowli wirusa EV z użyciem PMR.

Wszystkie ze 133 prospektywnych i 122 zdeponowanych prospektywnie pobranych próbek klinicznych pogrupowano według wieku. Kliniczną czułość i swoistość dla każdej grupy wiekowej przedstawia Tabela 6.

Tabela 6. Skuteczność kliniczna testu Xpert EV w odniesieniu do diagnozy klinicznej wg grupy wiekowej

Wiek	Prospektywne próbki kliniczne		Zdeponowane prospektywnie pobrane próbki kliniczne	
	Czułość kliniczna	Swoistość kliniczna	Czułość kliniczna	Swoistość kliniczna
Noworodki (poniżej 2 miesięcy)	100,0% (14/14)	96,0% (24/25)	100,0% (4/4)	90,0% (18/20)
Dzieci (od 2 miesięcy do 17 lat)	92,3% (12/13)	97,2% (69/71)	100,0 (14/14)	98,1% (51/52)
Dorośli (co najmniej 18 lat)	(0/0)	100,0% (10/10)	100,0% (5/5)	100,0% (27/27)
Ogółem	96,3% (26/27)	97,2% (103/106)	100% (23/23)	97,0% (96/99)

Hodowle wirusa wykonano w przypadku 73,7% (320/434) zakwalifikowanych próbek; pozostałe miały niewystarczającą objętość PMR do wykonania hodowli. Próbkę PMR od 263 uczestników z wystarczającą nadmierną objętością przesłano do wyznaczonego laboratorium centralnego w celu wykonania hodowli wirusa. Ponadto hodowle wirusa w przypadku 114 próbek pacjentów wykonano w ośrodkach rekrutujących. Spośród tych 114 uczestników dla 57 wykonano hodowle wirusa zarówno w ośrodkach rekrutujących, jak i w laboratorium centralnym. 56 z 57 uczestników miało zgodne wyniki hodowli, jeden uczestnik miał rozbieżne wyniki hodowli wykonanych w laboratorium lokalnym i w laboratorium centralnym.

Laboratorium centralne stosowało fiolki Super E-Mix Shell do hodowli wirusa, a komórki barwiono z użyciem przeciwciała przeciwko pan-enterowirusom. Komórki z wynikiem dodatnim pod kątem przeciwciała przeciwko pan-enterowirusom poddano dalszemu barwieniu z użyciem przeciwciała immunofluorescencji pośredniej w celu zidentyfikowania enterowirusa. Każdy ośrodek rekrutujący stosował własną standardową procedurę wykonywania hodowli wirusa.

Spośród 199 zakwalifikowanych próbek prospektywnych dla 131 uzyskano wyniki hodowli wirusa. Nie uzyskano rozbieżnych wyników badań hodowli wirusa między ośrodkami rekrutującymi a laboratorium centralnym. Zgodność wyników dodatnich i wyników ujemnych między testem Xpert EV a hodowlą wirusa przedstawia Tabela 7.

Tabela 7. Prospektywne próbki kliniczne ocenione w odniesieniu do hodowli wirusa

Hodowla wirusa			
Xpert EV	+		-
	+	8	13
	-	0	110
Łącznie		8	123

Zgodność wyników dodatnich: 100,0% (8/8) 95% CI 63,1–100,0%

Zgodność wyników ujemnych: 89,4% (110/123) CI 82,65–94,3%

Spośród 235 zakwalifikowanych próbek retrospektywnych dla 211 uzyskano wyniki hodowli wirusa. Zgodność wyników dodatnich i wyników ujemnych między testem Xpert EV a hodowlą wirusa przedstawia Tabela 8.

Tabela 8. Zdeponowane prospektywnie pobrane próbki kliniczne ocenione w odniesieniu do hodowli wirusa

Hodowla wirusa			
Xpert EV	+		-
	+	22	35
	-	1	153
Łącznie		23	188

Zgodność wyników dodatnich: 95,7% (22/23) 95% CI 78,1–99,9%

Zgodność wyników ujemnych: 81,4% (153/188) 95% CI 75,1–86,7%

434 zakwalifikowanych pacjentów pogrupowano według wieku i płci; obliczone liczby i odsetki przypadków z wynikami dodatnimi przedstawia Tabela 9.

Tabela 9. Wartości oczekiwane testu Xpert EV w populacji z objawami przedmiotowymi i podmiotowymi odpowiadającymi zapaleniu opon mózgowych

Przedział wiekowy (lata)	Płeć	Wynik testu Xpert EV		Łącznie
		Dodatnie n (%)	Ujemne n (%)	
< 1	M	34 (29,3)	82 (70,7)	116
	K	26 (28,3)	66 (71,7)	92
1 - 5	M	8 (25,0)	24 (75,0)	32
	K	3 (11,1)	24 (88,9)	27
6 - 10	M	3 (31,4)	24 (68,6)	35
	K	3 (17,6)	14 (82,4)	17
11 - 15	M	8 (33,3)	16 (66,7)	24
	K	3 (15,0)	17 (85,0)	20
16 - 21	M	3 (20,0)	12 (80,0)	15
	K	3 (25,0)	9 (75,0)	12
>21	M	2 (10,0)	18 (90,0)	20
	K	3 (12,5)	21 (87,5)	24
Łącznie		107 (24,7)	327 (75,3)	434

19.2 Reaktywność analityczna/badanie serotypów enterowirusa

Łącznie 60 serotypów enterowirusa badano przy pomocy testu Xpert EV. Rozcieńczenia materiału wirusowego badano w 3 powtórzeniach dla każdego serotypu przy zakładanej granicy wykrywalności. Rozcieńczenia wykonano w pulowanej próbce pochodzenia ludzkiego ujemnej pod kątem wirusa EV. Oszacowaną czułość analityczną przedstawia Tabela 10 poniżej.

Badano 60 serotypów, a oszacowane wartości TCID₅₀/ml umożliwiające wykrycie tych serotypów przedstawia Tabela 10.

Tabela 10. Oszacowana czułość analityczna

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

Tabela 10. Oszacowana czułość analityczna (ciąg dalszy)

Gatunek	Serotyp	Oszacowana wartość TCID ₅₀ /ml
B	Echo 4	0,00032
B	Echo 5	0,032
B	Echo 6	200,00
B	Echo 7	2,00
B	Echo 8	0,10
B	Echo 9	2,00
B	Echo 11	40,00
B	Echo 12	1,58
B	Echo 13	0,01
B	Echo 14	0,0005
B	Echo 15	0,0032
B	Echo 16	0,0005
B	Echo 17	0,05
B	Echo 18	0,0002
B	Echo 19	2,51
B	Echo 20	0,032
B	Echo 21	1,00
B	Echo 24	0,02
B	Echo 25	0,50
B	Echo 26	0,032
B	Echo 27	0,00032
B	Echo 29	5,01
B	Echo 30	0,01
B	Echo 31	0,0032
B	Echo 32	0,10
B	Echo 33	0,05
B	EV 69	0,0002
C	Coxsackie A11	0,11
C	Coxsackie A13	13,27
C	Coxsackie A15	0,0032
C	Coxsackie A17	1,58
C	Coxsackie A18	0,02
C	Coxsackie A19	0,03
C	Coxsackie A20	0,002
C	Coxsackie A21	0,03
C	Coxsackie A22	0,02
C	Coxsackie A24	0,10
D	EV 68	199,53
D	EV 70	2,00
Wirus polio	Wirus polio 1 ^a	2,00
Wirus polio	Wirus polio 2 ^a	0,40
Wirus polio	Wirus polio 3 ^a	20,00



a. OSTRZEŻENIE: Podczas pracy z wirusami polio należy przestrzegać procedur dotyczących zapobiegania rozprzestrzenianiu się na odpowiednim poziomie bezpieczeństwa biologicznego.

20 Swoistość analityczna

Sekwencje starterów i sond użyte w teście Xpert EV nie wykrywają kwasu nukleinowego wyekstrahowanego z następujących drobnoustrojów powodujących objawy zbliżone do objawów zapalenia opon mózgowych: EBV, HSV-1, HSV-2, HHV-6, HHV-7, AdV-2, wirus odry, wirus świnki, wirus paragrypy typu 1–3, wirus grypy typu A, wirus grypy typu B, VZV, CMV, bakterie *Streptococcus* grupy B, *Haemophilus influenzae* typu B, *H. influenzae* typu innego niż B, *Escherichia coli*, *Neisseria meningitidis*, *Citrobacter freundii* i *Citrobacter koseri*; ponadto test Xpert EV nie wygenerował żadnych wykrywalnych amplikonów w przypadku przetworzenia „całych drobnoustrojów” wymienionych patogenów przy pomocy kartridża testu Xpert EV. Poniższa tabela przedstawia badane drobnoustroje oraz stężenia dla każdego badanego drobnoustroju.

Całe drobnoustroje badano pod kątem swoistości w teście Xpert EV, a stężenia dla badanych drobnoustrojów przedstawia Tabela 11.

Tabela 11. Swoistość analityczna dla testu Xpert EV

Drobnoustrój	Liczba drobnoustrojów na badanie
HHV-6	$3,1 \times 10^6$ cząstek
HHV-7	$1,4 \times 10^7$ cząstek
CMV	700 TCID ₅₀
EBV	140 TCID ₅₀
HSV-1	$1,4 \times 10^5$ TCID ₅₀
HSV-2	$1,4 \times 10^5$ TCID ₅₀
AdV-2	$1,4 \times 10^{12}$ TCID ₅₀
Wirus odry	700 TCID ₅₀
Wirus świnki	$1,4 \times 10^4$ TCID ₅₀
Wirus paragrypy typu 1	$1,4 \times 10^3$ TCID ₅₀
Wirus paragrypy typu 2	7×10^3 TCID ₅₀
Wirus paragrypy typu 3	$1,4 \times 10^4$ TCID ₅₀
Wirus grypy typu A	$3,5 \times 10^4$ TCID ₅₀
Wirus grypy typu B	$3,5 \times 10^4$ TCID ₅₀
VZV	14 TCID ₅₀
<i>Streptococcus</i> grupy B	7×10^6 komórek
<i>H. influenzae</i> typu B	7×10^6 komórek
<i>H. influenzae</i> typu innego niż B	7×10^5 komórek
<i>E. coli</i>	7×10^6 komórek
<i>N. meningitidis</i>	7×10^6 komórek
<i>C. freundii</i>	7×10^6 komórek
<i>C. koseri</i>	7×10^6 komórek

21 Czulość analityczna

Czulość analityczna, tj. granica wykrywalności (LoD), jest zdefiniowana jako najniższe stężenie, tj. ilość analitu, które na podstawie analizy laboratoryjnej w sposób odtwarzalny może być odróżnione od próbek ujemnych z ufnością na poziomie 95%. Rozcieńczenia wykonano w pulowanej próbce pochodzenia ludzkiego ujemnej pod kątem wirusa EV. W celu określenia statystycznej ufności dla granicy wykrywalności badano 20 powtórzeń oraz 20 próbek ujemnych pod kątem wirusa EV. Badane próbki obejmowały wirusa Coxsackie A6 (CVA6), wirusa Coxsackie A9 (CVA9), wirusa Coxsackie A17 (CVA17), enterowirusa 70 (EV70) i wirusa polio 1

(PV1). Nie wszystkie z 63 serotypów badano w statystycznie istotnych ilościach, ponieważ miejsca wiązania starterów i sond są zachowane dla wszystkich serotypów i długość amplikonu jest taka sama dla wszystkich serotypów, dlatego oczekuje się, że skuteczność amplifikacji jest taka sama dla wszystkich serotypów. Pięć serotypów wymienionych powyżej wybrano pod kątem reprezentowania każdego z gatunków enterowirusa: CVA6 (A), CVA9 (B), CVA17 (C), EV70 (D) i PV1 (wirus polio).

Granice wykrywalności dla pięciu (5) serotypów, po jednym z każdego gatunku enterowirusa, przedstawia Tabela 12.

Tabela 12. Granica wykrywalności dla pięciu (5) serotypów

Serotyp	Granica wykrywalności (TCID ₅₀ /ml)
CVA9	80,0
EV70	1,3
PV1	4,0
CVA17	1,0
CVA6	33,0

22 Odtwarzalność

Odtwarzalność oceniono w wieloosrodkowym badaniu zaślepionym z użyciem panelu precyzji składającego się z czterech próbek. Trzy ośrodki badały każdy panel trzy razy na dzień w ciągu 10 dni badań, co dało łącznie 90 wyników na próbkę w panelu. Panel precyzji składał się z próbki ujemnej i trzech próbek dodatnich, z których każda zawierała określony serotyp wirusa EV dodany do syntetycznego PMR w stężeniu zbliżonym do granicy wykrywalności.

Zgodność procentową, średnie wartości Ct dla każdego stężenia, powiązane odchylenia standardowe, procentowe współczynniki zmienności dla badań między dniami i między ośrodkami uzyskane w wieloosrodkowym badaniu odtwarzalności przedstawia Tabela 13.

Tabela 13. Podsumowanie wyników pierwszego badania odtwarzalności

Liczba próbek poprawnie zaklasyfikowanych					Między dniami		Między ośrodkami		Łącznie	
Serotyp (TCID ₅₀ /ml)	Ośrodek 1	Ośrodek 2	Ośrodek 3	Srednia wartość Ct dla wirusa EV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Ujemna	30/30	30/30	30/30							
CVA6 (134)	30/30	30/30	29/29 ^a	35,0	0,343	0,98%	0,175	0,50%	1,101	3,15%
CVA9 (320)	30/30	30/30	30/30	34,4	0	0,00%	0	0,00%	0,61	1,77%
CVA17 (3)	30/30	30/30	29/29 ^a	33,8	0	0,00%	0	0,00%	0,414	1,22%
Łączna zgodność	120/120	120/120	118/118							
% Zgodności	100,00%	100,00%	100,00%							

a. Dla dwóch próbek nie uzyskano żadnych wyników przy pomocy aparatu GeneXpert.

Aby zapewnić dodatkowe obciążenie systemu, wykonano drugie badanie. Wewnętrzne badanie odtwarzalności wykonano w ciągu czterech różnych dni z użyciem wielu aparatów GeneXpert (31) i modułów ICORE (121). Dwa reprezentatywne podtypy całego wirusa (tj. wirus Cocksackie CVA9 i enterowirus EV70) dodano do ludzkiego ujemnego PMR w celu przygotowania symulowanych próbek w stężeniach 2 × LoD i 4 × LoD. Próbkę ujemną badano 20 razy, a dwie próbki dodatnie w dwóch stężeniach badano pięć (5) razy na dzień. Spośród wszystkich badanych próbek dla dwóch próbek uzyskano wynik Nieważny (Invalid), a dla trzech próbek uzyskano wynik Brak wyniku (No Result) zgodnie z definicjami kontroli oprogramowania aparatu. Spośród 157 prawidłowych wyników 155 było poprawnie zaklasyfikowanych.

Poziom zgodności, średnie wartości Ct dla każdego stężenia, powiązane odchylenia standardowe i procentowe współczynniki zmienności dla każdego dnia przedstawia Tabela 14.

Tabela 14. Podsumowanie wyników drugiego badania odtwarzalności

Identyfikator próbki		Łączna zgodność — wyniki C _t					% łączna zgodność
		Dzień 1	Dzień 2	Dzień 3	Dzień 4	Wszystkie dni	
Ujemna	Łączna zgodność	20/20	18/18 ^a	20/20	20/20	78/78	100%
	Średnia	Nd.	Nd.	Nd.	Nd.	Nd.	
	SD	Nd.	Nd.	Nd.	Nd.	Nd.	
	% CV	Nd.	Nd.	Nd.	Nd.	Nd.	
CA9 2 × LoD	Łączna zgodność	4/5 ^b	5/5	4/5 ^b	5/5	18/20	90%
	Średnia	36,65	36,54	36,53	36,54	36,56	
	SD	0,56	0,46	0,21	0,69	0,48	
	% CV	1,53%	1,26%	0,57%	1,89%	1,31%	
CA9 4 × LoD	Łączna zgodność	5/5	5/5	5/5	4/4 ^c	19/19	100%
	Średnia	34,98	35,56	35,52	35,03	35,28	
	SD	0,53	0,67	0,7	0,3	0,6	
	% CV	1,52%	1,88%	1,97%	0,86%	1,70%	
EV70 2 × LoD	Łączna zgodność	5/5	5/5	5/5 ^d	5/5	20/20	100%
	Średnia	37,38	37,3	37,55	36,88	37,2	
	SD	1,78	0,74	2,01	0,81	1,3	
	% CV	4,76%	1,98%	5,35%	2,20%	3,49%	
EV70 4 × LoD	Łączna zgodność	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%
	Średnia	36,50	36,60	36,12	35,94	36,29	
	SD	0,58	0,97	0,29	0,84	0,72	
	% CV	1,59%	2,65%	0,80%	2,34%	1,98%	
Liczba użytych aparatów		10	11	10	10	31	
Liczba użytych modułów		40	41	41	40	121	

a. Łączna liczba badań = 21, 2 — Brak wyniku (No Result), 1 — Nieważny (Invalid)

b. Łączna liczba badań = 5, 1 wynik ujemny (negative) zamiast wyniku dodatniego (positive)

c. Łączna liczba badań = 5, 1 — Nieważny (Invalid)

d. Łączna liczba badań = 6, 1 — Brak wyniku (No Result)

23 Piśmiennictwo

1. Viral ("Aseptic") Meningitis. Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Infectious Diseases: Respiratory and Enteric Viruses Branch. http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/revb/enterovirus/viral_meningitis.htm (accessed April 11, 2006).
2. Rotbart HA. Viral meningitis. *Semin Neurol.* 2000; 20(3): 277-92.
3. Romero JR, Rotbart HA. Enteroviruses. In: Murray PR, Baron EJ, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 8th edition. Washington, DC: American Society for Microbiology, 2003: 1427-1438.
4. Robinson CC, Willis M, Meagher A, et al. Impact of rapid polymerase chain reaction results on management of pediatric patients with enteroviral meningitis. *Pediatric Infectious Disease Journal.* 2002; 21: 283-6.
5. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
7. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
8. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
9. Wright HT, McAllister RM, Ward R. "Mixed" Meningitis: Report of a Case with Isolation of Haemophilus Influenzae Type B and ECHO Virus Type 9 from the Cerebrospinal Fluid. *New England Journal of Medicine.* 1962; 267: 142-144.
10. Sferra TJ, Pacini DL. Simultaneous recovery of bacteria and viral pathogens from cerebrospinal fluid. *Pediatric Infectious Disease Journal.* 1988; 7: 552-556.
11. Dronkert ML, Ketel AG, de Groot R. Simultaneous occurrence of group B Streptococcus and echovirus 20. *European Journal of Pediatrics.* 1996; 155: 915.

24 Lokalizacja siedziby głównej firmy Cepheid

Siedziba główna firmy

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
Stany Zjednoczone
Telefon: + 1 408 541 4191
Faks: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Siedziba główna w Europie

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Francja
Telefon: + 33 563 825 300
Faks: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

25 Wsparcie Techniczne

Przed skontaktowaniem się z Centrum wsparcia klienta firmy Cepheid, należy przygotować następujące informacje:

- Nazwa produktu
- Numer serii
- Numer seryjny aparatu
- Komunikaty o błędach (jeśli występują)
- Wersja oprogramowania i numer znacznika serwisowego komputera (w odpowiednim przypadku)

Informacje kontaktowe

Stany Zjednoczone
Telefon: + 1 888 838 3222
Email: techsupport@cepheid.com

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

Dane kontaktowe wszystkich Centrów wsparcia klienta firmy Cepheid są dostępne na naszej stronie:
www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

For Information Only - Not a Controlled Copy

26 Tabela symboli

Symbol	Znaczenie
	Numer katalogowy
	Wyrób medyczny do diagnostyki <i>in vitro</i>
	Nie używać ponownie
	Kod serii
	Zapoznać się z instrukcją użycia
	Przeostoga
	Producent
	Kraj produkcji
	Zawiera ilość wystarczającą do wykonania <n> badań
	Kontrola
	Data ważności
	Oznaczenie CE — zgodność z wymogami UE
	Zakres temperatury
	Zagrozenie biologiczne
	Do użyciu wyłącznie na zlecenie lekarza
	Zagrozenie spowodowane łatwopalnymi cieczami
	Uwaga
	Zagrozenie spowodowane aspiracją



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA
Telefon: +1 408.541.4191
Faks: +1 408.541.4192



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Francja
Tel.: +33 563 825 300
Faks: +33 563 825 301
E-mail support@cepheideurope.com

