

Xpert[®] Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus*

REF XP3COV2/FLU/RSV-10

Istruzioni per l'uso

Per l'uso con il sistema GeneXpert[®] con touchscreen che
esegue Cepheid OS

IVD CE

Dichiarazioni relative a marchi di fabbrica, brevetti e copyright

Trademark, Patents, and Copyright Statements

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

All other trademarks are the property of their respective owners.

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

© 2022 Cepheid.

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

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

© 2022 Cepheid.

Xpert[®] Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus*

1 Nome registrato

Xpert[®] Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus*

2 Nome comune o usuale

Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus*

3 Destinazione d'uso

Il test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus*, eseguito sul sistema GeneXpert con touchscreen che esegue Cepheid OS (una configurazione con touchscreen nella famiglia dei sistemi di strumentazione GeneXpert), è un test di RT-PCR multiplex real time destinato al rilevamento qualitativo *in vitro* e alla differenziazione simultanei dell'RNA da virus SARS-CoV-2, influenza A, influenza B e/o virus respiratorio sinciziale (RSV) in campioni di analisi da tampone nasofaringeo o tampone nasale anteriore prelevati da individui con segni e/o sintomi di infezione virale respiratoria.

In generale, l'RNA di SARS-CoV-2, influenza A, influenza B e di RSV identificati da questo test sono rilevabili nei campioni di analisi delle alte vie respiratorie durante la fase acuta dell'infezione. I risultati positivi indicano la presenza del virus identificato, ma non escludono un'infezione batterica o un'infezione concomitante da altri patogeni non rilevati dal test.

La correlazione clinica con l'anamnesi del paziente e altre informazioni diagnostiche sono necessarie per determinare lo stato di paziente infetto. L'agente rilevato può non essere la causa definitiva della malattia.

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

3.1 Utilizzatore/ambiente previsto

Il test Xpert[®] Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* deve essere eseguito in ambienti di laboratorio e vicino al paziente da operatori appositamente formati.

4 Riepilogo e spiegazione

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

L'influenza è un'infezione virale contagiosa delle vie respiratorie. La trasmissione dell'influenza avviene principalmente tramite goccioline di aerosol (ovvero, tossendo o starnutendo) e prevalentemente durante i mesi invernali. I sintomi generalmente includono febbre, brividi, cefalea, malessere generalizzato, tosse e congestione dei seni nasali. Sebbene siano meno comuni, possono anche essere presenti sintomi gastrointestinali (ovvero nausea, vomito o diarrea), specialmente nei

bambini. La comparsa dei sintomi, in genere, avviene entro due giorni dal contatto con una persona infetta. La polmonite può insorgere come complicanza secondaria all'influenza, provocando un aumento della morbilità e della mortalità nelle popolazioni pediatriche, geriatriche e immunocompromesse.^{3,4}

I virus dell'influenza sono classificati secondo i tipi A, B e C; tra questi, i primi due sono la causa della maggior parte delle infezioni nell'uomo. Il virus dell'influenza A (Flu A) è il tipo più comune di virus influenzale nell'uomo; è generalmente responsabile delle epidemie influenzali stagionali e può causare pandemie. I virus Flu A possono infettare anche gli animali, ad esempio volatili, suini ed equini. Le infezioni dovute al virus dell'influenza B (Flu B) sono limitate per lo più all'uomo e con minore frequenza provocano epidemie.⁵ I virus dell'influenza A si suddividono in sottotipi in base a due proteine di superficie: l'emoagglutina (H) e la neuraminidasi (N). L'influenza stagionale è normalmente causata dai sottotipi H1, H2, H3, N1 e N2 del virus dell'influenza A.

Il virus respiratorio sinciziale (RSV), appartenente alla famiglia *Pneumoviridae* (prima *Paramyxoviridae*) composta da due ceppi (sottogruppi A e B), è causa di un'altra malattia contagiosa che colpisce prevalentemente i bambini piccoli, gli anziani e soggetti immunocompromessi (ad esempio, pazienti con patologie polmonari croniche o sottoposti a trattamento per condizioni che riducono la resistenza del sistema immunitario).⁶ Il virus può causare sia infezioni delle alte vie respiratorie come raffreddori, sia infezioni delle basse vie respiratorie che si manifestano come bronchiolite e polmonite.⁶ Entro i due anni di età, la maggior parte dei bambini è soggetta a infezione da RSV; tuttavia, poiché l'immunità sviluppata contro questo virus è debole, bambini e adulti possono essere reinfectati.⁶ L'RSV resta la causa principale dei ricoveri tra i bambini piccoli in tutto il mondo.⁷ I sintomi compaiono da quattro a sei giorni dopo l'infezione e sono generalmente autolimitanti, con una durata da una a due settimane circa nei bambini piccoli. Negli adulti, l'infezione dura 5 giorni circa e si manifesta con sintomi corrispondenti a quelli del raffreddore, come rinorrea, affaticamento, cefalea e febbre. La stagione dell'RSV è usualmente simile a quella dell'influenza: l'incidenza aumenta a partire dall'autunno e dura fino all'inizio della primavera.^{5,6}

I virus da SARS-CoV-2, influenza e RSV possono causare infezioni che si presentano con sintomatologia alquanto simile, il che rende molto difficile la loro differenziazione clinica.⁸ Programmi di sorveglianza attiva e precauzioni per la prevenzione delle infezioni sono essenziali per prevenire la trasmissione del SARS-CoV-2, dell'influenza e dell'RSV. L'uso di saggi in grado di fornire risultati rapidi per l'identificazione dei pazienti affetti da questi virus può essere importante ai fini di un controllo efficace, della scelta del trattamento idoneo e della prevenzione di focolai epidemici di vaste proporzioni.

5 Principio della procedura

Il test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus è un test diagnostico automatizzato *in vitro* per il rilevamento qualitativo e la differenziazione simultanei dell'RNA dei virus SARS-CoV-2, influenza A, influenza B ed RSV utilizzando una PCR a trascrizione inversa (RT-PCR). Il test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus viene eseguito su GeneXpert Instrument Systems. I primer e le sonde del test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus sono progettati per amplificare e rilevare sequenze uniche in: geni del nucleocapside (N), dell'envelope (E) e della RNA polimerasi RNA dipendente (RdRP) del genoma del virus SARS-CoV-2, matrice (M) dell'influenza A, proteina di base della polimerasi (PB2) dell'influenza A, proteina acida (PA) dell'influenza A, matrice (M) dell'influenza B, proteina non strutturale (NS) dell'influenza B e geni del nucleocapside di RSV A e RSV B.

I GeneXpert Instrument Systems consentono di automatizzare e integrare la preparazione dei campioni, l'estrazione, l'amplificazione degli acidi nucleici e il rilevamento delle sequenze bersaglio in campioni semplici o complessi, utilizzando i saggi di RT-PCR e PCR real time. I sistemi sono costituiti da uno strumento, un touchscreen e un software precaricato per l'esecuzione dei test e la visualizzazione dei risultati. I sistemi richiedono l'uso di cartucce monouso contenenti i reagenti PCR per la RT-PCR, in cui si svolgono i processi di PCR/RT-PCR. Essendo le cartucce isolate ermeticamente nel contenuto, il rischio di contaminazione crociata tra i campioni è ridotto al minimo. Per una descrizione completa dei sistemi, si rimanda al *GeneXpert System with Touchscreen Cepheid OS Operator Manual*.

Il test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus include i reagenti per il rilevamento dell'RNA dei virus SARS-CoV-2, influenza A, influenza B ed RSV in campioni di analisi da tampone nasofaringeo o tampone nasale anteriore. La cartuccia utilizzata dallo strumento GeneXpert include anche un controllo per il trattamento dei campioni (SPC) e un controllo per la verifica della sonda (PCC). L'SPC è presente per controllare l'adeguato trattamento del campione e per monitorare la presenza di potenziali inibitori nella reazione di RT-PCR. Inoltre, l'SPC assicura che le condizioni della reazione di RT-PCR (temperatura e tempo) siano appropriate per la reazione di amplificazione e che i reagenti della RT-PCR siano operativi. Il PCC verifica la reidratazione dei reagenti e il riempimento della provetta di PCR e conferma che nella cartuccia siano presenti tutti i componenti della reazione, ivi compreso il monitoraggio dell'integrità della sonda e della stabilità del colorante.

Il campione di analisi viene prelevato e inserito in una provetta di trasporto contenente 3 ml di mezzo di trasporto virale, 3 ml di soluzione fisiologica o 2 ml di eNAT™. Il campione di analisi viene brevemente miscelato capovolgendo per 5 volte la provetta di raccolta. Utilizzando la pipetta di trasferimento fornita in dotazione, il campione viene trasferito nella camera

del campione della cartuccia Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus*. La cartuccia GeneXpert viene caricata sulla piattaforma del sistema di strumentazione GeneXpert, il quale esegue il trattamento automatizzato, senza intervento manuale, e la RT-PCR real time per il rilevamento dell'RNA virale.

6 Reagenti e strumenti

6.1 Materiali in dotazione

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

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

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

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

7 Conservazione e manipolazione

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

8 Materiali necessari ma non forniti

- Tampone floccato in nylon (Copan P/N 502CS01, 503CS01) o equivalente
- Mezzo di trasporto virale, 3 ml (Copan P/N 330C) o equivalente
- Soluzione fisiologica 0,85-0,9% (p/v), 3 ml
- Nasopharyngeal Sample Collection Kit for Viruses (Cepheid P/N SWAB/B-100, Copan P/N 305C) o equivalente
- Nasal Sample Collection Kit for Viruses (Cepheid P/N SWAB/F-100, Copan P/N 346C) o equivalente
- Strumento GeneXpert, touchscreen con lettore di codici a barre integrato, manuale dell'operatore
- Cepheid OS

9 Materiali disponibili non in dotazione

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

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

Terreno di raccolta molecolare e conservazione eNAT di Copan Italy S.p.A. (Brescia):

- Terreno di raccolta molecolare e conservazione eNAT, n. di catalogo Copan 6U073S01
- Terreno di raccolta molecolare e conservazione eNAT, n. di catalogo Copan 6U074S01

10 Avvertenze e precauzioni

10.1 Avvertenze di carattere generale

- Per uso diagnostico *in vitro*.
- I risultati positivi indicano la presenza dell'RNA di Flu A, Flu B, RSV o SARS-CoV-2.
- Tutti i campioni biologici di analisi, comprese le cartucce usate, devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi. Poiché, nella maggior parte dei casi, è impossibile distinguere i potenziali veicoli di infezione, tutti i campioni biologici di analisi devono essere manipolati utilizzando le precauzioni standard. Le linee guida per il trattamento dei campioni di analisi sono disponibili presso i Centri per il controllo e la prevenzione delle malattie negli Stati Uniti (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)⁹ e l'Istituto per gli standard clinici e di laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute).¹⁰
- Durante il trattamento di sostanze chimiche e la manipolazione di campioni biologici di analisi, rispettare le procedure di sicurezza previste dalla struttura sanitaria di pertinenza.
- Per le informazioni sulla sicurezza e sulla manipolazione, fare riferimento al package insert di Copan eNAT®.
- Evitare il contatto diretto tra tiocianato di guanidina e ipoclorito di sodio (candeggina) o altri reagenti altamente reattivi come acidi e basi. Queste miscele possono emettere gas nocivi.
- I campioni biologici di analisi, i dispositivi di trasferimento e le cartucce usate devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi adottando le precauzioni standard. Attenersi alle procedure di smaltimento dei rifiuti ambientali del proprio istituto per il corretto smaltimento delle cartucce usate e dei reagenti non utilizzati. Questi materiali potrebbero essere considerati rifiuti chimici pericolosi richiedenti uno specifico smaltimento. Se i regolamenti nazionali o regionali non forniscono istruzioni chiare sul corretto smaltimento, i campioni biologici di analisi e le cartucce usate devono essere smaltiti in base alle linee guida dell'OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità) sulla manipolazione e lo smaltimento dei rifiuti medici.

10.2 Campioni di analisi

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

10.3 Saggio/Reagente

- Non aprire il coperchio della cartuccia Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus tranne che per aggiungere il campione di analisi.
- Non utilizzare una cartuccia che sia caduta dopo essere stata estratta dalla confezione.
- Non agitare la cartuccia. Se la cartuccia cade o viene agitata dopo l'apertura del coperchio, si potrebbero ottenere risultati indeterminati.
- Non applicare l'etichetta con l'ID del campione sul coperchio o sull'etichetta del codice a barre della cartuccia.
- Non utilizzare una cartuccia che presenta l'etichetta del codice a barre danneggiata.
- Non utilizzare una cartuccia la cui provetta di reazione è danneggiata.
- Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza.
- Ciascuna cartuccia Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus monouso serve per l'esecuzione di un singolo test. Non riutilizzare le cartucce usate.
- Ogni pipetta monouso viene utilizzata per trasferire un solo campione di analisi. Non riutilizzare le pipette monouso.

- Non usare la cartuccia se appare umida o se sembra che il sigillo del coperchio sia stato rotto.
- Indossare camice da laboratorio e guanti puliti. Cambiare i guanti tra una manipolazione e l'altra di ciascun campione di analisi.
- In caso di fuoriuscita di campioni di analisi o di controlli, indossare dei guanti e assorbire la fuoriuscita con salviette di carta. Pulire, quindi, accuratamente l'area contaminata con una soluzione di candeggina per uso domestico al 10% appena preparata. Prevedere un tempo di contatto minimo di due minuti. Accertarsi che l'area di lavoro sia asciutta prima di utilizzare l'etanolo denaturato al 70% per rimuovere i residui di candeggina. Lasciare asciugare completamente la superficie prima di proseguire. Oppure, seguire le prassi standard del proprio istituto previste in caso di contaminazione o fuoriuscita. Per le apparecchiature, seguire le raccomandazioni del produttore per la decontaminazione dell'apparecchiatura.

11 Pericoli chimici^{11,12}

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

12 Prelievo, trasporto e conservazione dei campioni di analisi

Un prelievo, una conservazione e un trasporto corretti dei campioni di analisi sono essenziali ai fini delle prestazioni della presente analisi. Il prelievo inadeguato dei campioni di analisi, la loro manipolazione impropria e/o il loro trasporto non corretto possono generare falsi risultati. Vedere Sezione 12.1 per la procedura di prelievo con tampone nasofaringeo e Sezione 12.2 per la procedura di prelievo con tampone nasale. I campioni di analisi da tampone nasofaringeo e tampone nasale anteriore possono essere conservati a temperatura ambiente (15-30 °C) per un massimo di 48 ore in mezzo di trasporto virale, soluzione fisiologica o eNAT fino all'esecuzione del test sui GeneXpert Instrument Systems. In alternativa, i campioni di analisi da tampone nasofaringeo e tampone nasale anteriore possono essere conservati in frigorifero (2-8 °C) per un massimo di sette giorni, in mezzo di trasporto virale o soluzione fisiologica, e per un massimo di sei giorni in eNAT, fino all'esecuzione del test sui GeneXpert Instrument Systems.

I campioni raccolti nella soluzione fisiologica non devono essere congelati. Consultare il documento "WHO Laboratory Biosafety Guidance Related to the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)".

[https://www.who.int/publications-detail/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-2019-\(covid-19\)](https://www.who.int/publications-detail/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-2019-(covid-19))

12.1 Procedura di prelievo con tampone nasofaringeo

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



Figura 1. Prelievo con tampone nasofaringeo

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

12.2 Procedura di prelievo con tampone nasale

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

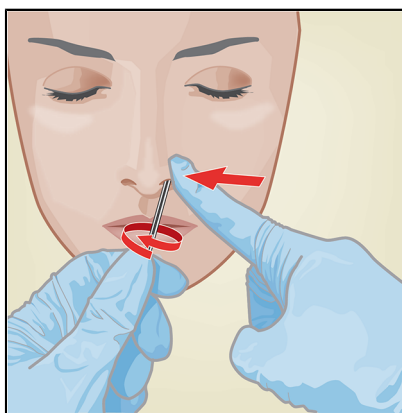


Figura 2. Prelievo con tampone nasale per la prima narice

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

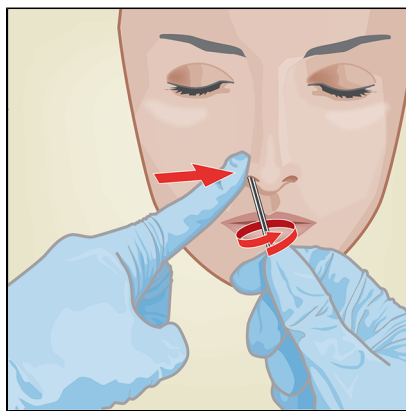


Figura 3. Prelievo con tampone nasale per la seconda narice

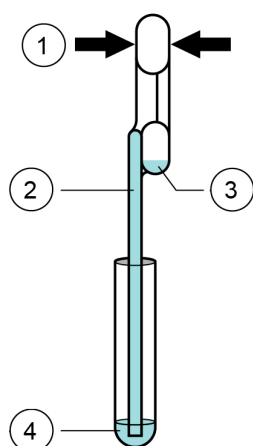
3. Estrarre il tampone e collocarlo nella provetta contenente 3 ml di mezzo di trasporto virale, 3 ml di soluzione fisiologica o 2 ml di eNAT. Spezzare il tampone sulla linea indicata eappare bene la provetta di raccolta del campione di analisi.

13 Procedura

13.1 Preparazione della cartuccia

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

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



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

Figura 4. Pipetta di trasferimento

7. Mantenendo la pipetta sotto la superficie del liquido, rilasciare lentamente la parte superiore del bulbo per riempire la pipetta con il campione prima di rimuoverla dalla provetta. È possibile che un po' di liquido entri nel serbatoio di raccolta (vedere la Figura 4). Ciò non rappresenta un problema. Controllare che la pipetta non contenga bolle d'aria.

8. Per trasferire il campione all'interno della cartuccia, schiacciare completamente ancora una volta la parte superiore del bulbo della pipetta finché non risulti completamente piatto, per svuotare il contenuto della pipetta (300 µl) nell'apertura grande della cartuccia (camera per il campione) rappresentata nella Figura 5. Un po' di liquido potrebbe rimanere nel serbatoio di raccolta. Smaltire la pipetta usata.



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

Nota Prestare attenzione ad erogare l'intero volume di liquido nella camera per il campione. Se alla cartuccia viene aggiunto un volume di campione insufficiente, è possibile che si ottengano risultati falsi negativi.

9. Chiudere il coperchio della cartuccia.

13.2 Controlli esterni

I controlli esterni descritti nella sezione 9 sono disponibili ma non sono forniti in dotazione e possono essere utilizzati conformemente alle organizzazioni di accreditamento locali, nazionali e regionali, se applicabile.

Per eseguire un controllo utilizzando il test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus, eseguire i seguenti passaggi:

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

13.3 Avvio del test sul GeneXpert system with touchscreen

Importante Prima di iniziare il test, verificare che il sistema contenga moduli con il software Cepheid OS versione 1.2 o successiva e che il file di definizione del saggio Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus sia stato importato nel software.

Importante In questa sezione sono riportati i passaggi predefiniti per il funzionamento del GeneXpert system with touchscreen. Per istruzioni dettagliate, vedere il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert con touchscreen*.

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

1. Accendere il GeneXpert system with touchscreen:
 - a) Accendere lo strumento GeneXpert II o GeneXpert IV. L'interruttore di alimentazione si trova sul retro dello strumento. Premere l'interruttore portandolo nella posizione **ACCESO (I) (ON (I))**.
 - b) Accendere il touchscreen. L'interruttore di alimentazione si trova sul retro del touchscreen. Premere l'interruttore portandolo nella posizione **ACCESO (I) (ON (I))**.
2. Effettuare l'accesso al software Cepheid OS inserendo il nome utente e la password.

3. Nella schermata PAGINA INIZIALE (HOME), toccare **NUOVA ANALISI (NEW TEST)**.
4. Immettere l'ID paziente (Patient ID).
5. Toccare **CONTINUA (CONTINUE)** e **CONFERMA (CONFIRM)**.
6. Immettere un ID campione.
7. Toccare **CONTINUA (CONTINUE)** e **CONFERMA (CONFIRM)**.
8. Eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia. Tenere la cartuccia a circa 10 cm (4 pollici) dal lettore.

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

9. Dopo la scansione, toccare **CONFERMA (CONFIRM)**.
10. Se non è stato effettuato l'accesso, apparirà la schermata Inserire le credenziali per continuare (Enter Credentials to Continue). Immettere il proprio nome utente e la password, quindi toccare **Accesso (Login)**.
11. Si aprirà la schermata Preparazione della cartuccia (Cartridge Preparation). Guardare il video (se necessario) e preparare la cartuccia se non fosse già stato fatto. Toccare **CONTINUA (CONTINUE)**.
12. Caricare la cartuccia preparata.
13. Aprire lo sportello del modulo dello strumento sotto la luce verde lampeggiante.
14. Collocare la cartuccia sul fondo dell'alloggiamento del modulo, con l'etichetta rivolta verso l'esterno.

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

15. Premere lo sportello del modulo per chiuderlo. Lo sportello si bloccherà, la luce verde diventerà da lampeggiante a fissa e si visualizzerà la schermata Analisi in caricamento (Test Loading) seguita dalla schermata Analisi in corso (Test Running).
Al termine dell'analisi comparirà la schermata Analisi completata (Test Completed).
16. Estrarre la cartuccia e smaltirla seguendo le linee guida della propria struttura in tema di smaltimento dei residui pericolosi.
17. Toccare **RAPPORTO (REPORT)** per visualizzare un rapporto dell'analisi.

13.4 Visualizzazione e stampa dei risultati

Per istruzioni dettagliate sulla visualizzazione e la stampa dei risultati, consultare il *GeneXpert System with Touchscreen Running Cepheid OS Operator Manual*.

14 Controllo qualità

14.1 Controlli interni

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

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

Controllo per la verifica della sonda (PCC) — Prima che inizi la reazione PCR, il sistema GeneXpert misura il segnale di fluorescenza emesso dalle sonde, allo scopo di monitorare la reidratazione delle microsfele, 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.

14.2 Controlli esterni

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

15 Interpretazione dei risultati

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

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

Tabella 1 mostra i risultati che si possono ottenere selezionando la modalità di test Xpress SARS-CoV-2_Flu_RSV plus.

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

Risultato	Interpretazione
SARS-CoV-2 POSITIVO (SARS-CoV-2 POSITIVE)	L'RNA bersaglio del SARS-CoV-2 è stato rilevato. - Il segnale di SARS-CoV-2 ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima - SPC: NA (non applicabile); l'SPC viene ignorato perché si è verificata l'amplificazione del bersaglio per SARS-CoV-2 - Verifica della sonda: AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi
Flu A POSITIVO (Flu A POSITIVE)	L'RNA bersaglio dell'influenza A è stato rilevato. - Il segnale dell'influenza A per il bersaglio RNA di Flu A1 o per il bersaglio RNA di Flu A2 oppure i segnali per entrambi i bersagli RNA hanno un Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione della soglia - SPC: Ammesso (Pass); l'SPC ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima - Verifica della sonda: AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi
Flu B POSITIVO (Flu B POSITIVE)	L'RNA bersaglio dell'influenza B è stato rilevato. - Il segnale dell'influenza B ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima - SPC: Ammesso (Pass); l'SPC ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima - Verifica della sonda: AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi
RSV POSITIVO (RSV POSITIVE)	L'RNA bersaglio del virus RSV è stato rilevato. - Il segnale dell'RSV ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima - SPC: Ammesso (Pass); l'SPC ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima - Verifica della sonda: AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi

Risultato	Interpretazione
SARS-CoV-2 NEGATIVO (SARS-CoV-2 NEGATIVO); Flu A NEGATIVO (Flu A NEGATIVO); Flu B NEGATIVO (Flu B NEGATIVO); RSV NEGATIVO (RSV NEGATIVO)	L'RNA bersaglio del SARS-CoV-2 non è stato rilevato; l'RNA bersaglio dell'influenza A non è stato rilevato; l'RNA bersaglio dell'influenza B non è stato rilevato; l'RNA bersaglio dell'RSV non è stato rilevato. - L'RNA bersaglio di SARS-CoV-2, dell'influenza A, dell'influenza B e dell'RSV non è stato rilevato - SPC: AMMESSO (PASS); l'SPC ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima - Verifica della sonda: AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi
NON VALIDO (INVALID)	L'SPC non soddisfa i criteri di accettazione e il SARS-CoV-2 non è stato rilevato. Ripetere il test in base alla Procedura di ripetizione del test, come descritto nella Sezione 16.2 delle istruzioni per l'uso. - SPC: RESPINTO (FAIL); l'SPC e i segnali di SARS-CoV-2 non hanno un valore Ct compreso nell'intervallo valido e l'endpoint è inferiore all'impostazione minima - Verifica della sonda: AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi
ERRORE (ERROR)	È impossibile determinare la presenza o l'assenza dell'RNA di SARS-CoV-2, influenza A, influenza B ed RSV. Ripetere il test in base alla Procedura di ripetizione del test, come descritto nella Sezione 16.2 delle istruzioni per l'uso. - SARS-CoV-2: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) - Influenza A: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) - Influenza B: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) - RSV: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) - SPC: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) - Verifica della sonda: RESPINTO (FAIL)¹; uno o più risultati della verifica della sonda non sono validi ¹Se la verifica della sonda viene superata, l'errore è causato dal superamento dell'intervallo accettabile da parte del limite massimo di pressione, dalla mancata aggiunta del campione o dal guasto di un componente del sistema.
NESSUN RISULTATO (NO RESULT)	È impossibile determinare la presenza o l'assenza dell'RNA di SARS-CoV-2, influenza A, influenza B ed RSV. Ripetere il test in base alla Procedura di ripetizione del test, come descritto nella Sezione 16.2 delle istruzioni per l'uso. NESSUN RISULTATO (NO RESULT) indica che i dati raccolti sono insufficienti. Ad esempio, l'operatore ha interrotto un test in corso. - SARS-CoV-2: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) - Influenza A: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) - Influenza B: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) - RSV: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) - SPC: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) - Verifica della sonda: NA

Se solo un bersaglio virale è positivo ma si sospetta un'infezione concomitante con più bersagli, il campione deve essere rianalizzato con un altro test approvato o autorizzato dalla FDA, se l'infezione concomitante cambierebbe la gestione clinica.

Tabella 2 mostra i risultati che si possono ottenere selezionando la modalità di test Xpress SARS-CoV-2_Flu plus.

Tabella 2. Possibili risultati e interpretazione per Xpress SARS-CoV-2_Flu plus

Risultato	Interpretazione
SARS-CoV-2 POSITIVO (SARS-CoV-2 POSITIVE)	L'RNA bersaglio del SARS-CoV-2 è stato rilevato. - Il segnale di SARS-CoV-2 ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima - SPC: NA (non applicabile); l'SPC viene ignorato perché si è verificata l'amplificazione del bersaglio per SARS-CoV-2 - Verifica della sonda: AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi
Flu A POSITIVO (Flu A POSITIVE)	L'RNA bersaglio dell'influenza A è stato rilevato. - Il segnale dell'influenza A per il bersaglio RNA di Flu A1 o per il bersaglio RNA di Flu A2 oppure i segnali per entrambi i bersagli RNA hanno un Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione della soglia - SPC: Ammesso (Pass); l'SPC ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima - Verifica della sonda: AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi
Flu B POSITIVO (Flu B POSITIVE)	L'RNA bersaglio dell'influenza B è stato rilevato. - Il segnale dell'influenza B ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima - SPC: Ammesso (Pass); l'SPC ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima - Verifica della sonda: AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi
SARS-CoV-2 NEGATIVO (SARS-CoV-2 NEGATIVE); Flu A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE); Flu B NEGATIVO (Flu B NEGATIVE)	L'RNA bersaglio di SARS-CoV-2 non è stato rilevato; l'RNA bersaglio dell'influenza A non è stato rilevato; l'RNA bersaglio dell'influenza B non è stato rilevato. - Gli RNA bersaglio di SARS-CoV-2, influenza A e influenza B non sono stati rilevati - SPC: AMMESSO (PASS); l'SPC ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima - Verifica della sonda: AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi
NON VALIDO (INVALID)	L'SPC non soddisfa i criteri di accettazione e il SARS-CoV-2 non è stato rilevato. Ripetere il test in base alla Procedura di ripetizione del test, come descritto nella Sezione 16.2 delle istruzioni per l'uso. - SPC: RESPINTO (FAIL); l'SPC e i segnali di SARS-CoV-2 non hanno un valore Ct compreso nell'intervallo valido e l'endpoint è inferiore all'impostazione minima. - Verifica della sonda: AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi

Risultato	Interpretazione
ERRORE (ERROR)	È impossibile determinare la presenza o l'assenza dell'RNA di SARS-CoV-2, influenza A e influenza B. Ripetere il test in base alla Procedura di ripetizione del test, come descritto nella Sezione 16.2 delle istruzioni per l'uso. - SARS-CoV-2: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) - Influenza A: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) - Influenza B: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) - SPC: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) - Verifica della sonda: RESPINTO (FAIL)¹; uno o più risultati della verifica della sonda non sono validi ¹ Se la verifica della sonda viene superata, l'errore è causato dal superamento dell'intervallo accettabile da parte del limite massimo di pressione, dalla mancata aggiunta del campione o dal guasto di un componente del sistema.
NESSUN RISULTATO (NO RESULT)	È impossibile determinare la presenza o l'assenza dell'RNA di SARS-CoV-2, influenza A e influenza B. Ripetere il test in base alla Procedura di ripetizione del test, come descritto nella Sezione 16.2 delle istruzioni per l'uso. NESSUN RISULTATO (NO RESULT) indica che i dati raccolti sono insufficienti. Ad esempio, l'operatore ha interrotto un test in corso. - SARS-CoV-2: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) - Influenza A: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) - Influenza B: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) - SPC: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) - Verifica della sonda: NA

Se solo un bersaglio virale è positivo ma si sospetta un'infezione concomitante con più bersagli, il campione deve essere rianalizzato con un altro test approvato o autorizzato dalla FDA, se l'infezione concomitante cambierebbe la gestione clinica.

Tabella 3 mostra i risultati che si possono ottenere selezionando la modalità di test Xpress SARS-CoV-2 plus.

Tabella 3. Possibili risultati e interpretazione per Xpress SARS-CoV-2 plus

Risultato	Interpretazione
SARS-CoV-2 POSITIVO (SARS-CoV-2 POSITIVE)	L'RNA bersaglio del SARS-CoV-2 è stato rilevato. - Il segnale di SARS-CoV-2 ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima - SPC: NA (non applicabile); l'SPC viene ignorato perché si è verificata l'amplificazione del bersaglio per SARS-CoV-2 - Verifica della sonda: AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi
SARS-CoV-2 NEGATIVO (SARS-CoV-2 NEGATIVE)	L'RNA bersaglio del SARS-CoV-2 non è stato rilevato. - L'RNA bersaglio del SARS-CoV-2 non è stato rilevato - SPC: AMMESSO (PASS); l'SPC ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima - Verifica della sonda: AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi
NON VALIDO (INVALID)	L'SPC non soddisfa i criteri di accettazione e il SARS-CoV-2 non è stato rilevato. Ripetere il test in base alla Procedura di ripetizione del test, come descritto nella Sezione 16.2 delle istruzioni per l'uso. - SPC: RESPINTO (FAIL); l'SPC e i segnali di SARS-CoV-2 non hanno un valore Ct compreso nell'intervallo valido e l'endpoint è inferiore all'impostazione minima - Verifica della sonda: AMMESSO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi
ERRORE (ERROR)	Non è possibile determinare la presenza o l'assenza dell'RNA di SARS-CoV-2. Ripetere il test in base alla Procedura di ripetizione del test, come descritto nella Sezione 16.2 delle istruzioni per l'uso. - SPC: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) - Verifica della sonda: RESPINTO (FAIL)¹; uno o più risultati della verifica della sonda non sono validi ¹ Se la verifica della sonda viene superata, l'errore è causato dal superamento dell'intervallo accettabile da parte del limite massimo di pressione, dalla mancata aggiunta del campione o dal guasto di un componente del sistema.
NESSUN RISULTATO (NO RESULT)	Non è possibile determinare la presenza o l'assenza dell'RNA di SARS-CoV-2. Ripetere il test in base alla Procedura di ripetizione del test, come descritto nella Sezione 16.2 delle istruzioni per l'uso. NESSUN RISULTATO (NO RESULT) indica che i dati raccolti sono insufficienti. Ad esempio, l'operatore ha interrotto un test in corso. - SARS-CoV-2: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) - SPC: NESSUN RISULTATO (NO RESULT) - Verifica della sonda: NA

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

16 Ripetizioni del test

16.1 Motivi per ripetere il test

Qualora dovesse presentarsi uno dei risultati elencati di seguito, ripetere il test seguendo le istruzioni riportate nella Sezione 16.2, Procedura di ripetizione del test.

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

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

16.2 Procedura di ripetizione del test

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

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

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

17 Limitazioni

- Le prestazioni del test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* sono state stabilite solo in campioni di analisi da tampone nasofaringeo e nasale anteriore. L'uso del test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* non è stato valutato con altri tipi di campioni di analisi e le relative caratteristiche prestazionali non sono note.
- Le prestazioni di questo test sono state stabilite in base alla valutazione di un numero limitato di campioni di analisi clinici. Le prestazioni cliniche non sono state stabilite per tutte le varianti in circolazione, ma si prevede che riflettano le varianti prevalenti in circolazione al momento e nel luogo della valutazione clinica. Le prestazioni al momento dell'analisi possono variare in funzione delle varianti in circolazione, ivi compresi i nuovi ceppi emergenti di SARS-CoV-2 e la loro prevalenza, che cambiano nel tempo.
- Le prestazioni di questo dispositivo non sono state valutate in una popolazione vaccinata contro il COVID-19.
- Così come accade per qualsiasi test molecolare, le mutazioni a carico delle regioni bersaglio per il test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* potrebbero influenzare il legame con i primer e/o con le sonde; di conseguenza, il virus potrebbe non essere rilevato oppure potrebbe essere rilevato in modo meno prevedibile.
- Questo test non è in grado di escludere malattie causate da altri agenti patogeni batterici o virali.
- Le prestazioni di questo test sono state convalidate solo tramite le procedure fornite nel presente foglietto illustrativo. Qualsiasi modifica apportata a queste procedure può alterare le prestazioni del test.
- Risultati errati del test potrebbero verificarsi a causa di errori di prelievo dei campioni di analisi, mancata osservanza delle procedure consigliate per il prelievo, la manipolazione e la conservazione dei campioni, errori tecnici o scambio di campioni. La rigorosa osservanza delle istruzioni del presente foglietto illustrativo è necessaria per evitare risultati erranei.
- Risultati falsi negativi possono verificarsi se il virus è presente a livelli inferiori al limite di rilevamento del test.
- I risultati negativi non escludono la possibilità di infezione da SARS-CoV-2, virus influenzali o RSV e non devono pertanto essere usati come unica base per il trattamento o per altre decisioni riguardanti la gestione dei pazienti.
- I risultati del test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* devono essere correlati all'anamnesi, ai dati epidemiologici e agli altri dati a disposizione del medico che valuta il paziente.
- L'acido nucleico virale può persistere *in vivo* indipendentemente dall'infettività del virus. Il rilevamento del o dei bersagli degli analiti non implica che il virus o i virus corrispondenti siano infettivi o siano gli agenti eziologici dei sintomi clinici.
- Questo test è stato valutato esclusivamente per l'uso con materiale derivante da campioni di analisi umani.
- Questo è un test qualitativo e non fornisce il valore quantitativo del microrganismo rilevato.
- Questo test non è stato valutato per pazienti che non esibiscono segni e sintomi di infezione delle vie respiratorie.
- Questo test non è stato valutato per il monitoraggio del trattamento dell'infezione.
- Questo test non è stato valutato per lo screening del sangue o degli emoderivati per il rilevamento della presenza di SARS-CoV-2, virus influenzali o RSV.
- L'effetto delle sostanze interferenti è stato valutato solo per le sostanze elencate nella documentazione del saggio. L'interferenza ad opera di sostanze diverse da quelle riportate può causare risultati erranei.
- I risultati di studi analitici con campioni artificiali co-infettati evidenziano una potenziale interferenza competitiva di influenza B o RSV A a basse concentrazioni (~3X LoD) quando la concentrazione dell'influenza A è, rispettivamente, >1,7e5 copie di RNA/ml o 1,7e6 copie di RNA/ml. Inoltre, esiste la possibilità di interferenza competitiva dell'influenza B a una bassa concentrazione (~3X LoD) quando la concentrazione di SARS-CoV-2 è di >1e5 copie di RNA/ml.
- La reattività crociata con i microrganismi delle vie respiratorie diversi da quelli riportati nel presente documento può causare risultati erranei.
- La recente esposizione del paziente al vaccino antinfluenzale FluMist® o ad altri vaccini antinfluenzali con virus attenuato vivo può provocare risultati positivi inaccurati.
- Zicam al 15% (p/v) può interferire con il rilevamento di bassi livelli di influenza B e RSV A.
- Poiché il test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* non è in grado di differenziare tra i bersagli genici N2, RdRP ed E, la presenza di altri coronavirus nel lignaggio B, genere *Betacoronavirus*, ivi compreso il SARS-CoV, può determinare un risultato falso positivo. Al momento nessuno di questi altri coronavirus sembra circolare nella popolazione umana.
- Questo test non è destinato alla differenziazione dei sottogruppi dell'RSV, dei sottotipi del virus dell'influenza A né dei lignaggi del virus dell'influenza B. Se è richiesta la differenziazione degli specifici sottotipi e ceppi influenzali o dell'RSV, è necessario eseguire ulteriori analisi in base alle prescrizioni delle unità sanitarie pubbliche statali o locali.
- Non sono state stabilite le prestazioni con mezzi contenenti tiocianato di guanidina (GTC) diversi da eNAT.

18 Caratteristiche prestazionali

18.1 Valutazione clinica

Le prestazioni del test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* sono state valutate utilizzando campioni clinici di archivio da tampone nasofaringeo (NF) e tampone nasale (NS) in mezzo di trasporto virale o mezzo di trasporto universale. I campioni di archivio sono stati selezionati consecutivamente in base alla data e al risultato dell'analisi precedentemente noto. Un totale di 279 campioni di analisi da tampone nasofaringeo e 239 da tampone nasale sono stati analizzati con Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* parallelamente a un test di RT-PCR a marchio CE per SARS-CoV-2 e un test RT-PCR a marchio CE per influenza/RSV con metodica randomizzata e in cieco.

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

Per i campioni di analisi da tampone NF, Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* ha dimostrato una PPA e una NPA, rispettivamente, del 100,0% e del 100,0% per SARS-CoV-2; del 100,0% e del 100,0% per l'influenza A; del 100,0% e del 100,0% per l'influenza B; del 100,0% e del 100,0% per RSV (Tabella 4). Il tasso iniziale di indeterminati del test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* è stato dell'1,4% (4/279). Alla ripetizione del test, tutti e quattro (4) i campioni di analisi hanno dato risultati validi. Il tasso finale di indeterminati del test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* è stato dello 0,0% (0/279).

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

Bersaglio	Numero di campioni di analisi	TP	FP	TN	FN	PPA (IC al 95%)	NPA (IC al 95%)
SARS-CoV-2	279	66	0	213	0	100,0% (94,5% - 100,0%)	100,0% (98,2% - 100,0%)
Influenza A	264	51	0	213	0	100,0% (93,0% - 100,0%)	100,0% (98,2% - 100,0%)
Influenza B	264	46	0	218	0	100,0% (92,3% - 100,0%)	100,0% (98,3% - 100,0%)
RSV	264	47	0	217	0	100,0% (92,4% - 100,0%)	100,0% (98,3% - 100,0%)
TP: Vero positivo; FP: Falso positivo; TN: Vero negativo; FN: Falso negativo; IC: Intervallo di confidenza							

Per i campioni di analisi NS, Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* ha dimostrato una PPA e una NPA, rispettivamente, del 100,0% e del 100,0% per SARS-CoV-2; del 100,0% e del 99,5% per l'influenza A; del 100,0% e del 100,0% per l'influenza B; del 100,0% e del 100,0% per RSV (Tabella 5). Il tasso iniziale di indeterminati del test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* è stato del 2,1% (5/240). Alla ripetizione del test, quattro (4) dei cinque (5) campioni di analisi ha dato risultati validi. Un campione di analisi non è stato testato nuovamente a causa di volume insufficiente. Il tasso finale di indeterminati del test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* è stato dello 0,4% (1/240).

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

Bersaglio	Numero di campioni di analisi	TP	FP	TN	FN	PPA (IC al 95%)	NPA (IC al 95%)
SARS-CoV-2	239	47	0	192	0	100,0% (92,4% - 100,0%)	100,0% (98,0% - 100,0%)
Influenza A	239	48	1	191	0	100,0% (92,6% - 100,0%)	99,5% (97,1% - 99,9%)
Influenza B	239	48	0	191	0	100,0% (92,6% - 100,0%)	100,0% (98,0% - 100,0%)
RSV	239	47	0	192	0	100,0% (92,4% - 100,0%)	100,0% (98,0% - 100,0%)
TP: Vero positivo; FP: Falso positivo; TN: Vero negativo; FN: Falso negativo; IC: Intervallo di confidenza							

18.2 Sensibilità analitica (limite di rilevamento)

La sensibilità analitica del test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus è stata prima stimata utilizzando due lotti di reagente, analizzando diluizioni limitanti di sette virus respiratori (NATtrol SARS-CoV-2, influenza A H1, influenza A H3, influenza B lignaggio Victoria, influenza B lignaggio Yamagata, RSV A e RSV B) in una matrice costituita da un pool di campioni clinici negativi da tampone nasofaringeo, seguendo le indicazioni riportate nel documento EP17-A2 del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). I valori di LoD stimati, come determinato con l'analisi di regressione Probit, sono stati verificati utilizzando due lotti di reagenti per Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus. I valori di LoD verificati per i virus analizzati sono riepilogati nella Tabella 6.

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

Virus/Ceppo	Concentrazione LoD
SARS-CoV-2 (USA-WA1/2020)	138 copie/ml
Influenza A/Idaho/07/2018	0,007 TCID ₅₀ /ml
Influenza A/Hong Kong/45/2019	0,44 FFU/ml
Influenza B/Washington/2/2019	12,9 CEID ₅₀ /ml
Influenza B/Wisconsin/10/2016	2,4 TCID ₅₀ /ml
RSV A/2/Australia/61	0,33 TCID ₅₀ /ml
RSV B/9320/MA/77	0,37 TCID ₅₀ /ml

18.3 Reattività analitica (inclusività)

L'inclusività di Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus è stata valutata il 27 settembre 2021 utilizzando l'analisi *in silico* degli ampliconi del saggio in relazione a 2.685.478 sequenze di SARS-CoV-2 disponibili nel database di genomi GISAID per tre bersagli: E, N2 e RdRP.

Per l'analisi del bersaglio E, 3.818 sequenze sono state escluse a causa di nucleotidi ambigui, il che ha ridotto il totale a 2.681.660 sequenze. Delle 2.681.660 sequenze GISAID, 2.667.594 (99,48%) erano una corrispondenza esatta per l'amplicone del bersaglio E di SARS-CoV-2 generato con il test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus. Per 13.990 sequenze sono state osservate mancate corrispondenze a singolo nucleotide e per 76 sequenze sono state osservate due o più mancate corrispondenze. Delle 76 sequenze con due o più mancate corrispondenze, 43 sequenze contenevano 2 o 3 mancate corrispondenze nella regione del primer forward; una sequenza conteneva 3 mancate corrispondenze nella regione del

primer reverse; una sequenza conteneva 2 mancate corrispondenze nel primer forward e 2 mancate corrispondenze nel primer reverse. Queste mancate corrispondenze doppie o triple potrebbero avere un impatto negativo sulle prestazioni del saggio.

Per l'analisi del bersaglio N2, 4.110 sequenze sono state escluse a causa di nucleotidi ambigui, il che ha ridotto il totale utilizzato nella valutazione a 2.681.368 sequenze. Delle 2.681.368 sequenze GISAID, 2.608.487 (97,3%) erano una corrispondenza esatta per l'amplicone del bersaglio N2 di SARS-CoV-2 generato con il test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus. Per 70.212 sequenze sono state osservate mancate corrispondenze a singolo nucleotide. Per 2.669 sono state osservate due o tre mancate corrispondenze. Delle 31 sequenze con tre posizioni di variante, 5 sequenze presentavano due dei nucleotidi di mancata corrispondenza nella regione della sonda, mentre 5 sequenze presentavano due dei nucleotidi di mancata corrispondenza nella regione del primer reverse. Queste doppie mancate corrispondenze potevano esercitare un impatto sul legame della sonda o del primer reverse. Si prevede che nessuna delle altre mancate corrispondenze abbia un impatto negativo sulle prestazioni del saggio.

L'RdRP viene amplificato utilizzando un set primer/sonda semi-nested; per l'analisi *in silico* viene usato solo l'amplicone interno. Per l'analisi del bersaglio RdRP, 1.374 sequenze sono state escluse a causa di nucleotidi ambigui, il che ha ridotto il totale a 2.684.104 sequenze. Delle 2.684.104 sequenze GISAID, 2.657.136 (99,0%) erano una corrispondenza esatta per l'amplicone del bersaglio RdRP di SARS-CoV-2 generato con il test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus. Per 26.864 sequenze sono state osservate mancate corrispondenze a singolo nucleotide e per 77 sequenze sono state osservate due o più mancate corrispondenze. Due sequenze presentano 5 mancate corrispondenze, tre situate nella regione della sonda e due nella regione del primer reverse, mentre 20 sequenze presentano due mancate corrispondenze nucleotidiche nella regione del primer forward o della sonda. Queste mancate corrispondenze potevano esercitare un impatto sul legame della sonda o del primer reverse. Si prevede che nessuna delle altre mancate corrispondenze abbia un impatto negativo sulle prestazioni del saggio.

Oltre all'analisi *in silico* dei primer e delle sonde SARS-CoV-2 per determinare l'inclusività, l'inclusività del test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus è stata valutata mediante test al banco rispetto a molteplici ceppi di SARS-CoV-2, influenza A H1N1 (stagionale pre-2009), influenza A H1N1 (pandemica 2009), influenza A H3N2 (stagionale), influenza aviaria A (H5N1, H5N2, H6N2, H7N2, H7N3, H2N2, H7N9 e H9N2), influenza B (ceppi rappresentativi dei lignaggi Victoria e Yamagata) e sottogruppi A e B del virus respiratorio sinciziale (RSV A e RSV B) a livelli vicini al LoD analitico. In questo studio con il test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus sono stati valutati complessivamente 84 ceppi costituiti da 5 ceppi del virus SARS-CoV-2, 4 trascritti di RNA in vitro di SARS-CoV-2 rappresentanti ceppi di varianti, 69 ceppi di virus influenzali (48 di influenza A e 21 di influenza B) e 6 ceppi di RSV (4 di RSV A e 2 di RSV B). Sono stati analizzati tre replicati per ciascun ceppo. Tutti i ceppi di SARS-CoV-2, influenza e RSV sono risultati positivi in tutti e tre i replicati. I risultati sono riportati nella Tabella 7.

Tabella 7. Reattività analitica (inclusività) del test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus

Virus	Ceppo	Titolo analizzato	SARS-CoV-2	Influenza A	Influenza B	RSV
SARS-CoV-2	NATrol SARS-CoV-2 USA-WA1/2020	412 copie/ml	POS	NEG	NEG	NEG
	SARS-CoV-2/Hong Kong/VM20001061/2020	0,5 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG	NEG
	SARS-CoV-2/Italy-INMI1	4 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG	NEG
	SARS-CoV-2/South_Africa/KRISP-K005325/2020	0,2 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG	NEG
	SARS-CoV-2/England/204820464/2020	0,5 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG	NEG
	SARS-CoV-2 RNA USA/WA2/2020(C09) ^a	100 copie/ml	POS	NEG	NEG	NEG
	SARS-CoV-2RNA/England/205041766/2020(C14) ^a	100 copie/ml	POS	NEG	NEG	NEG
	SARS-CoV-2 RNA /England/MILK-9E05B3/2020 (C15) ^a	200 copie/ml	POS	NEG	NEG	NEG

Virus	Ceppo	Titolo analizzato	SARS-CoV-2	Influenza A	Influenza B	RSV
	SARS-CoV-2 RNA /Japan (Brazil)/IC-0564/2021 (C17) ^a	100 copie/ml	POS	NEG	NEG	NEG
Influenza A H1N1 (pre-2009)	A/suina/Iowa/15/30	30 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/WS/33	5,0 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/PR/8/34	20 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Mal/302/54	0,156 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Denver/1/57	10 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/New Jersey/8/76	5,0 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/New Caledonia/20/1999	0,10 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/New York/55/2004	30 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Solomon Island/3/2006	0,0159 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Taiwan/42/06	0,0159 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Brisbane/59/2007	0,060 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/suino/NY/02/2009	20 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
Influenza A H1N1 (pdm2009)	A/Colorado/14/2012	0,13 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Michigan/45/2015	100 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Iowa/53/2015	100 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Michigan/272/2017	1,0 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Idaho/07/2018	0,0159 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Wisconsin/505/2018	0,25 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Hawaii/66/2019	100 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Indiana/02/2020	NA ^b	NEG	POS	NEG	NEG
Influenza A H3N2 (stagionale)	A/Aichi/2/68	2,0 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Hong Kong/8/68	2,0 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Port Chalmers/1/73	100 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Hawaii/15/2001	100 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Wisconsin/67/05 ^c	0,22 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Brisbane/10/2007	0,025 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Minnesota/11/2010	30 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Indiana/08/2011	0,25 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Texas/50/2012	0,050 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Alaska/232/2015	20 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016	20 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Texas/71/2017	1,0 FFU/ml	NEG	POS	NEG	NEG

Virus	Ceppo	Titolo analizzato	SARS-CoV-2	Influenza A	Influenza B	RSV
	A/Kansas/14/2017	1,0 FFU/ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Wisconsin/04/2018	1,0 FFU/ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Arizona/45/2018	2,0 FFU/ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Hong Kong/45/2019	2,0 FFU/ml	NEG	POS	NEG	NEG
Influenza aviaria A ^d	A/anatra selvatica/ NY/6750/78 (H2N2)	<1 pg/μl	NEG	POS	NEG	NEG
	A/anatra/Hunan/ 795/2002 (H5N1)	<1 pg/μl	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Vietnam/1194/ 2004 (H5N1)	<1 pg/μl	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Anhui/01/ 2005 (H5N1)	<1 pg/μl	NEG	POS	NEG	NEG
	A/occhialino giapponese/ Hong Kong/1038/2006 (H5N1)	<1 pg/μl	NEG	POS	NEG	NEG
	A/anatra selvatica/ WI/34/75 (H5N2)	<1 pg/μl	NEG	POS	NEG	NEG
	A/pollo/CA431/00 (H6N2)	<1 pg/μl	NEG	POS	NEG	NEG
	A/anatra/ LTC-10-82743 (H7N2)	<1 pg/μl	NEG	POS	NEG	NEG
	A/pollo/New Jersey/15086/3 (H7N3)	<1 pg/μl	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Anhui/1/2013 (H7N9)	0,612 ng/μl	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Shanghai/1/ 2013 (H7N9)	NA ^e	NEG	POS	NEG	NEG
	A/pollo/Korea/38349- p96323/1996 (H9N2)	<1 pg/μl	NEG	POS	NEG	NEG
Influenza B	B/Lee/40	1,0 PFU/ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Allen/45	0,25 CEID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/GL/1739/54	0,50 CEID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Maryland/1/59	1,0 CEID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Taiwan/2/62	1,0 CEID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Hong Kong/5/72	1,0 CEID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
Influenza B, lignaggio Victoria	B/Panama/45/90	1,0 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Malaysia/2506/04	0,025 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Florida/02/06	0,025 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Brisbane/60/2008	0,05 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Maryland/15/2016	0,25 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Colorado/6/2017	0,25 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Hawaii/01/2018	8,0 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG

Virus	Ceppo	Titolo analizzato	SARS-CoV-2	Influenza A	Influenza B	RSV
	B/Missouri/12/2018(NA D197E)	10 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Washington/02/2019	60 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
Influenza B, lignaggio Yamagata	B/Florida/07/2004	0,50 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Florida/04/06	0,25 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Wisconsin/01/2010	0,50 CEID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Wisconsin/10/2016	20 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Indiana/17/2017	10 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Oklahoma/10/2018	10 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
RSV A	RSV-A/NY	0,386 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	POS
	RSV-A/WI-629.8.2/2007	0,50 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	POS
	RSV-A/WI/629-11-1_2008	0,50 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	POS
	RSV-A, ceppo: 4/2015 isolato n. 1	0,25 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	POS
RSV B	RSV-B/WV14617/85	0,10 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	POS
	RSV-B-CH93(18)-18-01	0,10 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	POS

^a trascritti di RNA *in vitro*

^b Il virus A/Indiana/02/2020 era privo di titolo e ai fini del test è stato diluito 100.000 volte in una matrice di fondo simulata.

^c Uno dei tre replicati ha riportato ERRORE (ERROR). La sessione è stata in seguito ripetuta per ottenere tre replicati validi.

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

^e A causa delle norme di biosicurezza, i virus di influenza A aviaria (H7N9) inattivati privi di titolo virale sono stati diluiti 100.000 volte in matrice di fondo simulata e analizzati.

18.4 Specificità analitica (esclusività)

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

Tabella 8. Microrganismi testati nell'analisi *in silico* per il bersaglio SARS-CoV-2

Microrganismi appartenenti alla stessa famiglia genetica	Organismi con priorità elevata
Coronavirus umano 229E	Adenovirus (ad es., C1 Ad. 71)
Coronavirus umano OC43	Metapneumovirus umano (hMPV)
Coronavirus umano HKU1	Virus parainfluenzali 1-4
Coronavirus umano NL63	Influenza A
SARS-coronavirus	Influenza B
MERS-coronavirus	Influenza C
Coronavirus del pipistrello	Enterovirus (ad es., EV68)

Microrganismi appartenenti alla stessa famiglia genetica	Organismi con priorità elevata
	Virus respiratorio sinciziale
	Rhinovirus
	<i>Chlamydia pneumoniae</i>
	<i>Haemophilus influenzae</i>
	<i>Legionella pneumophila</i>
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
	<i>Streptococcus pyogenes</i>
	<i>Bordetella pertussis</i>
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
	<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)
	<i>Parvovirus</i>
	<i>Candida albicans</i>
	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>
	<i>Legionella non-pneumophila</i>
	<i>Bacillus anthracis</i> (antrace)
	<i>Moraxella catarrhalis</i>
	<i>Neisseria elongata</i> e <i>N. meningitidis</i>
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
	<i>Streptococcus salivarius</i>
	<i>Leptospira</i>
	<i>Chlamydia psittaci</i>
	<i>Coxiella burnetii</i> (febbre Q)
	<i>Staphylococcus aureus</i>

Oltre all'analisi *in silico* dei primer e delle sonde SARS-CoV-2 per determinare la reattività crociata, la specificità analitica del test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus è stata valutata mediante test al banco di un pannello di 48 microrganismi comprendenti 4 coronavirus umani, 1 coronavirus MERS e 43 agenti patogeni respiratori comuni o potenzialmente presenti nel rinofaringe. Il pannello è stato analizzato in diversi pool di microrganismi; se un pool produceva un risultato positivo, si analizzava singolarmente ciascun componente del pool. Sono stati analizzati tre replicati di ciascun pool. Un campione veniva considerato negativo se lo erano tutti e tre i replicati. I ceppi batterici e di lievito sono stati analizzati in concentrazioni di $\geq 1 \times 10^6$ CFU/ml eccettuando la *Chlamydia pneumoniae* che è stata testata a $1,2 \times 10^6$ CFU/ml e il *Lactobacillus reuteri* che è stato testato a 5×10^7 copie/ml di DNA genomico. I virus sono stati analizzati in concentrazioni di $\geq 1 \times 10^5$ TCID₅₀/ml. La specificità analitica è stata del 100%. I risultati sono riportati nella Tabella 9.

Tabella 9. Microrganismi respiratori e coronavirus umani analizzati, concentrazioni e risultati del test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus

Ceppo	Concentrazione analizzata	SARS-CoV-2	Influenza A	Influenza B	RSV
Controllo negativo	NA	NEG	NEG	NEG	NEG
Controllo positivo	NA	POS	POS	POS	POS
Coronavirus umano NL63	1,17e5 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	NEG
MERS-coronavirus	1,17e5 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	NEG
Coronavirus umano 229E	1,21e5 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	NEG
Coronavirus umano OC43	1,02e5 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	NEG
Coronavirus umano HKU1	1,23e6 copie/ml	NEG	NEG	NEG	NEG
Adenovirus tipo 1	4,07e5 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	NEG
Adenovirus tipo 7	1,14e5 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	NEG
Cytomegalovirus	1,0e5 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	NEG
Echovirus	1,14e5 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	NEG
Enterovirus	2,80e5 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	NEG
Virus di Epstein-Barr	5,60e6 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	NEG
HSV	1,97e5 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	NEG
Metapneumovirus umano	4,07e5 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	NEG
Virus parainfluenzale umano tipo 1	1,0e5 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	NEG
Virus parainfluenzale umano tipo 2	1,2e5 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	NEG
Virus parainfluenzale umano tipo 3	1,2e5 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	NEG
Virus parainfluenzale umano tipo 4	1,19e6 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	NEG
Virus del morbillo	1,2e5 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	NEG
Virus della parotite	1,2e5 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	NEG
Rinovirus tipo 1A	1,0e5 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	NEG
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1,30e7 CFU/ml	NEG	NEG	NEG	NEG
<i>Bordetella pertussis</i>	6,40e7 CFU/ml	NEG	NEG	NEG	NEG
<i>Burkholderia cepacia</i>	1,90e8 CFU/ml	NEG	NEG	NEG	NEG
<i>Candida albicans</i>	6,30e6 CFU/ml	NEG	NEG	NEG	NEG
<i>Candida parapsilosis</i>	1,45e6 CFU/ml	NEG	NEG	NEG	NEG
<i>Citrobacter freundii</i>	1,73e8 CFU/ml	NEG	NEG	NEG	NEG
<i>Corynebacterium sp.</i>	1,27e7 CFU/ml	NEG	NEG	NEG	NEG
<i>Enterococcus faecalis</i>	5,87e7 CFU/ml	NEG	NEG	NEG	NEG
<i>Escherichia coli</i>	1,55e8 CFU/ml	NEG	NEG	NEG	NEG

Ceppo	Concentrazione analizzata	SARS-CoV-2	Influenza A	Influenza B	RSV
<i>Haemophilus influenzae</i>	6,62e6 CFU/ml	NEG	NEG	NEG	NEG
<i>Lactobacillus reuteri</i>	5,0e7 copie/ml	NEG	NEG	NEG	NEG
<i>Legionella spp.</i>	1,42e8 CFU/ml	NEG	NEG	NEG	NEG
<i>Moraxella catarrhalis</i>	2,46e6 CFU/ml	NEG	NEG	NEG	NEG
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	2,7e6 CFU/ml	NEG	NEG	NEG	NEG
<i>Neisseria meningitidis</i>	4,2e6 CFU/ml	NEG	NEG	NEG	NEG
<i>Neisseria mucosa</i>	1,0e8 CFU/ml	NEG	NEG	NEG	NEG
<i>Propionibacterium acnes</i>	8,25e7 CFU/ml	NEG	NEG	NEG	NEG
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,05e7 CFU/ml	NEG	NEG	NEG	NEG
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	2,66e6 CFU/ml	NEG	NEG	NEG	NEG
<i>Staphylococcus aureus</i>	5,87e7 CFU/ml	NEG	NEG	NEG	NEG
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2,47e7 CFU/ml	NEG	NEG	NEG	NEG
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1,75e7 CFU/ml	NEG	NEG	NEG	NEG
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2,26e7 CFU/ml	NEG	NEG	NEG	NEG
<i>Streptococcus pyogenes</i>	9,0e6 CFU/ml	NEG	NEG	NEG	NEG
<i>Streptococcus salivarius</i>	4,19e6 CFU/ml	NEG	NEG	NEG	NEG
<i>Streptococcus sanguinis</i>	8,67e6 CFU/ml	NEG	NEG	NEG	NEG
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1,20e6 CFU/ml	NEG	NEG	NEG	NEG
<i>Mycobacterium tuberculosis (non virulento)</i>	1,20e6 CFU/ml	NEG	NEG	NEG	NEG

18.5 Interferenza microbica

L'interferenza microbica del test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus, causata dalla presenza di ceppi batterici o virali che si possono incontrare in campioni di analisi delle alte vie respiratorie umane, è stata valutata analizzando un pannello di 10 microrganismi commensali, costituito da 7 ceppi virali e 3 ceppi batterici. I campioni artificiali consistevano di virus SARS-CoV-2, influenza A, influenza B, RSV A o RSV B seminati a 3x il limite di rilevamento (LoD) in matrice simulata di tampone nasofaringeo (NPS)/tampone nasale (NS), in presenza di adenovirus tipo 1C, coronavirus umano OC43, rinovirus tipo 1A, metapneumovirus umano, virus parainfluenzale umano tipi 1, 2 e 3 (ciascuno seminato a 1×10^5 unità/ml), *Haemophilus influenzae* (seminato a 1×10^6 CFU/ml), *Staphylococcus aureus* o *Staphylococcus epidermidis* (ciascuno seminato a 1×10^7 CFU/ml).

Per ciascun virus bersaglio (SARS-CoV-2, Flu A, Flu B, RSV A o RSV B) sono stati analizzati replicati di 8 campioni positivi e ciascuna combinazione di ceppi microbici potenzialmente interferenti. Per ciascun bersaglio, tutti gli 8 campioni replicati sono stati correttamente identificati dal test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus. Non è stata segnalata alcuna interferenza da parte di ceppi commensali virali o batterici.

18.6 Interferenza competitiva

È stata valutata l'interferenza competitiva di Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus provocata da infezioni concomitanti, analizzando campioni artificiali di singoli ceppi di SARS-CoV-2, influenza A, influenza B o RSV a 3X LoD in presenza di differenti ceppi bersaglio in concentrazione maggiore, in una matrice di fondo simulata. La concentrazione a 3X LoD era di 414 copie/ml per SARS-CoV-2 (USA-WA1/2020 inattivato); 0,021 TCID₅₀/ml per Flu A/Idaho/072018, 38,7 CEID₅₀/ml per Flu B/Washington/2/2019; 0,99 TCID₅₀/ml per RSV A/2/Australia/61 e 1,11 TCID₅₀/ml per RSV B/9320/MA/77. I ceppi competitivi sono stati valutati come pari o superiori a 10⁴ unità di misura del titolo (copie/ml, TCID₅₀/ml, CEID₅₀/ml o PFU/ml). La concentrazione corrispondente di RNA (copie/ml) per i ceppi di influenza e RSV è stata determinata tramite ddPCR (droplet digital PCR). Sono stati analizzati replicati di 3 per ciascun ceppo bersaglio e per ciascuna combinazione di ceppi competitivi. Il virus ad alta concentrazione non evidenzia alcun effetto inibitore competitivo se 3 di 3 replicati del ceppo bersaglio riportano risultati positivi. Se il risultato riportava meno di 3 replicati positivi su 3, la concentrazione del virus concorrente veniva ridotta di incrementi 10 volte maggiori fino all'osservazione di nessuna interferenza. Di seguito è riportato un riepilogo dei risultati:

Tabella 10. Riepilogo dello studio di interferenza competitiva con influenza A ad alta concentrazione

Virus analizzati a 3X LoD	Virus interferente	Rilevazioni corrette (n/3)			
		a 1,7e8 copie di RNA/ml	a 1,7e7 copie di RNA/ml	a 1,7e6 copie di RNA/ml	a 1,7e5 copie di RNA/ml
Influenza B	Influenza A	0/3	0/3	2/3	3/3
RSV A		0/3	0/3	3/3	Non analizzato
RSV B		3/3	Non analizzato	Non analizzato	Non analizzato
SARS-CoV-2		3/3	Non analizzato	Non analizzato	Non analizzato

Tabella 11. Riepilogo dello studio di interferenza competitiva con influenza B ad alta concentrazione

Virus analizzati a 3X LoD	Virus interferente	Rilevazioni corrette (n/3) a 1,4e5 copie di RNA/ml
Influenza A	Influenza B	3/3
RSV A		3/3
RSV B		3/3
SARS-CoV-2		3/3

Tabella 12. Riepilogo dello studio di interferenza competitiva con RSV A ad alta concentrazione

Virus analizzati a 3X LoD	Virus interferente	Rilevazioni corrette (n/3) a 4,6e6 copie di RNA/ml
Influenza A	RSV A	3/3
Influenza B		3/3
SARS-CoV-2		3/3

Tabella 13. Riepilogo dello studio di interferenza competitiva con RSV B ad alta concentrazione

Virus analizzati a 3X LoD	Virus interferente	Rilevazioni corrette (n/3) a 1,9e5 copie di RNA/ml
Influenza A	RSV B	3/3
Influenza B		3/3
SARS-CoV-2		3/3

Tabella 14. Riepilogo dello studio di interferenza competitiva con SARS-CoV-2 ad alta concentrazione

Virus analizzati a 3X LoD	Virus interferente	Rilevazioni corrette (n/3)	
		a 1e6 copie di RNA/ml	a 1,e5 copie di RNA/ml
Influenza A	SARS-CoV-2	3/3	Non analizzato
Influenza B		1/3	3/3
RSV A		3/3	Non analizzato
RSV B		3/3	Non analizzato

Lo studio ha evidenziato che Flu A/Idaho/07/2018 in concentrazioni al di sopra di 1,7e5 copie di RNA/ml ha inibito il rilevamento dell'influenza B a 3X LoD e in concentrazioni al di sopra di 1,7e6 copie di RNA/ml ha inibito il rilevamento di RSV A a 3X LoD (Tabella 10). Inoltre, SARS-CoV-2 a concentrazioni al di sopra di 1e5 copie di RNA/ml ha inibito il rilevamento dell'influenza B a 3X LoD (Tabella 14). Nello studio non sono state osservate altre interferenze competitive per le potenziali infezioni concomitanti alle concentrazioni analizzate.

18.7 Sostanze potenzialmente interferenti

Le sostanze che potrebbero essere presenti nel tratto nasofaringeo (o esservi introdotte durante il prelievo e la manipolazione dei campioni di analisi) e potenzialmente interferire con l'accurata identificazione di SARS-CoV-2, Flu A, Flu B e RSV sono state valutate mediante analisi diretta con Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus.

Le sostanze potenzialmente interferenti nel tratto nasale e nasofaringeo possono includere, tra le altre: sangue, muco o secrezioni nasali e farmaci per naso e gola utilizzati per alleviare congestione, secchezza nasale, irritazione o sintomi di asma e allergia, come pure antibiotici e antivirali. I campioni positivi e negativi sono stati preparati in una matrice simulata di tampone nasofaringeo (NPS)/tampone nasale (NS). I campioni negativi (N = 8) sono stati analizzati in presenza di ciascuna sostanza per determinare l'effetto sulle prestazioni del controllo per il trattamento dei campioni (SPC). I campioni positivi (N = 8) sono stati analizzati per ogni sostanza con i virus inoculati a 3X il LoD determinato per ciascun ceppo. I campioni risultati positivi con Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus includevano un ceppo SARS-CoV-2, uno di influenza A H1N1, uno di influenza A H3N2, uno di influenza B e due di RSV (RSV A e RSV B). I controlli erano campioni con virus inoculati a 3X LoD in matrice NPS/NS simulata non contenente alcuna sostanza potenzialmente interferente. Nella Tabella 15 sono elencate le sostanze valutate, con i relativi principi attivi.

Tabella 15. Sostanze potenzialmente interferenti analizzate

ID sostanza	Sostanza/Classe	Sostanza/principio attivo
Salbutamolo solfato	Broncodilatatore beta-adrenergico	Salbutamolo solfato (5 mg/ml)
Anefrina	Spray nasale	Ossimetazolina, 0,05%
Terreno di trasporto universale BD	Mezzo di trasporto	Terreno di trasporto universale BD
Copan 3U045N.PH (tampone Cepheid/M)	Mezzo di trasporto	Copan 3U045N.PH (tampone Cepheid/M)
Sangue	Sangue	Sangue (umano)

ID sostanza	Sostanza/Classe	Sostanza/principio attivo
Fluticasone propionato spray nasale	Corticosteroide nasale	Fluticasone propionato
Mentolo	Pasticche per la gola, analgesico e anestetico orale	Benzocaina, mentolo
Mucina	Mucina	Proteina mucina purificata (ghiandola sottomandibolare bovina o suina)
Mupirocina	Unguento nasale antibiotico	Mupirocina (20 mg/g=2%)
PHNY	Gocce nasali	Fenilefrina, 1%
Soluzione fisiologica	Spray nasale salino	Cloruro di sodio (0,65%)
Remel M4RT	Mezzo di trasporto	Remel M4RT
Remel M5	Mezzo di trasporto	Remel M5
Tamiflu	Farmaci antivirali	Zanamivir
Tobramicina	Antibatterico sistemico	Tobramicina
Zicam	Gel nasale	Luffa operculata, Galphimia glauca, Histaminum hydrochloricum, Sulfur (0,05%)
Zinco	Integratore di zinco	Zinco gluconato

I risultati dello studio (Tabella 16) mostrano che, nella maggior parte dei casi, 8 di 8 replicati hanno riportato risultati positivi per ciascuna combinazione di virus e sostanza analizzata e non sono state osservate interferenze. Quando Zicam è stato inizialmente analizzato al 15% p/v, è stata osservata interferenza nell'identificazione di influenza B e RSV A. Tuttavia, analizzando Zicam al 7,5% p/v, non è stata osservata alcuna interferenza.

Tabella 16. Valori Ct medi per bersagli di Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus analizzati in presenza di sostanze potenzialmente interferenti

Sostanza	Concentrazione analizzata	Numero di risultati corretti/numero di analizzati					
		SARS-CoV-2/USA-WA-1	Influenza A/Idaho/07/2018	H3N2 Flu A/Hong Kong/45/2019	Flu B/Washington/02/2019	RSV A/2/Australia/61	RSV B/9320/MA/77
Matrice NPS/NS simulata di controllo (nessuna sostanza)	100% (v/v)	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Anefrina	15% (v/v)	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Salbutamolo solfato	0,83 mg/ml	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Terreno di trasporto universale BD	N/A	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Sangue	2% (v/v)	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Tampone Copan M	N/A	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Fluticasone propionato spray nasale	5 µg/ml	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8

Sostanza	Concentrazione analizzata	Numero di risultati corretti/numero di analizzati					
		SARS-CoV-2/ USA-WA-1	Influenza A/Idaho/07/2018	H3N2 Flu A/ Hong Kong/ 45/2019	Flu B/ Washington /02/2019	RSV A/2/ Australia/61	RSV B/9320/ MA/77
Mentolo	1,7 mg/ml	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Mucina	0,1% (p/v)	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Mupirocina	10 mg/ml	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
PHNY	15% (v/v)	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Remel M4RT	N/A	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Remel M5	N/A	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Soluzione fisiologica	15% (v/v)	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Tamiflu	7,5 mg/ml	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Tobramicina	4 µg/ml	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Zicam	15% (p/v)	8/8	8/8	8/8	5/8 ^a	7/8 ^b	8/8
Zinco	0,1 µg/ml	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8

^a Con Zicam al 15% (p/v) è stata osservata una differenza statisticamente significativa tra il Ct medio del controllo e il Ct medio del test. L'analisi è stata ripetuta con Zicam al 7,5% (p/v) e non è stata osservata una differenza clinicamente significativa tra il Ct medio Flu B del controllo e il Ct medio Flu B del test.

^b Con Zicam al 15% (p/v) è stata osservata una differenza statisticamente significativa tra il Ct medio del controllo e il Ct medio del test. L'analisi è stata ripetuta con Zicam al 7,5% (p/v) e non è stata osservata una differenza statisticamente significativa tra il Ct medio RSV A del controllo e il Ct medio RSV A del test.

18.8 Contaminazione da carry-over

È stato condotto uno studio per valutare se la cartuccia monouso Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus isolata ermeticamente nel contenuto previene il carry-over del campione di analisi e dell'amplicone, analizzando un campione negativo immediatamente dopo aver analizzato un campione altamente positivo nello stesso modulo GeneXpert. Il campione negativo utilizzato in questo studio consisteva in matrice NPS/NS simulata, mentre il campione positivo consisteva in concentrazioni elevate di virus influenzale B e virus SARS-CoV-2 (Flu B/Wisconsin/10/2016 a 1,0e6 TCID₅₀/ml e SARS-CoV-2 USA-WA1/2020 inattivato a 1e4 copie/ml) seminati in matrice NPS/NS negativa. Il campione negativo era stato analizzato in un modulo GeneXpert all'inizio dello studio. Dopo il test iniziale del campione negativo, il campione altamente positivo è stato trattato nello stesso modulo GeneXpert, seguito immediatamente da un altro campione negativo. Questa operazione è stata ripetuta per 20 volte nello stesso modulo e ne sono risultati 20 positivi e 21 negativi per il modulo. Lo studio è stato ripetuto utilizzando un secondo modulo GeneXpert per un totale di 40 campioni positivi e 42 negativi. Tutti i 40 campioni positivi sono stati correttamente refertati come **SARS-CoV-2 POSITIVO (SARS-CoV-2 POSITIVE); Flu A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE); Flu B POSITIVO (Flu B POSITIVE); RSV NEGATIVO (RSV NEGATIVE)**. Tutti i 42 campioni negativi sono stati correttamente refertati come **SARS-CoV-2 NEGATIVO (SARS-CoV-2 NEGATIVE); Flu A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE); Flu B NEGATIVO (Flu B NEGATIVE); RSV NEGATIVO (RSV NEGATIVE)** con il test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus. In questo studio non è stata osservata alcuna contaminazione da carry-over del campione di analisi o dell'amplicone.

18.9 Riproducibilità

La riproducibilità del test Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus è stata stabilita in tre centri utilizzando un pannello di 9 componenti comprendente un campione negativo, quattro campioni a bassa positività (~1,5x LoD) e quattro campioni a positività moderata (~3x LoD). Il campione negativo era costituito da una matrice simulata senza microrganismo bersaglio o RNA bersaglio. I campioni positivi erano campioni artificiali in matrice simulata utilizzando NATrol SARS-CoV-2 (ZeptoMetrix) inattivato, virus in coltura di Influenza A/Idaho/07/2018, Influenza B/Wisconsin/10/2016 e RSV B/Wash/18537/62.

L'analisi è stata condotta in sei (6) giorni, utilizzando tre (3) lotti di cartucce Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus presso tre (3) centri partecipanti, ciascuno con due (2) operatori, per produrre un totale di 144 osservazioni per componente del pannello (3 centri x 2 operatori x 3 lotti x 2 giorni/lotto x 2 sessioni x 2 replicati = 144 osservazioni/componente del pannello). I risultati dello studio sono riepilogati nella Tabella 17.

Tabella 17. Riepilogo dei risultati di riproducibilità - Percentuale di concordanza

Campione	Centro 1			Centro 2			Centro 3			% concordanza totale [IC al 95%]
	Op 1	Op 2	Centro	Op 1	Op 2	Centro	Op 1	Op 2	Centro	
Negativi	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% (144/144) [97,4-100,0]
SARS-CoV-2 Pos. basso	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% (144/144) [97,4-100,0]
SARS-CoV-2 Pos. moder	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% (144/144) [97,4-100,0]
Influenza A Pos. basso	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% (144/144) [97,4-100,0]
Influenza A Pos. moder	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% (144/144) [97,4-100,0]
Influenza B Pos. basso	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	95,8% 23/24	95,8% 23/24	95,8% 46/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	98,6% (142/144) [95,1-99,6]
Influenza B Pos. moder	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% 23/23	95,8% 23/24	97,9% 46/47	99,3% (142/143) [96,1-99,9]
RSV Pos. basso	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	95,8% 23/24	100% 24/24	97,9% 47/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	99,3% (143/144) [96,2-99,9]
RSV Pos. moder	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% (144/144) [97,4-100,0]

19 Riferimenti bibliografici

1. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/index.html>. Consultazione: 9 febbraio 2020.
2. bioRxiv. (<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.02.07.937862v1>). Consultazione: 3 marzo 2020.
3. Petric M, Comanor L, Petti CA. Role of the laboratory in diagnosis of influenza during seasonal epidemics and potential pandemics. *J Infect Dis.* 2006;194:S98-110.
4. Schweiger B, Zadow I, Heckler R, et al. Application of a fluorogenic PCR assay for typing and subtyping of influenza viruses in respiratory samples. *J Clin Micro.* 2000;38:1552-1558.
5. <http://www.cdc.gov/flu/about/viruses/types.htm>. Consultazione: 19 maggio 2016.
6. <http://www.cdc.gov/RSV/index.html>. Consultazione: 14 marzo 2013.
7. Acero-Bedoya, S., Wozniak, P. S., Sánchez, P. J., Ramilo, O., & Mejias, A. (2019). Recent trends in RSV immunoprophylaxis: clinical implications for the infant. *American journal of perinatology*, 36(S 02), S63-S67.
8. Solomon, D. A., Sherman, A. C., & Kanjilal, S. (2020). Influenza in the COVID-19 Era. *Jama*, 324(13), 1342-1343.
9. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (fare riferimento all'ultima edizione). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (fare riferimento all'ultima edizione).
11. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006
12. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

20 Ubicazione delle sedi centrali Cepheid

Sede centrale globale

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefono: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Sede centrale europea

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telefono: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

21 Assistenza Tecnica

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

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

USA

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 Supporto Tecnico di Cepheid sono disponibili nel sito www.cepheid.com/en_US/support/contact-us.

22 Tabella dei simboli

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



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



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

