

# Xpert<sup>®</sup> GBS

**REF** GXGBS-100N-10

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

This product is licensed under US Patent Nos. 5,582,989 and 5,851,767 and corresponding claims of any non-US counterpart(s) thereof.

The purchase of this product includes a limited, non-transferable license under U.S. Patents Nos. 6,787,338; 6,503,720 and 6,303,305, and claims 9, 10, 11, 56, 76, 80 and 107 of U.S. Patent No. 6,174,670, and corresponding claims in patents and patent applications outside the United States, owned by the University of Utah Research Foundation and licensed to Idaho Technology, Inc., to use only this amount of product and only in an instrument marketed, distributed, sold, leased or otherwise transferred using a Cepheid trademark. No right is conveyed, expressly, by implication or estoppel, under any other patent or patent claims owned by the University of Utah Research Foundation or Idaho Technology, Inc. Without limiting the foregoing, no right, title or license is herein granted with respect to the uses that are proprietary to Idaho Technology or the University of Utah Research Foundation of fluorescence double stranded nucleic acid binding dyes, specifically including but not limited to SYBR® Green I, LCGreen® I, or LCGreen® Plus.

This product is sold under license from Molecular Probes, Inc.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT ALLOWS THE PURCHASER TO USE IT FOR THE PERFORMANCE OF DIAGNOSTIC SERVICES FOR HUMAN IN VITRO DIAGNOSTICS. NO GENERAL PATENT OR OTHER LICENSE OF ANY KIND OTHER THAN THIS SPECIFIC RIGHT OF USE FROM PURCHASE IS GRANTED HEREBY.

NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL TO ANY OTHER PATENTS. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.



Cepheid  
904 CARIBBEAN DRIVE  
SUNNYVALE, CA 94089-1189  
TEL: +1.408.541.4191  
FAX: +1.408.541.4192  
TECHNICAL SUPPORT TOLL-FREE: +1.888.838.3222



Cepheid Europe  
VIRA-SOLELH  
81470 MAURENS-SCOPONT - FRANCE  
TEL: +33.5.63.82.53.00  
FAX: +33.5.63.82.53.01  
TECHNICAL SUPPORT: +33.5.63.82.53.19

# English

---

*In Vitro* Diagnostic Medical Device

## Proprietary Name

Xpert® GBS

## Common or Usual Name

Xpert GBS Assay

## Intended Use

The Cepheid Xpert GBS performed on the GeneXpert® Dx System is a qualitative in vitro diagnostic test designed to detect Group B Streptococcus (GBS) DNA from vaginal/rectal swab specimens, using fully automated real-time polymerase chain reaction (PCR) with fluorogenic detection of the amplified DNA. Xpert GBS Assay testing is indicated for rapid identification of antepartum and intrapartum GBS colonization.

- The use of the Xpert GBS for intrapartum screening should not preclude the use of other strategies (e.g., antepartum testing). Intrapartum Xpert GBS results are useful to identify candidates for intrapartum antibiotic prophylaxis when administration of intravenous antibiotics is not delayed pending results.
- The Xpert GBS assay does not provide susceptibility results. Culture isolates are needed for performing susceptibility testing as recommended for penicillin-allergic women.

## Summary and Explanation

GBS bacterial infection is associated with serious illness in newborns born to women who are colonized with the microorganism. Transmission of GBS occurs from GBS-colonized women to their newborn before birth (antepartum) or during birth (intrapartum). In the United States, GBS infection is the major cause of death in newborns who develop sepsis, pneumonia, or meningitis.<sup>1,2,3</sup>

Currently, the standard of care for preventing neonatal GBS disease is screening pregnant women at 35–37 weeks of gestation to determine their GBS colonization status.<sup>2</sup> Most antepartum GBS testing is performed by culture and typically takes two to three days to finalize results. This timing might be adequate for obtaining antepartum GBS culture results for the majority of women; however, some women may not have GBS results available at the onset of labor. The Xpert GBS developed by Cepheid for detecting GBS directly from vaginal/rectal swab specimens takes about 50 minutes or less after testing is initiated.

When GBS status is unknown at the time of labor, the risk-based approach is less effective in identifying colonized mothers than antepartum screening, and susceptibility testing for penicillin allergic women is not possible. For women who have had no prenatal care, or who might deliver preterm, or whose GBS test results are unknown at the time of delivery, intrapartum testing can provide results in time to administer antibiotics before delivery, if required. Xpert GBS testing can be done 24 hours a day, 7 days a week and can be conveniently performed. The potential impact to intrapartum testing is decreased use of unnecessary antibiotics in women not otherwise indicated for prophylaxis, while providing adequate treatment of GBS-colonized women with the resulting decreased risk of neonatal sepsis or meningitis.<sup>5</sup> Effective intrapartum GBS testing for pregnant women who come to labor and delivery without a known GBS status requires prompt specimen collection and capability of providing results quickly enough to initiate recommended duration of antibiotic prophylaxis prior to delivery.

## Principle of the Procedure

The GeneXpert Dx System automates and integrates sample lysis, nucleic acid purification and amplification, and detection of the target sequence in complex samples using real-time and reverse transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR). The system consists of an instrument, personal computer, and preloaded software for running tests on collected samples and viewing the results. The system requires the use of single-use disposable GeneXpert cartridges that hold the PCR reagents and host the PCR process. Because the cartridges are self-contained, cross-contamination concerns are minimized. For a full description of the system, see the *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

The Xpert GBS Assay includes reagents for the simultaneous detection of the target GBS DNA, a sample-processing control (SPC) to monitor processing conditions, and an internal control (IC) to monitor PCR conditions and the absence of reaction inhibition. The probe check feature verifies reagent rehydration, PCR-tube filling in the cartridge, probe integrity, and dye stability. The GBS primers and probe detect a target within a 3' DNA region adjacent to the *cfb* gene of *S. agalactiae*.

After collecting and transporting a swab sample to the GeneXpert testing area, the swab is inserted into the Xpert GBS cartridge. The GeneXpert Dx System performs sample preparation by eluting the specimen material from the swab, mixing the sample reagent with

the SPC (*Bacillus globigii* in the form of a bead within the cartridge) and treatment reagent, capturing cellular material on a filter, lysing the cells, and eluting the DNA. The DNA solution is then mixed with dry PCR reagents and transferred into the integrated reaction tube for real-time PCR and detection. The results are interpolated by the GeneXpert Dx System from measured fluorescent signals and embedded calculation algorithms. Results may be viewed and may be printed. The test process takes approximately 50 minutes or less.

## Reagents and Instruments



### Material Provided

The Xpert GBS kit (GXGBS-100N-10) contains sufficient reagents to process 10 patient or quality-control specimens.

The kit contains the following:

<b>Xpert GBS Assay Cartridges with integrated reaction tubes</b>	<b>10</b>
<b>Bead 1 (freeze-dried)</b>	<b>1 per cartridge</b>
Polymerase/inhibitor complex	
BSA (bovine serum albumin)	
<b>Bead 2 (freeze-dried)</b>	<b>1 per cartridge</b>
Primers	
Probes	
dNTPs	
Internal control DNA (IC)	
BSA (bovine serum albumin)	
<b>Bead 3 (freeze-dried)</b>	<b>1 per cartridge</b>
Sample Processing Control (SPC) (~2000 <i>B. globigii</i> spores) preparation control spores	
<b>Reagent 1 (Tris Buffer, EDTA, surfactants)</b>	<b>3.0 mL per cartridge</b>
<b>Reagent 2 (Sodium Hydroxide)</b>	<b>3.0 mL per cartridge</b>
<b>CD</b>	<b>1 per kit</b>
Assay Definition File (ADF)	
Instructions to import ADF into GX software	
Package Insert	

### Note:

- Material Safety Data Sheets (MSDS) for all reagents provided with this assay are available upon request from Cepheid Technical Support, and are available on Cepheid's websites ([www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) and [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com)).
- The bovine serum albumin (BSA) in this product was produced exclusively from bovine plasma sourced in the United States. The manufacturing of the BSA is also performed in the United States. No ruminant protein or other animal protein was fed to the animals; the animals passed ante- and post-mortem testing. During processing, there was no commingling of the material with other animal materials.



### Storage and Handling

- Store the Xpert GBS kit at 2-28° C.
- Do not use reagents or cartridges that have passed the expiration date.



### Materials Required but Not Provided

- GeneXpert Dx System (catalog number varies by configuration): GeneXpert instrument, computer, barcode wand reader, and Operator Manual
- Printer (See *GeneXpert Dx System Operator Manual* for compatibility guidelines)
- Cepheid Collection Device (part number 900-0370)
- Disposable, sterile transfer pipette (for retest only)

## Materials Available but Not Provided

- KWIK-STIK™ (MicroBioLogics, cat. no. 8164: one each of Streptococcus species (Group B) low-level positive control, moderate-level positive control, high-level positive control and *L. acidophilus* as a negative control)

## Warnings and Precautions



- Treat all biological specimens, including used cartridges, as if capable of transmitting infectious agents. Because it is often impossible to know which might be infectious, all biological specimens should be treated with universal precautions. Guidelines for specimen handling are available from the U.S. Center for Disease Control and Prevention<sup>6</sup> and the Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards).<sup>7</sup>

- Follow your institution's safety procedures for working with chemicals and handling biological samples.
- The Xpert GBS Assay does not provide susceptibility results. Culture isolates are needed for performing susceptibility testing as recommended for penicillin-allergic women.
- Do not open the Xpert GBS cartridge lid except when adding the sample.
- Do not load a cartridge that has been dropped or shaken after you have added the sample.
- Do not open used cartridges except for retest and then only to remove eluted sample from the S chamber with a pipet.



- Each single-use Xpert GBS cartridge is used to process one test. Do not reuse spent cartridges.
- Consult your institution's environmental waste personnel on proper disposal of used cartridges and unused reagents. This material may exhibit characteristics of federal EPA Resource Conservation and Recovery Act (RCRA) hazardous waste requiring specific disposal requirements. Check state and local regulations as they may differ from federal disposal regulations. Institutions outside the USA should check their country hazardous waste disposal requirements.



- Store the Xpert GBS kit at 2–28° C



- Reagent 2 contains sodium hydroxide (pH > 12.5); (R34 EU Risk) which is corrosive to eyes and skin requiring eye and skin protection.



## Specimen Collection and Transport

To obtain adequate specimen, follow the instructions in this section closely.

Using the Cepheid Collection Device, collect specimens according to CDC recommendations.<sup>2</sup> The following procedure should be used:

1. Wipe away excessive amounts of secretion or discharge.
2. Remove both marked swabs from the transport container.
3. Carefully insert both marked swabs into the patient's vagina. Sample secretions from the mucosa of the lower one-third part of the vagina. Rotate the swabs three times to ensure uniform sample on both swabs.
4. Using the same marked swabs, carefully insert both swabs approximately 2.5 cm beyond the anal sphincter, and gently rotate to sample anal crypts.
5. Place both marked swabs in the transport container.
6. If the specimens will be processed within 24 hours, store at room temperature. If the specimens will be tested after 24 hours, refrigerate until testing is performed. Specimens stored at 2–8° C are stable for up to six days.

## Procedure

### Preparing the Cartridge

**Important:** Start the test within 15 minutes of adding the sample to the cartridge.

**Note:** Only one swab is required. The second swab is extra and can be used for susceptibility testing. Culture isolates are needed for performing susceptibility testing as recommended for penicillin-allergic women. Do not add 2 swabs to any one cartridge

To add the sample into the cartridge (Xpert GBS):

1. Remove the cartridge from the package.
2. Open the cartridge lid.
3. Remove the marked swabs from the container. Gently brush the two swabs together using a twirling motion so that equal amount of sample is on each swab.

4. Insert one of the swabs into the Xpert GBS cartridge chamber S.
  - Do not insert both swabs into the cartridge.
  - Return the second swab into the collection/transport tube for subsequent antimicrobial susceptibility testing by the microbiology laboratory for GBS positive patients. Culture isolates are needed for performing susceptibility testing as recommended for penicillin-allergic women.
5. Raise the swab so that the score mark is centered in the notch.
6. Break the swab by snapping the shaft to the right.
7. Close the cartridge lid.



**Figure 1.** Xpert GBS cartridge (top view)

### Starting the Test

This section lists the basic steps of running the test. For detailed instructions, see the *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

1. Turn on the GeneXpert Dx instrument and then turn on the computer, the GeneXpert software will launch automatically.
2. Log on to the GeneXpert Dx System software using your user name and password.
3. In the GeneXpert Dx System window, click **Create Test**. The Scan Cartridge Barcode dialog box appears.
4. Scan the barcode on the Xpert GBS cartridge. The Create Test window appears. Using the barcode information, the software automatically fills the boxes for the following fields: Select Assay, Reagent Lot ID, Cartridge SN, and Expiration Date.
5. In the **Sample ID** box, scan or type the sample ID. Make sure you type the correct sample ID. The sample ID is associated with the test results and is shown in the **View Results** window and all the reports.
6. Click **Start Test**. In the dialog box that appears, type your password.
7. Open the instrument module door with the blinking green light and load the cartridge.
8. Close the door. The test starts and the green light stops blinking. When the test is finished, the light turns off.
9. Wait until the system releases the door lock before opening the module door and removing the cartridge.
10. If absolutely necessary, the sample eluate can be retrieved from the cartridge chamber marked “S” with a transfer pipette. This eluate can be used as a back-up to the paired second swab taken from the patient for susceptibility testing by the microbiology laboratory. Culturing from Xpert GBS Reagent 1 has not been validated. Laboratories must validate their own culturing procedures or use the second swab collected to perform culture-based identification and susceptibility testing.
11. The used cartridges should be disposed in the appropriate specimen waste containers according to your institution’s standard practices.

### Viewing and Printing Results

For detailed instructions on how to view and print the results, see the *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

**CONTROL** **Quality Control**

Each test includes the following internal controls and a probe check.

- **Sample processing control (SPC)**—Ensures the sample was correctly processed. The SPC is *B. globigii* in the form of a dry bead and is included in each cartridge. The SPC monitors the lysis and elution processing. The SPC should pass—generate a valid cycle threshold (Ct) in a negative sample—and may not amplify in a high-positive sample. The SPC passes if it meets the assigned acceptance criteria.
- **Internal control (IC)**—Verifies functional PCR reagents and the absence of inhibition that would prevent PCR amplification. The IC should pass—generate a valid Ct in a negative sample—and may not amplify in a high-positive sample. The IC passes if it meets the assigned acceptance criteria.
- **Probe check**—Before the start of the PCR reaction, the GeneXpert Dx System measures the fluorescence signal from the probes to monitor bead rehydration, reaction-tube filling, probe integrity and dye stability. Probe Check passes if it meets the assigned acceptance criteria.
- **External controls**—KWIK-STIK™ (MicroBioLogics, catalog no. 8164) may be used for training, proficiency testing and external QC of the GeneXpert Dx System. External controls may be used in accordance with local, state, federal accrediting organizations, as applicable. Follow the MicroBioLogics external control procedure described below.
  1. Tear open pouch at notch and remove the KWIK-STIK.
  2. Pinch the bottom of the ampoule in the cap to release the hydrating fluid.
  3. Hold vertically and tap to facilitate flow of fluid through shaft into bottom of unit containing pellet.
  4. To facilitate dissolution of the lyophilized cell pellet, crush the pellet and gently pinch the bottom chamber.
  5. Pull apart the KWIK-STIK to release the swab, and place the swab in the Xpert GBS cartridge chamber S.
  6. The KWIK-STIK swab is now ready for Xpert GBS testing.

The low-level positive control approximates 620 CFU/swab (~36 Ct) of GBS, and the negative control approximates 17,000 CFU/swab of *Lactobacillus acidophilus* (0 Ct or >42 Ct).

**Interpretation of Results**

The results are interpolated by the GeneXpert Dx System from measured fluorescent signals and embedded calculation algorithms and will be shown in the **View Results** window. Possible results are:

**POSITIVE**

GBS target nucleic acid is detected—presumptive for GBS colonization

- SPC—NA (not applicable)
- IC—NA (not applicable)
- Probe check—PASS

The patient's matching second paired swab in the collection/transport tube may be used for antimicrobial susceptibility testing. If necessary the used cartridge can be sent to the microbiology laboratory for back-up susceptibility testing.

**NEGATIVE**

GBS target nucleic acid is not detected—presumed not colonized for GBS.

- GBS—NEG
- SPC—PASS
- IC—PASS
- Probe Check—PASS

**INVALID**

Presence or absence of GBS cannot be determined. IC and/or SPC does not meet acceptance criteria, or air bubbles formed in the reaction tube.

- GBS—INVALID
- SPC—FAIL\*
- IC—FAIL\*
- Probe Check—PASS

\* The SPC and/or the IC failed.

**ERROR**

Presence or absence of GBS cannot be determined. A system component failed, the maximum pressure was reached, or the probe check failed.

- GBS—NO RESULT
- SPC—NO RESULT
- IC—NO RESULT
- Probe Check—FAIL\*

\* If the probe check passed, the error is caused by a system component failure.

**NO RESULT**

Presence or absence of GBS cannot be determined. The operator stopped the test, a power failure occurred during the test, or problems were detected in the cartridge.

- GBS—NO RESULT
- SPC—NO RESULT
- IC—NO RESULT
- Probe Check—NA (not applicable)

**Note:** If you obtain an “INVALID”, “ERROR”, or “NO RESULT”, testing may be repeated or alternate methods initiated.

- In the event of an "ERROR" result (maximum pressure abort or probe check failure), immediately perform retest or run second swab, or initiate alternate methods. "ERROR" results may happen within first 30 minutes of the test.
- When performing intrapartum testing, repeat testing may not be feasible and will depend on practices and policies within each facility. Coordination between clinicians and the testing laboratory is important to not delay administration of antibiotics while results are pending.



Figure 2 shows the GeneXpert Dx System View Results window. As you can see, the Error Status is displayed on the window. Click the Errors tab to view the error descriptions.

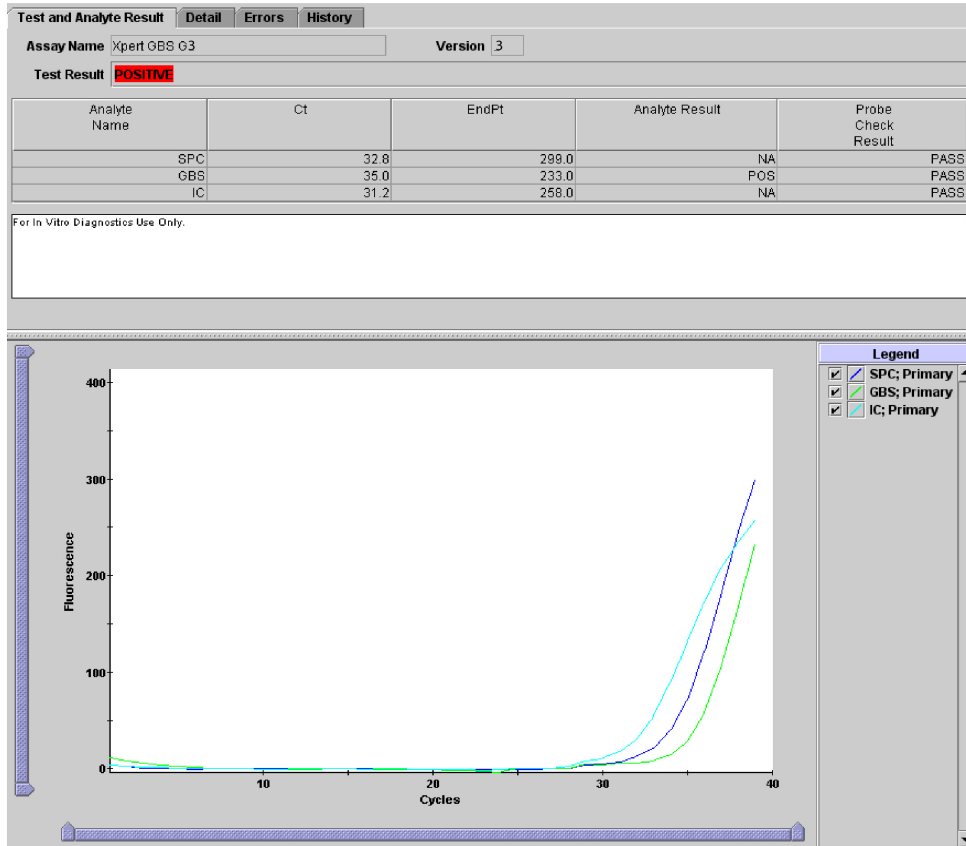


Figure 2. GeneXpert Dx System — View Results window

## Reasons to Repeat the Assay or Initiate Alternate Procedures

Repeat the test or initiate alternate procedures if one of the following test results occurs:

- **Error**—The test was aborted because a system component failed, the maximum pressure was reached, or the probe check failed.
- **Invalid**—The SPC and/or the IC failed when GBS is negative. An invalid result can also be caused by air bubbles in the reaction tube.
- **No Result**—The operator stopped the test, a power failure occurred during the test, or problems were detected in the cartridge.

If there is fluid in the cartridge S chamber, use a transfer pipette to transfer all the fluid to the S chamber of a new cartridge, and then rerun the test. If there is no fluid, use sterile tweezers to transfer the swab to a new cartridge, and then rerun the test. Alternatively, prepare a new cartridge using the second swab, and then rerun the test.

## Limitations

- The performance of Xpert GBS Assay was established with the Cepheid GeneXpert Dx System, with vaginal-rectal specimens from antepartum and intrapartum patients collected with the Cepheid Collection Device (part number 900-0370). This product can only be used with the GeneXpert Dx System. The use of specimen collection and transport system other than those listed in the Materials Required but Not Provided section is not recommended. The use of the Xpert GBS Assay from other clinical sources has not been assessed and performance characteristics of this test are unknown for other specimen types.
- Erroneous test results might occur from improper specimen collection, technical error, sample mix-up, or because the number of organisms in the specimen is not detected by the test. Careful compliance to the instructions in this insert and to the *Vaginal/Rectal Specimen Collection Protocol* instructions document is necessary to avoid erroneous results. Swabbing both the lower vagina and rectum increases the yield substantially compared with sampling the cervix or sampling the vagina without also swabbing the rectum.

- Because detection of Group B Streptococcus is dependent on the number of organisms present in the sample, reliable results are dependent on proper specimen collection, handling, and storage. Testing at 35–37 weeks gestation is recommended to improve sensitivity and specificity of detection of women who remain colonized at the time of delivery.
- Training for personnel using the GeneXpert Dx System is important to assure accurate and timely results.
- Rerunning the Xpert GBS Assay when results are INVALID, ERROR, and NO RESULT should depend on practices and policies within each facility. Alternate procedures (e.g., culturing as recommended with selective enrichment broth for 18–24 h) should be available. Culture isolates are needed for performing susceptibility testing as recommended for penicillin-allergic women. For culturing, remaining swab specimens should be placed in appropriate transport systems and cultured within 4 days. Culturing from Xpert GBS Reagent 1 has not been validated. Laboratories must validate their own culturing procedures or use the second swab collected to perform culture-based identification and susceptibility testing.
- A positive test result does not necessarily indicate the presence of viable organism. It is, however, presumptive for the presence of Group B Streptococcus.
- Intrapartum testing with Xpert GBS assay should be used as an adjunct to other methods available and not used to replace antepartum testing (at 35–37 weeks gestation). The test is not intended to differentiate carriers of Group B Streptococcus from those with streptococcal infection.
- Test results might also be affected by concurrent antibiotic therapy. Therefore, therapeutic success or failure cannot be assessed using this test because DNA might persist following antimicrobial therapy.
- Good laboratory practices and changing gloves between handling patient specimens are recommended to avoid contamination of specimens or reagents.

## Expected Values

Approximately 10–30% of pregnant women are colonized with GBS in the vagina or rectum. GBS colonization can be transient, chronic, or intermittent. Culture screening of both the vagina and rectum for GBS late in gestation during prenatal care can detect women who are likely to be colonized with GBS at the time of delivery.<sup>2,3</sup> In various studies, sensitivities of 87% (83–92% CI) and 69% (57–79% CI) and specificities of 96% (95–98% CI) and 92% (89–94% CI) have been reported for late-prenatal cultures for identifying colonization status at delivery.<sup>8</sup> During clinical evaluations for the Xpert GBS assay, 25.4% (201 of 791) women were colonized with GBS by culture methods.

## Performance Characteristics

### Clinical Performance

Performance characteristics of the Xpert GBS Assay were determined in a multi-site prospective investigational study at six institutions with maternity services in the United States. Each institution had a culture-based or nucleic acid amplification test (NAAT) based screening program. Testing was done in clinical laboratories affiliated with each institution as well as the labor and delivery area. Both intrapartum and antepartum subjects were included in the study. To be enrolled in the intrapartum portion of the study, women had to provide written consent, be in labor, and have no contraindication to vaginal examination (for example, bleeding). To be enrolled in the antepartum portion of the study, women had to provide written consent, be at 35–37 weeks gestation, and have no contraindication to vaginal examination (for example, bleeding). There was also no evidence of placenta previa, no urgent indication to proceed to delivery, and no antibiotic used in the week prior to admission for all subjects.

Vaginal/rectal specimens were collected from each of 794 eligible subjects using two sets of marked swabs (Cepheid Collection Devices). One of the swabs from the first set was used for culturing. The second set of marked swabs was divided: one swab was used in the Xpert GBS Assay on the GeneXpert Dx System; the other was used in the 2<sup>nd</sup> NAAT assay. The 2<sup>nd</sup> NAAT assay targets a sequence in the *cfb* gene and was previously FDA-cleared. Results from this test were not used in performance estimations. After use in these tests, each of these swabs was also placed into LIM culture broth, incubated, subcultured onto blood agar plate (BAP) and observed for GBS.

Each institution used the culture technique recommended in the 2002 CDC guidelines<sup>2</sup>: microbiological culture in selective broth medium (LIM broth, which is Todd-Hewitt broth supplemented with 15 µg/ml of nalidixic acid, and 10 µg/ml of colistin), followed by 18–24 h incubation, and subculture onto BAP. Specific identification of colonies suggestive of GBS was done with slide agglutination tests.

### Overall Results

The performance characteristics of the Xpert GBS Assay were determined from the evaluation of laboratory testing done on specimens from 794 maternity patients: 373 antepartum and 421 intrapartum. Three women had no results by culture and were excluded from analyses (0 were Xpert GBS positive and 3 were Xpert GBS negative), leaving 791 culture results that could be evaluated. All subjects had culturing done (as described above) and most also had a 2<sup>nd</sup> GBS NAAT performed. The 2<sup>nd</sup> NAAT targets a sequence in the *cfb* gene and was previously FDA-cleared; results from this test were not used in performance estimations. Of the 791 cases, the Xpert

GBS assay yielded 726 reportable results on the first attempt (91.8%). There were 65 non-reportable results (i.e., invalid, error, or no result); 55 of these cases resolved upon repeat testing. Overall, 201 women had cultures positive for GBS, either from the single swab used for culture or the eluted swabs from Xpert GBS and 2<sup>nd</sup> NAAT testing. The Xpert GBS assay yielded 168 positive results initially (168/201, 83.6%). After repeat testing, the positive results increased to 178/201, or 88.6%. 590 women had negative cultures and 520 were negative initially with Xpert GBS testing (88.1%), and 561 after repeat testing (95.1%).

Table 1 shows Xpert GBS testing based on the positive and negative GBS culture findings for 791 subjects (3 subjects had cultures that were overgrown or could not be otherwise interpreted). The sensitivity, specificity, and negative and positive value estimates shown are based on results after repeat testing. After repeat testing, 10 cases remained unresolved (n = 781).

**Table 1.** Xpert GBS Results and Estimated Performance by Patient Category

Patient Category	Results	Total N <sup>1</sup>	Culture Positive Patients <sup>1</sup>	Culture Negative Patients <sup>1</sup>	Sensitivity after repeat testing [95% confidence]	Specificity after repeat testing [95% confidence]	PPV <sup>7</sup> after repeat testing [95% confidence]	NPV <sup>8</sup> after repeat testing [95% confidence]
All Patients	Xpert GBS Pos	197 (186)	178 (168)	19 (18)	88.6% [83.3%-92.6%]	96.7% [94.9%-98.0%]	90.4% [85.4%-94.1%]	96.1% [94.2%-97.5%]
	Xpert GBS Neg	584 (540)	23 (20)	561 (520)				
	No Result <sup>2</sup>	10 (65)	0 (13)	10 (52)				
	Total	791 <sup>3</sup>	201 <sup>4</sup>	590				
Antepartum	Xpert GBS Pos	92 (88)	87 (83)	5 (5)	85.3% [76.9%-91.5%]	98.1% [95.6%-99.4%]	94.6% [87.8%-98.2%]	94.5% [94.1%-96.9%]
	Xpert GBS Neg	274 (253)	15 (13)	259 (240)				
	No Result <sup>2</sup>	7 (32)	0 (6)	7 (26)				
	Total	373	102	271				
Intrapartum	Xpert GBS Pos	105 (98)	91 (85)	14 (13)	91.9% [84.7%-96.5%]	95.6% [92.7%-97.6%]	86.7% [78.6%-92.5%]	97.4% [95.0%-98.9%]
	Xpert GBS Neg	310 (287)	8 (7)	302 (280)				
	No Result <sup>2</sup>	3 (33)	0 (7)	3 (26)				
	Total	418	99	319				
ROM <sup>5</sup>	Xpert GBS Pos	27 (24)	21 (19)	6 (5)	91.3% [72.0%-98.9%]	94.3% [88.1%-97.9%]	77.8% [57.7%-91.4%]	98.0% [93.1%-99.8%]
	Xpert GBS Neg	102 (92)	2 (2)	100 (90)				
	No Result <sup>2</sup>	0 (13)	0 (2)	0 (11)				
	Total	129	23	106				
No ROM <sup>6</sup>	Xpert GBS Pos	78 (74)	70 (66)	8 (8)	92.1% [83.6%-97.1%]	96.2% [92.6%-98.3%]	89.7% [80.8%-95.5%]	97.1% [93.8%-98.9%]
	Xpert GBS Neg	208 (195)	6 (5)	202 (190)				
	No Result <sup>2</sup>	3 (20)	0 (5)	3 (15)				
	Total	289	76	213				

<sup>1</sup> All Xpert GBS results are shown after repeat testing. Initial test results are shown in parenthesis.

<sup>2</sup> 'No results' from an Xpert GBS test could be due to an invalid test, a system error, or a no result when the presence or absence of GBS DNA could not be reported.

<sup>3</sup> Three intrapartum women with no results by culture are excluded from the analyses.

<sup>4</sup> Overall prevalence of GBS colonization as determined by culture is 25.3%.

<sup>5</sup> The subset of intrapartum women who had specimens collected after membrane rupture (rupture of membrane, ROM).

<sup>6</sup> The subset of intrapartum women who had specimens collected before membrane rupture (ROM). There would be no biological differences expected between these intrapartum specimens and those collected antepartum.

<sup>7</sup> Positive predictive value.

<sup>8</sup> Negative predictive value.

**Table 2.** Performance of Xpert GBS and 2<sup>nd</sup> NAAT Test<sup>1</sup> Relative to Culture

Category	Xpert GBS						2 <sup>nd</sup> NAAT <sup>1</sup>					
	Sensitivity	Lower CI	Upper CI	Specificity	Lower CI	Upper CI	Sensitivity	Lower CI	Upper CI	Specificity	Lower CI	Upper CI
Overall	88.6%	83.3%	92.6%	96.7%	94.9%	98.0%	77.9%	71.5%	83.5%	96.3%	94.4%	97.6%
	(178/201)			(561/580)			(155/199)			(567/589)		
Antepartum	85.3%	76.9%	91.5%	98.1%	95.6%	99.4%	74.5%	64.9%	82.6%	97.0%	94.3%	98.7%
	(87/102)			(259/264)			(76/102)			(263/271)		
Intrapartum	91.9%	84.7%	96.4%	95.6%	92.7%	97.6%	81.4%	72.3%	88.6%	95.6%	92.7%	97.6%
	(91/99)			(302/316)			(79/97)			(304/318)		
ROM <sup>2</sup>	91.3%	72.0%	98.9%	94.3%	88.1%	97.9%	90.9%	70.8%	98.9%	95.2%	89.2%	98.4%
	(21/23)			(100/106)			(20/22)			(100/105)		
No ROM <sup>3</sup>	92.1%	83.6%	97.0%	96.2%	92.6%	98.3%	78.7%	67.7%	87.3%	95.8%	92.1%	98.0%
	(70/76)			(202/210)			(59/75)			(204/213)		

<sup>1</sup>The 2<sup>nd</sup> NAAT targets a sequence in the *cfb* gene and was previously FDA-cleared.

<sup>2</sup>Subset of intrapartum women who had specimens collected after membrane rupture (rupture of membrane, ROM).

<sup>3</sup>Subset of intrapartum women who had specimens collected before membrane rupture (ROM).

The following table shows a direct comparison of the 2 PCR tests, Xpert GBS and 2<sup>nd</sup> NAAT.

**Table 3.** Direct Comparison of the Two PCR Tests

	Culture Pos			Culture Neg			Culture ND			Total Xpert GBS
	2 <sup>nd</sup> NAAT Pos	2 <sup>nd</sup> NAAT Neg	Unresolved	2 <sup>nd</sup> NAAT Pos	2 <sup>nd</sup> NAAT Neg	Unresolved	2 <sup>nd</sup> NAAT Pos	2 <sup>nd</sup> NAAT Neg	Unresolved	
Xpert GBS Pos	149	27	2	10	9	0	0	0	0	197
Xpert GBS Neg	6	17	0	11	549	1	0	3	0	587
Invalid/Error/ No Result	0	0	0	1	9	0	0	0	0	10
<b>Total 2<sup>nd</sup> NAAT</b>	<b>165</b>	<b>44</b>	<b>2</b>	<b>22</b>	<b>567</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>794</b>

Table 4 shows the number of patients tested at each of the six clinical laboratory sites participating in the evaluation, and the estimated performance for Xpert GBS testing (compared to culture findings).

**Table 4.** Site to Site Comparison

Clinical Test Site	Antepartum Patients	Intrapartum Patients	Total Patients	Culture Positive	Prevalence	Xpert GBS with No Results		Sensitivity			Specificity		
						Initially	Repeating	Estimate	Lower 95%	Upper 95%	Estimate	Lower 95%	Upper 95%
1	0	51	51	11	21.6%	4	1	72.7%	39.0%	94.0%	92.3%	79.1%	98.4%
2	113	5	118	31	26.3%	12	2	90.3%	74.2%	98.0%	97.6%	91.8%	99.7%
3	94	0	94	17	18.1%	9	1	76.5%	50.1%	93.2%	100.0%	95.3%	100.0%
4	64	175	239	75	31.4%	13	2	85.3%	75.3%	92.4%	96.3%	92.1%	98.6%
5	22	152	174	38	21.8%	16	1	97.4%	86.2%	99.9%	94.8%	89.6%	97.9%
6	80	35	115	29	25.2%	11	3	96.6%	82.2%	99.9%	98.8%	93.5%	100.0%
<b>Total</b>	<b>373</b>	<b>418</b>	<b>791</b>	<b>201</b>	<b>25.4%</b>	<b>65</b>	<b>10</b>	<b>88.6%</b>	<b>83.3%</b>	<b>92.6%</b>	<b>96.7%</b>	<b>94.9%</b>	<b>98.0%</b>

Note: Site 6 had 3 missing BAP intrapartum culture results.

### Turnaround Time Analysis

The turnaround time for the 390 intrapartum subjects enrolled in the clinical trial are described below. The mean turnaround time from the time of Xpert GBS initial run-start to result-reporting was 1.84 hours (all 390 subjects). The mean turnaround time for the 360 subjects that gave valid results on first attempt was 1.76 hours. The mean turnaround time for the 30 subjects that gave valid results on second attempt was 2.74 hours. The median turnaround time for 360 specimens that gave valid results on first attempt was 1.47 hours, and 2.44 hours for the 30 subjects that gave valid results on second attempt.

**Table 5.** Turnaround Time from Initial Run Start to GBS Result Reporting 390 Intrapartum Subjects

	Overall	Result on First Attempt	Result on Second Attempt
<b>Mean (hours)</b>	1.84	1.76	2.74
<b>Median (hours)</b>	1.48	1.47	2.44

### Analytical Specificity

Commercially obtained, purified genomic DNA from 101 strains representing 28 Streptococci, 73 other species including strains phylogenetically related to *S. agalactiae*, other microflora (bacteria and yeasts) commonly found in vaginal and anal flora, and human DNA were tested. Replicates of three were tested at 1.5 ng/25 µl reaction (~2 × 10<sup>5</sup> equivalent genome copies per reaction). None of the 28 Streptococcal isolates (non-GBS) tested positive. Of the remaining 73 strains, four (*Enterococcus gallinarium*, *Staphylococcus simulans*, *Micrococcus luteus*, and *Propionibacterium acnes*) were weakly positive in one of six replicates.

## Analytical Sensitivity

The analytical sensitivity, or limit of detection (LOD), was determined using 11 *S. agalactiae* strains. Nine distinct GBS serotypes have been identified (Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII, and VIII). Most cases of neonatal sepsis caused by GBS are attributed to 1 of 4 serotypes: Ia, Ib, II, or III. GBS type V has emerged as an important cause of GBS infection in the United States, and strains of types VI and VIII have become prevalent among Japanese women.<sup>9</sup> Quantitated cultures were tested in four replicates. Table 6 shows the lowest concentration of each subtype resulting in a positive result in all four replicates.

**Table 6.** Limit of detection obtained for each serotype tested

Serotype	CFU/Swab
ATCC 12973 (II)	250
Ia/c	250
Ib/c	250
II	250
III	250
IV	250
IVc	250
V	250
VI	250
VII	250
VIII	250

## Reproducibility

A panel of specimens with varying concentrations of GBS and *Lactobacillus acidophilus* (negative) were tested in triplicate on 10 different days at each of the three sites (4 specimens × 3 × 10 days × 3 sites). One lot of Xpert GBS kits was used at each of the 3 testing sites, according to the Xpert GBS procedure.

**Table 7.** Summary of reproducibility results

Sample CFU/ Swab	Site 1	Site 2	Site 3	Expected Results (Ct Range) <sup>1</sup>	Total Agreement	Total % Agreement
GBS Negative <i>L. acidophilus</i> $1.7 \times 10^4$ CFU /swab	30/30	30/30	30/30	Negative (0, or >42)	90/90	100%
GBS Low $6.2 \times 10^2$ CFU /swab	30/30	30/30	30/30	Positive (31 to 41)	90/90	100%
GBS Moderate $8.3 \times 10^3$ CFU /swab	30/30	30/30	30/30	Positive (27 to 37)	90/90	100%
GBS High $1.3 \times 10^6$ CFU /swab	30/30	30/30	30/30	Positive (19 to 29)	90/90	100%
Total Agreement	120/120	120/120	120/120		360/360	100%
% Agreement	100%	100%	100%		100%	100%

<sup>1</sup>Expected range of Ct values; all values were within expected ranges.

## References

- <sup>1</sup> Schrag et al. A population-based comparison of strategies to prevent early-onset group B streptococcal disease in neonates. *NEJM*. 2002; 247(4): 233-239.
- <sup>2</sup> Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. *MMWR* 2002; 51 (No. RR-11): 1-26.
- <sup>3</sup> Schuchat A. Epidemiology of Group B Streptococcal Disease in the United States: Shifting Paradigms. *Clin Micro Rev*. 1998; 11(3): 497-513.
- <sup>4</sup> Davis et al. Multicenter Study of a Rapid Molecular-Based Assay for the Diagnosis of Group B Streptococcus Colonization in Pregnant Women. *C. Infectious Disease*. 2004; 30: 1129-35.
- <sup>5</sup> Puopolo et al. Early-Onset Group B Streptococcal Disease in the Era of Maternal Screening. *Pediatrics*. 2005; 115:1240-1246.
- <sup>6</sup> 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.
- <sup>7</sup> 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).
- <sup>8</sup> Yancey MK, Schuchat A, Brown LK, Ventura VL, Markenson GR. The accuracy of late antenatal screening cultures in predicting genital group B streptococcal colonization at delivery. *Obstet Gynecol* 1996; 88: 811-15.
- <sup>9</sup> Paoletti, Lawrence C., Ph.D. Research Interests. Accessed 07/19/2006. < <http://www.channing.harvard.edu/paoletti.htm>>.

## Assistance

For assistance, contact Cepheid using one of the following contact details. Make sure you provide the instrument serial number and reagent lot ID when you call or email.

### North America

For technical support, use the following contact details:

Tel: +1.888.838.3222 Option 2

Email: [techsupport@cepheid.com](mailto:techsupport@cepheid.com)

You can reach Cepheid Technical Support by telephone Monday through Friday, from 5 A.M. to 5 P.M. Pacific Time.

### European Union

For technical support, use the following contact details:

Tel: +33.563.82.53.19

Email: [support@cepheideurope](mailto:support@cepheideurope)

### Other Locations













Contact your local Cepheid representative.



---

**Table of Symbols**


---

Symbol	Meaning
	Catalog number
	<i>In vitro</i> diagnostic medical device
	Do not reuse
	Caution, consult accompanying document
	Manufacturer
	Contains sufficient for <n> tests
	Expiration date
	Control
	CE marking – European Conformity
	Authorized representative in the European Community
	Temperature limitation
	Biological hazard

---

**Manufacturer**

Cepheid  
 904 Caribbean Drive  
 Sunnyvale, CA 94089-1189  
 USA

Phone: +1.408.541.4191  
 Fax: +1.408.541.4192

**Authorized Representative**

Cepheid Europe  
 Vira Solelh  
 81470 Maurens-Scopont  
 France

Tel: +33.563.82.53.00  
 Fax: +33.563.82.53.01  
 Email: cepheid@cepheideurope.fr





# Français

---

Dispositif médical pour diagnostic *in vitro*

## Nom déposé

Xpert® GBS

## Nom d'usage

Test Xpert GBS

## Utilisation prévue

Le Test Xpert GBS de Cepheid effectué dans le GeneXpert Dx system est un test de diagnostic *in vitro* qualitatif conçu pour détecter l'ADN du Streptocoque du Groupe B (SGB) dans des échantillons vaginaux/rectaux, prélevés à l'aide d'écouvillons, grâce à la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) en temps réel automatisée avec une détection fluorogénique de l'ADN amplifié. Le Test Xpert GBS est indiqué pour identifier rapidement une infection à SGB avant et pendant l'accouchement.

- L'utilisation du Test Xpert GBS pour un dépistage prénatal ne doit pas exclure l'utilisation d'autres stratégies (par exemple, le test prénatal). Les résultats du test prénatal GBS Xpert sont utiles pour identifier les candidats à l'antibioprophylaxie périnatale lorsque l'administration d'antibiotiques intraveineux n'est pas retardée par des résultats en attente.
- Le Test Xpert GBS ne fournit pas de résultats relatifs à la prédisposition. Des isolats de culture sont nécessaires à la réalisation de tests de prédisposition, comme recommandé chez les femmes allergiques à la pénicilline.

## Résumé et explication

L'infection bactérienne due au SGB est associée à une maladie grave chez les nouveau-nés mis au monde par des femmes infectées par le micro-organisme. La transmission de SGB se produit entre les femmes infectées par le SGB et leurs enfants avant la naissance (transmission prénatale) ou pendant l'accouchement (transmission périnatale). Aux États-Unis, l'infection à SGB est la cause de décès la plus importante chez les nouveau-nés, qui développent des septicémies, des pneumonies ou des méningites.<sup>1,2,3</sup>

Actuellement, la norme de soin en matière de prévention de la maladie néonatale liée au SGB est un dépistage chez les femmes enceintes de 35 à 37 semaines, pour déterminer un éventuel taux de SGB.<sup>2</sup> La plupart des tests prénataux de SGB sont réalisés par culture et leurs résultats sont généralement disponibles après deux ou trois jours. Ce délai peut être adapté pour obtenir les résultats de la culture de SGB avant l'accouchement pour la majorité des femmes ; cependant, certaines femmes peuvent ne pas disposer des résultats des tests au début de l'accouchement. Le Test Xpert GBS développé par Cepheid pour détecter le SGB directement à partir d'échantillons vaginaux/rectaux prélevés à l'aide d'écouvillons dure environ 50 minutes.

Lorsque le taux de SGB est inconnu au moment de l'accouchement, l'approche basée sur les risques est moins efficace que le dépistage prénatal pour l'identification des mères infectées et le test de prédisposition pour les femmes allergiques à la pénicilline n'est pas possible. Pour les femmes n'ayant bénéficié d'aucun soin prénatal, celles pouvant accoucher avant terme ou celles dont les résultats au test de SGB sont inconnus lors de l'accouchement, le test prénatal peut fournir des résultats et permettre d'administrer à temps des antibiotiques avant l'accouchement, si nécessaire. Le Test Xpert GBS peut être effectué très facilement 24 heures sur 24, 7 jours sur 7. Le recours au test prénatal peut entraîner une diminution de l'utilisation d'antibiotiques superflus chez les femmes pour lesquelles la prophylaxie n'est pas indiquée, ainsi que l'application d'un traitement adéquat chez les femmes infectées par le SGB, afin de réduire le risque de septicémies et de méningites néonatales.<sup>5</sup> L'efficacité d'un test prénatal de SGB chez les femmes enceintes qui commencent leur travail et accouchent sans que le taux de SGB soit connu nécessite la collecte rapide d'échantillons et la capacité de fournir des résultats rapidement, afin de commencer l'antibioprophylaxie comme recommandé avant l'accouchement.

## Principe de la procédure

Le GeneXpert Dx system automatise et intègre la lyse d'échantillons, la purification et l'amplification d'acide nucléique et la détection de la séquence cible dans des échantillons complexes en utilisant la Transcription Inverse – Amplification en Chaîne par Polymérase (RT-PCR). Le système est composé d'un appareil, d'un ordinateur personnel et d'un logiciel préchargé pour effectuer des tests sur des échantillons prélevés et afficher les résultats. Le système requiert l'utilisation de cartouches jetables et à usage unique GeneXpert, cartouches qui contiennent les réactifs PCR et abritent la procédure de PCR. Les problèmes de contamination croisée sont minimisés car les cartouches sont indépendantes. Pour obtenir une description complète du système, consultez le *Manuel d'utilisation du GeneXpert Dx system*.

Le Test Xpert GBS comprend des réactifs pour la détection simultanée de l'ADN du SGB, un contrôle du traitement de l'échantillon (CTE) pour surveiller les conditions de traitement et un contrôle interne (CI) pour contrôler les conditions de la PCR et l'absence

d'inhibiteurs dans la réaction. La fonction de contrôle de la sonde consiste à vérifier la réhydratation des réactifs, le remplissage des tubes de PCR dans la cartouche, l'intégrité de la sonde et la stabilité du fluorochrome. Les amorces et la sonde de SGB détectent une cible dans la région 3' adjacente au gène *cfb* du *S. agalactiae*.

Après avoir collecté et transporté un échantillon prélevé à l'aide d'un écouvillon vers la zone de test GeneXpert, l'écouvillon est inséré dans la cartouche GBS Xpert. Le GeneXpert Dx system réalise la préparation des échantillons en éluant le matériel de l'échantillon à partir de l'échantillon, en mélangeant le réactif d'échantillon avec le SPC (*Bacillus globigii* sous forme de billes de réactifs à l'intérieur de la cartouche) et le réactif de traitement, en capturant le matériel cellulaire sur un filtre, en lysant les cellules et en éluant l'ADN. La solution d'ADN est alors mélangée à des réactifs PCR secs puis est transférée dans le tube de réaction intégré, en vue d'une PCR en temps réel et d'une détection. Les résultats sont interpolés par le GeneXpert Dx system à partir de signaux fluorescents mesurés et d'algorithmes de calcul intégrés. Les résultats peuvent être visualisés et imprimés. Le test dure environ 50 minutes.

## Réactifs et appareils



### Matériel fourni

Le kit GBS Xpert (GXGBS-100N-10) contient suffisamment de réactifs pour traiter les échantillons de 10 patients ou contrôles qualité.

Le kit contient ce qui suit :

<b>Cartouches GBS Xpert avec tubes de réaction intégrés</b>	<b>10</b>
<b>Billes de réactifs (lyophilisés) 1</b>	<b>1 par cartouche</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Ensemble polymérase/inhibiteur</li> <li>SAB (sérum-albumine bovin)</li> </ul>	
<b>Billes de réactifs (lyophilisés) 2</b>	<b>1 par cartouche</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Amorces</li> <li>Sondes</li> <li>dNTPs</li> <li>ADN de contrôle interne (CI)</li> <li>SAB (sérum-albumine bovin)</li> </ul>	
<b>Billes de réactifs (lyophilisés) 3</b>	<b>1 par cartouche</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Contrôle du traitement de l'échantillon (CTE) (env. 2 000 spores de <i>B. globigii</i>) de préparation d'échantillons non infectieux</li> </ul>	
<b>Réactif 1 (Tris Buffer, EDTA, surfactants)</b>	<b>3,0 mL par cartouche</b>
<b>Réactif 2 (Hydroxyde de Sodium)</b>	<b>3,0 mL par cartouche</b>
<b>CD</b>	<b>1 par kit</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Fichier de définition de test (ADF)</li> <li>Instructions pour importer les ADF dans le logiciel GX</li> <li>Notice</li> </ul>	

### Note:

- Les fiches techniques de données de sécurité (MSDS, Material Safety Data Sheets) de tous les réactifs fournis avec ce test sont disponibles auprès de l'Assistance technique de Cepheid et sur les sites Web de Cepheid ([www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) et [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com)).
- Le sérum albumine bovin (SAB) de ce produit a été extrait exclusivement à partir de plasma bovin provenant des États-Unis. La fabrication du SAB est également réalisée aux États-Unis. Les aliments des animaux ne contenaient pas de protéine de ruminant ou d'autre protéine animale ; les animaux ont subi des tests ante et post mortem. Au cours du processus, aucun mélange ne s'est produit avec d'autres matières animales.



### Stockage et manipulation

- Stockez le kit GBS Xpert entre 2 et 28 °C.



- N'utilisez pas les réactifs ou les cartouches dont la date d'expiration est dépassée.

### Matériel requis mais non fourni

- GeneXpert Dx system (la référence varie en fonction de la configuration) : Appareil GeneXpert, ordinateur, lecteur de codes-barres et manuel d'utilisation
- Imprimante (consultez le *Manuel d'utilisation du GeneXpert Dx system* pour obtenir des indications de compatibilité)
- Appareil de collecte de Cepheid (référence 900-0370)
- Pipette de transfert jetable et stérile (uniquement pour effectuer un nouveau test)

### Matériel disponible mais non fourni

- KWIK-STIK™ (MicroBioLogics, catalogue n° 8164 : un contrôle positif de niveau faible, un contrôle positif de niveau moyen, un contrôle positif de niveau élevé et un contrôle négatif de *L. acidophilus* pour chacune des espèces de Streptocoque (Groupe B))

### Avertissements et précautions



- Traitez tous les échantillons biologiques, y compris les cartouches usagées, comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux. Tous les échantillons biologiques doivent être traités avec des précautions identiques car il est souvent impossible de savoir lequel peut être infectieux. Les U.S. Centers for Disease Control and Prevention (Centres américains pour le contrôle et la prévention des maladies)<sup>6</sup> et le Clinical and Laboratory Standards Institute (Institut des normes cliniques et de laboratoire) (anciennement National Committee for Clinical Laboratory Standards)<sup>7</sup> tiennent à disposition des directives concernant la manipulation des échantillons.

- Respectez les procédures de sécurité de votre institution pour la manipulation de produits chimiques et d'échantillons biologiques.
- Le Test Xpert GBS ne fournit pas de résultats relatifs à la prédisposition. Des isolats de culture sont nécessaires à la réalisation de tests de prédisposition, comme recommandé chez les femmes allergiques à la pénicilline.
- N'ouvrez pas le couvercle de la cartouche Xpert GBS, sauf pour ajouter un échantillon
- N'utilisez pas une cartouche qui est tombée ou qui a été secouée après avoir ajouté l'échantillon.
- N'ouvrez pas les cartouches usagées sauf pour procéder à un nouveau test et uniquement pour retirer l'échantillon élué de la chambre S à l'aide d'une pipette.



- Chaque cartouche GBS Xpert à usage unique est utilisée pour effectuer un test. Ne réutilisez pas les cartouches utilisées.

- Adressez-vous au personnel de votre établissement chargé de la gestion environnementale des déchets afin de connaître les procédures correctes de mise au rebut des cartouches usagées et des réactifs non utilisés. Ces équipements peuvent présenter les caractéristiques des déchets dangereux selon la loi fédérale sur la conservation et la récupération des ressources (Resource Conservation and Recovery Act - RCRA) de l'EPA et donc nécessiter des mesures de mise au rebut spécifiques. Consultez les réglementations régionales et locales, qui peuvent différer de la réglementation fédérale. Les établissements situés hors des Etats-Unis doivent consulter la législation de leur pays relative à l'élimination des déchets dangereux.



- Stockez le kit GBS Xpert entre 2 et 28 °C.



- Le réactif 2 contient de l'hydroxyde de Sodium (pH > 12,5); (R34 EU Risk) qui est corrosif pour les yeux et la peau et nécessite une protection des yeux et de la peau.

### Collecte d'échantillons et transport



Pour obtenir un échantillon approprié, suivez attentivement les instructions présentées dans cette section.

Grâce à l'appareil de collecte de Cepheid, prélevez des échantillons conformément aux recommandations des CDC (Centers for Disease Control and Prevention, centres pour le contrôle et la prévention des maladies).<sup>2</sup> La procédure suivante doit être utilisée :

1. Essayez les restes de sécrétion ou éliminez-les.
2. Retirez du récipient de transport les deux cotons-tiges comportant une marque.
3. Introduisez délicatement les deux cotons-tiges comportant une marque dans le vagin de la patiente. Prélevez des échantillons des sécrétions de la muqueuse du tiers inférieur du vagin. Faites pivoter les cotons-tiges trois fois pour garantir un échantillon uniforme sur les deux cotons-tiges.
4. Introduisez délicatement les deux mêmes cotons-tiges comportant une marque dans le sphincter anal, à une profondeur d'environ 2,5 cm, puis faites-les pivoter doucement pour prélever des échantillons des cryptes anales.

5. Placez les deux cotons-tiges comportant une marque dans le récipient de transport.
6. Si les échantillons doivent être traités dans les 24 heures, stockez-les à température ambiante. Si les échantillons doivent être traités après 24 heures, réfrigérez-les jusqu'à la réalisation du test. Les échantillons stockés entre 2 et 8 °C sont stables jusqu'à six jours.

## Procédure

### Préparation de la cartouche

**Important:** Démarrez le test dans les 15 minutes qui suivent l'ajout de l'échantillon à la cartouche.

**Note:** Un seul écouvillon est requis. Le second écouvillon est en supplément et peut être utilisé pour des tests de prédisposition. Des isolats de culture sont nécessaires à la réalisation de tests de prédisposition, comme recommandé chez les femmes allergiques à la pénicilline. Ne mettez pas les 2 cotons-tiges dans une cartouche

Pour ajouter l'échantillon dans la cartouche (Xpert GBS) :

1. Enlevez la cartouche de l'emballage.
2. Ouvrez le couvercle de la cartouche.
3. Retirez les cotons-tiges comportant une marque du récipient. Frottez doucement les deux cotons-tiges l'un contre l'autre en les faisant pivoter pour qu'une quantité égale d'échantillon se trouve sur chacun d'eux.
4. Insérez un des cotons-tiges dans la chambre S de la cartouche GBS Xpert.
  - N'insérez pas les deux cotons-tiges dans la cartouche.
  - Remplacez le second écouvillon dans le tube de collecte/transport pour un test ultérieur de prédisposition antimicrobien par le laboratoire de microbiologie pour les patientes positives au SGB. Des isolats de culture sont nécessaires à la réalisation de tests de prédisposition, comme recommandé chez les femmes allergiques à la pénicilline.
5. Soulevez le écouvillon pour centrer la marque entaille sur l'encoche.
6. Brisez le écouvillon en tordant la tige vers la droite.
7. Fermez le couvercle de la cartouche.



**Figure 1** Cartouche GBS Xpert (vue du dessus).

## Démarrage du test

Cette section répertorie les étapes de base de la réalisation du test. Pour obtenir des instructions détaillées, consultez le *Manuel d'utilisation du GeneXpert Dx system*.

1. Mettre sous tension l'instrument GeneXpert Dx, puis l'ordinateur ; le logiciel GeneXpert démarrera automatiquement.
2. Ouvrez une session du logiciel du GeneXpert Dx system en utilisant votre nom d'utilisateur et votre mot de passe.
3. Dans la fenêtre du GeneXpert Dx system, cliquez sur **Create Test** (Créer le test). La boîte de dialogue Lire le code-barres de la cartouche s'affiche.
4. Scannez le code-barres sur la cartouche GBS Xpert. La fenêtre Créer le test apparaît. En utilisant les informations du code-barres, le logiciel remplit automatiquement les cases des champs suivants : Sélectionner le test, Numéro d'identification du lot de réactifs, Cartouche SN et Date limite d'utilisation.
5. Dans la case **Sample ID** (Numéro d'identification de l'échantillon), scannez ou saisissez le numéro d'identification de l'échantillon. Assurez-vous de saisir le numéro d'identification exact de l'échantillon. Le numéro d'identification de l'échantillon est associé aux résultats du test et il est affiché dans la fenêtre **View Results** (Afficher les résultats) et dans tous les rapports.
6. Cliquez sur **Start Test** (Démarrer le test). Dans la boîte de dialogue qui apparaît, saisissez votre mot de passe.
7. Ouvrez la porte du module de l'appareil où le voyant vert clignote et chargez la cartouche.
8. Fermez la porte. Le test démarre et le voyant vert cesse de clignoter. Lorsque le test est terminé, le voyant s'éteint.
9. Attendez que le système déverrouille la porte du module avant de l'ouvrir et de retirer la cartouche.
10. En cas d'absolue nécessité, l'éluat de l'échantillon peut être récupéré dans la chambre marquée « S » de la cartouche à l'aide d'une pipette de transfert. Cet éluat peut être utilisé comme une sauvegarde du second écouvillon prélevé sur la patiente pour le test de prédisposition par le laboratoire de microbiologie. La culture à partir du réactif 1 GBS Xpert n'a pas été validée. Les laboratoires doivent valider leurs propres procédures de culture ou utiliser le second écouvillon collecté afin de procéder à l'identification basée sur la culture et à un test de prédisposition.
11. Les cartouches usagées doivent être éliminées dans les conteneurs à déchets pour les échantillons appropriés, conformément aux pratiques standard de votre institution.

## Affichage et impression des résultats

Pour obtenir des instructions détaillées sur la manière d'afficher et d'imprimer les résultats, consultez le *Manuel d'utilisation du GeneXpert Dx system*.

**CONTROL** **Contrôle qualité**

Chaque test comprend les contrôles internes suivants, ainsi qu'un contrôle de la sonde.

- **Contrôle du traitement de l'échantillon (CTE)** : garantit que l'échantillon a été correctement traité. Le CTE *B. globigii* est sous forme de billes de réactifs ; il est inclus dans chaque cartouche. Le CTE contrôle la lyse et l'éluion. Le CTE doit réussir (générer un seuil de cycle (Ct) valide dans un échantillon négatif) et ne pas s'amplifier dans un échantillon positif élevé. Le CTE réussit s'il répond aux critères d'acceptation attribués.
- **Contrôle interne (CI)** : contrôle les réactifs fonctionnels de la PCR et l'absence d'inhibition qui peut empêcher l'amplification par PCR. Le CI doit réussir (générer un Ct valide dans un échantillon négatif) et ne pas s'amplifier dans un échantillon positif élevé. Le CI réussit s'il répond aux critères d'acceptation attribués.
- **Contrôle de la sonde** : avant de démarrer la réaction PCR, le GeneXpert Dx system mesure le signal de fluorescence à partir des sondes, afin de contrôler la réhydratation des billes de réactifs, le remplissage des tubes de réaction, l'intégrité de la sonde et la stabilité du fluorochrome. Le contrôle de la sonde réussit s'il répond aux critères d'acceptation attribués.
- **Contrôles externes** : KWIK-STIK™ (MicroBioLogics, catalogue n° 8164) peut être utilisé pour la formation, l'essai d'aptitude et le contrôle qualité externe du GeneXpert Dx system. Les contrôles externes peuvent être utilisés en accord avec les organisations d'accréditation locales, nationales, fédérales, comme approprié. Suivez la procédure de contrôle externe de MicroBioLogics décrite ci-dessous.
  1. Déchirez l'étui au niveau de l'entaille et retirez le KWIK-STIK.
  2. Pincez le bas de l'ampoule pour libérer le liquide hydratant dans le cône.
  3. Veillez à tenir verticalement et à tapoter pour faciliter l'écoulement du liquide à travers la tige dans le fond de l'unité contenant la pastille.
  4. Pour faciliter la dissolution de la pastille des cellules lyophilisées, écrasez la pastille et pincez doucement la chambre du fond.
  5. Détachez le KWIK-STIK pour libérer l'écouvillon et placez ce dernier dans la chambre S de la cartouche GBS Xpert.
  6. L'écouvillon KWIK-STIK est maintenant prêt pour le Test Xpert GBS.

Le contrôle positif de niveau faible compte aux alentours de 620 bactéries souches/écouvillon (env. 36 Ct) de SGB et le contrôle négatif 17 000 bactéries souches/écouvillon de *Lactobacillus acidophilus* (0 Ct ou >42 Ct).

**Interprétation des résultats**

Les résultats sont interpolés par le GeneXpert Dx system à partir de signaux fluorescents mesurés et d'algorithmes de calcul intégrés. Ils seront affichés dans la fenêtre **View Results** (Afficher les résultats). Les résultats possibles sont :

**POSITIVE (POSITIF)**

L'acide nucléique cible du SGB est détecté : infection à SGB présumée

- SPC – NA (not applicable) (CTE : SO (sans objet))
- IC – NA (not applicable) (CI : SO (sans objet))
- Probe check – PASS (Contrôle de la sonde : RÉUSSITE)

Envoyez au laboratoire de microbiologie le second écouvillon correspondant à la patiente dans le tube de collecte/transport pour un test de prédisposition antimicrobien. Si nécessaire, la cartouche usagée peut être envoyée au laboratoire de microbiologie pour sauvegarder le test de prédisposition. Des isolats de culture sont nécessaires à la réalisation de tests de prédisposition, comme recommandé chez les femmes allergiques à la pénicilline.

**NEGATIVE (NÉGATIF)**

L'acide nucléique cible du SGB n'a pas été détecté : non-infection à SGB présumée.

- GBS – NEG (SGB : NÉG)
- SPC – PASS (CTE : RÉUSSITE)
- IC – PASS (CI : RÉUSSITE)
- Probe Check – PASS (Contrôle de la sonde : RÉUSSITE)



**INVALID (NON VALIDE)**

Impossible de déterminer la présence ou l'absence de SGB. Le CI et/ou le CTE ne répondent pas aux critères d'acceptation ou des bulles d'air se sont formées dans le tube de réaction.

- GBS – INVALID (SGB : INVALIDE)
- SPC – FAIL\* (CTE : ÉCHEC\*)
- IC – FAIL\* (CI : ÉCHEC\*)
- Probe Check – PASS (Contrôle de la sonde : RÉUSSITE)

\* Le CTE et/ou le CI a échoué.

**ERROR (ERREUR)**

Impossible de déterminer la présence ou l'absence de SGB. Échec d'un composant du système, la pression maximale a été atteinte ou le contrôle de la sonde a échoué.

- GBS – NO RESULT (SGB : PAS DE RÉSULTAT)
- SPC – NO RESULT (CTE : PAS DE RÉSULTAT)
- IC – NO RESULT (CI : PAS DE RÉSULTAT)
- Probe Check – FAIL\* (Contrôle de la sonde : ÉCHEC\*)

\* Si le contrôle de la sonde a réussi, l'erreur est provoquée par l'échec d'un composant du système.

**NO RESULT (PAS DE RÉSULTAT)**

Impossible de déterminer la présence ou l'absence de SGB. L'opérateur a arrêté le test, une coupure de courant a eu lieu au cours du test ou des problèmes ont été détectés dans la cartouche.

- GBS – NO RESULT (SGB : PAS DE RÉSULTAT)
- SPC – NO RESULT (CTE : PAS DE RÉSULTAT)
- IC – NO RESULT (CI : PAS DE RÉSULTAT)
- Probe Check – NA (not applicable) (Contrôle de la sonde : SO (sans objet))

**Note:** Si vous avez obtenu « INVALID » (NON VALIDE), « ERROR » (ERREUR) ou « NO RESULT » (PAS DE RÉSULTAT), le test peut être répété ou d'autres méthodes peuvent être utilisées.

- Dans l'éventualité du résultat « ERROR » (ERREUR) (arrêt de la pression maximale ou échec du contrôle de la sonde), procédez immédiatement à un nouveau test, analysez le second écouvillon ou recourez à d'autres méthodes. Le résultat « ERROR » (ERREUR) peut se produire au cours des 30 premières minutes du test.
- Lors de la réalisation d'un test périnatal, il peut être impossible de procéder à un nouveau test ; cela dépendra des pratiques et des stratégies de chaque installation. La coordination entre les cliniciens et le laboratoire de test est importante pour ne pas retarder l'administration d'antibiotiques lorsque les résultats sont en attente.

La Figure 2 montre la fenêtre de GeneXpert Dx System : **View Results** (Afficher les résultats). Comme vous pouvez le constater, l'État de l'erreur est affiché dans la fenêtre. Cliquez sur l'onglet Erreurs pour afficher la description des erreurs.

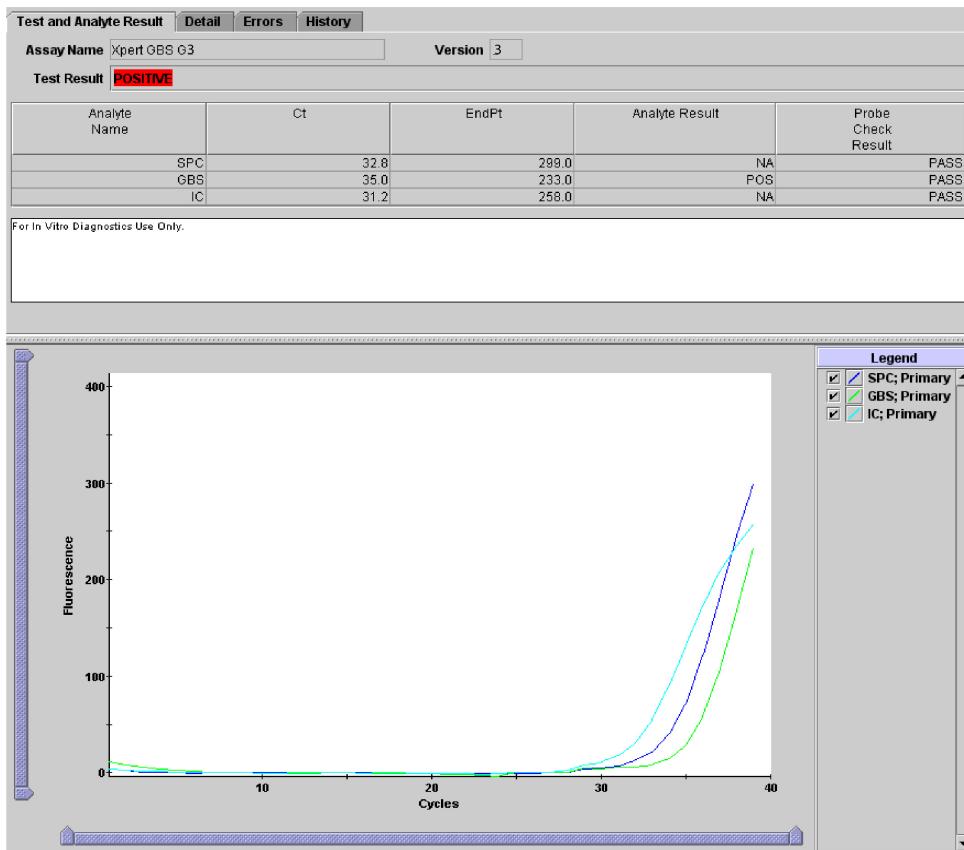


Figure 2 Fenêtre Afficher les résultats du GeneXpert Dx system

## Raisons pour lesquelles le test doit être recommencé ou pour recourir à d'autres procédures

Répétez le test ou recourez à d'autres procédures si l'un des résultats de test suivants se produit :

- **Error (Erreur)** : le test a été interrompu car un composant du système a échoué, la pression maximale a été atteinte ou le contrôle de la sonde a échoué.
- **Invalid (Non valide)** : le CTE et/ou le CI a échoué lorsque SGB est négatif. Un résultat non valide peut également être provoqué par des bulles d'air dans le tube de réaction.
- **No Result (Pas de résultat)** : l'opérateur a arrêté le test, une coupure de courant a eu lieu au cours du test ou des problèmes ont été détectés dans la cartouche.

Si du liquide se trouve dans la chambre S de la cartouche, utilisez une pipette de transfert pour transférer tout le liquide vers la chambre S d'une nouvelle cartouche, puis effectuez à nouveau le test. S'il n'y a pas de liquide, utilisez des pinces stériles pour transférer le écouvillon vers une nouvelle cartouche, puis effectuez à nouveau le test à partir de la section Ajoutez le réactif 1 dans la chambre 1 de la cartouche. Sinon, préparez une nouvelle cartouche en utilisant le second écouvillon, puis effectuez à nouveau le test.

### Restrictions

- Les performances du Test Xpert GBS ont été établies grâce au GeneXpert Dx system de Cepheid, avec des échantillons vaginaux et rectaux prélevés sur des patientes avant et pendant l'accouchement à l'aide de l'appareil de collecte de Cepheid (référence 900-0370). Ce produit peut être utilisé uniquement avec le GeneXpert Dx system. L'utilisation d'un système de collecte et de transport des échantillons autre que ceux répertoriés dans la section Matériel requis mais non fourni n'est pas recommandée. L'utilisation du Test Xpert GBS à partir d'autres sources cliniques n'a pas été contrôlée et les caractéristiques des performances de ce test sont inconnues pour les autres types d'échantillons.
- Des résultats de test erronés peuvent être la conséquence d'une collecte d'échantillon inadéquate, d'une manipulation ou d'un stockage inopportuns, d'une erreur technique, d'une confusion dans les échantillons ou de la non-détection par le test d'un certain nombre d'organismes dans l'échantillon. Il est nécessaire de respecter scrupuleusement les instructions de cette notice et du document présentant *le protocole de collecte des échantillons vaginaux/rectaux* afin d'éviter les résultats erronés. Le prélèvement dans la partie inférieure du vagin et du rectum produit de meilleurs résultats par rapport à l'échantillonnage du col de l'utérus ou du vagin sans prélèvement du rectum.
- La fiabilité des résultats dépend d'une collecte d'échantillon adéquate, d'une manipulation et d'un stockage opportuns car la détection des Streptocoques du Groupe B repose sur le nombre d'organismes présents dans l'échantillon. Le test chez les femmes enceintes de 35 à 37 semaines est recommandé pour améliorer la sensibilité et la spécificité de la détection des femmes toujours infectées au moment de l'accouchement.
- La formation du personnel utilisant le GeneXpert Dx system est importante pour garantir des résultats précis et opportuns.
- Le fait de recommencer le Test Xpert GBS lorsque les résultats sont INVALID (NON VALIDE), ERROR (ERREUR) et NO RESULT (PAS DE RÉSULTAT) doit dépendre des pratiques et des stratégies au sein de chaque installation. D'autres procédures (par ex. des cultures recommandées de 18 à 24 h avec bouillon d'enrichissement sélectif) doivent être disponibles. Des isolats de culture sont nécessaires à la réalisation de tests de prédisposition, comme recommandé chez les femmes allergiques à la pénicilline. Pour la culture, les échantillons prélevés à l'aide des cotons-tiges restants doivent être placés dans des systèmes de transport appropriés et mis en culture dans les 4 jours. La culture à partir du réactif 1 GBS Xpert n'a pas été validée. Les laboratoires doivent valider leurs propres procédures de culture ou utiliser le second écouvillon collecté afin de procéder à l'identification basée sur la culture et à un test de prédisposition.
- Un résultat de test positif n'indique pas forcément la présence d'organisme viable. Cependant, il suppose la présence de Streptocoques du Groupe B.
- Le test périnatal à l'aide du Test Xpert GBS doit venir en complément d'autres méthodes disponibles et ne doit pas être utilisé pour remplacer le test prénatal (chez les femmes enceintes de 35 à 37 semaines). Le test n'est pas destiné à différencier les porteurs de Streptocoques du Groupe B de ceux présentant une infection streptococcique.
- Le test peut également être affecté par la prise simultanée d'antibiotiques. Par conséquent, le succès ou l'échec thérapeutique ne peut pas être évalué grâce à ce test car l'ADN peut résister à la suite d'un traitement antimicrobien.
- De bonnes pratiques de laboratoire et le changement de gants lors de la manipulation d'échantillons de patients sont recommandés afin d'éviter la contamination des échantillons ou des réactifs.

## Valeurs attendues

Le SGB infecte le vagin ou le rectum d'environ 10 à 30 % des femmes enceintes. L'infection à SGB peut être passagère, chronique ou ponctuelle. Dans le cadre des soins prénataux, la culture de dépistage du SGB du vagin et du rectum vers la fin de la grossesse peut aider à détecter les femmes qui sont susceptibles d'être infectées par le SGB au moment de leur accouchement.<sup>2,3</sup> Dans plusieurs études, des sensibilités de 87 % (83 à 92 % du CI) et de 69 % (57 à 79 % du CI), ainsi que des spécificités de 96 % (95 à 98 % du CI) et de 92 % (89 à 94 % du CI), ont été signalées pour des cultures prénatales tardives afin d'identifier le stade de l'infection lors de l'accouchement.<sup>8</sup> Au cours d'évaluations cliniques du Test Xpert GBS, 25,4 % des femmes (201 sur 791) étaient infectées par le SGB (utilisation de méthodes de culture).

## Caractéristiques des performances

### Performances cliniques

Les caractéristiques des performances du Test Xpert GBS ont été déterminées lors d'une étude de cohorte multisite qui s'est déroulée dans six institutions dotées de services de maternité aux États-Unis. Chaque institution disposait d'un programme de dépistage basé sur la culture ou sur le test d'amplification de l'acide nucléique (TAAN). Le test a été réalisé dans des laboratoires cliniques affiliés à chaque institution ainsi que dans la salle d'accouchement. Les patientes en phase d'accouchement et celles n'ayant pas encore accouché ont été incluses dans l'étude. Pour être retenues dans la partie périnatale de l'étude, les femmes devaient fournir leur consentement écrit, être dans la phase de travail et ne présenter aucune contre-indication à l'examen vaginal (par exemple des saignements). Pour être retenues dans la partie prénatale de l'étude, les femmes devaient fournir leur consentement écrit, être enceintes de 35 à 37 semaines et ne présenter aucune contre-indication à l'examen vaginal (par exemple des saignements). En outre, il n'a été établi aucun signe de placenta praevia, aucune indication urgente de procéder à l'accouchement et aucune utilisation d'antibiotiques au cours de la semaine précédant l'admission de toutes les patientes.

Des échantillons vaginaux/rectaux ont été prélevés chez chacune des 794 patientes admissibles à l'aide de deux séries de cotons-tiges comportant une marque (appareils de collecte de Cepheid). L'un des cotons-tiges de la première série a été utilisé pour la culture. La seconde série de cotons-tiges comportant une marque a été divisée : un écouvillon a été utilisé lors du Test Xpert GBS sur le GeneXpert Dx system, l'autre a été utilisé lors du 2<sup>nd</sup> test TAAN. Le 2<sup>nd</sup> test TAAN cible une séquence dans le gène *gfb* et a été approuvé au préalable par la FDA (Food and Drug Administration, autorité américaine de surveillance des aliments et des médicaments). Les résultats de ce test n'ont pas été utilisés dans les estimations des performances. Après leur utilisation dans ces tests, chacun de ces cotons-tiges a également été placé dans un bouillon de culture LIM, incubé, mis en subculture dans de la gélose au sang et observé à la recherche de SGB.

Chaque institution a utilisé la technique de culture recommandée par les directives des CDC de 2002<sup>2</sup> : culture microbiologique en milieu liquide sélectif (bouillon LIM, constitué de bouillon de Todd-Hewitt complété par 15 µg/ml d'acide nalidixique et 10 µg/ml de colistine), suivie d'une incubation de 18 à 24 h et une subculture dans de la gélose au sang. Une identification spécifique des colonies de SGB a été réalisée à l'aide de tests d'agglutination sur lame.

### Résultats généraux

Les caractéristiques des performances du Test Xpert GBS ont été déterminées à partir de l'évaluation du test de laboratoire obtenu auprès d'échantillons de 794 patientes observées : 373 en phase prénatale et 421 en phase périnatale. Trois femmes n'ont pas eu de résultat par culture et ont été exclues des analyses (aucune n'était positive au Test Xpert GBS et les trois étaient négatives au Test Xpert GBS). 791 résultats de la culture ont ainsi pu être évalués. Tous les sujets avaient subi un test de culture (comme décrit ci-dessus) et la plupart avaient également subi un 2<sup>nd</sup> test TAAN SGB. Le 2<sup>nd</sup> test TAAN cible une séquence du gène *gfb* et a été approuvé au préalable par la FDA ; les résultats de ce test n'ont pas été utilisés dans les estimations des performances. Sur les 791 cas, le Test Xpert GBS a produit 726 résultats significatifs à la première tentative (91,8 %). 65 résultats n'étaient pas significatifs (c.-à-d. non valides, erreur ou pas de résultat) ; 55 de ces cas ont été résolus en répétant le test. Dans l'ensemble, les cultures de 201 femmes étaient positives au SGB, à partir du écouvillon unique utilisé pour la culture ou des cotons-tiges élus à partir du Test Xpert GBS et du 2<sup>nd</sup> test TAAN. Le Test Xpert GBS a initialement produit 168 résultats positifs (168/201, 83,6 %). Après avoir répété le test, les résultats positifs sont passés à 178/201, soit 88,6 %. Les cultures de 590 femmes étaient négatives, 520 étaient initialement négatives avec le Test Xpert GBS (88,1 %) et 561 l'étaient après avoir répété le test (95,1 %).

Le tableau 1 présente le Test Xpert GBS basé sur les résultats positifs et négatifs de la culture de SGB pour 791 sujets (les cultures de 3 sujets avaient proliféré ou ne pouvaient pas être interprétées). La sensibilité, la spécificité et les estimations des valeurs négatives et positives affichées sont basées sur des résultats obtenus après avoir répété le test. Après avoir répété le test, 10 cas sont demeurés non résolus (n = 781).

**Tableau 1.** Résultats du Test Xpert GBS et performances estimées par catégorie de patiente

Catégorie de patiente	Résultats	Total N <sup>1</sup>	Patientes dont la culture est positive <sup>1</sup>	Patientes dont la culture est négative <sup>1</sup>	Sensibilité après avoir répété le test [95 % de certitude]	Spécificité après avoir répété le test [95 % de certitude]	VPP (valeur prédictive positive) <sup>7</sup> après avoir répété le test [95 % de certitude]	VPN (valeur prédictive négative) <sup>8</sup> après avoir répété le test [95 % de certitude]
Toutes les patientes	Positif au GBS Xpert	197 (186)	178 (168)	19 (18)	88,6 %	96,7 %	90,4 %	96,1 %
	Négatif au GBS Xpert	584 (540)	23 (20)	561 (520)	[83,3 – 92,6 %]	[94,9 – 98,0 %]	[85,4 – 94,1 %]	[94,2 – 97,5 %]
	Pas de résultat <sup>2</sup>	10 (65)	0 (13)	10 (52)				
	Total	791 <sup>3</sup>	201 <sup>4</sup>	590				
Avant l'accouchement	Positif au GBS Xpert	92 (88)	87 (83)	5 (5)	85,3 %	98,1 %	94,6 %	94,5 %
	Négatif au GBS Xpert	274 (253)	15 (13)	259 (240)	[76,9 – 91,5 %]	[95,6 – 99,4 %]	[87,8 – 98,2 %]	[94,1 – 96,9 %]
	Pas de résultat <sup>2</sup>	7 (32)	0 (6)	7 (26)				
	Total	373	102	271				
Pendant l'accouchement	Positif au GBS Xpert	105 (98)	91 (85)	14 (13)	91,9 %	95,6 %	86,7 %	97,4 %
	Négatif au GBS Xpert	310 (287)	8 (7)	302 (280)	[84,7 – 96,5 %]	[92,7 – 97,6 %]	[78,6 – 92,5 %]	[95,0 – 98,9 %]
	Pas de résultat <sup>2</sup>	3 (33)	0 (7)	3 (26)				
	Total	418	99	319				
ROM <sup>5</sup>	Positif au GBS Xpert	27 (24)	21 (19)	6 (5)	91,3 %	94,3 %	77,8 %	98,0 %
	Négatif au GBS Xpert	102 (92)	2 (2)	100 (90)	[72,0 – 98,9 %]	[88,1 – 97,9 %]	[57,7 – 91,4 %]	[93,1 – 99,8 %]
	Pas de résultat <sup>2</sup>	0 (13)	0 (2)	0 (11)				
	Total	129	23	106				
Pas de ROM <sup>6</sup>	Positif au GBS Xpert	78 (74)	70 (66)	8 (8)	92,1 %	96,2 %	89,7 %	97,1 %
	Négatif au GBS Xpert	208 (195)	6 (5)	202 (190)	[83,6 – 97,1 %]	[92,6 – 98,3 %]	[80,8 – 95,5 %]	[93,8 – 98,9 %]
	Pas de résultat <sup>2</sup>	3 (20)	0 (5)	3 (15)				
	Total	289	76	213				

<sup>1</sup> Tous les résultats du Test Xpert GBS sont présentés après avoir répété le test. Les résultats du test initial sont entre parenthèses.

<sup>2</sup> « Pas de résultat » à partir d'un Test Xpert GBS peut être dû à un test non valide, une erreur du système ou lorsque la présence ou l'absence d'ADN du SGB n'a pas pu être signalée.

<sup>3</sup> Trois femmes en phase périnatale dont la culture est sans résultat sont exclues des analyses.

<sup>4</sup> La prévalence globale de l'infection à SGB comme déterminée par la culture est de 25,3 %.

<sup>5</sup> Sous-ensemble des femmes en phase périnatale dont les échantillons ont été collectés après la rupture de la membrane (ROM).

<sup>6</sup> Sous-ensemble des femmes en phase périnatale dont les échantillons ont été collectés avant la rupture de la membrane (ROM).

Aucune différence biologique n'est attendue entre ces échantillons périnataux et ceux collectés avant l'accouchement.

<sup>7</sup> Valeur prédictive positive.

<sup>8</sup> Valeur prédictive négative.

**Tableau 2.** Performances du Test Xpert GBS et du 2<sup>nd</sup> test TAAN<sup>1</sup> relatifs à la culture

Catégorie	GBS Xpert						2 <sup>nd</sup> test TAAN <sup>1</sup>					
	Sensibilité	CI inférieur	CI supérieur	Spécificité	CI inférieur	CI supérieur	Sensibilité	CI inférieur	CI supérieur	Spécificité	CI inférieur	CI supérieur
Total	88,6 % (178/201)	83,3 %	92,6 %	96,7 % (561/580)	94,9 %	98,0 %	77,9 % (155/199)	71,5 %	83,5 %	96,3 % (567/589)	94,4 %	97,6 %
Avant l'accouchement	85,3 % (87/102)	76,9 %	91,5 %	98,1 % (259/264)	95,6 %	99,4 %	74,5 % (76/102)	64,9 %	82,6 %	97,0 % (263/271)	94,3 %	98,7 %
Pendant l'accouchement	91,9 % (91/99)	84,7 %	96,4 %	95,6 % (302/316)	92,7 %	97,6 %	81,4 % (79/97)	72,3 %	88,6 %	95,6 % (304/318)	92,7 %	97,6 %
ROM <sup>2</sup>	91,3 % (21/23)	72,0 %	98,9 %	94,3 % (100/106)	88,1 %	97,9 %	90,9 % (20/22)	70,8 %	98,9 %	95,2 % (100/105)	89,2 %	98,4 %
Pas de ROM <sup>3</sup>	92,1 % (70/76)	83,6 %	97,0 %	96,2 % (202/210)	92,6 %	98,3 %	78,7 % (59/75)	67,7 %	87,3 %	95,8 % (204/213)	92,1 %	98,0 %

<sup>1</sup> Le 2<sup>nd</sup> test TAAN cible une séquence dans le gène *cfb* et a été approuvé au préalable par la FDA (Food and Drug Administration, autorité américaine de surveillance des aliments et des médicaments).

<sup>2</sup> Sous-ensemble des femmes en phase périnatale dont les échantillons ont été collectés après la rupture de la membrane (ROM).

<sup>3</sup> Sous-ensemble des femmes en phase périnatale dont les échantillons ont été collectés avant la rupture de la membrane (ROM).

Le tableau suivant présente une comparaison directe de 2 tests de PCR, le Test Xpert GBS et le 2<sup>nd</sup> test TAAN.

**Tableau 3.** Comparaison directe des deux tests de PCR

	Résultats de culture positifs			Résultats de culture négatifs			Résultats de culture non disponibles			Total du Test Xpert GBS
	2 <sup>nd</sup> test TAAN positif	2 <sup>nd</sup> test TAAN négatif	Non résolu	2 <sup>nd</sup> test TAAN positif	2 <sup>nd</sup> test TAAN négatif	Non résolu	2 <sup>nd</sup> test TAAN positif	2 <sup>nd</sup> test TAAN négatif	Non résolu	
Positif au GBS Xpert	149	27	2	10	9	0	0	0	0	197
Négatif au GBS Xpert	6	17	0	11	549	1	0	3	0	587
Non valide/Erreur/ Pas de résultat	0	0	0	1	9	0	0	0	0	10
<b>Total du 2<sup>nd</sup> test TAAN</b>	<b>165</b>	<b>44</b>	<b>2</b>	<b>22</b>	<b>567</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>794</b>

Le tableau 4 présente le nombre de patients testés dans chacun des sites des six laboratoires cliniques participant à l'évaluation et les performances estimées du Test Xpert GBS (comparées aux résultats de la culture).

**Tableau 4.** Comparaison site par site

Site des tests cliniques	Patientes en phase prénatale	Patientes en phase périnatale	Nombre total de patientes	Résultats de culture positifs	Prévalence	Test Xpert GBS sans résultat		Sensibilité			Spécificité		
						Initialement	Après répétition	Estimation	Inférieure à 95 %	Supérieure à 95 %	Estimation	Inférieure à 95 %	Supérieure à 95 %
1	0	51	51	11	21,6 %	4	1	72,7 %	39,0 %	94,0 %	92,3 %	79,1 %	98,4 %
2	113	5	118	31	26,3 %	12	2	90,3 %	74,2 %	98,0 %	97,6 %	91,8 %	99,7 %
3	94	0	94	17	18,1 %	9	1	76,5 %	50,1 %	93,2 %	100,0 %	95,3 %	100,0 %
4	64	175	239	75	31,4 %	13	2	85,3 %	75,3 %	92,4 %	96,3 %	92,1 %	98,6 %
5	22	152	174	38	21,8 %	16	1	97,4 %	86,2 %	99,9 %	94,8 %	89,6 %	97,9 %
6	80	35	115	29	25,2 %	11	3	96,6 %	82,2 %	99,9 %	98,8 %	93,5 %	100,0 %
<b>Total</b>	373	418	791	201	25,4 %	65	10	88,6 %	83,3 %	92,6 %	96,7 %	94,9 %	98,0 %

**Remarque :** Pour le site 6, 3 résultats de culture périnatale dans de la gélose du sang étaient manquants.

### Analyse du temps d'exécution

Les temps d'exécution pour les 390 sujets en phase périnatale retenus pour le test clinique sont décrits ci-dessous. Le temps d'exécution moyen à partir du début de la réalisation initiale du Test Xpert GBS jusqu'au signalement des résultats était de 1,84 heures (tous les 390 sujets). Le temps d'exécution moyen pour les 360 sujets ayant donné des résultats valides à la première tentative était de 1,76 heures. Le temps d'exécution moyen pour les 30 sujets ayant donné des résultats valides à la seconde tentative était de 2,74 heures. Le temps d'exécution intermédiaire pour les 360 échantillons ayant donné des résultats valides était de 1,47 heures et de 2,44 heures pour les 30 sujets ayant donné des résultats valides lors de la seconde tentative.

**Tableau 5.** Temps d'exécution à partir du lancement initial du test jusqu'au signalement des résultats de SGB des 390 patientes en phase périnatale

	Total	Résultats lors de la première tentative	Résultats lors de la seconde tentative
<b>Moyen (heures)</b>	1,84	1,76	2,74
<b>Intermédiaire (heures)</b>	1,48	1,47	2,44

### Spécificité analytique

L'ADN obtenu dans le commerce, génomique et purifié à partir de 101 souches représentant 28 streptocoques, 73 autres espèces comprenant des souches phylogénétiquement proches du *S. agalactiae*, d'autres microflores (bactéries et levures) généralement présentes dans la flore vaginale et anale et de l'ADN humain ont été testés. Des réplicats des trois ont été testés avec la réaction 1,5 ng/25 µl (env.  $2 \times 10^5$  copies de génome équivalentes par réaction). Aucun des 28 isolats streptococciques (non-SGB) n'a été testé positif. Parmi les 73 souches restantes, quatre d'entre elles (*Enterococcus gallinarum*, *Staphylococcus simulans*, *Micrococcus luteus* et *Propionibacterium acnes*) ont été faiblement positives dans l'un des six réplicats.

## Sensibilité analytique

La sensibilité analytique, ou limite de détection (LDD), a été déterminée à l'aide de 11 souches de *S. agalactiae*. Neuf sérotypes de SGB distincts ont été identifiés (Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII et VIII). La plupart des cas de septicémies néonatales provoquées par le SGB sont attribués à l'un des quatre sérotypes suivants : Ia, Ib, II ou III. Le SGB de type V est apparu comme une cause importante d'infection au SGB aux États-Unis et des souches des types VI et VIII sont répandues chez les Japonaises.<sup>9</sup> Des cultures quantitatives ont été testées en quatre réplicats. Le tableau 6 présente la concentration la plus faible de chaque sous-type donnant un résultat positif dans les quatre réplicats.

**Tableau 6.** Limite de détection obtenue pour chaque sérotype testé

Sérotype	Bactérie souche écouvillon
ATCC 12973 (II)	250
Ia/c	250
Ib/c	250
II	250
III	250
IV	250
IVc	250
V	250
VI	250
VII	250
VIII	250



## Reproductibilité

Une série d'échantillons présentant des concentrations variables de SGB et de *Lactobacillus acidophilus* (négative) a été testée en trois exemplaires, pendant 10 jours distincts, sur chacun des trois sites (4 échantillons  $\times$  3  $\times$  10 jours  $\times$  3 sites). Un lot de kits GBS Xpert a été utilisé sur chacun des 3 sites de test, conformément à la procédure GBS Xpert.

**Tableau 7.** Résumé des résultats de reproductibilité

Échantillon de bactérie souche/écouvillon	Sites			Résultats attendus		
	Site 1	Site 2	Site 3	(plage du Ct) <sup>1</sup>	Accord total	% Accord total
Négatif au SGB <i>L. acidophilus</i> $1,7 \times 10^4$ Bactérie souche/écouvillon	30/30	30/30	30/30	Négatif (0, ou >42)	90/90	100 %
SGB faible $6,2 \times 10^2$ Bactérie souche/écouvillon	30/30	30/30	30/30	Positif (31 à 41)	90/90	100 %
SGB modéré $8,3 \times 10^3$ Bactérie souche/écouvillon	30/30	30/30	30/30	Positif (27 à 37)	90/90	100 %
SGB élevé $1,3 \times 10^6$ Bactérie souche/écouvillon	30/30	30/30	30/30	Positif (19 à 29)	90/90	100 %
Accord total	120/120	120/120	120/120		360/360	100 %
% Accord	100 %	100 %	100 %		100 %	100 %

<sup>1</sup>Plage attendue de valeurs de Ct ; toutes les valeurs étaient comprises dans les plages attendues.

## Références

- <sup>1</sup> Schrag et al. A population-based comparison of strategies to prevent early-onset group B streptococcal disease in neonates. NEJM. 2002; 247(4): 233-239.
- <sup>2</sup> Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. MMWR 2002; 51 (No. RR-11):« 1-26.
- <sup>3</sup> Schuchat A. Epidemiology of Group B Streptococcal Disease in the United States: Shifting Paradigms. Clin Micro Rev. 1998; 11(3): 497-513.
- <sup>4</sup> Davis et al. Multicenter Study of a Rapid Molecular-Based Assay for the Diagnosis of Group B Streptococcus Colonization in Pregnant Women. C. Infectious Disease. 2004; 30: 1129-35.
- <sup>5</sup> Puopolo et al. Early-Onset Group B Streptococcal Disease in the Era of Maternal Screening. Pediatrics. 2005; 115:1240-1246.
- <sup>6</sup> 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.
- <sup>7</sup> 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).
- <sup>8</sup> Yancey MK, Schuchat A, Brown LK, Ventura VL, Markenson GR. The accuracy of late antenatal screening cultures in predicting genital group B streptococcal colonization at delivery. Obstet Gynecol 1996; 88: 811-15.
- <sup>9</sup> Paoletti, Lawrence C., Ph.D. Research Interests. Accessed 07/19/2006. < <http://www.channing.harvard.edu/paoletti.htm>>.

## Assistance

Pour bénéficier d'une assistance, contactez Cepheid en utilisant l'une des informations relatives aux contacts suivantes. Assurez-vous de communiquer le numéro de série de l'appareil et le numéro d'identification du lot d'agents réactifs lorsque vous appelez ou envoyez un courrier électronique.

### Amérique du Nord

Pour bénéficier d'une assistance technique, utilisez les informations relatives aux contacts suivantes :

Tél. : +1 888 838 3222 Option 2

Courrier électronique : [techsupport@cepheid.com](mailto:techsupport@cepheid.com)

Vous pouvez joindre l'assistance technique de Cepheid par téléphone du lundi au vendredi, de 5h00 à 17h00, heure du Pacifique.

### Union européenne

Pour bénéficier d'une assistance technique, utilisez les informations relatives aux contacts suivantes :












Tél. : +33 563 82 53 19

Courrier électronique : [techsupport@cepheideurope.fr](mailto:techsupport@cepheideurope.fr)

### Autres sites

Contactez votre représentant local Cepheid.

## Tableau des symboles

Symbole	Signification
	Numéro catalogue
	Appareil à usage médical de diagnostic in vitro
	À ne pas réutiliser
	Attention, consultez le document d'accompagnement
	Fabricant
	Contenu suffisant pour <n> tests
	Date limite d'utilisation
	Contrôle
	Mandataire de la Communauté européenne
	Limitation de la température
	Risque biologique

### Fabricant

Cepheid  
 904 Caribbean Drive  
 Sunnyvale, CA 94089-1189  
 USA

Tél. : +1.408.541.4191  
 Télécopie : +1.408.541.4192

### Représentant agréé

Cepheid Europe  
 Vira Solelh  
 81470 Maurens-Scopont  
 France

Tél. : +33.563.82.53.00  
 Télécopie : +33.563.82.53.01  
 Courrier électronique : cepheid@cepheideurope.fr





# Deutsch

---

Medizinisches Gerät zur *In-vitro*-Diagnostik

## Markenname

Xpert® GBS

## Üblicher Name

Xpert GBS-Test

## Verwendungszweck

Beim Cepheid Xpert GBS-Test, der mit dem GeneXpert Dx-System ausgeführt wird, handelt es sich um einen Qualitäts-*In-vitro*-Diagnostiktest. Er ist für den DNA-Nachweis von Streptokokken der Gruppe B (GBS) in Abstrichen aus Vagina und Rektum ausgelegt. Zum Nachweis der amplifizierten DNA verwendet die voll automatisierte Echtzeit-Polymerase-Kettenreaktion (PCR) mit fluorogenem Nachweis der amplifizierten DNA. Das Xpert GBS-Testverfahren ist schnellen GBS-Infizierung vor und während der Entbindung vorgesehen.

- Durch den Einsatz des Xpert GBS-Tests beim Screening während der Entbindung sollten andere Verfahren (beispielsweise Tests vor der Entbindung) nicht ausgeschlossen werden. Die Ergebnisse des Xpert GBS-Tests während der Entbindung sind hilfreich, um diejenigen Frauen zu ermitteln, die für eine Antibiotikaphylaxe während der Entbindung in Frage kommen, da hierbei die intravenöse Verabreichung von Antibiotika nicht wegen noch ausstehender Ergebnisse verzögert wird.
- Der Xpert GBS-Test liefert keine Ergebnisse im Hinblick auf die Sensibilität. Zur Durchführung eines Sensibilitätstests, der bei Frauen mit Penicillinallergie empfehlenswert ist, werden Kulturisolate benötigt.

## Zusammenfassung und Erklärung

Die bakterielle GBS-Infektion geht mit einer schweren Erkrankung bei Neugeborenen einher, deren Mütter mit den Mikroorganismen infiziert sind. Die GBS-Übertragung erfolgt vor der Entbindung (ante partum) oder während der Entbindung (intra partum) von den mit GBS infizierten Frauen auf deren Kinder. In den Vereinigten Staaten ist die GBS-Infektion die Haupttodesursache bei Neugeborenen, bei denen es zu einer Sepsis, Pneumonie oder Meningitis kommt.<sup>1,2,3</sup>

Gegenwärtig wird bei schwangeren Frauen zur Prävention der GBS-Erkrankung standardmäßig in der 35. bis 37. Schwangerschaftswache ein Screening durchgeführt, um festzustellen, inwieweit sie mit GBS besiedelt sind.<sup>2</sup> Die meisten GBS-Tests vor der Entbindung werden durchgeführt, indem Kulturen angesetzt werden; bis die endgültigen Ergebnisse vorliegen, dauert es in der Regel zwei bis drei Tage. Dieser zeitliche Rahmen ist bei den meisten Frauen ausreichend, um Ergebnisse aus GBS-Kulturen vor der Entbindung zu erlangen; bei einigen Frauen liegen die GBS-Ergebnisse jedoch u. U. beim Einsetzen der Wehen noch nicht vor. Der von Cepheid entwickelte Xpert GBS-Test zum Nachweis von GBS direkt aus Abstrichen aus Vagina und Rektum dauert ab Testbeginn höchstens ca. 50 Minuten.

Wenn der GBS-Status während der Wehen unbekannt ist, ist der risikobasierte Ansatz zur Erkennung kolonisierter Mütter weniger effektiv als das Screening vor der Entbindung und die Durchführung eines Sensibilitätstests bei Frauen mit Penicillinallergie ist nicht möglich. Bei Frauen, bei denen keine Vorsorgeuntersuchungen durchgeführt wurden oder bei denen eine vorzeitige Entbindung möglich ist oder deren GBS-Testergebnisse zum Zeitpunkt der Entbindung nicht vorliegen, kann ebenfalls der Test angewendet werden, um notwendige Antibiotikagaben an Frauen zu verhindern, bei denen ansonsten keine Indikation für eine Prophylaxe gegeben ist, während Frauen, die mit GBS infiziert sind, angemessen behandelt werden können, sodass es bei Neugeborenen seltener zu Sepsis oder Meningitis kommt.<sup>5</sup> Ein wirksamer GBS-Test während der Entbindung für Schwangere, bei denen die Wehen einsetzen, ohne dass ein GBS-Status bekannt ist, setzt voraus, dass unverzüglich ein Abstrich genommen wird und dass die Ergebnisse schnell genug vorliegen, sodass noch vor der Entbindung mit der Antibiotikaphylaxe unter Einhaltung der empfohlenen Dauer begonnen werden kann.

## Prinzipien der Prozedur

Das GeneXpert Dx-System automatisiert und integriert die Lyse der Probe, die Reinigung und Amplifikation von Nukleinsäuren und den Nachweis der Zielsequenz in komplexen Proben mittels reverser Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR) in Echtzeit. Das System besteht aus einem Instrument und einem PC mit vorinstallierter Software, die zur Ausführung von Tests an entnommenen Proben und zur Anzeige der Ergebnisse dient. Das System sieht die Verwendung von GeneXpert-Einwegkartuschen vor, die die PCR-Reagenzien enthalten und in denen der PCR-Prozess abläuft. Da die Kartuschen in sich abgeschlossen sind, wird das Kreuzkontaminationsrisiko minimiert. Eine vollständige Beschreibung des Systems ist im *Benutzerhandbuch zum GeneXpert Dx-System* zu finden.


Der Xpert GBS-Test beinhaltet Reagenzien zum gleichzeitigen Nachweis der GBS-Ziel-DNA, eine Probenverarbeitungskontrolle (SPC) zur Überwachung der Verarbeitungsbedingungen und eine interne Kontrolle (IC) zur Überwachung der PCR-Bedingungen und zur Sicherstellung, dass keine Reaktionsinhibitoren vorliegen. Mit der Sondenprüfungsfunktion werden die Dehydrierung der Reagenzien, die Befüllung des PCR-Gefäßes in der Kartusche, die Sondenintegrität und die Farbstabilität überprüft. Die GBS-Primer und die Sonde erkennen ein Ziel innerhalb einer 3'-DNA-Region neben dem *cfb*-Gen von *S. agalactiae*.

Nachdem ein Abstrich genommen und dorthin gebracht wurde, der Abstrichtupfer wird in die Xpert GBS-Kartusche eingeführt. Das GeneXpert Dx-System führt die Probenvorbereitung durch, indem es das Probenmaterial aus dem Abstrich eluiert, das Probenreagenz mit der SPC (*Bacillus globigii* in Form eines Kügelchens in der Kartusche) und dem Behandlungsreagenz vermischt, das Zellmaterial auf einem Filter einfängt, die Zellen lysiert und die DNA eluiert. Anschließend wird die DNA-Lösung mit PCR-Trockenreagenzien gemischt und zur

Echtzeit-PCR bzw. zum Echtzeit-Nachweis in das integrierte Reaktionsgefäß übertragen. Das GeneXpert Dx-System interpoliert die Ergebnisse aus gemessenen Fluoreszenzsignalen und eingebetteten Berechnungsalgorithmen. Die Ergebnisse können angezeigt und gedruckt werden. Das Testverfahren dauert höchstens ca. 50 Minuten.

## Reagenzien und Instrumente

### Im Lieferumfang enthaltenes Material

 Das Xpert GBS-Kit (GXGBS-100N-10) enthält Reagenzien zur Verarbeitung von 10 Patienten- oder Qualitätskontrollproben.

Das Kit enthält Folgendes:

**Xpert GBS-Kartuschen mit integrierten Reaktionsgefäßen** **10**  
**Kügelchen 1 (gefriergetrocknet)** **1 pro Kartusche**

- Polymerase-Inhibitor-Komplex
- BSA (Bovine Serum Albumin)

**Kügelchen 2 (gefriergetrocknet)** **1 pro Kartusche**

- Primer
- Sonden
- dNTPs
- DNA für die interne Kontrolle (IC)
- BSA (Bovine Serum Albumin)

**Kügelchen 3 (gefriergetrocknet)** **1 pro Kartusche**

- Probenverarbeitungskontrolle (SPC) (~2000 *B. globigii*-Sporen) für die Probenvorbereitungskontrolle

**Reagenz 1 (Tris-Puffer, EDTA, Tenside)** **3,0 ml pro Kartusche**

**Reagenz 2 (Natriumhydroxid)** **3,0 ml pro Kartusche**

**CD** **1 pro set**

- Untersuchungsdefinitionsdateien (ADF)
- Anweisungen an die ADF in die Software GX importieren
- Packungsbeilage

### Hinweis:

- Für alle in diesem Kit verwendeten Reagenzien erhalten Sie vom Cepheid Kundendienst auf Nachfrage die entsprechenden Sicherheitsdatenblätter. Zudem können Sie diese Datenblätter jederzeit auch auf der Internetseite von Cepheid ([www.cephheid.com](http://www.cephheid.com) und [www.cephheidinternational.com](http://www.cephheidinternational.com)) einsehen.
- Das Rinderserum-Albumin (BSA) in diesem Produkt wurde ausschließlich aus Rinderplasma hergestellt, das aus den USA stammt. Auch die Herstellung des BSA erfolgte in den USA. Die Tiere erhielten keinerlei Wiederkäuer- oder anderes Tierprotein mit dem Futter und wurden ante- und post-mortem Tests unterzogen. Bei der Verarbeitung wurde das Material nicht mit anderen Tiermaterialien vermischt.



### Lagerung und Handhabung

- Das Xpert GBS-Kit bei 2 – 28 °C lagern.
- Reagenzien und Kartuschen, die das Verfallsdatum überschritten haben, dürfen nicht verwendet werden.



### Materialien, die nicht im Lieferumfang enthalten sind

- Das GeneXpert Dx-System (die Katalognummer hängt von der Konfiguration ab). GeneXpert-Instrument, Computer, Strichcode-Lesegerät und Benutzerhandbuch
- Drucker (Kompatibilitätshinweise finden Sie im *Benutzerhandbuch zum GeneXpert Dx-System*.)
- Cepheid Abstrichtupfer (Teilenummer 900-0370)
- Sterile Einweg-Transferpipette (nur zur Testwiederholung)

### Erhältliche Materialien, die nicht im Lieferumfang enthalten sind

- KWIK-STIK™ (MicroBioLogics, Kat.-Nr. 8164: Jeweils eine Positivkontrolle der Klasse „Niedrig“ der Streptokokkenspezies (Gruppe B), eine Positivkontrolle der Klasse „Mittel“, eine Positivkontrolle der Klasse „Hoch“ und *L. acidophilus* als Negativkontrolle)

### Warnungen und Vorsichtshinweise



- Alle biologischen Proben und auch die gebrauchten Kartuschen sind als potenziell infektiös zu behandeln. Da es oft unmöglich ist zu bestimmen, welche Probe infektiös ist, sollten alle biologischen Proben mit den üblichen Sorgfaltsmaßnahmen behandelt werden. Die Richtlinien zum Umgang mit Proben sind bei der US-amerikanischen CDC (Center for Disease Control and Prevention)<sup>6</sup>, US-amerikanische staatliche Behörde für den Schutz der Bevölkerung vor Krankheiten und Seuchen) und beim Clinical and Laboratory Standards Institute (US-amerikanisches Institut für Standards in Klinik und Labor; früher National Committee for Clinical Laboratory Standards)<sup>7</sup> erhältlich.
- Es sind die Sicherheitsprozeduren der jeweiligen Institution für den Umgang mit Chemikalien und die Handhabung von biologischen Proben zu beachten.
- Der Xpert GBS-Test liefert keine Ergebnisse im Hinblick auf die Sensibilität. Zur Durchführung eines Sensibilitätstests, der bei Frauen mit Penicillinallergie empfehlenswert ist, werden Kulturisolate benötigt.
- Der Xpert GBS-Kartuschendeckel darf nur geöffnet werden, um die Probe einzufüllen.
- Kartuschen, die nach Einfüllen der Probe fallen gelassen oder geschüttelt wurden, dürfen nicht verwendet werden.
- Gebrauchte Kartuschen dürfen nur zur Testwiederholung geöffnet werden und dann auch nur, um die eluierte Probe mit einer Pipette aus der Kammer „S“ zu entnehmen.
- Jede Xpert GBS-Einwegkartusche dient zur Durchführung eines einzigen Tests. Gebrauchte Kartuschen nicht erneut verwenden.
- Für eine ordnungsgemäße Entsorgung gebrauchter Probenkartuschen und nicht verwendeter Reagenzien fragen Sie bitte den Umweltbeauftragten Ihrer Einrichtung. Dieses Material kann nach dem föderalen EPA Resource conservation and Recovery Act (RCRA) Eigenschaften von Sondermüll besitzen, der besondere Entsorgungsbedingungen vorschreibt. Einrichtungen außerhalb der USA müssen ihre länderspezifischen Entsorgungsbedingungen für Sondermüll konsultieren. Prüfen Sie bitte auch die regionalen und Ländervorschriften, da diese von den Entsorgungsvorschriften des Bundes abweichen können.



- Das Xpert GBS-Kit bei 2 – 28 °C lagern.



- Reagenz 2 enthält Natriumhydroxid (ph > 12.5); (R34 EU Risiko), welches für Augen und Haut ätzend ist. Die Handhabung benötigt daher Augen- und Hautschutz.

### Probensammlung und -transport



Zur Gewinnung geeigneter Proben sind die Anweisungen in diesem Abschnitt streng zu befolgen.

Die Proben sind gemäß den CDC-Empfehlungen mit dem Cepheid Abstrichtupfer zu nehmen:<sup>2</sup> Es ist wie folgt vorzugehen:

1. Überschüssige Sekrete oder Ausfluss wegwischen.
2. Die beiden markierten Abstrichtupfer aus dem Transportbehälter nehmen.
3. Die beiden markierten Abstrichtupfer vorsichtig in die Vagina der Patientin einführen. Eine Probe des Sekrets aus der Schleimhaut im unteren Drittel der Vagina entnehmen. Die Abstrichtupfer dreimal drehen, um sicherzustellen, dass die Proben an beiden Abstrichtupfern übereinstimmen.
4. Dieselben beiden markierten Abstrichtupfer vorsichtig ca. 2,5 cm durch den Analsphinkter hindurch einführen und zur Probenentnahme an den Sinus anales vorsichtig drehen.

- Die beiden markierten Abstrichtupfer in den Transportbehälter legen.
- Falls die Proben innerhalb von 24 Stunden verarbeitet werden, bei Raumtemperatur lagern. Falls die Proben nach Ablauf von 24 Stunden getestet werden, bis zur Durchführung des Tests kühlen lagern. Proben, die bei 2 bis 8 °C gelagert werden, sind bis zu sechs Tagen haltbar.

## Prozedur

### Vorbereiten der Kartusche

**Wichtig:** Den Test innerhalb von 15 Minuten nach Einfüllen der Probe in die Kartusche beginnen.

**Hinweis:** Es wird nur ein Abstrichtupfer benötigt. Der zweite Abstrichtupfer ist ein zusätzlicher Tupfer, der für den Sensibilitätstest verwendet werden kann. Zur Durchführung eines Sensibilitätstests, der bei Frauen mit Penicillinallergie empfehlenswert ist, werden Kulturisolate benötigt. Nicht zwei Abstrichtupfer auf einmal zu einer Kartusche hinzufügen.

Laden der Probe in die Kartusche (Xpert GBS):

- Die Kartusche aus der Verpackung nehmen.
- Den Kartuschendeckel öffnen.
- Den markierten Abstrichtupfer aus dem Behälter nehmen. Die beiden Abstrichtupfer vorsichtig mit einer Drehbewegung aneinander reiben, sodass sich an beiden Tupfern dieselbe Menge Probenmaterial befindet.
- Einen Tupfer in die Xpert GBS-Kartuschenkammer S. einschieben.
  - Nicht beide Tupfer in die Kartusche einschieben.
  - Den zweiten Abstrichtupfer zum anschließenden Testen der antimikrobiellen Sensibilität durch das Mikrobiologielabor für GBS-positive Patientinnen in den Sammel-/Transportbehälter legen. Zur Durchführung eines Sensibilitätstests, der bei Frauen mit Penicillinallergie empfehlenswert ist, werden Kulturisolate benötigt.
- Den Abstrichtupfer so anheben, dass die schwarze Markierung in der Aussparung zentriert ist.
- Den Tupfer durch Abknicken des Schafts nach rechts abbrechen.
- Den Kartuschendeckel schließen.



**Figure 1.** Xpert GBS-Kartusche (Draufsicht)



## Testbeginn

In diesem Abschnitt werden die Grundschrirte der Testausföhrung beschrieben. Für genauere Anweisungen das *Benutzerhandbuch zum GeneXpert Dx-System* verwenden.

1. Schalten Sie das GeneXpert Dx System ein und anschließend den Computer. Die GeneXpert Software startet automatisch.
2. Mit Ihrem Benutzernamen und Kennwort bei der GeneXpert Dx-Systemsoftware anmelden.
3. Im Fenster GeneXpert Dx System auf **Create Test** (Test erstellen) klicken. Daraufhin wird das Dialogfeld Scan Cartridge Barcode (Probenbehälter-Strichcode scannen) angezeigt.
4. Den Strichcode der Xpert GBS-Kartusche einscannen. Das Fenster Create Test (Test erstellen) wird geöffnet. Mithilfe der Strichcodeinformationen gibt die Software automatisch die Daten in die folgenden Felder ein: Select Assay (Untersuchung auswählen), Reagent Lot ID (Reagenzienchargen-ID), Cartridge SN (Kartuschen-SN) und Expiration Date (Verfallsdatum).
5. Die **Sample ID** (Proben-ID) in das Feld einscannen oder -tippen. Die Proben-ID hängt mit den Testergebnissen zusammen und wird im Fenster **View Results** (Ergebnisse anzeigen) und in allen Berichten angezeigt.
6. Auf **Start Test** (Test starten) klicken. Das Kennwort in das angezeigte Dialogfeld eingeben.
7. Die Tür des Instrumentenmoduls mit der grün blinkenden Anzeige öffnen und die Kartusche laden.
8. Die Tür schließen. Der Test beginnt und die grüne Lampe hört auf zu blinken. Wenn der Test abgeschlossen ist, geht die Lampe aus.
9. Die Modultür kann erst geöffnet und die Kartusche entnommen werden, wenn das System die Tür entriegelt hat.
10. Falls absolut erforderlich, kann das Probeneluat mit einer Transferpipette aus der mit „S“ gekennzeichneten Kartuschenkammer entnommen werden. Dieses Eluat kann als Backup für den zugehörigen zweiten Abstrich verwendet werden, der bei der Patientin zur Durchführung des Sensibilitätstests durch das Mikrobiologielabor genommen wurde. Das Züchten von Kulturen aus Xpert GBS Reagenz 1 wurde nicht validiert. Die Labore müssen ihre eigenen Verfahren zum Züchten von Kulturen validieren oder mit dem zweiten Abstrichtupfer eine kulturbasierte Identifikation und einen Sensibilitätstest durchführen.
11. Die gebrauchten Kartuschen sind gemäß den Standardverfahren Ihrer Institution in entsprechenden Probenabfallbehältern zu entsorgen.

## Anzeigen und Drucken der Ergebnisse

Siehe das *Benutzerhandbuch zum GeneXpert Dx-System* für genaue Informationen zum Anzeigen und Drucken der Ergebnisse.

**CONTROL Qualitätskontrolle**

Jeder Test beinhaltet die folgenden internen Kontrollen sowie eine Sondenprüfung.

- **Probenverarbeitungskontrolle (SPC):** Sicher stellen, dass die Probe ordnungsgemäß verarbeitet wurde. Bei der SPC handelt es sich um *B. globigii* in Form eines Trockenkügelchens, das Bestandteil einer jeden Kartusche ist. Bei der SPC werden der Lyse- und der Elutionsvorgang überwacht. Die SPC sollte erfolgreich verlaufen – einen gültigen Zyklusgrenzwert (Ct) in einer Negativprobe generieren – und darf in einer hochgradig positiven Probe nicht amplifizieren. Die SPC gilt als bestanden, wenn sie die vorbestimmten Akzeptanzkriterien erfüllt.
- **Interne Kontrolle (IC):** Überprüft die Funktionstüchtigkeit der PCR-Reagenzien und ob Inhibitoren vorhanden sind, durch die die PCR-Amplifikation verhindert würde. Die IC sollte erfolgreich verlaufen – einen gültigen Ct in einer Negativprobe generieren – und darf in einer hochgradig positiven Probe nicht amplifizieren. Die IC gilt als bestanden, wenn sie die vorbestimmten Akzeptanzkriterien erfüllt.
- **Sondenprüfung:** Vor Beginn der PCR-Reaktion misst das GeneXpert Dx-System das Fluoreszenzsignal aus den Sonden, um die Dehydrierung der Reagenzkügelchen, die Befüllung des Reaktionsgefäßes, die Sondenintegrität und die Farbstabilität zu überwachen. Die Sondenprüfung gilt als bestanden, wenn sie die vorbestimmten Akzeptanzkriterien erfüllt.
- **Externe Kontrolle:** KWIK-STIK™ (MicroBioLogics, Katalog-Nr. 8164) kann für Schulungen, Leistungstests und externe Qualitätskontrollen des GeneXpert Dx-System verwendet werden. Externe Kontrollen können je nach Anwendungsgebiet nach Maßgabe der anerkannten lokalen, einzelstaatlichen und bundesstaatlichen Organisationen verwendet werden. Es sind die weiter unten beschriebenen externen MicroBioLogics-Kontrollverfahren anzuwenden.
  1. Den Beutel am Einschnitt aufreißen und den KWIK-STIK entnehmen.
  2. Den unteren Teil der Ampulle in den Deckel drücken, um das hydrierende Fluid freizusetzen.
  3. Vertikal halten und punktieren, um den Flüssigkeits-Flow durch den Schaft in den unteren Bereich des Geräts mit den Kügelchen zu erleichtern.
  4. Um die Auflösung des lyophilisierten Zellkügelchens zu erleichtern, das Kügelchen zerdrücken und den unteren Kammerbereich vorsichtig zusammendrücken.
  5. Den KWIK-STIK auseinanderziehen, um den Abstrichtupfer freizugeben, und den Tupfer in die Kammer „S“ in die Xpert GBS-Kartusche legen.
  6. Der KWIK-STIK-Abstrichtupfer ist nun zur Durchführung des Xpert GBS-Testverfahrens bereit.

Die Positivkontrolle der Klasse „Niedrig“ erreicht nahezu 620 CFU/Abstrichtupfer (~36 Ct) an GBS, während die Negativkontrolle nahezu 17.000 CFU/Abstrichtupfer an *Lactobacillus acidophilus* (0 Ct oder >42 Ct) erreicht.

**Interpretation der Ergebnisse**

Das GeneXpert Dx-System interpoliert die Ergebnisse aus gemessenen Fluoreszenzsignalen und eingebetteten Berechnungsalgorithmen; die Ergebnisse werden im Fenster **View Results** (Ergebnisse anzeigen) angezeigt. Die folgenden Ergebnisse sind möglich:

**POSITIVE (POSITIV)**

Es wurde GBS-Nukleinsäure nachgewiesen – eine GBS-Kolonisierung ist wahrscheinlich.

- SPC – NA (keine Angaben)
- IC – NA (keine Angaben)
- Sondenprüfung – PASS (BESTANDEN)

Der zugehörige zweite Abstrichtupfer der Patientin im Sammel-/Transportbehälter kann zur Durchführung eines antimikrobiellen Sensibilitätstests benutzt werden. Falls erforderlich, kann die gebrauchte Kartusche als Backup für den Sensibilitätstest an das Mikrobiologielabor gesendet werden.

**NEGATIVE (NEGATIV)**

Es wurde keine GBS-Nukleinsäure nachgewiesen – eine GBS-Kolonisierung ist nicht wahrscheinlich.

- GBS – NEG
- SPC – PASS (BESTANDEN)
- IC – PASS (BESTANDEN)
- Sondenprüfung – PASS (BESTANDEN)

**INVALID (UNGÜLTIG)**

Es kann nicht ermittelt werden, ob GBS vorhanden sind oder nicht. IC und/oder SPC erfüllt/erfüllen die Akzeptanzkriterien nicht, oder im Reaktionsgefäß haben sich Luftblasen gebildet.

- GBS – INVALID (UNGÜLTIG)
- SPC – FAIL\* (NICHT BESTANDEN)
- IC – FAIL\* (NICHT BESTANDEN)
- Sondenprüfung – PASS (BESTANDEN)

\* Die SPC und/oder die IC wurde(n) nicht bestanden.

**ERROR (FEHLER)**

Es kann nicht ermittelt werden, ob GBS vorhanden sind oder nicht. Eine Systemkomponente ist ausgefallen, der Maximaldruck wurde erreicht oder die Sondenprüfung wurde nicht bestanden.

- GBS – NO RESULT (KEIN ERGEBNIS)
- SPC – NO RESULT (KEIN ERGEBNIS)
- IC – NO RESULT (KEIN ERGEBNIS)
- Sondenprüfung – FAIL\* (NICHT BESTANDEN)

\* Wenn die Sondenprüfung bestanden wurde, wurde der Fehler durch den Ausfall einer Systemkomponente verursacht.

**NO RESULT (KEIN ERGEBNIS)**

Es kann nicht ermittelt werden, ob GBS vorhanden sind oder nicht. Der Verantwortliche hat den Test abgebrochen, während des Tests ist es zu einem Stromausfall gekommen oder es sind Probleme im Zusammenhang mit der Kartusche aufgetreten.

- GBS – NO RESULT (KEIN ERGEBNIS)
- SPC – NO RESULT (KEIN ERGEBNIS)
- IC – NO RESULT (KEIN ERGEBNIS)
- Sondenprüfung – NA (keine Angaben)

**Hinweis:** Wenn als Ergebnis „INVALID“ (UNGÜLTIG), „ERROR“ (FEHLER) oder „NO RESULT“ (KEIN ERGEBNIS) angezeigt wird, kann der Test wiederholt werden oder es können andere Methoden angewandt werden.

- Falls als Ergebnis „ERROR“ (FEHLER) angezeigt wird (Abbruch bei Maximaldruck oder Sondenprüfung nicht bestanden), ist unverzüglich eine Testwiederholung oder ein Test mit dem zweiten Abstrichtupfer durchzuführen oder es sind andere Methoden anzuwenden. Das Ergebnis „ERROR“ (FEHLER) kann in den ersten 30 Minuten des Tests auftreten.
- Bei einer Testdurchführung während der Entbindung ist eine Testwiederholung u. U. nicht möglich und von den Vorgehensweisen und Richtlinien der jeweiligen Einrichtung abhängig. Die Koordination zwischen den Ärzten und dem Testlabor ist wichtig, damit Antibiotikagaben, solange die Ergebnisse noch ausstehen, nicht verzögert werden.

Abbildung 2 zeigt das Fenster GeneXpert Dx System - View Results (Ergebnisse anzeigen). In dem Fenster wird der Fehlerstatus angezeigt. Klicken Sie auf die Registerkarte Errors (Fehler), um die Fehlerbeschreibungen anzuzeigen.

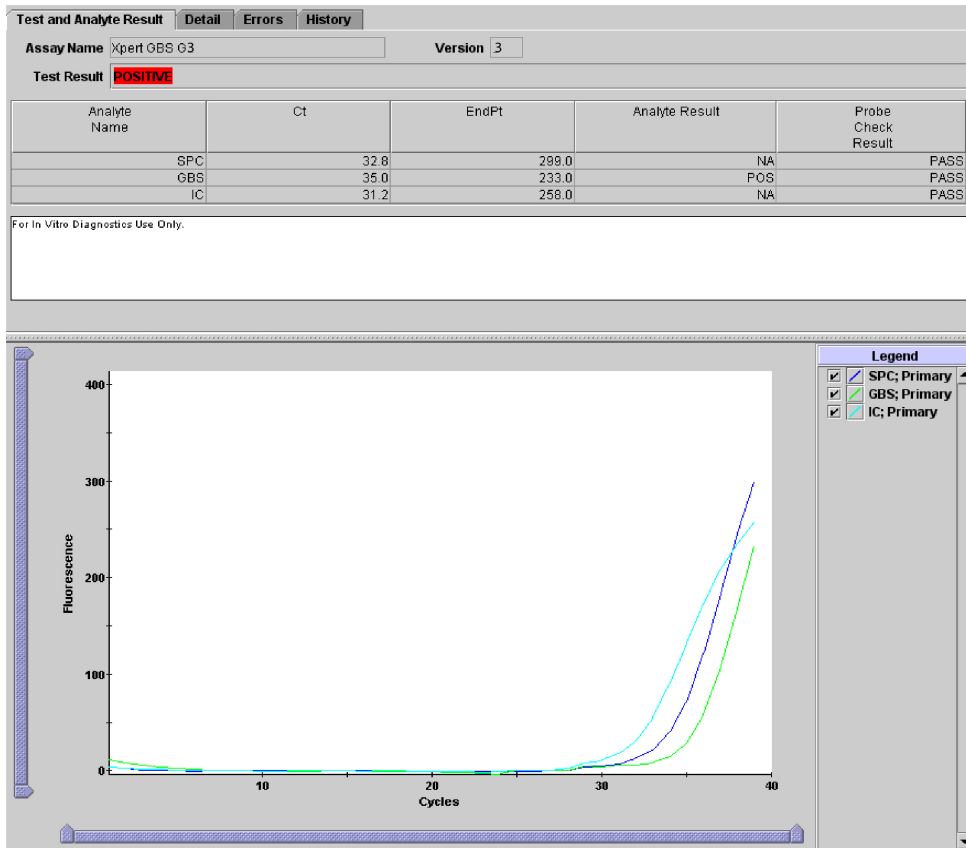


Figure 2. Das Fenster View Results (Ergebnisse anzeigen) im GeneXpert Dx-System

### Gründe für eine Wiederholung des Tests oder für die Anwendung anderer Verfahren

Den Test wiederholen oder andere Verfahren anwenden, wenn es zu einem der folgenden Testergebnisse kommt:

- **Error** (Fehler): Der Test wurde abgebrochen, da eine Systemkomponente ausgefallen ist, der Maximaldruck erreicht wurde oder die Sondenprüfung nicht bestanden wurde.
- **Invalid** (Ungültig): Die SPC und/oder die IC waren bei negativen GBS-Ergebnis nicht erfolgreich. Ungültige Ergebnisse können auch durch Luftblasen im Reaktionsgefäß verursacht werden.
- **No Result** (Kein Ergebnis): Der Verantwortliche hat den Test abgebrochen, während des Tests ist es zu einem Stromausfall gekommen oder es sind Probleme im Zusammenhang mit der Kartusche aufgetreten.

Wenn sich in der Kammer „S“ der Kartusche Fluid befindet, das gesamte Fluid mit einer Transferpipette in die Kammer „S“ einer neuen Kartusche übertragen und den Test hiermit ab erneut durchführen. Ist kein Fluid vorhanden, den Abstrichtupfer mittels einer sterilen Pinzette in eine neue Kartusche übertragen und den Test ab „Reagenz 1 in die Kartuschenkammer 1 laden“ erneut durchführen. Alternativ mit dem zweiten Abstrichtupfer eine neue Kartusche vorbereiten und den Test erneut durchführen.

## Einschränkungen

- Die Durchführung des Xpert GBS-Tests wurde in Verbindung mit dem Cepheid GeneXpert Dx-System eingerichtet, und zwar mit Proben aus Vagina und Rektum von Patientinnen vor und während der Entbindung, welche mit dem Abstrichinstrument von Cepheid (Teilenummer 900-0370) entnommen wurden. Dieses Produkt kann ausschließlich in Verbindung mit dem GeneXpert Dx-System verwendet werden. Die Verwendung eines Systems zur Probenentnahme und zum Transport, das nicht im Abschnitt „Materialien, die nicht im Lieferumfang enthalten sind“ aufgeführt ist, wird nicht empfohlen. Der Einsatz des Xpert GBS-Tests anderer klinischer Quellen wurde nicht beurteilt; ferner sind die Durchführungseigenschaften dieses Tests bei anderen Probentypen nicht bekannt.
- Fehlerhafte Testergebnisse können auf eine unsachgemäße Probenentnahme zurückzuführen sein, ferner auf die Handhabung und Lagerung, technisches Versagen, Probenvermischung oder auf den Umstand, dass die Zahl der Organismen in der Probe durch den Test nicht nachzuweisen ist. Zur Vermeidung fehlerhafter Ergebnisse sind die Anweisungen in diesem Abschnitt und die Anweisungen im *Protokoll zur Entnahme von Proben aus Vagina und Rektum* einzuhalten. Gegenüber einer Probenentnahme vom Gebärmutterhals oder nur aus der Vagina, ohne gleichzeitig auch eine Probe aus dem Rektum zu entnehmen, verbessert die Abstrichnahme aus der unteren Vagina und dem Rektum das Ergebnis wesentlich.
- Da der Nachweis von Streptokokken der Gruppe B von der Anzahl der Organismen in der Probe abhängig ist, ist die ordnungsgemäße Entnahme, Handhabung und Lagerung der Proben zur Erzielung verlässlicher Ergebnisse unverzichtbar. Es wird empfohlen, in der 35. bis 37. Schwangerschaftswoche einen Test durchzuführen, um die Sensitivität und die Spezifität im Hinblick auf den Nachweis bei Frauen zu verbessern, die zum Zeitpunkt der Entbindung weiterhin kolonisiert sind.
- Die Schulung des Personals, das mit dem GeneXpert Dx-System umgeht, ist zur Sicherstellung genauer und rechtzeitig vorliegender Ergebnisse von großer Bedeutung.
- Die erneute Durchführung des Xpert GBS-Tests, wenn das Ergebnis „INVALID“ (UNGÜLTIG), „ERROR“ (FEHLER) oder „NO RESULT“ (KEIN ERGEBNIS) lautet, sollte von den Vorgehensweisen und Richtlinien der jeweiligen Einrichtung abhängig gemacht werden. Es sollten Alternativverfahren (wie z. B. das Züchten von Kulturen über 18 – 24 Stunden mit einer selektiven Anreicherungsbouillon) zur Verfügung stehen. Zur Durchführung eines Sensibilitätstests, der bei Frauen mit Penicillinallergie empfehlenswert ist, werden Kulturisolate benötigt. Zum Züchten von Kulturen sind verbleibende Abstrichproben in entsprechende Transportsysteme zu legen und über 4 Tage zu züchten. Das Züchten von Kulturen aus Xpert GBS Reagenz 1 wurde nicht validiert. Die Labore müssen ihre eigenen Verfahren zum Züchten von Kulturen validieren oder mit dem zweiten Abstrichupfer eine kulturbasierte Identifikation und einen Sensibilitätstest durchführen.
- Ein positives Testergebnis weist nicht zwingend auf das Vorhandensein lebensfähiger Organismen hin. Es lässt jedoch vermuten, dass Streptokokken der Gruppe B vorhanden sind.
- Das Testverfahren mit dem Xpert GBS-Test während der Entbindung sollte ergänzend zu anderen verfügbaren Methoden eingesetzt werden und nicht die vorgeburtlichen Tests (in der 35. bis 37. Schwangerschaftswoche) ersetzen. Der Test ist nicht dazu vorgesehen, zwischen Trägern von Streptokokken der Gruppe B und Personen mit einer Streptokokkeninfektion zu unterscheiden.
- Die Ergebnisse werden u. U. durch eine parallele Antibiotikatherapie beeinflusst. Der Therapieerfolg bzw. das Therapieversagen können daher nicht mit diesem Test bewertet werden, da die DNA nach einer antimikrobiellen Therapie u. U. weiterhin vorhanden ist.
- Es wird empfohlen, die anerkannten Laborpraktiken einzuhalten und die Handschuhe im Umgang mit den Proben verschiedener Patienten zu wechseln, um eine Kontaminierung der Proben und der Reagenzien zu vermeiden.

## Erwartete Werte

Zwischen 10 und 30 % der schwangeren Frauen sind vaginal oder rektal mit GBS infiziert. Die GBS-Infektion kann transitorisch, chronisch oder intermittierend sein. Beim Screening von Kulturen aus Vagina und Rektum auf GBS gegen Ende der Schwangerschaft im Rahmen der Schwangerschaftsvorsorge lassen sich Frauen erkennen, bei denen eine Infektion mit GBS während der Entbindung wahrscheinlich ist.<sup>2,3</sup> In verschiedenen Studien wurden gegen Ende der Schwangerschaft angesetzten Kulturen im Hinblick auf den Kolonisationsstatus zum Zeitpunkt der Entbindung Sensibilitäten von 87 % (83 – 92 % CI) und 69 % (57 – 79 % CI) und Spezifitäten von 96 % (95 – 98 % CI) und 92 % (89 – 94 % CI) ermittelt.<sup>8</sup> Während der klinischen Auswertungen für den Xpert GBS-Test zeigten sich 25,4 % der Frauen (201 von 791) im Kulturverfahren als mit GBS kolonisiert.

## Leistungsmerkmale

### Klinische Leistung

Die Leistungsmerkmale des Xpert GBS-Tests wurden in den Vereinigten Staaten im Rahmen einer multizentrischen Prospektiv-Forschungsstudie an sechs Institutionen mit Entbindungsstationen festgelegt. Jede Institution verfügte über ein auf dem Züchten von Kulturen oder auf Nukleinsäureamplifikationstests (Nucleic Acid Amplification Test (NAAT)) basierendes Screening-Programm. Die Tests wurden in klinischen Labors durchgeführt, die an die jeweilige Institution und die jeweilige Entbindungsstation angegliedert waren. In die Studie wurden sowohl Patientinnen während der Entbindung als auch Patientinnen vor der Entbindung einbezogen. Um an dem Teil der Studie teilzunehmen, bei dem Frauen während der Entbindung untersucht wurden, mussten die Frauen schriftlich zugestimmt haben und in den Wehen liegen und durften keine Kontraindikationen gegen eine vaginale Untersuchung (beispielsweise Blutungen) aufweisen. Um an dem Teil der Studie teilzunehmen, bei dem Frauen vor der Entbindung untersucht wurden, mussten die Frauen schriftlich zugestimmt haben und in der 35. bis 37. Schwangerschaftswoche sein; ferner durften sie keine Kontraindikationen gegen eine vaginale Untersuchung (beispielsweise Blutungen) aufweisen. Bei allen Patientinnen durften in der Woche vor Beginn der Teilnahme keine Anzeichen für eine Placenta praevia und keine dringende Notwendigkeit für die Einleitung der Geburt vorliegen; ferner durften keine Antibiotika verabreicht werden.

Die Proben aus Vagina und Rektum wurden bei jeder der 794 teilnehmenden Patientinnen unter Verwendung von zwei Sätzen markierter Abstrichtupfer (Abstrichinstrumente von Cepheid) entnommen. Einer der Abstrichtupfer aus dem ersten Satz wurde zum Züchten von Kulturen verwendet. Der zweite Satz markierter Abstrichtupfer wurde unterteilt: Ein Tupfer wurde für den Xpert GBS-Test auf dem GeneXpert Dx-System verwendet, während der andere Tupfer für den zweiten NAAT-Test verwendet wurde. Ziel des zweiten NAAT-Tests war eine Sequenz im *cfb*-Gen; der Test war zuvor von der US-amerikanischen Arzneimittelbehörde zugelassen worden. Die Ergebnisse dieses Tests wurden nicht zur Leistungsbewertung herangezogen. Nachdem sie im Rahmen dieser Tests verwendet worden waren, wurden alle Abstrichtupfer außerdem in LIM-Kulturbouillon eingesetzt, inkubiert, auf einer Blutagarplatte (BAP) subkultiviert und auf GBS hin beobachtet.

Jede Institution wandte das in den CDC-Richtlinien von 2002<sup>2</sup> empfohlene Kulturverfahren an: Mikrobiologische Kultur in selektiver Nährbouillon (LIM-Nährbouillon, also Todd-Hewitt-Nährbouillon supplementiert durch 15 µg/ml Nalidixinsäure und 10 µg/ml Colistin), gefolgt von 18- bis 24-stündiger Inkubation und Subkultivierung auf BAP. Die spezifische Identifikation der Kolonien, in denen sich Hinweise auf GBS fanden, erfolgte anhand von Objektträger-Agglutinationstests.

### Gesamtergebnisse

Die Leistungsmerkmale des Xpert GBS-Tests wurden durch Auswertung von Labortests ermittelt, die an Proben von 794 Schwangeren durchgeführt wurden, und zwar in 373 Fällen vor der Entbindung und in 421 Fällen während der Entbindung. Drei Frauen hatten im Kulturverfahren keine Ergebnisse und wurden aus den Analysen ausgeschlossen (0 waren Xpert GBS-positiv und 3 waren Xpert GBS-negativ), sodass 791 Kulturergebnisse verblieben, die ausgewertet werden konnten. Bei allen Patientinnen war das Kulturverfahren (wie vorstehend beschrieben) durchgeführt worden und bei den meisten war außerdem ein zweiter GBS NAAT durchgeführt worden. Ziel des zweiten NAAT ist eine Sequenz im *cfb*-Gen; der Test war zuvor von der US-amerikanischen Arzneimittelbehörde genehmigt worden und seine Ergebnisse wurden nicht zur Leistungsbewertung herangezogen. Von den 791 Fällen wurden mit dem Xpert GBS-Test im ersten Versuch 726 verwertbare Ergebnisse (91,8 %) erzielt. 65 Ergebnisse waren nicht verwertbar (d. h. sie lauteten „Invalid“ (Ungültig), „Error“ (Fehler) oder „No Result“ (Kein Ergebnis)); bei 55 dieser 65 Fälle traten diese Probleme bei einer Testwiederholung nicht mehr auf. Insgesamt waren die Kulturen bei 201 Frauen GBS-positiv; entweder auf Grund des einzelnen für das Kulturverfahren verwendeten Abstrichs oder auf Grund der eluierten Abstriche aus dem Xpert GBS- und dem zweiten NAAT-Test. Der Xpert GBS-Test erzielte anfänglich 168 positive Ergebnisse (168/201, 83,6 %). Nach der Wiederholung des Tests stiegen die positiven Ergebnisse auf 178/201 bzw. auf 88,6 % an. 590 Frauen hatten im Kulturverfahren negative Ergebnisse; mit dem Xpert GBS-Test waren anfänglich 520 Testergebnisse negativ (88,1 %); nach der Testwiederholung waren es 561 (95,1 %).

Tabelle 1 zeigt das Xpert GBS-Testverfahren basierend auf den positiven und negativen Ergebnissen der GBS-Kulturen bei 791 Patientinnen (bei 3 Patientinnen waren die Kulturen überwachsen oder konnten aus anderen Gründen nicht interpretiert werden). Die dargestellten Auswertungen der Sensitivität, der Spezifität und der negativen und positiven Werte basieren auf den Ergebnissen nach der Testwiederholung. Nach der Testwiederholung waren noch 10 Fälle ungeklärt (n = 781).

**Table 1.** Xpert GBS-Ergebnisse und Leistungsbewertung nach Patientenkatgorie

Patienten- kategorie	Ergebnisse	N <sup>1</sup> insgesamt	Patientinnen		Sensitivität nach Testwiederholung [Zuverlässigkeit 95%]	Spezifität nach Testwiederholung [Zuverlässigkeit 95%]	PPV <sup>7</sup> nach Testwiederholung [Zuverlässigkeit 95%]	NPV <sup>8</sup> nach Testwiederholung [Zuverlässigkeit 95%]
			mit positiver Kultur <sup>1</sup>	mit negativer Kultur <sup>1</sup>				
Alle Patientinnen	Xpert GBS Pos	197 (186)	178 (168)	19 (18)	88,6%	96,7%	90,4%	96,1%
	Xpert GBS Neg	584 (540)	23 (20)	561 (520)	[83,3%– 92,6%]	[94,9%– 98,0%]	[85,4%– 94,1%]	[94,2%– 97,5%]
	Kein Ergebnis <sup>2</sup>	10 (65)	0 (13)	10 (52)				
	Insgesamt	791 <sup>3</sup>	201 <sup>4</sup>	590				
Antepartum	Xpert GBS Pos	92 (88)	87 (83)	5 (5)	85,3%	98,%	94,6%	94,5%
	Xpert GBS Neg	274 (253)	15 (13)	259 (240)	[76,9%– 91,5%]	[95,6%– 99,4%]	[87,8%– 98,2%]	[94,1%– 96,9%]
	Kein Ergebnis <sup>2</sup>	7 (32)	0 (6)	7 (26)				
	Insgesamt	373	102	271				
Intrapartum	Xpert GBS Pos	105 (98)	91 (85)	14 (13)	91,9%	95,6%	86,7%	97,4%
	Xpert GBS Neg	310 (287)	8 (7)	302 (280)	[84,7%– 96,5%]	[92,7%– 97,6%]	[78,6%– 92,5%]	[95,0%– 98,9%]
	Kein Ergebnis <sup>2</sup>	3 (33)	0 (7)	3 (26)				
	Insgesamt	418	99	319				
Blasensprung <sup>5</sup>	Xpert GBS Pos	27 (24)	21 (19)	6 (5)	91,3%	94,3%	77,8%	98,0%
	Xpert GBS Neg	102 (92)	2 (2)	100 (90)	[72,0%– 98,9%]	[88,1%– 97,9%]	[57,7%– 91,4%]	[93,1%– 99,8%]
	Kein Ergebnis <sup>2</sup>	0 (13)	0 (2)	0 (11)				
	Insgesamt	129	23	106				
Kein Blasensprung <sup>6</sup>	Xpert GBS Pos	78 (74)	70 (66)	8 (8)	92,1%	96,2%	89,7%	97,1%
	Xpert GBS Neg	208 (195)	6 (5)	202 (190)	[83,6%– 97,1%]	[92,6%– 98,3%]	[80,8%– 95,5%]	[93,8%– 98,9%]
	Kein Ergebnis <sup>2</sup>	3 (20)	0 (5)	3 (15)				
	Insgesamt	289	76	213				

<sup>1</sup> Die genannten Xpert GBS-Ergebnisse sind allesamt Ergebnisse nach einer Testwiederholung. Die ursprünglichen Ergebnisse stehen in Klammern.

- <sup>2</sup> Das Ergebnis „No result“ (Kein Ergebnis) bei einem Xpert GBS-Test kann auf einen ungültigen Test, einen Systemfehler oder auf das Ergebnis „No Result“ (Kein Ergebnis) zurückzuführen sein, wenn nicht ermittelt werden konnte, ob GBS-DNA vorhanden war oder nicht.
- <sup>3</sup> Drei Patientinnen ohne Ergebnis im Kulturverfahren vor der Entbindung wurden aus den Analysen ausgeschlossen.
- <sup>4</sup> Die Gesamtprävalenz der GBS-Kolonisierung liegt gemäß Kulturverfahren bei 25,3 %.
- <sup>5</sup> Die Untergruppe der Frauen während der Entbindung, bei denen nach dem Blasensprung Proben entnommen wurden.
- <sup>6</sup> Die Untergruppe der Frauen während der Entbindung, bei denen vor dem Blasensprung Proben entnommen wurden. Unterschiede zwischen den vor der Entbindung entnommenen Proben und den während der Entbindung genommenen Proben gab es hierbei nicht.
- <sup>7</sup> Positiver Vorhersagewert.
- <sup>8</sup> Negativer Vorhersagewert.

**Table 2.** Leistung des Xpert GBS- und des zweiten NAAT-Tests<sup>1</sup> im Verhältnis zum Kulturverfahren

Kategorie	Xpert GBS						Zweiter NAAT <sup>1</sup>					
	Sensitivität	Unterer CI	Oberer CI	Spezifität	Unterer CI	Oberer CI	Sensitivität	Unterer CI	Oberer CI	Spezifität	Unterer CI	Oberer CI
Insgesamt	88,6 % (178/201)	83,3 %	92,6 %	96,7 % (561/580)	94,9 %	98,0 %	77,9 % (155/199)	71,5 %	83,5 %	96,3 % (567/589)	94,4 %	97,6 %
Antepartum	85,3 % (87/102)	76,9 %	91,5 %	98,1 % (259/264)	95,6 %	99,4 %	74,5 % (76/102)	64,9 %	82,6 %	97,0 % (263/271)	94,3 %	98,7 %
Intrapartum	91,9 % (91/99)	84,7 %	96,4 %	95,6 % (302/316)	92,7 %	97,6 %	81,4 % (79/97)	72,3 %	88,6 %	95,6 % (304/318)	92,7 %	97,6 %
Blasensprung <sup>2</sup>	91,3 % (21/23)	72,0 %	98,9 %	94,3 % (100/106)	88,1 %	97,9 %	90,9 % (20/22)	70,8 %	98,9 %	95,2 % (100/105)	89,2 %	98,4 %
Kein Blasensprung <sup>3</sup>	92,1 % (70/76)	83,6 %	97,0 %	96,2 % (202/210)	92,6 %	98,3 %	78,7 % (59/75)	67,7 %	87,3 %	95,8 % (204/213)	92,1 %	98,0 %

- <sup>1</sup> Ziel des zweiten NAAT-Tests war eine Sequenz im *cfb*-Gen; der Test war zuvor von der US-amerikanischen Arzneimittelbehörde zugelassen worden.
- <sup>2</sup> Die Untergruppe der Frauen während der Entbindung, bei denen nach dem Blasensprung Proben entnommen wurden.
- <sup>3</sup> Die Untergruppe der Frauen während der Entbindung, bei denen vor dem Blasensprung Proben entnommen wurden.

Die folgende Tabelle enthält einen direkten Vergleich der beiden PCR-Tests, des Xpert GBS- und des zweiten NAAT-Tests.

**Table 3.** Direkter Vergleich der beiden PCR-Tests

	Kultur Pos			Kultur Neg			Kultur ND			Xpert GBS insgesamt
	zweiter NAAT Pos	zweiter NAAT Neg	Ungelöst	zweiter NAAT Pos	zweiter NAAT Neg	Ungelöst	zweiter NAAT Pos	zweiter NAAT Neg	Ungelöst	
Xpert GBS Pos	149	27	2	10	9	0	0	0	0	197
Xpert GBS Neg	6	17	0	11	549	1	0	3	0	587
Ungültig/Fehler/ Kein Ergebnis	0	0	0	1	9	0	0	0	0	10
Zweiter NAAT insgesamt	165	44	2	22	567	1	0	3	0	794



Tabelle 4 enthält die Anzahl der Patientinnen, die an jedem der sechs Klinik-/Laborstandorte getestet wurden, die an der Auswertung teilgenommen haben, sowie die Leistungsbewertung der Xpert GBS-Tests (im Vergleich zu den Ergebnissen des Kulturverfahrens)..

**Table 4.** Vergleich zwischen den verschiedenen Standorten

Teststandort	Antepartum - Patientinnen	Intrapartum- Patientinnen	Patientinnen Insgesamt	Kultur Positiv	Prävalenz	Xpert GBS ohne Ergebnis		Sensitivität			Spezifität		
						Ursprünglich	Wieder- holung	Bewertung	Unterer 95%-Wert	Oberer 95%-Wert	Bewertung	Unterer 95%-Wert	Oberer 95%-Wert
1	0	51	51	11	21,6 %	4	1	72,7 %	39,0 %	94,0 %	92,3 %	79,1 %	98,4 %
2	113	5	118	31	26,3 %	12	2	90,3 %	74,2 %	98,0 %	97,6 %	91,8 %	99,7 %
3	94	0	94	17	18,1 %	9	1	76,5 %	50,1 %	93,2 %	100,0 %	95,3 %	100,0 %
4	64	175	239	75	31,4 %	13	2	85,3 %	75,3 %	92,4 %	96,3 %	92,1 %	98,6 %
5	22	152	174	38	21,8 %	16	1	97,4 %	86,2 %	99,9 %	94,8 %	89,6 %	97,9 %
6	80	35	115	29	25,2 %	11	3	96,6 %	82,2 %	99,9 %	98,8 %	93,5 %	100,0 %
<b>Insgesamt</b>	373	418	791	201	25,4 %	65	10	88,6 %	83,3 %	92,6 %	96,7 %	94,9 %	98,0 %

**Hinweis:** An Standort 6 fehlten 3 BAP-Intrapartum-Ergebnisse aus Kulturverfahren.

### Analyse der Durchlaufzeit

Im Folgenden sind die Durchlaufzeiten der 390 Intrapartum-Patientinnen, die an der klinischen Studie teilgenommen haben, beschrieben. Die mittlere Durchlaufzeit ab dem ursprünglichen Start des Xpert GBS-Tests bis zum Ergebnis betrug 1,84 Stunden (alle 390 Patientinnen). Die mittlere Durchlaufzeit bei den 360 Patientinnen, bei denen beim ersten Versuch gültige Ergebnisse erzielt wurden, betrug 1,76 Stunden. Die mittlere Durchlaufzeit bei den 30 Patientinnen, bei denen beim zweiten Versuch gültige Ergebnisse erzielt wurden, betrug 2,74 Stunden. Die mediane Durchlaufzeit lag bei den 360 Proben, deren Ergebnisse beim ersten Versuch gültig waren, bei 1,47 Stunden und bei 2,44 Stunden bei den 30 Patientinnen, deren Ergebnisse beim zweiten Versuch gültig waren.

**Table 5.** Durchlaufzeit vom ursprünglichen Testbeginn bis zum GBS-Testergebnis bei 390 Intrapartum-Patientinnen

	Insgesamt	Ergebnis nach erstem Versuch	Ergebnis nach zweitem Versuch
<b>Mittelwert (Stunden)</b>	1,84	1,76	2,74
<b>Medianwert (Stunden)</b>	1,48	1,47	2,44

### Analytische Spezifität

Es wurde in üblicher Weise gewonnene gereinigte genomische DNA aus 101 Stämmen untersucht, darunter 28 Streptokokken und 73 andere Spezies einschließlich Stämmen, die phylogenetisch verwandt zu *S. agalactiae* waren ferner wurden sonstige häufig in der Vaginal- und Darmflora anzutreffende Mikroflora (Bakterien und Hefen) sowie menschliche DNA untersucht. Von dreien wurden Replikate bei einer Konzentration von 1,5 ng/25 µl pro Reaktion getestet ( $\sim 2 \times 10^5$  äquivalente Genomkopien pro Reaktion). Keines der 28 Streptokokkenisolate (nicht GBS) wurde positiv getestet. Von den verbleibenden 73 Stämmen waren vier (*Enterococcus gallinarium*, *Staphylococcus simulans*, *Micrococcus luteus* und *Propionibacterium acnes*) in einem von sechs Replikaten schwach positiv.

## Analytische Sensitivität

Die analytische Sensitivität oder Nachweisgrenze (Limit Of Detection, LOD) wurde unter Verwendung von 11 *S. agalactiae*-Stämmen festgelegt. Es wurden neun verschiedene GBS-Serotypen identifiziert (Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII und VIII). Die meisten Fälle von Sepsis bei Neugeborenen, die durch GBS hervorgerufen werden, werden einem von 4 Serotypen zugeschrieben: Ia, Ib, II oder III. GBS des Typs V ist als wichtige Ursache für GBS-Infektionen in den Vereinigten Staaten in Erscheinung getreten und die Stämme der Typen VI und VIII sind unter Japanerinnen weit verbreitet.<sup>9</sup> Quantifizierte Kulturen wurden in vier Replikaten getestet. In Tabelle 6 ist die niedrigste Konzentration jedes Subtyps in einem positiven Ergebnis in allen vier Replikaten dargestellt.

**Table 6.** Nachweisgrenze zu jedem getesteten Serotyp

Serotyp	CFU/Abstrich
ATCC 12973 (II)	250
Ia/c	250
Ib/c	250
II	250
III	250
IV	250
IVc	250
V	250
VI	250
VII	250
VIII	250

## Reproduzierbarkeit

Eine Auswahl von Proben mit unterschiedlichen Konzentrationen von GBS und *Lactobacillus acidophilus* (negativ) wurde an 10 verschiedenen Tagen an jedem der drei Standorte dreifach getestet (4 Proben  $\times$  3  $\times$  10 Tage  $\times$  3 Standorte). An jedem der 3 Teststandorte wurde gemäß dem Xpert GBS-Verfahren eine Charge Xpert GBS-Kits verwendet.

**Table 7.** Zusammenfassung der Reproduktionsergebnisse

Proben-CFU/Abstrich	Standort 1	Standort 2	Standort 3	Erwartete Ergebnisse (Ct-Bereich) <sup>1</sup>	Gesamtübereinstimmung	Gesamtübereinstimmung in %
GBS Negativ <i>L. acidophilus</i> $1,7 \times 10^4$ CFU/Abstrich	30/30	30/30	30/30	Negativ (0 oder >42)	90/90	100 %
GBS Niedrig $6,2 \times 10^2$ CFU /Abstrich	30/30	30/30	30/30	Positiv (31 bis 41)	90/90	100 %
GBS Mittel $8,3 \times 10^3$ CFU /Abstrich	30/30	30/30	30/30	Positiv (27 bis 37)	90/90	100 %
GBS Hoch $1,3 \times 10^6$ CFU /Abstrich	30/30	30/30	30/30	Positiv (19 bis 29)	90/90	100 %
Gesamtübereinstimmung	120/120	120/120	120/120		360/360	100 %
Übereinstimmung in %	100 %	100 %	100 %		100 %	100 %

<sup>1</sup>Erwarteter Bereich an Ct-Werten; alle Werte lagen innerhalb der erwarteten Bereiche.

## Quellenangaben

- <sup>1</sup> Schrag et al. A population-based comparison of strategies to prevent early-onset group B streptococcal disease in neonates. NEJM. 2002; 247(4): 233 – 239.
- <sup>2</sup> Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. MMWR 2002; 51 (No. RR-11): 1 – 26.
- <sup>3</sup> Schuchat A. Epidemiology of Group B Streptococcal Disease in the United States: Shifting Paradigms. Clin Micro Rev. 1998; 11(3): 497 – 513.
- <sup>4</sup> Davis et al. Multicenter Study of a Rapid Molecular-Based Assay for the Diagnosis of Group B Streptococcus Colonization in Pregnant Women. C. Infectious Disease. 2004; 30: 1129 – 35.
- <sup>5</sup> Puopolo et al. Early-Onset Group B Streptococcal Disease in the Era of Maternal Screening. Pediatrics. 2005; 115:1240 – 1246.
- <sup>6</sup> Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY und McKinney RW (eds) (1993). HHS Publikationsnummer (CDC) 93-8395.
- <sup>7</sup> Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (siehe letzte Ausgabe).
- <sup>8</sup> Yancey MK, Schuchat A, Brown LK, Ventura VL, Markenson GR. The accuracy of late antenatal screening cultures in predicting genital group B streptococcal colonization at delivery. Obstet Gynecol 1996; 88: 811 – 15.
- <sup>9</sup> Paoletti, Lawrence C., Ph.D. Research Interests. Abruf 19.07.2006. < <http://www.channing.harvard.edu/paoletti.htm>>.

## Unterstützung

Wenn Sie Unterstützung benötigen, wenden Sie sich mithilfe der folgenden Kontaktdaten an Cepheid. Geben Sie bei Ihrem Anruf bzw. in Ihrer E-Mail auf jeden Fall die Seriennummer des Instruments und die Chargen-ID des Reagens an.

### Nordamerika

Kontaktdaten für Technischen Support:

Tel: +1 888 838 3222 Option 2

E-Mail: [techsupport@cepheid.com](mailto:techsupport@cepheid.com)

Sie können den technischen Support von Cepheid montags bis freitags von 5:00 bis to 17:00 Uhr pazifischer Zeit erreichen.

### EU

Kontaktdaten für Technischen Support:












Tel: +33 563 82 53 00

E-Mail: [techsupport@cepheideurope.fr](mailto:techsupport@cepheideurope.fr)

### Andere Standorte

Wenden Sie sich an Ihre lokale Cepheid-Niederlassung.

## Symoltabelle

Symbol	Bedeutung
	Katalog-Nr.
	Medizinisches Gerät zur In-vitro-Diagnostik
	Nicht wiederverwenden
	Vorsicht, beiliegendes Dokument konsultieren
	Hersteller
	Reicht für <n> Tests
	Verfallsdatum
	Kontrolle
	Autorisierte Vertretung in der Europäischen Gemeinschaft
	Temperaturbegrenzung
	Biologische Gefahr

### Hersteller

Cepheid  
 904 Caribbean Drive  
 Sunnyvale, CA 94089-1189  
 USA

Telefon: +1.408.541.4191  
 Fax: +1.408.541.4192

### Autorisierte Vertretung

Cepheid Europe  
 Vira Solelh  
 81470 Maurens-Scopont  
 Frankreich

Tel: +33.563.82.53.00  
 Fax: +33.563.82.53.01  
 E-Mail: cepheid@cepheideurope.fr





# Español

---

Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

## Denominación común

Xpert® GBS

## Nombre común o de uso frecuente

Ensayo Xpert GBS

## Uso previsto

El uso de Cepheid Xpert GBS en el sistema GeneXpert Dx consiste en una prueba de diagnóstico *in vitro* diseñada para detectar el ADN de estreptococos del grupo B (EGB) en muestras vaginales y rectales, empleando la reacción en cadena de la polimerasa (RCP) en tiempo real totalmente automatizada con detección fluorogénica del ADN amplificado. El ensayo Xpert GBS está indicado para la identificación rápida de la colonización por EGB antes y durante el parto.

- La utilización del ensayo Xpert GBS para la evaluación durante el parto no debe excluir el uso de otras estrategias (p. ej., pruebas antes del parto). Los resultados de Xpert GBS durante el parto resultan útiles a fin de identificar a las candidatas para recibir una profilaxis con antibióticos durante el parto en los casos en los que la administración de antibióticos intravenosos no se vea retrasada en espera de los resultados.
- El ensayo Xpert GBS no proporciona resultados de sensibilidad a los antibióticos. Se precisan cepas clínicas para realizar las pruebas de sensibilidad recomendadas en el caso de pacientes con alergia a la penicilina.

## Resumen y explicación

La infección bacteriana por EGB está relacionada con enfermedades graves de los recién nacidos de mujeres colonizadas con el microorganismo. La transmisión de EGB se produce de las mujeres colonizadas con EGB a los recién nacidos antes o durante el parto. En Estados Unidos, la infección por EGB es la principal causa de muerte entre los recién nacidos, que desarrollan septicemia, neumonía o meningitis.<sup>1,2,3</sup>

En la actualidad, las normas asistenciales para la prevención de las enfermedades por EGB consisten en la detección sistemática de mujeres embarazadas entre las semanas 35 y 37 de gestación para determinar el estado de colonización por EGB.<sup>2</sup> La mayoría de las pruebas para la detección de EGB antes del parto se realizan mediante un cultivo y suelen ser necesarios de dos a tres días para la obtención de los resultados. Este tiempo, puede ser adecuado para obtener resultados del cultivo de EGB antes del parto en la mayoría de las mujeres; no obstante, es posible que algunas mujeres no cuenten con los resultados de EGB al comienzo del parto. El Xpert GBS desarrollado por Cepheid para la detección de EGB directamente a partir de muestras vaginales y rectales tarda un máximo de 50 minutos desde el comienzo de la prueba hasta la obtención de los resultados.

En los casos en los que se desconocen los resultados de EGB en el momento del parto, el enfoque basado en el riesgo resulta menos eficaz a la hora de identificar a las madres colonizadas que la evaluación antes del parto, y no es posible llevar a cabo las pruebas de sensibilidad para las pacientes con alergia a la penicilina. En el caso de las mujeres que no han recibido asistencia prenatal, que pueden tener un parto prematuro o cuyos resultados de EGB no se conocen en el momento del parto, una prueba durante el parto puede proporcionar resultados a tiempo para administrar antibióticos antes de completar el parto, si es necesario. La prueba Xpert GBS puede realizarse 24 horas al día, 7 días a la semana y es fácil de llevar a cabo. Las posibles ventajas con respecto a las pruebas durante el parto son la disminución del uso de antibióticos innecesarios en el caso de mujeres en las que no esté indicada la profilaxis por otro motivo, y un tratamiento adecuado en el caso de las mujeres colonizadas con EGB, lo que implica a su vez una reducción del riesgo de septicemia y meningitis neonatal.<sup>5</sup> Para garantizar la eficacia de una prueba de EGB durante el parto, en el caso de las mujeres embarazadas que acuden al parto sin unos resultados de EGB definitivos, es necesario realizar una rápida recogida de muestras y que la prueba tenga la capacidad de proporcionar los resultados con la suficiente rapidez para iniciar la duración recomendada de profilaxis con antibióticos antes del momento del parto.

## Principio del procedimiento


El sistema GeneXpert Dx automatiza e integra la lisis de muestras, la purificación y amplificación del ácido nucleico y la detección de la secuencia diana en muestras complejas mediante una reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (TR-RCP) y, en caso necesario, de transcripción inversa (TI-RCP). El sistema consta de un instrumento, un ordenador personal y un software cargado previamente para la realización de pruebas con las muestras recogidas y la visualización de los resultados. Este sistema requiere el uso de cartuchos GeneXpert desechables de un solo uso para los reactivos y el proceso de RCP. Dado que los cartuchos son independientes, se minimiza el riesgo de contaminación cruzada. Si desea obtener una descripción detallada del sistema, consulte el *Manual del operador del sistema GeneXpert Dx*.

El ensayo Xpert GBS incluye reactivos para la detección simultánea del ADN de EGB objetivo, un control de procesamiento de la muestra (CPM) para controlar las condiciones del procesamiento y un control interno (CI) para controlar las condiciones de la RCP y garantizar que no se produzca la inhibición de la reacción. Mediante la función de comprobación de sonda, se comprueba la rehidratación de los reactivos, el llenado del tubo de RCP en el cartucho, la integridad de la sonda y la estabilidad del fluorocromo. Los iniciadores y la sonda de EGB detectan un a diana dentro de una región de ADN 3' adyacente al gen *cfb* de *S. agalactiae*.

Tras recoger y transportar una muestra al área de pruebas de GeneXpert, insertar el escobillo dentro del cartucho Xpert GBS. El sistema GeneXpert Dx prepara la muestra mediante la dilución del material de muestra del hisopo, la mezcla del reactivo de la muestra con el CPM (*Bacillus globigii* en forma de perla en el cartucho) y el reactivo de tratamiento, la captura del material celular en un filtro, la lisis de las células y la dilución del ADN. A continuación, la solución de ADN se mezcla con los reactivos secos de RCP y se transfiere al tubo de reacción integrado para la realización de la RCP y la detección en tiempo real. El sistema GeneXpert Dx interpola los resultados a partir de las señales de fluorescencia medidas y los algoritmos de cálculo integrados. Los resultados pueden visualizarse e imprimirse. La prueba tiene una duración máxima aproximada de 50 minutos.

## Reactivos e instrumentos

### Material suministrado

 El kit Xpert GBS (GXGBS-100N-10) contiene reactivos suficientes para procesar 10 muestras de paciente o de control de calidad.

El kit incluye lo siguiente:

<b>Cartuchos Xpert GBS con tubos de reacción integrados</b>	<b>10</b>
<b>Perla 1 (liofilizada)</b>	<b>1 por cartucho</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Compuesto de polimerasa e inhibidor</li> <li>• BSA (seroalbúmina bovina)</li> </ul>	
<b>Perla 2 (liofilizada)</b>	<b>1 por cartucho</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Iniciadores</li> <li>• Sondas</li> <li>• dNTPs</li> <li>• ADN de control interno (CI)</li> <li>• BSA (seroalbúmina bovina)</li> </ul>	
<b>Perla 3 (liofilizada)</b>	<b>1 por cartucho</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Control de procesamiento de muestra (CPM) (~2000 esporas de <i>B. globigii</i>)</li> <li>• con esporas de control de preparación</li> </ul>	
<b>Reactivo 1 (Tampón Tris, EDTA, surfactantes)</b>	<b>3,0 ml por cartucho</b>
<b>Reactivo 2 (Hidróxido de sodio)</b>	<b>3,0 ml por cartucho</b>
<b>CD</b>	<b>1 por kit</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Archivo de definición del ensayo (ADF)</li> <li>• Instrucciones para importar el ADF en el sistema GX</li> <li>• Instrucciones</li> </ul>	

### Notas:

- Las hojas de datos de seguridad de los materiales (MSDS, Material Safety Data Sheets) correspondientes a todos los reactivos suministrados con este equipo se pueden solicitar al servicio técnico de Cepheid y también están disponibles en los sitios web de Cepheid ([www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) y [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com)).
- La seroalbúmina bovina (BSA) contenida en este producto se ha fabricado exclusivamente a partir de plasma bovino recogido en los Estados Unidos. Asimismo, la fabricación de la BSA se lleva a cabo en los Estados Unidos. Los animales no han sido alimentados con proteínas de rumiantes ni con ninguna otra proteína animal; los animales han superado pruebas anteriores y posteriores a la muerte. Durante el procesamiento, no se produjo combinación del material con otros materiales de origen animal.





### Almacenamiento y manipulación

- Conserve el kit Xpert GBS entre 2 y 28 °C.



- No utilice reactivos o cartuchos después de la fecha de caducidad indicada.

### Material necesario pero no suministrado

- Sistema GeneXpert Dx (el número de referencia varía según la configuración): Instrumento GeneXpert, ordenador, lector manual de códigos de barras y Manual del operador
- Impresora (consulte el *Manual del operador del sistema GeneXpert Dx* para conocer las indicaciones sobre compatibilidad)
- Dispositivo de recogida Cepheid (número de referencia 900-0370)
- Pipeta de transferencia estéril desechable (sólo para la repetición de pruebas)

### Material disponible pero no suministrado

- KWIK-STIK™ (MicroBioLogics, ref. 8164: control positivo de nivel bajo, control positivo de nivel moderado, control positivo de nivel alto de la especie estreptococos (grupo B) y *L. acidophilus* como control negativo, una unidad de cada uno de ellos)

### Advertencias y precauciones



- Trate todas las muestras biológicas, incluidos los cartuchos usados, como posibles agentes de transmisión de infecciones. Dado que es imposible determinar los posibles focos de infección, todas las muestras biológicas se deben tratar teniendo en cuenta las precauciones universales. Las directrices para la manipulación de muestras se pueden consultar en U.S. Center for Disease Control and Prevention<sup>6</sup> (Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de EE. UU.) y el Clinical and Laboratory Standards Institute (Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio) (anteriormente National Committee for Clinical Laboratory Standards (Comité Nacional de Control de Estándares de Laboratorio)).<sup>7</sup>

- Siga los procedimientos de seguridad de su centro para trabajar con productos químicos y manipular las muestras biológicas.
- El ensayo Xpert GBS no proporciona resultados de sensibilidad a los antibióticos. Se precisan cepas clínicas para realizar las pruebas de sensibilidad recomendadas en el caso de pacientes con alergia a la penicilina.
- No abra la tapa del cartucho Xpert GBS salvo para añadir la muestra.
- No use un cartucho que se haya caído o movido después de añadir la muestra.
- No abra los cartuchos usados salvo para repetir la prueba y, una vez abiertos, retire la muestra diluida del compartimento S exclusivamente con ayuda de una pipeta.



- Cada cartucho Xpert GBS de un solo uso se utiliza para procesar una prueba. No reutilice los cartuchos.

- Para eliminar correctamente los cartuchos usados y no utilizados reactivos, consulte al personal de su institución encargado de eliminar los residuos. Puede que este material tenga algunas características que requieran una eliminación de residuos específica contemplada en la Resource Conservation and Recovery Act (RCRA, o Ley de Conservación y Recuperación de recursos) de la Agencia de Protección Ambiental de EE.UU. Compruebe la normativa local y estatal ya que éstas pueden ser diferentes a las normativas de eliminación federales. Los centros que se encuentran fuera de los EE. UU. deben comprobar los requisitos para la eliminación de residuos de su país.



- Conserve el kit Xpert GBS entre 2 y 28 °C.



- el reactivo 2 contiene hidróxido de sodio (pH>12,5); (R34 EY Risk) que es corrosivo para los ojos y la piel y requiere protección de los ojos y de la piel.

### Recogida y transporte de muestras



Para obtener una muestra adecuada, siga atentamente las instrucciones de esta sección.

Con el dispositivo de recogida Cepheid, recoja las muestras de acuerdo con las recomendaciones del CDC.<sup>2</sup> Debe emplearse el siguiente procedimiento:

1. Retire los restos de secreción o flujo.
2. Extraiga ambos hisopos con marca del recipiente de transporte.
3. Introduzca con cuidado ambos hisopos con marca en la vagina de la paciente. Recoja una muestra de las secreciones de la mucosa de la tercera parte inferior de la vagina. Gire los hisopos tres veces para garantizar la recogida uniforme de la muestra en ambos hisopos.

4. Introduzca con cuidado estos mismos hisopos con marca aproximadamente 2,5 cm dentro del esfínter y gírelos suavemente para recoger la muestra de la cripta anal.
5. Introduzca ambos hisopos con marca en el recipiente de transporte.
6. Si las muestras se van a procesar en 24 horas, consérvelas a temperatura ambiente. Si las muestras se van a analizar después de 24 horas, debe conservarlas refrigeradas hasta que se realice la prueba. Las muestras almacenadas entre 2 y 8 °C son estables durante un período máximo de seis días.

## Procedimiento

### Preparación del cartucho

**Importante:** Inicie la prueba en un plazo de 15 minutos tras añadir la muestra al cartucho.

**Nota:** Sólo es necesario un hisopo. El segundo hisopo es adicional y se puede utilizar para las pruebas de sensibilidad a los antibióticos. Se precisan cepas clínicas para realizar las pruebas de sensibilidad recomendadas en el caso de pacientes con alergia a la penicilina. No introduzca dos hisopos en ningún cartucho

Para añadir la muestra al cartucho (Xpert GBS):

1. Saque el cartucho del envase.
2. Abra la tapa del cartucho.
3. Extraiga los hisopos con marca del recipiente. Frote suavemente los dos hisopos entre sí girándolos de modo que ambos se impregnen de la misma cantidad de muestra.
4. Introduzca uno de los hisopos en el compartimento S del cartucho Xpert GBS.
  - No introduzca ambos hisopos en el cartucho.
  - Devuelva el segundo hisopo al tubo de recogida/transporte para la realización posterior de pruebas de sensibilidad antimicrobiana por parte del laboratorio de microbiología para los pacientes positivos para EGB. Se precisan cepas clínicas para realizar las pruebas de sensibilidad recomendadas en el caso de pacientes con alergia a la penicilina.
5. Suba el hisopo de modo que la marca de muesca esté centrada en la ranura.
6. Para romper el hisopo, parta el eje hacia la derecha.
7. Cierre la tapa del cartucho.



**Figure 1.** Cartucho Xpert GBS (vista superior)

## Inicio de la prueba

En esta sección se incluyen los pasos básicos para realizar la prueba. Si desea obtener instrucciones detalladas, consulte el *Manual del operador del sistema GeneXpert Dx*.

1. Encender primero el instrumento GeneXpert Dx y luego el ordenador; el software GeneXpert se iniciará automáticamente.
2. Inicie una sesión en el software del sistema GeneXpert Dx con su nombre de usuario y contraseña.
3. En la ventana del sistema GeneXpert Dx, haga clic en **Create Test** (Crear prueba). Aparece el cuadro de diálogo Scan Cartridge Barcode (Escanear código de barras de cartucho).
4. Escanee el código de barras del cartucho Xpert GBS. Aparece la ventana Create Test (Crear prueba). Utilizando la información del código de barras, el software rellenará automáticamente los cuadros de los siguientes campos: Select Assay (Seleccionar ensayo), Reagent Lot ID (Id. de lote de reactivos), Cartridge SN (No de serie del cartucho) y Expiration Date (Fecha de caducidad).
5. En el cuadro **Sample ID** (Id. de muestra), escanee o escriba el Id. de muestra. Asegúrese de escribir el Id. de muestra correcto. El Id. de muestra está asociado a los resultados de la prueba y se muestra en la ventana **“View Results”** (Ver resultados) y en todos los informes.
6. Haga clic en **Start Test** (Iniciar prueba). En el cuadro de diálogo que aparece, escriba su contraseña.
7. Abra la puerta del módulo del instrumento mientras la luz esté parpadeando en verde y cargue el cartucho.
8. Cierre la puerta. La prueba se inicia y la luz verde deja de parpadear. Una vez finalizada la prueba, la luz se apaga.
9. Espere hasta que el sistema desbloquee la puerta para abrir la puerta del módulo y retirar el cartucho.
10. Si resulta absolutamente necesario, puede recuperarse la muestra diluida del compartimento marcado como “S” del cartucho con ayuda de una pipeta de transferencia. Esta muestra diluida puede emplearse como muestra de respaldo del segundo hisopo tomado de la paciente para las pruebas de sensibilidad antimicrobiana por parte del laboratorio de microbiología. El cultivo con el reactivo 1 de Xpert GBS no se ha validado. Los laboratorios deben validar sus propios procedimientos de cultivo o utilizar el segundo hisopo para realizar una identificación basada en el cultivo y las pruebas de sensibilidad.
11. Los cartuchos usados deben desecharse en los contenedores de residuos de muestras apropiados de acuerdo con las prácticas estándar del centro.

## Visualización e impresión de los resultados

Si desea obtener instrucciones detalladas sobre cómo ver e imprimir los resultados, consulte el Manual del operador del sistema GeneXpert Dx.

**CONTROL** **Control de calidad**

Cada prueba incluye los siguientes controles internos y una comprobación de sonda.

- **Sample-processing control, SPC** (Control de procesamiento de muestra, CPM): garantiza que la muestra se ha procesado correctamente. El CPM es *B. globigii* en forma de perla seca y se incluye en cada cartucho. El CPM controla el procesamiento de la lisis y de la dilución. El CPM debe ser apto (generar un umbral de ciclo (Uc) válido en una muestra negativa) y puede no amplificar en una muestra de positivo alto. El CPM es correcto si cumple los criterios de aceptación asignados.
- **Internal control, IC** (Control interno, CI): verifica la funcionalidad de los reactivos de la RCP y la ausencia de inhibición que evitaría la amplificación por RCP. El CI debe ser apto (generar un Uc válido en una muestra negativa) y puede no amplificar en una muestra de positivo alto. El control interno es correcto si cumple los criterios de aceptación asignados.
- **Probe check** (Comprobación de sonda): antes de iniciar la reacción en cadena de la polimerasa, el sistema GeneXpert Dx mide la señal de fluorescencia de las sondas para controlar la rehidratación de las perlas, el llenado del tubo de reacción, la integridad de la sonda y la estabilidad del fluorocromo. La comprobación de sonda es correcta si cumple los criterios de aceptación asignados.
- **External controls** (Controles externos): KWIK-STIK™ (MicroBioLogics, ref. 8164) puede emplearse para formación, prueba de evaluación y CC externo del sistema GeneXpert Dx. Los controles externos pueden emplearse de acuerdo con las organizaciones de acreditación locales, estatales y federales, según corresponda. Siga el procedimiento de control externo de MicroBioLogics descrito a continuación.
  1. Abra la bolsa rasgándola por la muesca y retire el KWIK-STIK.
  2. Perfore la parte inferior de la ampolla con la tapa para liberar el líquido hidratante.
  3. Manténgala en posición vertical mientras la golpea ligeramente para facilitar el flujo del líquido a través del eje hasta el fondo de la unidad, que contiene el precipitado.
  4. A fin de facilitar la disolución del precipitado celular liofilizado, aplástelo y frote suavemente contra el compartimento inferior.
  5. Tire del KWIK-STIK para liberar el hisopo y colóquelo en el compartimento S del cartucho Xpert GBS.
  6. Ahora el hisopo KWIK-STIK está listo para la prueba Xpert GBS.

El control positivo de nivel bajo se aproxima a 620 UFC/hisopo (~36 Uc) de EGB, y el control negativo se aproxima a 17.000 UFC/hisopo de *Lactobacillus acidophilus* (0 Uc o >42 Uc).

**Interpretación de los resultados**

El sistema GeneXpert Dx interpola los resultados a partir de las señales de fluorescencia medidas y los algoritmos de cálculo integrados y se mostrarán en la ventana “**Ver resultados**”. Los resultados posibles son:

**POSITIVE (POSITIVO)**

Se ha detectado el ácido nucleico de EGB objetivo: se puede suponer la colonización por EGB

- SPC – NA (no aplicable)
- IC – NA (no aplicable)
- Probe Check – PASS (Comprobación de sonda-APROBADO)

El segundo hisopo correspondiente de la paciente en el tubo de recogida/transporte puede ser utilizado para pruebas de sensibilidad antimicrobiana. Si es necesario, puede remitirse el cartucho usado al laboratorio de microbiología para que realice una prueba de sensibilidad de respaldo.

**NEGATIVE (NEGATIVO)**

No se ha detectado el ácido nucleico de EGB objetivo: se puede suponer la ausencia de colonización por EGB.

- GBS – NEG
- SPC – PASS (APROBADO)
- IC – PASS (APROBADO)
- Probe Check – PASS (Comprobación de sonda – APROBADO)

**INVALID (NO VÁLIDO)**

No se puede determinar la presencia o ausencia de EGB. CI y CPM (IC y SPC) no cumplen los criterios de aceptación o se han formado burbujas de aire en el tubo de reacción.

- GBS – INVALID (NO VÁLIDO)
- SPC – FAIL\* (NO APROBADO\*)
- IC – FAIL\* (NO APROBADO\*)
- Probe Check – PASS (Comprobación de sonda – APROBADO)

\* Error de CPM o CI.

**ERROR**

No se puede determinar la presencia o ausencia de EGB. Ha fallado un componente del sistema, se ha alcanzado la presión máxima o ha fallado la comprobación de sonda.

- GBS – NO RESULT (SIN RESULTADO)
- SPC – NO RESULT (SIN RESULTADO)
- IC – NO RESULT (SIN RESULTADO)
- Probe Check – FAIL\* (NO APROBADO\*)

\* Si la comprobación de sonda es correcta, el error se debe a un fallo de un componente del sistema.

**NO RESULT (SIN RESULTADO)**

No se puede determinar la presencia o ausencia de EGB. El operador ha detenido la prueba, se ha producido un fallo de alimentación durante la prueba o se han detectado problemas en el cartucho.

- GBS – NO RESULT (SIN RESULTADO)
- SPC – NO RESULT (SIN RESULTADO)
- IC – NO RESULT (SIN RESULTADO)
- Probe Check – NA (no aplicable)

**Nota:** Si obtiene un mensaje “INVALID (NO VÁLIDO)”, “ERROR”, o “NO RESULT (SIN RESULTADO)”, puede repetirse la prueba o comenzar métodos alternativos.

- En caso de obtener un resultado "ERROR" (anulación por presión máxima o fallo en la comprobación de sonda), repita la prueba de inmediato o analice el segundo hisopo, o comience métodos alternativos. Se pueden producir resultados de "ERROR" durante los primeros 30 minutos de la prueba.
- Mientras se realizan pruebas durante el parto, puede que no sea posible repetir la prueba, dependiendo de las prácticas y políticas de cada centro. Es importante la coordinación entre los médicos y el laboratorio de análisis al objeto de que la administración de antibióticos no se vea retrasada en espera de los resultados.

La figura 2 muestra la ventana **View Results** (Ver resultados) del Sistema GeneXpert Dx. Como se puede observar, en la ventana aparece el Error Status (Estado de error). Haga clic en la ficha Errors (Errores) para ver las descripciones de los errores.

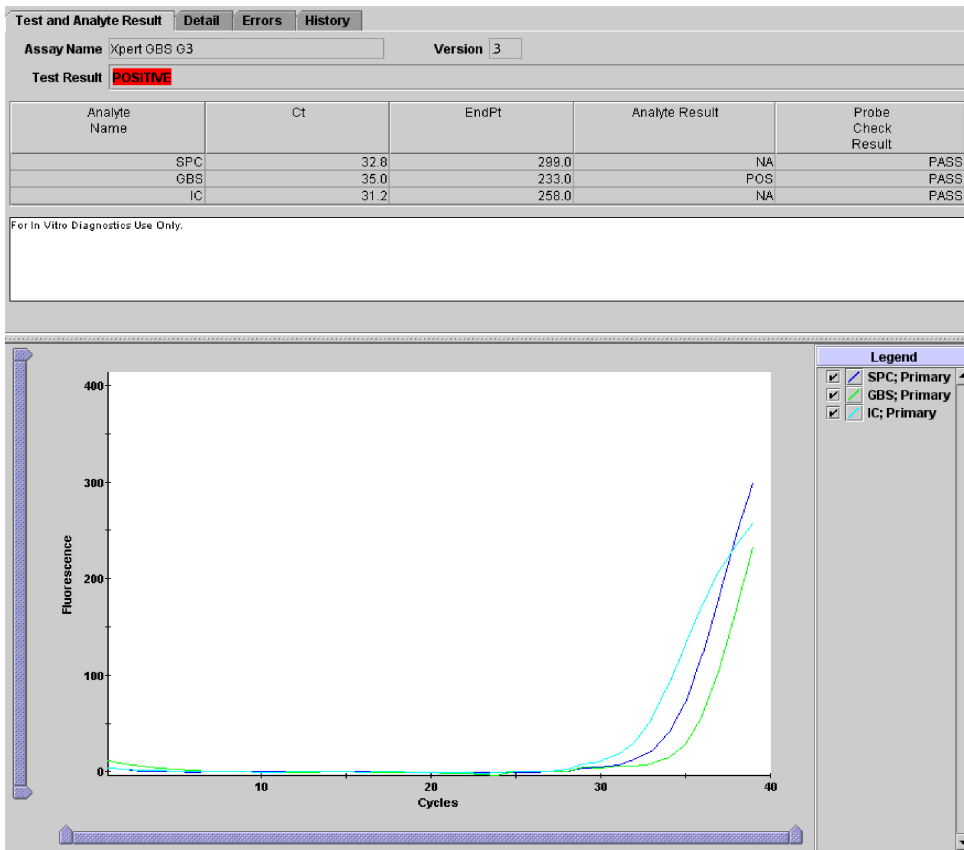


Figure 2. Ventana View Results (Ver resultados) del sistema GeneXpert Dx

## Motivos para repetir el ensayo o comenzar procedimientos alternativos

Repita la prueba o comience procedimientos alternativos en caso de obtener uno de los siguientes resultados:

- **Error:** la prueba se ha anulado porque ha fallado un componente del sistema, se ha alcanzado la presión máxima o ha fallado la comprobación de sonda.
- **Invalid (No válido):** el CPM o el control interno fallan si el resultado de EGB es negativo. Un resultado no válido puede deberse también a las burbujas de aire del tubo de reacción.
- **No Result (Sin resultado):** el operador ha detenido la prueba, se ha producido un fallo de alimentación durante la prueba o se han detectado problemas en el cartucho.

En caso de haber líquido en el compartimento S del cartucho, utilice una pipeta de transferencia para transferir todo el líquido al compartimento S de otro cartucho y, a continuación. Si no hay líquido, utilice unas pinzas estériles para transferir el hisopo a otro cartucho y repita la prueba a partir de Añada el reactivo 1 al compartimento 1 del cartucho. Otra posibilidad es preparar otro cartucho con un segundo hisopo y repetir la prueba.

### Limitaciones

- El rendimiento del ensayo Xpert GBS se ha establecido mediante el sistema Cepheid GeneXpert Dx con muestras vaginales y rectales de pacientes antes y durante el parto obtenidas con el dispositivo de recogida Cepheid (número de referencia 900-0370). Este producto sólo se puede utilizar con el sistema GeneXpert Dx. No se recomienda el uso de un sistema de recogida y transporte de muestras distinto de los especificados en la sección Material necesario no suministrado. El uso del ensayo Xpert GBS de otra procedencia clínica no se ha evaluado y las características de rendimiento de esta prueba se desconocen para otros tipos de muestras.
- Se pueden obtener resultados erróneos debido a una recogida de muestras incorrecta, manipulación o almacenamiento de muestras recomendado, en caso de error técnico, mezcla de la muestra o debido a que la prueba no detecta el número de organismos de la muestra. Se deben seguir atentamente las instrucciones de este documento y las instrucciones del *Protocolo de recogida de muestras vaginales y rectales* para evitar resultados erróneos. La toma de muestras con hisopo tanto en la parte inferior de la vagina como en el recto aumenta significativamente el rendimiento, en comparación con la toma de muestras en el cuello uterino o la vagina sin pasar el hisopo por el recto.
- Debido a que la detección de estreptococos del grupo B depende del número de organismos presentes en la muestra, los resultados fiables dependen de la recogida, manipulación y almacenamiento correctos de las muestras. Se recomienda realizar una prueba entre las semanas 35 y 37 de gestación a fin de mejorar la sensibilidad y especificidad de la detección de las mujeres que sigan estando colonizadas en el momento del parto.
- Es importante la formación del personal que utilice el sistema GeneXpert Dx al objeto de garantizar unos resultados exactos y a tiempo.
- La repetición del ensayo Xpert GBS tras obtener resultados INVALID (NO VÁLIDO), ERROR y NO RESULT (SIN RESULTADO) depende de las prácticas y políticas de cada centro. Debe disponerse de procedimientos alternativos (p. ej., cultivo según las recomendaciones en caldo de cultivo enriquecido selectivo durante de 18 a 24 h). Se precisan cepas clínicas para realizar las pruebas de sensibilidad recomendadas en el caso de pacientes con alergia a la penicilina. Para los cultivos, los hisopos restantes deben colocarse en sistemas de transporte apropiados y realizar el cultivo en un plazo de 4 días. El cultivo con el reactivo 1 de Xpert GBS no se ha validado. Los laboratorios deben validar sus propios procedimientos de cultivo o utilizar el segundo hisopo para realizar una identificación basada en el cultivo y las pruebas de sensibilidad.
- Un resultado de prueba positivo no indica necesariamente la presencia de un organismo viable. No obstante, se puede suponer la presencia de estreptococos del grupo B.
- Debe emplearse el ensayo Xpert GBS durante el parto como complemento de otros métodos disponibles y no como sustitución de la prueba antes del parto (entre las semanas 35 y 37 de gestación). Esta prueba no se puede utilizar para diferenciar a los portadores de estreptococos del grupo B de los pacientes que tienen infección por estreptococos.
- Los resultados de la prueba pueden verse afectados por un tratamiento antibiótico concurrente. Por lo tanto, el éxito o el fracaso terapéutico no se pueden evaluar con esta prueba debido a que el ADN puede persistir tras el tratamiento antimicrobiano.
- Se recomienda la aplicación de las prácticas correctas de laboratorio y cambiarse de guantes al manipular cada muestra de paciente para evitar la contaminación cruzada de las muestras o los reactivos.

### Valores previstos

Aproximadamente entre el 10 y 30% de las mujeres embarazadas están colonizadas con EGB en la vagina o el recto. La colonización por EGB puede ser transitoria, crónica o intermitente. La detección de EGB mediante cultivo en la vagina y el recto al final de la gestación durante la asistencia prenatal permite identificar a aquellas mujeres con probabilidades de ser colonizadas con EGB en el momento del parto.<sup>2,3</sup> En varios estudios, se han descrito unos niveles de sensibilidad del 87% (83 – 92% CI) y el 69% (57 – 79% CI) y unos niveles

de especificidad del 96% (95 – 98% CI) y el 92% (89 – 94% CI) en el caso de los cultivos prenatales al final del embarazo para la identificación del estado de colonización en el momento del parto.<sup>8</sup> Durante las evaluaciones clínicas del ensayo Xpert GBS, el 25,4% (201 de 791) de las mujeres resultaron estar colonizadas con EGB mediante métodos de cultivo.

## Características de funcionamiento

### Resultados clínicos

Las características de funcionamiento del ensayo Xpert GBS se han determinado en un estudio de investigación realizado en seis centros con servicios de maternidad en Estados Unidos. Cada centro ha dispuesto de un programa de detección basado en una prueba de cultivo o de amplificación de ácido nucleico (NAAT). Las pruebas se han realizado en varios laboratorios clínicos asociados a cada centro y al área de partos. En el estudio han participado mujeres antes y durante el parto. Para participar en el estudio durante el parto, las pacientes debieron presentar un consentimiento por escrito para especificar que estaban de parto y no presentaban ninguna contraindicación para la exploración vaginal (por ejemplo, hemorragia). Para participar en el estudio antes del parto, las pacientes debieron presentar un consentimiento por escrito para especificar que se encontraban entre las semanas 35 y 37 de gestación y no presentaban ninguna contraindicación para la exploración vaginal (por ejemplo, hemorragia). No se observaron pruebas de placenta previa ni ninguna indicación urgente para provocar el parto, y no se utilizó ningún antibiótico en la semana anterior al ingreso de todas las pacientes.

Se recogieron muestras vaginales y rectales de cada una de las 794 pacientes seleccionables con dos conjuntos de hisopos con marca (dispositivos de recogida Cepheid). Se empleó uno de los hisopos del primer conjunto para preparar el cultivo. El segundo conjunto de hisopos con marca se dividió: un hisopo se utilizó en el ensayo Xpert GBS del sistema GeneXpert Dx y el otro se utilizó en el segundo ensayo NAAT. El segundo ensayo NAAT detecta una secuencia objetivo en el gen *gfb* y ha recibido la aprobación previa por parte de la FDA. Los resultados de esta prueba no se emplearon en estimaciones del rendimiento. Tras su uso en estas pruebas, cada uno de estos hisopos se colocó también en un caldo de cultivo LIM, se preparó un subcultivo en una placa de agar sangre (BAP) y se observó la presencia de EGB.

Cada centro empleó la técnica de cultivo recomendada en las directrices del CDC de 2002<sup>2</sup>: un cultivo microbiológico en un caldo de cultivo selectivo (caldo LIM, consistente en un caldo de cultivo Todd-Hewitt complementado con 15 µg/ml de ácido nalidíxico y 10 µg/ml de colistina), seguido de una incubación durante de 18 a 24 horas y un subcultivo en BAP. Se procedió a una identificación específica de colonias que apuntara la presencia de EGB mediante pruebas de aglutinación de la extensión.

### Resultados generales

Las características de rendimiento del ensayo Xpert GBS se determinaron a partir de la evaluación de las pruebas de laboratorio realizadas en muestras de 794 pacientes de maternidad: 373 antes del parto y 421 durante el parto. Tres mujeres no presentaron resultados mediante cultivo y se excluyeron de los análisis (0 fueron Xpert GBS positivas y 3 Xpert GBS negativas), dejando 791 resultados de cultivos susceptibles de evaluación. Se realizó un cultivo de todas las pacientes (según lo descrito anteriormente) y la mayor parte también se evaluó mediante el segundo NAAT de EGB. El segundo ensayo NAAT detecta una secuencia objetivo en el gen *gfb* y ha recibido la aprobación previa por parte de la FDA. Los resultados de esta prueba no se emplearon en estimaciones del rendimiento. De los 791 casos, el ensayo Xpert GBS produjo 726 resultados comunicables al primer intento (91,8%). Se obtuvieron 65 resultados no comunicables (es decir, no válido, error o sin resultado). 55 de estos casos se resolvieron tras repetir la prueba. En total, 201 obtuvieron cultivos positivos para EGB, bien del único hisopo empleado para el cultivo o de los hisopos diluidos, con las pruebas Xpert GBS y segundo ensayo NAAT. El ensayo Xpert GBS produjo 168 resultados positivos inicialmente (168/201, 83,6%). Tras repetir la prueba, los resultados positivos aumentaron hasta 178/201, o un 88,6%. 590 mujeres presentaron cultivos negativos y 520 fueron negativos inicialmente con la prueba Xpert GBS (88,1%), y 561 tras repetir la prueba (95,1%).

La tabla 1 muestra la prueba Xpert GBS basada en los resultados positivos y negativos para EGB a partir de los cultivos de 791 pacientes (3 pacientes presentaron cultivos con excesivo crecimiento o no interpretables por otra razón). Las estimaciones de sensibilidad, especificidad y valores negativos y positivos mostradas se basan en los resultados tras repetir la prueba. Tras repetir la prueba, 10 casos siguieron sin resolver (n = 781).



Table 1. Resultados de Xpert GBS y rendimiento estimado por categoría de paciente

Categoría de paciente	Resultados	Total N <sup>1</sup>	Pacientes con cultivos positivos <sup>1</sup>	Pacientes con cultivos negativos <sup>1</sup>	Sensibilidad tras repetir la prueba	Especificidad tras repetir la prueba	PPV <sup>7</sup> tras repetir la prueba	NPV <sup>8</sup> tras repetir la prueba				
					[95% de confianza]	[95% de confianza]	[95% de confianza]	[95% de confianza]				
Todos los pacientes	Xpert GBS Pos	197 (186)	178 (168)	19 (18)	88,6%	96,7%	90,4%	96,1%				
	Xpert GBS Neg	584 (540)	23 (20)	561 (520)					[83,3 – 92,6%]	[94,9 – 98,0%]	[85,4 – 94,1%]	[94,2 – 97,5%]
	Sin resultados <sup>2</sup>	10 (65)	0 (13)	10 (52)								
	Total	791 <sup>3</sup>	201 <sup>4</sup>	590								
Antes del parto	Xpert GBS Pos	92 (88)	87 (83)	5 (5)	85,3%	98,1%	94,6%	94,5%				
	Xpert GBS Neg	274 (253)	15 (13)	259 (240)					[76,9 – 91,5%]	[95,6 – 99,4%]	[87,8 – 98,2%]	[94,1 – 96,9%]
	Sin resultados <sup>2</sup>	7 (32)	0 (6)	7 (26)								
	Total	373	102	271								
Durante el parto	Xpert GBS Pos	105 (98)	91 (85)	14 (13)	91,9%	95,6%	86,7%	97,4%				
	Xpert GBS Neg	310 (287)	8 (7)	302 (280)					[84,7 – 96,5%]	[92,7 – 97,6%]	[78,6 – 92,5%]	[95,0 – 98,9%]
	Sin resultados <sup>2</sup>	3 (33)	0 (7)	3 (26)								
	Total	418	99	319								
RDM <sup>5</sup>	Xpert GBS Pos	27 (24)	21 (19)	6 (5)	91,3%	94,3%	77,8%	98,0%				
	Xpert GBS Neg	102 (92)	2 (2)	100 (90)					[72,0 – 98,9%]	[88,1 – 97,9%]	[57,7 – 91,4%]	[93,1 – 99,8%]
	Sin resultados <sup>2</sup>	0 (13)	0 (2)	0 (11)								
	Total	129	23	106								
Sin RDM <sup>6</sup>	Xpert GBS Pos	78 (74)	70 (66)	8 (8)	92,1%	96,2%	89,7%	97,1%				
	Xpert GBS Neg	208 (195)	6 (5)	202 (190)					[83,6 – 97,1%]	(92,6 – 98,3%)	(80,8 – 95,5%)	(93,8 – 98,9%)
	Sin resultados <sup>2</sup>	3 (20)	0 (5)	3 (15)								
	Total	289	76	213								

<sup>1</sup> Todos los resultados de Xpert GBS se muestran tras repetir la prueba. Los resultados iniciales de la prueba entre paréntesis.

<sup>2</sup> 'Sin resultados' de una prueba Xpert GBS puede deberse a una prueba no válida, a un error del sistema o a una ausencia de resultado cuando no se puede registrar la presencia o ausencia de ADN de EGB.

<sup>3</sup> Se excluyeron del análisis tres mujeres durante el parto que no presentaron resultados mediante cultivo.

<sup>4</sup> La prevalencia global de la colonización por EGB, determinada por cultivo, es del 25,3%.

<sup>5</sup> El subgrupo de mujeres dentro del parto a las que se les recogió la muestra tras la rotura de la membrana (RDM).

<sup>6</sup> El subgrupo de mujeres dentro del parto a las que se les recogió la muestra antes de la rotura de la membrana (RDM). No se esperan diferencias biológicas entre las muestras dentro de parto y las recogidas antes del parto.

<sup>7</sup> Valor diagnóstico de un resultado positivo.

<sup>8</sup> Valor diagnóstico de un resultado negativo.

**Table 2.** Rendimiento de las pruebas Xpert GBS y segundo NAAT<sup>1</sup> Relativo al cultivo

Categoría	Xpert GPS						Segundo NAAT <sup>1</sup>					
	Sensibilidad	CI inferior	CI superior	Especificidad	CI inferior	CI superior	Sensibilidad	CI inferior	CI superior	Especificidad	CI inferior	CI superior
General	88,6%	83,3%	92,6%	96,7%	94,9%	98,0%	77,9%	71,5%	83,5%	96,3%	94,4%	97,6%
	(178/201)			(561/580)			(155/199)			(567/589)		
Antes del parto	85,3%	76,9%	91,5%	98,1%	95,6%	99,4%	74,5%	64,9%	82,6%	97,0%	94,3%	98,7%
	(87/102)			(259/264)			(76/102)			(263/271)		
Durante el parto	91,9%	84,7%	96,4%	95,6%	92,7%	97,6%	81,4%	72,3%	88,6%	95,6%	92,7%	97,6%
	(91/99)			(302/316)			(79/97)			(304/318)		
RDM <sup>2</sup>	91,3%	72,0%	98,9%	94,3%	88,1%	97,9%	90,9%	70,8%	98,9%	95,2%	89,2%	98,4%
	(21/23)			(100/106)			(20/22)			(100/105)		
Sin RDM <sup>3</sup>	92,1%	83,6%	97,0%	96,2%	92,6%	98,3%	78,7%	67,7%	87,3%	95,8%	92,1%	98,0%
	(70/76)			(202/210)			(59/75)			(204/213)		

<sup>1</sup> El segundo ensayo NAAT detecta una secuencia objetivo en el gen *gfb* y ha recibido la aprobación previa por parte de la FDA.

<sup>2</sup> Subgrupo de mujeres dentro del parto a las que se les recogió la muestra tras la rotura de la membrana (RDM).

<sup>3</sup> Subgrupo de mujeres dentro del parto a las que se les recogió la muestra antes de la rotura de la membrana (RDM).

La siguiente tabla recoge una comparación directa de las dos pruebas de RCP, Xpert GBS y segundo NAAT.

**Table 3.** Comparación directa de las dos pruebas de RCP

	Cultivo Pos			Cultivo Neg			Cultivo S/D			Total Xpert GBS
	Segundo NAAT Pos	Segundo NAAT Neg	No resuelto	Segundo NAAT Pos	Segundo NAAT Neg	No resuelto	Segundo NAAT Pos	Segundo NAAT Neg	No resuelto	
Xpert GBS Pos	149	27	2	10	9	0	0	0	0	197
Xpert GBS Neg	6	17	0	11	549	1	0	3	0	587
No válido/Error/ Sin resultado	0	0	0	1	9	0	0	0	0	10
<b>Total segundo NAAT</b>	<b>165</b>	<b>44</b>	<b>2</b>	<b>22</b>	<b>567</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>794</b>

La tabla 4 muestra el número de pacientes analizados en cada uno de los seis laboratorios clínicos participantes en la evaluación, y el rendimiento estimado de la prueba Xpert GBS (en comparación con los resultados de los cultivos).

**Table 4.** Comparación entre centros

Centro de pruebas clínicas	Pacientes antes del parto	Pacientes durante el parto	Total pacientes	Cultivo positivo	Prevalencia	Xpert GBS sin resultados		Sensibilidad			Especificidad		
						Inicialmente	Tras repetición	Estimación	95% inferior	95% superior	Estimación	95% inferior	95% superior
1	0	51	51	11	21,6%	4	1	72,7%	39,0%	94,0%	92,3%	79,1%	98,4%
2	113	5	118	31	26,3%	12	2	90,3%	74,2%	98,0%	97,6%	91,8%	99,7%
3	94	0	94	17	18,1%	9	1	76,5%	50,1%	93,2%	100,0%	95,3%	100,0%
4	64	175	239	75	31,4%	13	2	85,3%	75,3%	92,4%	96,3%	92,1%	98,6%
5	22	152	174	38	21,8%	16	1	97,4%	86,2%	99,9%	94,8%	89,6%	97,9%
6	80	35	115	29	25,2%	11	3	96,6%	82,2%	99,9%	98,8%	93,5%	100,0%
<b>Total</b>	<b>373</b>	<b>418</b>	<b>791</b>	<b>201</b>	<b>25,4%</b>	<b>65</b>	<b>10</b>	<b>88,6%</b>	<b>83,3%</b>	<b>92,6%</b>	<b>96,7%</b>	<b>94,9%</b>	<b>98,0%</b>

**Nota:** El centro 6 no pudo obtener 3 resultados de cultivo BAP dentro del parto.

### Análisis del tiempo hasta obtención de resultados

A continuación, se describe el tiempo hasta la obtención de resultados para las 390 pacientes dentro del parto incluidas en el ensayo clínico. El tiempo medio hasta la obtención de resultados desde el momento de inicio del Xpert GBS hasta la comunicación de resultados fue de 1,84 horas (total de 390 pacientes). El tiempo medio hasta la obtención de resultados para las 360 pacientes que obtuvieron resultados válidos al primer intento fue de 1,76 horas. El tiempo medio hasta la obtención de resultados para las 30 pacientes que obtuvieron resultados válidos al segundo intento fue de 2,74 horas. La mediana del tiempo hasta la obtención de resultados para las 360 pacientes que obtuvieron resultados válidos al primer intento fue de 1,47 horas, y 2,44 horas para las 30 pacientes que obtuvieron resultados válidos al segundo intento.

**Table 5.** Tiempo hasta la obtención de resultados desde el momento de inicio del ensayo hasta la comunicación de resultados de EGB para 390 pacientes dentro del parto

	General	Resultados al primer intento	Resultados al segundo intento
<b>Media (horas)</b>	1,84	1,76	2,74
<b>Mediana (horas)</b>	1,48	1,47	2,44

### Especificidad analítica

Se analizó el ADN genómico purificado, obtenido comercialmente, de 101 cepas compuestas por 28 estreptococos, 73 especies distintas, incluidas cepas relacionadas filogenéticamente con *S. agalactiae*, otra microflora (bacterias y hongos) detectada normalmente en la flora vaginal y anal, y ADN humano. Se analizaron muestras duplicadas de estos tres productos en una reacción de 1,5 ng/25 µl (~2 × 10<sup>5</sup> equivalente a las copias del genoma por reacción). Ninguna de las 28 cepas de estreptococos (no EGB) ofreció un resultado positivo. De las 73 cepas restantes, cuatro (*Enterococcus gallinarum*, *Staphylococcus simulans*, *Micrococcus luteus* y *Propionibacterium acnes*) dieron un resultado positivo bajo en una de las seis muestras duplicadas.

## Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica o el límite de detección se determinaron con 11 cepas de *S. agalactiae*. Se han identificado nueve serotipos distintos de EGB (Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII y VIII). La mayor parte de los casos de septicemia neonatal causada por EGB se atribuye a 1 de estos 4 serotipos: Ia, Ib, II o III. El tipo V de EGB se ha revelado como una causa importante de la infección por EGB en los Estados Unidos, mientras que las cepas de los tipos VI y VIII predominan entre las mujeres japonesas.<sup>9</sup> Se analizaron cultivos cuantificados en cuatro muestras duplicadas. En la tabla 6, se muestra la concentración mínima de cada subtipo resultante en un resultado positivo para las cuatro muestras duplicadas.

**Table 6.** Límite de detección obtenido para cada serotipo analizado

Serotipo	UFC/hisopo
ATCC 12973 (II)	250
Ia/c	250
Ib/c	250
II	250
III	250
IV	250
IVc	250
V	250
VI	250
VII	250
VIII	250

## Reproducibilidad

Se analizó un panel de muestras con distintas concentraciones de EGB y *Lactobacillus acidophilus* (negativo) por triplicado en 10 días distintos en cada uno de los tres centros (4 muestras  $\times$  3  $\times$  10 días  $\times$  3 centros). Se utilizó un lote de kits Xpert GBS en cada uno de los 3 centros de prueba, según el procedimiento Xpert GBS.

**Table 7.** Resumen de los resultados de reproducibilidad

UFC en la muestra/ hisopo	Centro 1	Centro 2	Centro 3	Resultados esperados (intervalo de Uc) <sup>1</sup>	Correspondenci a total	% total de correspondencia
EGB negativo <i>L. acidophilus</i> $1,7 \times 10^4$ UFC/ hisopo	30/30	30/30	30/30	Negativo (0 ó >42)	90/90	100%
EGB bajo $6,2 \times 10^2$ UFC/ hisopo	30/30	30/30	30/30	Positivo (de 31 a 41)	90/90	100%
EGB moderado $8,3 \times 10^3$ UFC/ hisopo	30/30	30/30	30/30	Positivo (de 27 a 37)	90/90	100%
EGB alto $1,3 \times 10^6$ UFC/hisopo	30/30	30/30	30/30	Positivo (de 19 a 29)	90/90	100%
Correspondencia total	120/120	120/120	120/120		360/360	100%
% de correspondencia	100%	100%	100%		100%	100%

<sup>1</sup>Intervalo esperado de valores de Uc. Todos los valores se encontraron dentro de los intervalos esperados.

## Bibliografía

- <sup>1</sup> Schrag et al. A population-based comparison of strategies to prevent early-onset group B streptococcal disease in neonates. NEJM. 2002; 247(4): 233-239.
- <sup>2</sup> Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. MMWR 2002; 51 (No. RR-11): 1-26.
- <sup>3</sup> Schuchat A. Epidemiology of Group B Streptococcal Disease in the United States: Shifting Paradigms. Clin Micro Rev. 1998; 11(3): 497-513.
- <sup>4</sup> Davis et al. Multicenter Study of a Rapid Molecular-Based Assay for the Diagnosis of Group B Streptococcus Colonization in Pregnant Women. C. Infectious Disease. 2004; 30: 1129-35.
- <sup>5</sup> Puopolo et al. Early-Onset Group B Streptococcal Disease in the Era of Maternal Screening. Pediatrics. 2005; 115:1240-1246.
- <sup>6</sup> 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.
- <sup>7</sup> 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).
- <sup>8</sup> Yancey MK, Schuchat A, Brown LK, Ventura VL, Markenson GR. The accuracy of late antenatal screening cultures in predicting genital group B streptococcal colonization at delivery. Obstet Gynecol 1996; 88: 811-15.
- <sup>9</sup> Paoletti, Lawrence C., Ph.D. Research Interests. Accessed 07/19/2006. <<http://www.channing.harvard.edu/paoletti.htm>>.

## Asistencia

Si desea obtener asistencia, puede ponerse en contacto con Cepheid mediante los siguientes datos de contacto. No olvide facilitar el número de serie del instrumento y el Id. del lote de reactivos si realiza una llamada o envía un correo electrónico.

### Estados Unidos

Para acceder al servicio técnico, utilice los siguientes datos de contacto:

Tel.: +1 888 838 3222 Opción 2

Correo electrónico: [techsupport@cepheid.com](mailto:techsupport@cepheid.com)

Puede ponerse en contacto con Cepheid por teléfono de lunes a viernes y de 5 a.m. a 5 p.m. (hora del Pacífico).

### Unión Europea

Para acceder al servicio técnico, utilice los siguientes datos de contacto:












Tel.: +33 563 82 53 00

Correo electrónico: [techsupport@cepheideurope.fr](mailto:techsupport@cepheideurope.fr)

### Otras oficinas

Póngase en contacto con su representante local de Cepheid.

## Tabla de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de referencia
	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	No reutilizar
	Precaución, consultar el documento adjunto
	Fabricante
	Contiene suficiente cantidad para <n> pruebas
	Fecha de caducidad
	Control
	Representante autorizado en la Unión Europea
	Límite de temperatura
	Riesgo biológico

**Fabricante**

Cepheid  
 904 Caribbean Drive  
 Sunnyvale, CA 94089-1189  
 EE. UU.

Teléfono: +1.408.541.4191  
 Fax: +1.408.541.4192

**Representante autorizado**

Cepheid Europe  
 Vira Solelh  
 81470 Maurens-Scopont  
 Francia

Tel.: +33.563.82.53.00  
 Fax: +33.563.82.53.01  
 Correo electrónico: cepheid@cepheideurope.fr







# Italiano

---

Dispositivo medico per diagnostica *in vitro*

## Nome registrato

Xpert® GBS

## Nome comune o usuale

Xpert GBS Assay

## Uso previsto

Il test Cepheid Xpert GBS eseguito sul sistema GeneXpert Dx è un test diagnostico *in vitro* qualitativo, progettato per rilevare il DNA dello streptococco di gruppo B (GBS) nei campioni vaginali/rettali mediante la reazione a catena della polimerasi in tempo reale (PCR, Polymerase Chain Reaction real time) completamente automatizzata con rilevamento del dna amplificato mediante l'impiego di sonde fluorogeniche. Il test Xpert GBS Assay è indicato per l'identificazione rapida di colonizzazione di GBS nel periodo antepartum e intrapartum.

- L'utilizzo del test Xpert GBS per lo screening intrapartum non esclude l'uso di altre strategie (ad es. lo screening antepartum). I risultati del test Xpert GBS intrapartum sono utili per identificare le candidate per la profilassi antibiotica intrapartum quando la somministrazione per via endovenosa di antibiotici è ritardata da risultati in sospeso.
- Il test Xpert GBS Assay non fornisce risultati sulla sensibilità. Per eseguire i test di sensibilità sono necessari isolati colturali, come consigliato per le donne allergiche alla penicillina.

## Riepilogo e spiegazione

L'infezione batterica da GBS è associata a malattia grave nei neonati nati da donne colonizzate dal microrganismo. La trasmissione dell'infezione da GBS avviene da donne colonizzate da GBS ai rispettivi neonati prima della nascita (antepartum) o durante la nascita (intrapartum). Negli Stati Uniti l'infezione da GBS è la causa principale di morte nei neonati che sviluppano sepsi, polmonite o meningite.<sup>1,2,3</sup>

Attualmente, lo standard di cura per la prevenzione della patologia neonatale da GBS è lo screening delle donne alla 35a-37a settimana di gestazione per determinare il loro stato di colonizzazione da GBS.<sup>2</sup> La maggior parte dei test antepartum per l'identificazione di GBS viene eseguita mediante coltura e, generalmente, richiede due-tre giorni per ottenere i risultati. Questa tempistica può essere adatta per la maggior parte delle donne, tuttavia alcune possono non avere i risultati del test antepartum disponibili al momento dell'inizio del travaglio. Il test Xpert GBS sviluppato da Cepheid per l'identificazione di GBS direttamente da campioni di tamponi vaginali/rettali fornisce il risultato in circa 50 minuti o meno.

Quando non si conosce lo stato della colonizzazione di GBS al momento del travaglio, l'approccio diagnostico basato sulla percentuale di rischio è meno efficace dello screening antepartum nell'identificazione delle madri colonizzate da GBS e inoltre non è possibile eseguire il test della sensibilità per le madri allergiche alla penicillina. Per le donne che non hanno ricevuto alcuna cura prenatale o a rischio di parto pretermine o i cui risultati del test GBS non sono noti al momento del parto, il test intrapartum può fornire risultati in un tempo tale da consentire la somministrazione antibiotica prima del parto, se necessario. Il test Xpert GBS può essere eseguito 24 ore su 24, 7 giorni su 7, senza disagio. L'impatto potenziale del test intrapartum consiste nella riduzione della somministrazione di antibiotici non necessari a donne che non richiedono la profilassi e nella somministrazione di un trattamento adeguato alle donne colonizzate da GBS con la conseguente diminuzione del rischio di sepsi o di meningite neonatale.<sup>5</sup> L'efficacia del test intrapartum per l'identificazione di GBS nelle gestanti che iniziano il travaglio e il parto senza che sia noto lo stato della colonizzazione da GBS richiede il rapido prelievo del campione e la capacità di fornire i risultati abbastanza rapidamente per poter iniziare prima del parto la profilassi antibiotica della durata consigliata.

## Principio della procedura

Il sistema GeneXpert Dx consente di automatizzare e integrare la lisi del campione, la purificazione e l'amplificazione degli acidi nucleici e il rilevamento della sequenza bersaglio in campioni complessi utilizzando la PCR in Real Time (RT-PCR) e la PCR Real Time con retrotrascrizione (RRT-PCR). Il sistema è composto da uno strumento, un personal computer e dal software già installato per l'esecuzione di analisi su campioni raccolti e per la visualizzazione dei risultati. Il sistema richiede l'uso di cartucce GeneXpert monouso, nelle cartucce sono contenuti i reagenti per la PCR e sempre nella cartuccia avviene la reazione di PCR. Poiché le cartucce monouso e indipendenti, i rischi di contaminazione crociata sono ridotti al minimo. Per una descrizione completa del sistema, vedere il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx*.

Il test Xpert GBS Assay include reagenti per il rilevamento simultaneo di DNA bersaglio di GBS, un controllo di processamento del campione (SPC) per monitorare le condizioni di elaborazione, un controllo interno (IC) per monitorare le condizioni della PCR e l'assenza di inibitori della reazione di amplificazione. La funzione controllo sonda verifica la reidratazione dei reagenti, il riempimento della provetta PCR nella cartuccia, l'integrità della sonda e la stabilità del fluoroforo. I primer GBS e la sonda rilevano un DNA bersaglio all'interno della regione 3' del DNA adiacente al gene *cfb* di *S. agalactiae*.

Una volta prelevato e trasportato in laboratorio, il scovolo è inserito nella cartuccia GBS Xpert. Il sistema GeneXpert Dx esegue la preparazione del campione eluendo il materiale del campione dal tampone, miscelando il reagente del campione con l'SPC (*Bacillus globigii* sotto forma di una microsfera all'interno della cartuccia) e il reagente di trattamento, catturando il materiale cellulare su un filtro, lisando le cellule ed eluendo il DNA. La soluzione di DNA viene, quindi, miscelata con i reagenti di PCR, che sono in forma disidratata e trasferita nella provetta di reazione integrata, dove si realizza la reazione di amplificazione e rilevamento in Real Time PCR. I risultati sono interpolati dal sistema GeneXpert Dx a partire dai segnali di fluorescenza misurati e dagli algoritmi di calcolo predefiniti. Per l'esecuzione dell'analisi sono necessari circa 50 minuti o meno.

## Reagenti e strumenti



### Materiale fornito

Il kit Xpert GBS (GXGBS-100N-10) contiene reagenti sufficienti per elaborare 10 campioni dei pazienti o di controllo qualità.

Il kit contiene il seguente materiale:

<b>Cartucce Xpert GBS con provette di reazione integrate</b>	<b>10</b>
<b>Microsfera 1 (congelata-disidratata)</b>	<b>1 per cartuccia</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Complesso polimerasi/inibitore</li> <li>• BSA (albumina sierica di bovino)</li> </ul>	
<b>Microsfera 2 (congelata-disidratata)</b>	<b>1 per cartuccia</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Primer</li> <li>• Sonde</li> <li>• dNTP</li> <li>• DNA controllo interno (IC)</li> <li>• BSA (albumina sierica di bovino)</li> </ul>	
<b>Microsfera 3 (congelata-disidratata)</b>	<b>1 per cartuccia</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Controllo elaborazione del campione (SPC) (~2000 spore di <i>B. globigii</i>)</li> <li>• controllo preparazione spore</li> </ul>	
<b>Reagente 1 (Tris Buffer, EDTA, surfattanti)</b>	<b>3,0 ml per cartuccia</b>
<b>Reagente 2 (idrossido di sodio)</b>	<b>3,0 ml per cartuccia</b>
<b>CD</b>	<b>1 per kit</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• File di Definizione del Saggio (ADF)</li> <li>• Istruzioni per importare ADF in sistema GX</li> <li>• Foglietto illustrativo</li> </ul>	

### Note:

- Le schede dei dati sulla sicurezza dei materiali (MSDS, Material Safety Data Sheet) per tutti i reagenti forniti in questo saggio sono disponibili su richiesta presso l'Assistenza tecnica Cepheid e sui siti Web Cepheid ([www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) e [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com)).
- L'albumina sierica di bovino (BSA) di questo prodotto è stata prodotta esclusivamente da plasma bovino di origine statunitense. Anche la produzione avviene negli Stati Uniti. I mangimi utilizzati non contengono né proteine di ruminanti né di altri animali; inoltre gli animali hanno superato il test ante- e post-mortem. Durante il processo di produzione il materiale non entra in contatto con altri materiali di origine animale.



### Conservazione e manipolazione

- Conservare il kit Xpert GBS a 2 – 28 °C.



- Non utilizzare reagenti o cartucce oltre la data di scadenza.

### Materiali necessari ma non forniti

- Sistema GeneXpert Dx (il numero di catalogo varia in base alla configurazione) Strumento GeneXpert, computer, lettore di codici a barre a penna e manuale dell'operatore
- Stampante (per le linee guida sulla compatibilità consultare il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx*)
- Dispositivo di raccolta Cepheid (numero di parte 900-0370)
- Pipetta di trasferimento sterile, monouso (solo per ripetere l'analisi)

### Materiali necessari ma non forniti

- KWIK-STIK™ (MicroBioLogics, cat. no. 8164: un controllo positivo basso, un controllo positivo moderato, un controllo positivo alto per ogni specie di streptococco (gruppo B) e *L. acidophilus* come controllo negativo)

### Avvertenze e precauzioni



- Trattare tutti i campioni biologici, incluse le cartucce usate, come se fossero in grado di trasmettere agenti infettivi. Poiché è spesso impossibile sapere quale campione potrebbe essere infettivo, tutti i campioni biologici devono essere trattati adottando le precauzioni universali. Le linee guida per la manipolazione dei campioni sono disponibili presso gli U.S. Center for Disease Control and Prevention (Centro per il controllo e la prevenzione delle malattie)<sup>6</sup> e il Clinical and Laboratory Standards Institute (Istituto per gli standard clinici e di laboratorio) – in precedenza denominato National Committee for Clinical Laboratory Standards.<sup>7</sup>

- Attenersi alle procedure di sicurezza del proprio istituto relative alla manipolazione di sostanze chimiche e di campioni biologici.
- Xpert GBS Assay non fornisce risultati della sensibilità. Per eseguire i test di sensibilità sono necessari isolati colturali, come consigliato per le donne allergiche alla penicillina.

- Non aprire il coperchio della cartuccia Xpert GBS eccetto quando si aggiunge il campione.

- Non utilizzare una cartuccia che è caduta o è stata scossa dopo aver aggiunto il campione.

- Aprire le cartucce usate solo per rieseguire il test e rimuovere solo il campione eluito dalla camera S con una pipetta.



- Ciascuna cartuccia Xpert GBS monouso è utilizzata per elaborare un'analisi. Non riutilizzare le cartucce usate.

- Consultare il personale addetto allo smaltimento dei rifiuti ambientali del proprio istituto per il corretto smaltimento delle cartucce usate e dei reagenti non utilizzati. Questo materiale può rientrare tra i rifiuti pericolosi in base alla normativa stabilita dalla EPA Resource Conservation and Recovery Act (RCRA) e richiedere requisiti di smaltimento specifici. Controllare le normative regionali e locali che possono differire dalla normativa nazionale sullo smaltimento. Gli istituti al di fuori degli USA devono controllare le normative sullo smaltimento dei rifiuti pericolosi del proprio paese.



- Conservare il kit Xpert GBS a 2 – 28 °C.



- Il reattivo 2 contiene Idrossido di Sodio (pH > 12,5); (R34 EU Risk) che è corrosivo per gli occhi e la pelle e necessita una protezione degli occhi e della pelle.

### Raccolta e trasporto dei campioni



Per ottenere un campione adeguato, attenersi scrupolosamente alle istruzioni riportate in questa sezione.

Utilizzando il dispositivo di raccolta Cepheid, prelevare i campioni attenendosi ai suggerimenti dei CDC.<sup>2</sup> Utilizzare la seguente procedura:

1. Rimuovere la quantità in eccesso di secrezione o escrezione.
2. Rimuovere entrambi i tamponi marcati dal contenitore di trasporto.
3. Inserire con cautela i tamponi marcati nella vagina della paziente. Campionare le secrezioni dalla mucosa del terzo inferiore della vagina. Ruotare tre volte i tamponi per assicurare l'uniformità del campione su entrambi i tamponi.
4. Inserire con cautela gli stessi tamponi marcati oltre lo sfintere anale per circa 2,5 cm e ruotarli delicatamente per prelevare il campione dalle cripte anali.
5. Collocare entrambi i tamponi marcati nel contenitore di trasporto.
6. Se i campioni vengono elaborati entro 24 ore, conservare a temperatura ambiente. Se i campioni saranno analizzati dopo 24 ore, refrigerare finché non viene eseguita l'analisi. I campioni conservati a 2 – 8 °C sono stabili per un massimo di sei giorni.

## Procedura

### Preparazione della cartuccia

**Important:** Avviare l'analisi entro 15 minuti dall'aggiunta del campione nella cartuccia.

**Note:** È richiesto un solo tampone. Il secondo tampone è supplementare e può essere usato per il test di sensibilità. Per eseguire i test di sensibilità sono necessari isolati colturali, come consigliato per le donne allergiche alla penicillina. Non aggiungere due tamponi a ogni cartuccia.

Per aggiungere il campione nella cartuccia (Xpert GBS):

1. Rimuovere la cartuccia dalla confezione.
2. Aprire il coperchio della cartuccia.
3. Rimuovere i tamponi marcati dal contenitore. Far sfiorare delicatamente i due tamponi con un movimento rotatorio in modo che su ciascun tampone sia presente lo stesso quantitativo di campione.
4. Inserire uno dei tamponi nella camera S della cartuccia Xpert GBS.
  - Non inserire entrambi i tamponi nella cartuccia.
  - Riporre il secondo tampone nella provetta di prelievo/trasporto per il successivo test di sensibilità antimicrobica per le pazienti GBS positive. Per eseguire i test di sensibilità sono necessari isolati colturali, come consigliato per le donne allergiche alla penicillina.
5. Sollevare il tampone in modo che la marcatura nera sia centrata nella tacca.
6. Rompere il tampone spezzando l'asta verso destra.
7. Chiudere il coperchio della cartuccia.



**Figure 1.** Cartuccia Xpert GBS (vista superiore)

## Avvio dell'analisi

Questa sezione elenca i passaggi di base dell'esecuzione dell'analisi. Per istruzioni dettagliate, vedere il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert*.

1. Accendere lo strumento GeneXpert Dx e successivamente il PC; il software GeneXpert si avvia automaticamente.
2. Connettersi al software del sistema GeneXpert Dx con il proprio nome utilizzatore e la password.
3. Nella finestra GeneXpert Dx System (Sistema GeneXpert Dx), fare clic su **Create Test** (Crea analisi). Verrà visualizzata la finestra di dialogo Scan Cartridge Barcode (Analizza codice a barre cartuccia).
4. Eseguire la scansione del codice a barre sulla cartuccia Xpert GBS. Verrà visualizzata la finestra Create Test (Crea analisi). Utilizzando le informazioni del codice a barre, il software completa automaticamente i campi seguenti delle caselle: Select Assay (Seleziona saggio), Reagent Lot ID (ID lotto reagenti), Cartridge SN (Cartuccia SN) ed Expiration Date (Data di scadenza).
5. Nella casella **Sample ID** (ID campione), eseguire la scansione o digitare l'ID del campione. Accertarsi di digitare correttamente l'ID del campione. L'ID del campione è associato ai risultati dell'analisi ed è mostrato nella finestra **View Results** (Visualizza risultati) e in tutti i referti.
6. Fare clic su **Start Test** (Avvia analisi); nella finestra di dialogo visualizzata, digitare la password.
7. Aprire lo sportello del modulo dello strumento con la spia verde lampeggiante e caricare la cartuccia.
8. Chiudere lo sportello. L'analisi viene avviata e la spia verde cessa di lampeggiare. Al termine dell'analisi, la spia si spegne.
9. Attendere che il sistema sblocchi il meccanismo di chiusura dello sportello prima di aprire lo sportello del modulo e rimuovere la cartuccia.
10. Se assolutamente necessario, è possibile recuperare l'eluato del campione dalla camera S della cartuccia con una pipetta di trasferimento. Questo eluito può essere utilizzato dal laboratorio di microbiologia come back-up per il secondo tampone del prelievo in doppio per il test di sensibilità. I metodi per la preparazione di colture dal reagente 1 Xpert GBS non sono stati valutati. I laboratori devono validare le proprie procedure di coltivazione o utilizzare il secondo tampone raccolto per eseguire l'identificazione colturale e il test di sensibilità.
11. Le cartucce utilizzate devono essere smaltite negli appositi contenitori per rifiuti in base alle pratiche standard dell'istituto.

## Visualizzazione e stampa dei risultati

Per istruzioni su come visualizzare e stampare i risultati, vedere il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert*.



## Controllo di qualità

Ogni analisi include i seguenti controlli interni e un controllo sonda.

- **Sample processing control (SPC)** (Controllo di processamento del campione): assicura la corretta elaborazione del campione. L'SPC è *B. globigii* sotto forma di una microsfera disidratata ed è incluso in ogni cartuccia. L'SPC monitora la lisi e il processo di eluizione. L'SPC deve essere superato (generare una soglia del ciclo (Ct) valida in un campione negativo) e può non aumentare in un campione altamente positivo. L'SPC viene superato, se soddisfa i criteri di accettazione assegnati.
- **Internal control (IC)** (Controllo interno): verifica la funzionalità dei reagenti della reazione di amplificazione (PCR) e l'assenza di inibizione che bloccherebbe l'amplificazione della DNA. L'IC deve essere superato (generare una Ct valida in un campione negativo) e può non aumentare in un campione altamente positivo. L'IC viene superato, se soddisfa i criteri di accettazione assegnati.
- **Probe check** (Controllo sonda): prima dell'avvio della reazione PCR, il sistema GeneXpert Dx misura il segnale di fluorescenza dalle sonde per monitorare la reidratazione delle microsfere, il riempimento della provetta di reazione, l'integrità della sonda e la stabilità del fluoroforo. Il controllo sonda viene superato, se soddisfa i criteri di accettazione assegnati.
- **External controls** (Controlli esterni) KWIK-STIK™ (MicroBioLogics, cat. no. 8164): può essere utilizzato per il training, il test di competenza e il CQ esterno del sistema GeneXpert Dx. I controlli esterni possono essere utilizzati in accordo con le organizzazioni di accreditamento locali, statali e federali, se applicabile. Attenersi alla procedura per il controllo esterno MicroBioLogics descritta di seguito.
  1. Strappare a livello della tacca per aprire la busta e rimuovere il KWIK-STIK.
  2. Premere la parte inferiore dell'ampolla nel tappo per rilasciare il liquido idratante.
  3. Tenere in posizione verticale e picchiettare delicatamente per facilitare il flusso del liquido attraverso il collo nella parte inferiore dell'unità che contiene il pellet.

4. Per facilitare la risospensione del pellet di cellule liofilizzato, schiacciare il pellet e premere delicatamente la parte inferiore della camera.
5. Staccare il KWIK-STIK per rilasciare il tampone e porre quest'ultimo nella camera S della cartuccia Xpert GBS.
6. Il tampone KWIK-STIK è pronto per il test Xpert GBS.

Il controllo positivo basso contiene circa 620 CFU/tampone (~36 Ct) di GBS e il controllo negativo 17.000 CFU/tampone di *Lactobacillus acidophilus* (0 Ct o >42 Ct).

### Interpretazione dei risultati

I risultati sono interpolati dal sistema GeneXpert Dx a partire dai segnali di fluorescenza misurati e dagli algoritmi di calcolo predefiniti e sono visualizzati nella finestra **View Results** (Visualizza risultati). I risultati possibili sono:

#### POSITIVE (POSITIVO)

L'acido nucleico bersaglio di GBS viene rilevato: presunta colonizzazione di GBS.

- SPC – NA (non applicabile)
- IC – NA (non applicabile)
- Probe check – PASS (Controllo sonda – AMMESSO)

Il secondo tampone prelevato in doppio, conservato nella provetta di prelievo/trasporto, può essere utilizzato per il test di sensibilità antimicrobica. Se necessario, la cartuccia utilizzata può essere inviata al laboratorio di microbiologia come back-up per il test di sensibilità.

#### NEGATIVE (NEGATIVO)

L'acido nucleico bersaglio di GBS non viene rilevato: nessuna colonizzazione presunta di GBS.

- GBS – NEG
- SPC – PASS
- IC – PASS
- Probe Check – PASS (Controllo sonda – AMMESSO)

#### INVALID (NON VALIDO)

Non può essere determinata l'assenza o la presenza di GBS. L'IC e/o l'SPC non soddisfano i criteri di accettazione o si sono formate bolle d'aria nella provetta di reazione.

- GBS – INVALID (NON VALIDO)
- SPC – FAIL\* (RESPINTO\*)
- IC – FAIL\* (RESPINTO\*)
- Probe Check – PASS (Controllo sonda – AMMESSO)

\* L'SPC e/o l'IC non è riuscito.

#### ERROR (ERRORE)

Non può essere determinata l'assenza o la presenza di GBS. Si è verificato un guasto di un componente del sistema, è stata raggiunta la pressione massima o il controllo della sonda non è riuscito.

- GBS – NO RESULT (NESSUN RISULTATO)
- SPC – NO RESULT (NESSUN RISULTATO)
- IC – NO RESULT (NESSUN RISULTATO)
- Probe Check – FAIL\* (Controllo sonda – RESPINTO\*)

\* Se il controllo della sonda è stato superato, si è verificato un errore di un componente del sistema.

#### NO RESULT (NESSUN RISULTATO)

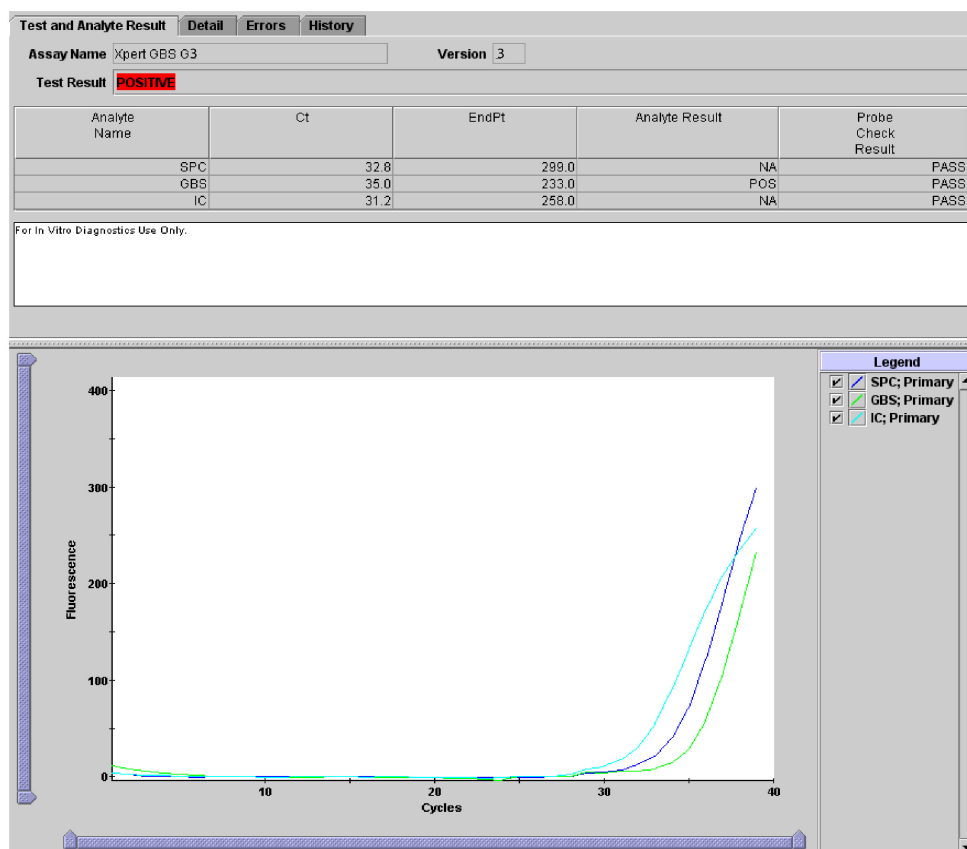
Non può essere determinata l'assenza o la presenza di GBS. L'operatore ha interrotto l'analisi, si è verificata un'interruzione dell'alimentazione durante l'analisi oppure sono stati rilevati dei problemi nella cartuccia.

- GBS – NO RESULT (NESSUN RISULTATO)
- SPC – NO RESULT (NESSUN RISULTATO)
- IC – NO RESULT (NESSUN RISULTATO)
- Probe Check – NA (non applicabile)

**Nota:** Se il risultato è “INVALID” (NON VALIDO), “ERROR” (ERRORE) o “NO RESULT” (NESSUN RISULTATO), si deve ripetere il test o eseguire un metodo alternativo.

- Nel caso di un risultato “ERROR” (ERRORE) (interruzione pressione massima o controllo sonda non riuscito) rieseguire immediatamente il test o analizzare il secondo tampone o intraprendere dei metodi alternativi. I risultati “ERROR” (ERRORE) si possono verificare nei primi 30 minuti del test.
- Quando si esegue il test intrapartum, la ripetizione del test può essere impossibile e dipenderà dalle pratiche e dalle politiche di ciascun istituto. La coordinazione tra i medici e il laboratorio in cui viene eseguito il test è importante per non ritardare la somministrazione degli antibiotici, mentre si è in attesa dei risultati.

La Figura 2 mostra la finestra GeneXpert Dx System (Sistema GeneXpert Dx) - View Results (Visualizza risultati). Nella finestra, è visualizzato Error Status (Stato di errore). Fare clic sulla scheda Errors (Errori) per visualizzare le descrizioni degli errori.



**Figure 2.** Finestra GeneXpert Dx System (Sistema GeneXpert Dx) – View Results (Visualizza risultati)

## Motivi per ripetere l'analisi o intraprendere procedure alternative

Ripetere l'analisi o intraprendere procedure alternative, se si verifica uno dei seguenti risultati:

- **Error** (Errore): l'analisi è stata interrotta perché si è verificato un guasto di un componente del sistema, è stata raggiunta la pressione massima o il controllo sonda non è riuscito.
- **Invalid** (Non valido): l'SPC e/o l'IC non sono riusciti con GBS negativo. Un risultato non valido può anche essere causato dalle bolle d'aria presenti nella provetta di reazione.
- **No Result** (Nessun risultato): l'operatore ha interrotto l'analisi, si è verificata un'interruzione dell'alimentazione durante l'analisi oppure sono stati rilevati dei problemi nella cartuccia.

Se c'è del liquido nella camera S della cartuccia, utilizzare una pipetta di trasferimento per trasferire tutto il liquido alla camera S di una nuova cartuccia, quindi ripetere l'analisi. Se non vi è liquido, utilizzare pinzette sterili per trasferire il tampone a una nuova cartuccia, quindi ripetere il test dal punto "Aggiungi il reagente 1 nella camera della cartuccia 1". In alternativa preparare una nuova cartuccia, utilizzando il secondo tampone e quindi ripetere il test.

## Limitazioni

- Le prestazioni del test Xpert GBS Assay sono state stabilite con il sistema Cepheid GeneXpert DX, con campioni vaginali-rettali di pazienti nei periodi antepartum e intrapartum prelevati con il dispositivo di raccolta Cepheid (numero di parte 900-0370). Pertanto, questo prodotto può essere utilizzato solamente con il sistema GeneXpert DX. Inoltre, non è consigliato l'utilizzo di sistemi di raccolta e trasporto campioni diversi da quelli elencati nella sezione Materiali necessari ma non forniti. Non è stato valutato l'utilizzo di Xpert GBS Assay da altre fonti cliniche e le caratteristiche sulle prestazioni di questo test non sono note per altri tipi di campioni.
- Risultati errati dell'analisi potrebbero verificarsi in seguito a errori di raccolta del campione, manipolazione o conservazione errata, errori tecnici, scambio di campioni o presenza nel campione di un numero di organismi inferiore alla soglia di sensibilità analitica del test. Per evitare risultati errati, è necessario attenersi scrupolosamente alle istruzioni descritte in questo foglio illustrativo e al documento contenente le istruzioni relative al *protocollo di raccolta dei campioni vaginali/rettali*. Il prelievo del tampone sia dal terzo inferiore della vagina sia da retto aumenta significativamente la resa rispetto all'esecuzione del tampone solo a livello della cervice o della vagina senza anche il prelievo dal retto.
- Il rilevamento dello streptococco di gruppo B dipende dal numero di organismi presenti nel campione, pertanto l'affidabilità dei risultati dipende dalla raccolta, dalla manipolazione e dalla conservazione appropriate del campione. Si consiglia di eseguire l'analisi tra la 35a e la 37a settimana di gestazione per migliorare la sensibilità e la specificità di identificazione di donne che rimangono colonizzate al momento del parto.
- Il training del personale che utilizza il sistema GeneXpert Dx è importante per garantire risultati accurati e tempestivi.
- La ripetizione del test Xpert GBS Assay, quando il risultato è INVALID, ERROR e NO RESULT dipende dalle pratiche e dalle politiche di ciascun istituto. Devono essere disponibili delle procedure alternative (ad es. è consigliata la coltura con brodo di arricchimento selettivo per 18 – 24 ore). Per eseguire i test di sensibilità sono necessari isolati colturali, come consigliato per le donne allergiche alla penicillina. Per le colture i campioni dei tamponi rimasti devono essere posti in sistemi di trasporto adeguati e allestita la coltura per 4 giorni. I metodi per la preparazione di colture dal reagente 2 Xpert GBS non sono stati valutati. I laboratori devono validare le proprie procedure di coltivazione o utilizzare il secondo tampone raccolto per eseguire l'identificazione colturale e il test di sensibilità.
- Un risultato positivo dell'analisi non indica necessariamente la presenza di organismi vitali. È, tuttavia, presuntivo per la presenza di streptococco di gruppo B.
- Il test intrapartum con il test Xpert GBS Assay deve essere utilizzato in aggiunta ad altri metodi disponibili e non come sostituto del test antepartum (eseguito alla 35a-37a settimana di gestazione). Il test non è destinato a differenziare i portatori di streptococco di gruppo B da quelli con infezione streptococcica.
- I risultati del test potrebbero anche essere condizionati da terapia antibiotica concomitante. Perciò, non è possibile valutare il successo o il fallimento terapeutico tramite questo test, poiché il DNA potrebbe persistere dopo la terapia antimicrobica.
- Per evitare la contaminazione dei campioni o dei reagenti, si raccomanda di seguire le buone pratiche di laboratorio e di cambiare i guanti dopo ogni manipolazione dei campioni dei pazienti.



## Valori previsti

Il 10 – 30% circa delle donne gravide è colonizzato da GBS nella vagina o nel retto. La colonizzazione da GBS può essere transitoria, cronica o intermittente. Lo screening delle colture della vagina e del retto per GBS nell'ultima fase della gestazione durante le cure prenatali può identificare le donne che hanno la probabilità di essere colonizzate da GBS al momento del parto.<sup>2,3</sup> In vari studi sono stati riportati valori di sensibilità pari all'87% (83 – 92% CI) e al 69% (57 – 79% CI) e di specificità pari al 96% (95 – 98% CI) e al 92% (89 – 94% CI) per colture prenatali tardive per l'identificazione dello stato di colonizzazione al momento del parto.<sup>8</sup> Durante le valutazioni cliniche del test Xpert GBS Assay il 25,4% (201 su 791) delle donne era colonizzato da GBS secondo i metodi colturali.

## Caratteristiche sulle prestazioni

### Prestazioni cliniche

Le caratteristiche sulle prestazioni di Xpert GBS Assay sono state determinate in uno studio sperimentale prospettico in più laboratori, presso sei istituti con servizi di maternità negli Stati Uniti. Ciascun istituto aveva un programma di screening basato su coltura o su test di amplificazione dell'acido nucleico (NAAT). Il test è stato eseguito in laboratori clinici affiliati a ciascun istituto, nonché all'area travaglio e parto. Nello studio sono state incluse donne nel periodo intrapartum e antepartum. Per l'arruolamento nella parte intrapartum dello studio, era necessario il consenso scritto delle donne, essere in travaglio e non avere alcuna controindicazione all'esame vaginale (per esempio, sanguinamento). Per l'arruolamento nella parte antepartum dello studio, era necessario il consenso scritto delle donne, essere alla 35a-37a settimana di gestazione e non avere alcuna controindicazione all'esame vaginale (per esempio, sanguinamento). Inoltre, nessuna delle donne arruolate presentava placenta previa, non c'era alcuna indicazione urgente di procedere al parto e non era stato utilizzato alcun tipo di antibiotico nella settimana precedente il ricovero.

Sono stati prelevati campioni vaginali/rettali da ciascuna delle 794 pazienti eleggibili utilizzando due set di tamponi marcati (dispositivi di raccolta Cepheid). Uno dei tamponi del primo set è stato utilizzato per la coltura. Il secondo set di tamponi marcati è stato diviso nel modo seguente: un tampone è stato utilizzato nel test Xpert GBS Assay sul sistema GeneXpert Dx, l'altro è stato utilizzato nel saggio 2<sup>nd</sup> NAAT. Il saggio 2<sup>nd</sup> NAAT individua una sequenza nel gene *gfb* ed era stato approvato dall'FDA in precedenza. I risultati di questo test non sono stati utilizzati nelle stime di prestazione. Dopo l'utilizzo in questi test, ognuno di questi tamponi è stato posto anche nel brodo di coltura LIM, incubato ed è stata eseguita una subcoltura su piastra di agar sangue (BAP) e la piastra è stata osservata per la presenza di GBS.

Ogni istituto ha utilizzato la tecnica di coltura consigliata nelle linee guida 2002 dei CDC<sup>2</sup>: coltura microbiologica in terreno liquido selettivo (brodo LIM, ovvero brodo Todd-Hewitt integrato con 15 µg/ml di acido nalidixico e da 10 µg/ml di colistina), seguita da incubazione per 18 – 24 ore e subcoltura su terreno solido di agar sangue. È stata eseguita l'identificazione specifica di colonie indicative di GBS con i test di agglutinazione su vetrino.

### Risultati completi

Le caratteristiche sulle prestazioni del test Xpert GBS Assay sono state determinate dalla valutazione dei test di laboratorio eseguiti su campioni di 794 gestanti: 373 nel periodo antepartum e 421 nel periodo intrapartum. Tre donne non hanno avuto risultati dalla coltura e sono state escluse dall'analisi (0 sono risultate positive con il test Xpert GBS e 3 negative con il test Xpert GBS); pertanto sono rimaste 791 risultati di coltura valutabili. Tutti i campioni sono stati testati con coltura (come descritto sopra) e la maggioranza anche con un test 2<sup>nd</sup> NAAT per GBS. Il saggio 2<sup>nd</sup> NAAT individua una sequenza nel gene *gfb* ed era stato approvato dall'FDA in precedenza; i risultati di questo test non sono stati utilizzati per le stime della prestazione. Dei 791 casi, sono stati riportati 726 risultati con il test Xpert GBS Assay al primo tentativo (91,8%). Vi sono stati 65 risultati non riportabili (ovvero invalid, error o no result); 55 di questi si sono risolti ripetendo il test. In totale 201 donne avevano colture positive per GBS sia dal singolo campione usato per la coltura sia dai tamponi eluiti dopo l'analisi con i test Xpert GBS e 2<sup>nd</sup> NAAT. Il test Xpert GBS Assay inizialmente ha riportato 168 risultati positivi (168/201; 83,6%). Ripetendo il test i risultati positivi sono aumentati a 178/201 (88,6%). Cinquecentonovanta (590) donne hanno avuto colture negative e 520 sono risultate inizialmente negative con il test Xpert GBS (88,1%) e 561 dopo la ripetizione del test (95,1%).

La tabella 1 mostra il test Xpert GBS in base ai risultati positivi e negativi della coltura per 791 soggetti (per 3 la coltura era cresciuta eccessivamente o non poteva essere interpretata). La sensibilità, la specificità e le stime dei valori negativi e positivi mostrate sono basate sui risultati dopo la ripetizione del test. Dopo la ripetizione del test sono rimasti irrisolti 10 casi (n = 781).

**Table 1.** Risultati secondo il test Xpert GBS e prestazione stimata per categoria di pazienti

Categoria paziente	Risultati	N. totale <sup>1</sup>	Pazienti positive con coltura <sup>1</sup>	Pazienti negative con coltura <sup>1</sup>	Sensibilità dopo la ripetizione del test [95% confidenza]	Specificità dopo la ripetizione del test [95% confidenza]	PPV <sup>7</sup> dopo la ripetizione del test [95% confidenza]	NPV <sup>8</sup> dopo la ripetizione del test [95% confidenza]
Tutte le pazienti	Pos. con Xpert GBS	197 (186)	178 (168)	19 (18)	88,6%	96,7%	90,4%	96,1%
	Neg. con Xpert GBS	584 (540)	23 (20)	561 (520)				
	No Result <sup>2</sup>	10 (65)	0 (13)	10 (52)	[83,3%–92,6%]	[94,9%–98,0%]	[85,4%–94,1%]	[94,2%–97,5%]
	Totale	791 <sup>3</sup>	201 <sup>4</sup>	590				
Antepartum	Pos. con Xpert GBS	92 (88)	87 (83)	5 (5)	85,3%	98,1%	94,6%	94,5%
	Neg. con Xpert GBS	274 (253)	15 (13)	259 (240)				
	No Result <sup>2</sup>	7 (32)	0 (6)	7 (26)	[76,9%–91,5%]	[95,6%–99,4%]	[87,8%–98,2%]	[94,1%–96,9%]
	Totale	373	102	271				
Intrapartum	Pos. con Xpert GBS	105 (98)	91 (85)	14 (13)	91,9%	95,6%	86,7%	97,4%
	Neg. con Xpert GBS	310 (287)	8 (7)	302 (280)				
	No Result <sup>2</sup>	3 (33)	0 (7)	3 (26)	[84,7%–96,5%]	[92,7%–97,6%]	[78,6%–92,5%]	[95,0%–98,9%]
	Totale	418	99	319				
ROM <sup>5</sup>	Pos. con Xpert GBS	27 (24)	21 (19)	6 (5)	91,3%	94,3%	77,8%	98,0%
	Neg. con Xpert GBS	102 (92)	2 (2)	100 (90)				
	No Result <sup>2</sup>	0 (13)	0 (2)	0 (11)	[72,0%–98,9%]	[88,1%–97,9%]	[57,7%–91,4%]	[93,1%–99,8%]
	Totale	129	23	106				
No ROM <sup>6</sup>	Pos. con Xpert GBS	78 (74)	70 (66)	8 (8)	92,1%	96,2%	89,7%	97,1%
	Neg. con Xpert GBS	208 (195)	6 (5)	202 (190)				
	No Result <sup>2</sup>	3 (20)	0 (5)	3 (15)	[83,6%–97,1%]	[92,6%–98,3%]	[80,8%–95,5%]	[93,8%–98,9%]
	Totale	289	76	213				

<sup>1</sup> Tutti i risultati con Xpert GBS mostrati corrispondono alla ripetizione del test; i risultati iniziali sono tra parentesi.

<sup>2</sup> L'esito "No results" per il test Xpert GBS può essere dovuto a un test non valido, un errore del sistema o alla mancanza di risultato quando non può essere determinata la presenza o l'assenza del DNA di GBS.

<sup>3</sup> Sono state escluse dall'analisi tre donne del braccio intrapartum con nessun risultato dalla coltura.

<sup>4</sup> La prevalenza totale della colonizzazione da GBS è risultata pari al 25,3% in base al metodo colturale.

<sup>5</sup> Sottinsieme delle donne intrapartum i cui campioni sono stati prelevati dopo la rottura della membrana (ROM).

<sup>6</sup> Sottinsieme delle donne intrapartum i cui campioni sono stati prelevati prima la rottura della membrana (ROM). Non è attesa alcuna differenza biologica tra questi campioni intrapartum e quelli prelevati antepartum.

<sup>7</sup> Valore predittivo positivo.

<sup>8</sup> Valore predittivo negativo.

**Table 2.** Prestazione del test Xpert GBS e 2<sup>nd</sup> NAAT<sup>1</sup> rispetto alla coltura

Categoria	Xpert GBS						2 <sup>nd</sup> NAAT <sup>1</sup>					
	Sensibilità	CI inferiore	CI superiore	Specificità	CI inferiore	CI superiore	Sensibilità	CI inferiore	CI superiore	Specificità	CI inferiore	CI superiore
Complessivi	88.6%	83.3%	92.6%	96.7%	94.9%	98.0%	77.9%	71.5%	83.5%	96.3%	94.4%	97.6%
	(178/201)			(561/580)			(155/199)			(567/589)		
Antepartum	85.3%	76.9%	91.5%	98.1%	95.6%	99.4%	74.5%	64.9%	82.6%	97.0%	94.3%	98.7%
	(87/102)			(259/264)			(76/102)			(263/271)		
Intrapartum	91.9%	84.7%	96.4%	95.6%	92.7%	97.6%	81.4%	72.3%	88.6%	95.6%	92.7%	97.6%
	(91/99)			(302/316)			(79/97)			(304/318)		
ROM <sup>2</sup>	91.3%	72.0%	98.9%	94.3%	88.1%	97.9%	90.9%	70.8%	98.9%	95.2%	89.2%	98.4%
	(21/23)			(100/106)			(20/22)			(100/105)		
No ROM <sup>3</sup>	92.1%	83.6%	97.0%	96.2%	92.6%	98.3%	78.7%	67.7%	87.3%	95.8%	92.1%	98.0%
	(70/76)			(202/210)			(59/75)			(204/213)		

<sup>1</sup> Il saggio 2<sup>nd</sup> NAAT individua una sequenza nel gene cfb ed è stato approvato dall'FDA in precedenza.

<sup>2</sup> Sottoinsieme delle donne intrapartum i cui campioni sono stati prelevati dopo la rottura della membrana (ROM).

<sup>3</sup> Sottoinsieme delle donne intrapartum i cui campioni sono stati prelevati prima la rottura della membrana (ROM).

La tabella seguente mostra un confronto diretto dei due test di PCR, Xpert GBS e 2<sup>nd</sup> NAAT.

**Table 3.** Confronto diretto dei due test di PCR

	Pos. con coltura			Neg. con coltura			ND con coltura			Totale Xpert GBS
	2 <sup>nd</sup> NAAT: pos.	2 <sup>nd</sup> NAAT: neg.	Irrisolto	2 <sup>nd</sup> NAAT: pos.	2 <sup>nd</sup> NAAT: neg.	Irrisolto	2 <sup>nd</sup> NAAT: pos.	2 <sup>nd</sup> NAAT: neg.	Irrisolto	
Pos. con Xpert GBS	149	27	2	10	9	0	0	0	0	197
Neg. con Xpert GBS	6	17	0	11	549	1	0	3	0	587
Invalid/Error/No Result	0	0	0	1	9	0	0	0	0	10
Totale 2 <sup>nd</sup> NAAT	165	44	2	22	567	1	0	3	0	794

La tabella 4 mostra il numero di pazienti testate in ognuno dei sei laboratori clinici che hanno partecipato alla valutazione e la prestazione stimata per il test Xpert GBS (rispetto ai risultati della coltura).

**Table 4.** Confronto tra laboratori

Laboratorio	Pazienti antepartum	Pazienti intrapartum	Pazienti totali	Pos. con coltura	Prevalenza	Xpert GBS con No Results		Sensibilità			Specificità		
						Primo test	Dopo ripetizione	Stima	Inferiore 95%	Superiore 95%	Stima	Inferiore 95%	Superiore 95%
1	0	51	51	11	21,6%	4	1	72,7%	39,0%	94,0%	92,3%	79,1%	98,4%
2	113	5	118	31	26,3%	12	2	90,3%	74,2%	98,0%	97,6%	91,8%	99,7%
3	94	0	94	17	18,1%	9	1	76,5%	50,1%	93,2%	100,0%	95,3%	100,0%
4	64	175	239	75	31,4%	13	2	85,3%	75,3%	92,4%	96,3%	92,1%	98,6%
5	22	152	174	38	21,8%	16	1	97,4%	86,2%	99,9%	94,8%	89,6%	97,9%
6	80	35	115	29	25,2%	11	3	96,6%	82,2%	99,9%	98,8%	93,5%	100,0%
<b>Totale</b>	<b>373</b>	<b>418</b>	<b>791</b>	<b>201</b>	<b>25,4%</b>	<b>65</b>	<b>10</b>	<b>88,6%</b>	<b>83,3%</b>	<b>92,6%</b>	<b>96,7%</b>	<b>94,9%</b>	<b>98,0%</b>

**Note:** Il laboratorio 6 ha avuto tre risultati mancanti per le colture intrapartum su BAP.

### Tempo occorrente per l'analisi

Il tempo occorrente per i 390 soggetti intrapartum arruolati nella sperimentazione clinica è descritto di seguito. Il tempo occorrente medio dal momento d'inizio del test Xpert GBS fino al risultato è stato di 1,84 ore (per tutti i 390 soggetti). Il tempo occorrente medio per i 360 soggetti che hanno dato risultati validi al primo tentativo è stato di 1,76 ore. Il tempo occorrente medio per i 30 soggetti che hanno dato risultati validi al secondo tentativo è stato di 2,74 ore. Il tempo occorrente mediano per i 360 campioni che hanno dato risultati validi al primo tentativo è stato di 1,47 ore e 2,44 ore per i 30 soggetti che hanno dato risultati validi al secondo tentativo.

**Table 5.** Tempo occorrente dall'inizio al risultato del test per l'individuazione di GBS per 390 soggetti intrapartum

	Complessivi	Risultato al primo tentativo	Risultato al secondo tentativo
<b>Media (ore)</b>	1,84	1,76	2,74
<b>Mediana (ore)</b>	1,48	1,47	2,44

### Specificità analitica

È stato testato il DNA genomico purificato, ottenuto commercialmente da 101 ceppi, di cui 28 streptococchi, 73 altre specie inclusi i ceppi filogeneticamente correlati a *S. agalactiae*, altra microflora (batteri e lieviti) comunemente rilevata nella flora vaginale e rettale e DNA umano. Sono state eseguite tre repliche a 1,5 ng/25 µl di reazione ( $\sim 2 \times 10^5$  copie equivalenti di genoma per reazione). Nessuno degli isolati di 28 streptococchi (non GBS) è risultato positivo. Dei 73 ceppi restanti, quattro (*Enterococcus gallinarum*, *Staphylococcus simulans*, *Micrococcus luteus* e *Propionibacterium acnes*) sono risultati debolmente positivi in una delle sei repliche.

## Sensibilità analitica

La sensibilità analitica o limite di rilevamento (LOD) è stata determinata con 11 ceppi di *S. agalactiae*. Sono stati identificati 9 sierotipi di GBS (Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII, and VIII). La maggioranza dei casi di sepsi neonatale da GBS è stata attribuita ai sierotipi da 1 a 4: Ia, Ib, II o III. Il sierotipo V di GBS è risultato essere una causa importante di infezione da GBS negli Stati Uniti e i ceppi VI e VIII sono diventati prevalenti tra le donne giapponesi.<sup>9</sup> Le colture quantificate sono state testate in quattro repliche. La tabella 6 mostra la concentrazione minima di ciascun sottotipo che produce un risultato positivo in tutte e quattro le repliche.

**Table 6.** Limite di rilevamento ottenuto per ogni sierotipo analizzato

Sierotipo	CFU/tampone
ATCC 12973 (II)	250
Ia/c	250
Ib/c	250
II	250
III	250
IV	250
IVc	250
V	250
VI	250
VII	250
VIII	250

## Riproducibilità

Un pannello di campioni a concentrazioni variabili di GBS e *Lactobacillus acidophilus* (negativo) è stato analizzato in triplicato, in 10 giorni diversi, in ciascuno dei tre laboratori (4 campioni  $\times$  3  $\times$  10 giorni  $\times$  3 laboratori). In ognuno dei 3 laboratori è stato utilizzato un lotto dei kit Xpert GBS, secondo la procedura Xpert GBS.

**Table 7.** Riepilogo dei risultati di riproducibilità

CFU campione/ tamponi	Laboratorio 1	Laboratorio 2	Laboratorio 3	Risultati attesi (Intervallo Ct) <sup>1</sup>	Concordanza totale	% concordanza totale
GBS negativo L. acidophilus 1,7 $\times$ 10 <sup>4</sup> CFU/ tamponi	30/30	30/30	30/30	Negativo (0, 0 >42)	90/90	100%
GBS basso 6,2 $\times$ 10 <sup>2</sup> CFU/ tamponi	30/30	30/30	30/30	Positivo (31 – 41)	90/90	100%
GBS moderato 8,3 $\times$ 10 <sup>3</sup> CFU/ tamponi	30/30	30/30	30/30	Positivo (27 – 37)	90/90	100%
GBS alto 1,3 $\times$ 10 <sup>6</sup> CFU/ tamponi	30/30	30/30	30/30	Positivo (19 – 29)	90/90	100%
Concordanza totale	120/120	120/120	120/120		360/360	100%
% concordanza	100%	100%	100%		100%	100%

<sup>1</sup>Intervallo atteso dei valori di Ct; tutti i valori erano compresi negli intervalli attesi.

## Riferimenti bibliografici

- <sup>1</sup> Schrag et al. A population-based comparison of strategies to prevent early-onset group B streptococcal disease in neonates. *NEJM*. 2002; 247(4): 233 – 239.
- <sup>2</sup> Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. *MMWR* 2002; 51 (No. RR-11): 1 – 26.
- <sup>3</sup> Schuchat A. Epidemiology of Group B Streptococcal Disease in the United States: Shifting Paradigms. *Clin Micro Rev*. 1998; 11(3): 497 – 513.
- <sup>4</sup> Davis et al. Multicenter Study of a Rapid Molecular-Based Assay for the Diagnosis of Group B Streptococcus Colonization in Pregnant Women. *C. Infectious Disease*. 2004; 30: 1129 – 35.
- <sup>5</sup> Puopolo et al. Early-Onset Group B Streptococcal Disease in the Era of Maternal Screening. *Pediatrics*. 2005; 115:1240 – 1246.
- <sup>6</sup> 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.
- <sup>7</sup> 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).
- <sup>8</sup> Yancey MK, Schuchat A, Brown LK, Ventura VL, Markenson GR. The accuracy of late antenatal screening cultures in predicting genital group B streptococcal colonization at delivery. *Obstet Gynecol* 1996; 88: 811 – 15.
- <sup>9</sup> Paoletti, Lawrence C., Ph.D. Research Interests. Accesso 07/19/2006. <<http://www.channing.harvard.edu/paoletti.htm>>.

## Assistenza

Per ricevere assistenza, contattare Cepheid a uno dei seguenti recapiti. Quando si contatta l'Assistenza tramite telefono o posta elettronica, accertarsi di fornire il numero di serie dello strumento e l'ID del lotto reagenti.

### Nord America

Per l'assistenza tecnica, utilizzare i seguenti recapiti:

Tel: +1 888 838 3222 opzione 2

E-mail: [techsupport@cepheid.com](mailto:techsupport@cepheid.com)

È possibile contattare telefonicamente l'Assistenza tecnica Cepheid dal lunedì al venerdì, dalle 5 alle 17 (Pacifico).

### Unione Europea

Per l'assistenza tecnica, utilizzare i seguenti recapiti:












Tel: +33 563 82 53 00

E-mail: [techsupport@cepheideurope.fr](mailto:techsupport@cepheideurope.fr)

### Altri Paesi

Contattare il rappresentante Cepheid locale.

## Tabella dei simboli

Simbolo	Significato
	Numero di catalogo
	Dispositivo medico per diagnostica in vitro
	Non riutilizzare
	Attenzione: consultare la documentazione allegata
	Produttore
	Contiene quantità sufficiente per <n> analisi
	Data di scadenza
	Controllo
	Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
	Limitazione della temperatura
	Rischio biologico

### Produttore

Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089-1189  
USA

Telefono: +1.408.541.4191  
Fax: +1.408.541.4192

### Rappresentante autorizzato

Cepheid Europe  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
Francia

Tel: +33.563.82.53.00  
Fax: +33.563.82.53.01  
E-mail: cepheid@cepheideurope.fr





# Português

---

Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

## Nome patentado

Xpert® GBS

## Nome comum ou usual

Ensaio Xpert GBS

## Utilização prevista

O ensaio Xpert GBS da Cepheid, efectuado no sistema GeneXpert® Dx, é um teste qualitativo de diagnóstico *in vitro* concebido para detectar DNA de estreptococos do Grupo B (EGB) em zaragoas vaginais/rectais, usando a técnica de PCR (*polymerase chain reaction* - reacção em cadeia da polimerase) automatizada em tempo real, com detecção fluorogénica do DNA amplificado. A utilização do ensaio Xpert GBS está indicada para a identificação rápida da colonização por EGB no anteparto e intraparto.

- A utilização do Xpert GBS para o rastreio intraparto não deve impedir a utilização de outras estratégias (por exemplo, testes no anteparto). Os resultados Xpert GBS obtidos no intraparto são úteis na identificação de candidatas para a profilaxia antibiótica intraparto, quando a administração intravenosa dos antibióticos não é atrasada pela espera dos resultados.
- O ensaio Xpert GBS não fornece resultados de susceptibilidade. São necessários isolados de culturas para efectuar os testes de susceptibilidade, conforme recomendado para as mulheres alérgicas à penicilina.

## Resumo e explicação

A infecção bacteriana por EGB está associada com doenças graves em recém-nascidos, nascidos de grávidas colonizadas por esse microrganismo. O EGB é transmitido pelas mulheres colonizadas com EGB aos seus filhos antes do parto (anteparto) ou durante o parto (intraparto). Nos EUA, a infecção por EGB é a principal causa de morte dos recém-nascidos que desenvolvem sépsis, pneumonia ou meningite.<sup>1,2,3</sup>

Hoje em dia, a norma para a prevenção do doença neonatal por EGB é o rastreio das grávidas às 35-37 semanas de gestação, para determinar o seu estado de colonização pelo EGB.<sup>2</sup> A maioria dos testes de EGB anteparto é efectuada através de cultura e, normalmente, os resultados finais demoram dois a três dias. Para a maioria das mulheres, este intervalo de tempo pode ser adequado para a obtenção de resultados de cultura de EGB anteparto; contudo, para algumas mulheres, os resultados EGB poderão não estar disponíveis no momento do início do trabalho de parto. O ensaio Xpert GBS, desenvolvido pela Cepheid para detectar os EGB directamente de zaragoas vaginais/rectais, demora cerca de 50 minutos ou menos, desde que o teste é iniciado.

Quando o estado de EGB é desconhecido na altura do parto, a abordagem baseada no risco é menos eficaz na identificação das mães colonizadas do que o rastreio anteparto e os testes de susceptibilidade não são possíveis para as mulheres alérgicas à penicilina. Para as mulheres sem cuidados pré-natais, em risco de parto pré-termo ou cujos resultados de EGB são desconhecidos na altura do parto, o teste intraparto pode proporcionar resultados a tempo de serem administrados antibióticos antes do parto, se necessário. O ensaio Xpert GBS pode ser feito 24 horas por dia, 7 dias por semana e sem inconvenientes. O impacto potencial para os testes intraparto é a diminuição da utilização de antibióticos desnecessários em mulheres sem outras indicações para a profilaxia fornecendo, ao mesmo tempo, o tratamento adequado às mulheres colonizadas por EGB, com o resultante risco diminuído de sépsis e meningite neonatal.<sup>5</sup> O teste eficaz de EGB intraparto em grávidas que entram em trabalho de parto sem um estado de EGB conhecido requer uma rápida colheita de amostras e a capacidade de fornecer resultados com a rapidez suficiente para iniciar a profilaxia antibiótica com a duração recomendada, antes do parto.

## Princípio do procedimento

O sistema GeneXpert Dx automatiza e integra a lise das amostras, a purificação e amplificação dos ácidos nucleicos e a detecção das sequências-alvo em amostras complexas, utilizando ensaios de RT-PCR (transcriptase reversa-PCR) em tempo real. O sistema é composto por um instrumento, um computador e software pré-instalado para efectuar testes em amostras colhidas e visualizar os resultados. O sistema requer a utilização de cartuchos GeneXpert descartáveis, de utilização única, que contém os reagentes de PCR e onde decorre o processo de PCR. Como os cartuchos são autónomos, a contaminação cruzada é minimizada. Para uma descrição completa do sistema, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx*.

O ensaio Xpert GBS inclui reagentes para a detecção simultânea de DNA-alvo de EGB, um controlo de processamento de amostras (SPC) para monitorizar as condições de processamento e um controlo interno (IC) para monitorizar as condições do PCR e a ausência de inibição da reacção. A verificação da sonda verifica a reidratação dos reagentes, o enchimento do tubo de PCR no cartucho,

a integridade da sonda e a estabilidade do corante. Os primers de EGB e a sonda detectam um alvo na região 3' do DNA adjacente ao gene *cfb* do *S. agalactiae*.

Após a colheita e o transporte de uma zaragatoa da amostra para a zona de ensaio do GeneXpert, o cotonete é inserto no cartucho GBS Xpert. O sistema GeneXpert Dx efectua a preparação da amostra eluindo a amostra da zaragatoa, misturando o reagente de amostra com o SPC (*Bacillus globigii*, sob a forma de uma esfera dentro do cartucho) com o reagente de tratamento, capturando o material celular num filtro, lisando as células e eluindo o DNA. De seguida, a solução de DNA é misturada com os reagentes de PCR desidratados e transferida para o tubo de reacção integrado para ser efectuado o PCR em tempo real e a detecção. Os resultados são interpolados pelo sistema GeneXpert Dx a partir dos sinais de fluorescência medidos e dos algoritmos de cálculo incorporados. Os resultados podem ser visualizados e impressos. O processo de teste demora cerca de 50 minutos ou menos.

## Reagentes e instrumentos



### Material fornecido

O kit Xpert GBS (GXGBS-100N-10) contém reagentes suficientes para processar 10 amostras de pacientes ou amostras de controlo da qualidade.

O kit contém os seguintes itens:

<b>Cartuchos do ensaio Xpert GBS com tubos de reacção integrados</b>	<b>10</b>
<b>Esfera 1 (liofilizada)</b>	<b>1 por cartucho</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Complexo polimerase/inibidor</li> <li>BSA (albumina sérica bovina)</li> </ul>	
<b>Esfera 2 (liofilizada)</b>	<b>1 por cartucho</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Primers</li> <li>Sondas</li> <li>dNTP</li> <li>DNA de controlo interno (IC)</li> <li>BSA (albumina sérica bovina)</li> </ul>	
<b>Esfera 3 (liofilizada)</b>	<b>1 por cartucho</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Controlo de processamento da amostra (SPC) (~2000 esporos de <i>B. globigii</i>) esporos de controlo da preparação</li> </ul>	
<b>Reagente 1 (Tampão Tris, EDTA, tensoactivos)</b>	<b>3,0 ml por cartucho</b>
<b>Reagente 2 (Hidróxido de sódio)</b>	<b>3,0 ml por cartucho</b>
<b>CD</b>	<b>1 por kit</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>ficheiro de definição de ensaio (ADF)</li> <li>Instruções para importar ADF em sistema GX</li> <li>Instruções</li> </ul>	

### Note:

- As Fichas de Dados de Segurança (Material Safety Data Sheets, MSDS) para todos os reagentes fornecidos com este ensaio encontram-se disponíveis mediante solicitação ao Apoio Técnico da Cepheid e estão disponíveis nos Web sites da Cepheid ([www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) e [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com)).
- A albumina sérica bovina (BSA) deste produto foi produzida exclusivamente a partir de plasma bovino com origem nos EUA. O fabrico da BSA também decorreu nos EUA. Nenhuma proteína de ruminante ou outra proteína animal foi administrada aos animais; os animais foram aprovados em testes ante e post-mortem. Durante o processamento não houve mistura do material com outros materiais de origem animal.



### Conservação e manuseamento

- Conserve o kit Xpert GBS a 2 – 28 °C.
- Não utilize reagentes ou cartuchos fora do prazo da validade.



### Materiais necessários não fornecidos

- Sistema GeneXpert Dx (a referência varia com a configuração): instrumento GeneXpert, computador, leitor de códigos de barras e Manual do utilizador
- Impressora (consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx* para obter as orientações de compatibilidade)
- Dispositivo de colheita Cepheid (ref. 900-0370)
- Pipeta de transferência esterilizada descartável (apenas para a repetição do teste)

### Materiais disponíveis não fornecidos

- KWIK-STIK™ (MicroBioLogics, ref. 8164: para a espécie *Streptococcus* (Grupo B), um controlo positivo baixo, um controlo positivo moderado e um controlo positivo alto e *L. acidophilus* como controlo negativo)

### Advertências e precauções



- Trate todas as amostras biológicas, incluindo os cartuchos usados, como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos. Como é muitas vezes impossível saber quais podem ser infecciosas, todas as amostras biológicas devem ser tratadas com precauções universais. As directivas para o manuseamento de amostras estão disponíveis no *Center for Disease Control and Prevention (CDC)*<sup>6</sup> e no *Clinical and Laboratory Standards Institute* (anteriormente, *National Committee for Clinical Laboratory Standards*) dos EUA.<sup>7</sup>
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição para trabalhar com produtos químicos e manusear amostras biológicas.
- O ensaio Xpert GBS não fornece resultados de susceptibilidade. São necessários isolados de culturas para efectuar os testes de susceptibilidade, conforme recomendado para as mulheres alérgicas à penicilina.
- Não abra a tampa do cartucho Xpert GBS excepto para adicionar a amostra.
- Não utilize um cartucho que caiu ou que foi agitado depois de ter adicionado a amostra.
- Não abra um cartucho usado excepto para repetir um teste e, nesse caso, apenas para retirar a amostra eluída da câmara S com uma pipeta.



- Cada cartucho Xpert GBS de utilização única é utilizado para processar um teste. Não reutilize cartuchos usados.
- Consulte o pessoal responsável pelos resíduos ambientais da instituição para obter informações sobre a eliminação adequada dos cartuchos usados e dos reagentes não utilizados. Este material pode apresentar características de resíduos perigosos de acordo com a lei federal "Resource Conservation and Recovery Act" (RCRA - Lei da Recuperação e Conservação dos Recursos) da Associação de Protecção Ambiental (Environmental Protection Agency) dos EUA e deve cumprir os requisitos específicos sobre eliminação. Consulte os regulamentos locais e estatais, podem diferir dos regulamentos de eliminação federais. As instituições fora dos EUA, devem consultar os requisitos sobre a eliminação ambiental de resíduos perigosos do país.



- Conserve o kit Xpert GBS a 2 – 28 °C.



- O reagente 2 contém Hidróxido de Sódio (pH > 12,5); (R34 EU Risk) que é corrosivo para os olhos e a pele e requeira uma protecção dos olhos e da pele.

### Colheita e transporte das amostras



Para obter uma amostra adequada, siga cuidadosamente as instruções desta secção.

Usando um dispositivo de colheita Cepheid, colha as amostras de acordo com as recomendações do CDC.<sup>2</sup> Deve ser aplicado o seguinte protocolo:

1. Limpe o excesso de secreções ou supuração.
2. Retire as duas zaragoas marcadas do contentor de transporte.
3. Com cuidado, insira as duas zaragoas marcadas na vagina da paciente. Recolha secreções da mucosa do terço inferior da vagina. Rode as zaragoas três vezes para garantir uma amostra uniforme nas duas zaragoas.
4. Usando as mesmas duas zaragoas marcadas, insira-as aproximadamente 2,5 cm para além do esfíncter anal e rode-as suavemente para recolher amostras das criptas anais.
5. Coloque as duas zaragoas marcadas no contentor de transporte.
6. Se as amostras vão ser processadas nas 24 horas seguintes, conserve-as à temperatura ambiente. Se as amostras não vão ser testadas nas 24 horas seguintes, refrigere-as até ao momento do teste. As amostras conservadas a 2 – 8 °C são estáveis até seis dias.

## Procedimento

### Preparação do cartucho

**Important:** Inicie o teste nos 15 minutos seguintes à adição da amostra ao cartucho.

**Note:** Apenas é necessária uma zaragatoa. A segunda zaragatoa é suplementar e pode ser usada para os testes de susceptibilidade. São necessários isolados de culturas para efectuar os testes de susceptibilidade, conforme recomendado para as mulheres alérgicas à penicilina. Não adicione 2 zaragatoas a um único cartucho.

Para adicionar a amostra ao cartucho (XpertGBS):

1. Retire o cartucho da embalagem.
2. Abra a tampa do cartucho.
3. Retire as zaragatoas marcadas do contentor. Com um movimento rotativo, friccione suavemente as zaragatoas uma na outra de modo a que haja uma quantidade igual de amostras nas duas zaragatoas.
4. Insira uma das zaragatoas na câmara S do cartucho Xpert GBS.
  - Não insira as duas zaragatoas no cartucho.
  - Volte a colocar a segunda zaragatoa no tubo de colheita/transporte para os testes de susceptibilidade antimicrobiana posteriores, a serem efectuados pelo laboratório de microbiologia para as pacientes EGB positivo. São necessários isolados de culturas para efectuar os testes de susceptibilidade, conforme recomendado para as mulheres alérgicas à penicilina.
5. Eleve a zaragatoa de modo a que o traço fique centrado no entalhe.
6. Quebre a zaragatoa, empurrando a respectiva haste para a direita.
7. Feche a tampa do cartucho.



**Figure 1.** Cartucho Xpert GBS (vista de cima)

### Início do teste

Esta secção lista os passos básicos para realizar o teste. Para obter instruções detalhadas, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx*.

1. Ligue o instrumento GeneXpert Dx e em seguida ligue o computador; o software GeneXpert iniciar-se-á automaticamente.
2. Inicie sessão no software do sistema GeneXpert Dx utilizando o nome de utilizador e a palavra-passe.
3. Na janela do sistema GeneXpert Dx, clique em **Create Test** (Criar teste). É apresentada a caixa de diálogo Scan Cartridge Barcode (Ler código de barras do cartucho).
4. Leia o código de barras do cartucho Xpert GBS. É apresentada a janela Create Test (Criar teste). Utilizando as informações do código de barras, o software vai preencher automaticamente as caixas dos campos seguintes: Select Assay (Seleccionar ensaio), Reagent Lot ID (ID do lote de reagente), Cartridge SN (N.º série do cartucho) e Expiration Date (Prazo de validade).
5. Na caixa **Sample ID** (ID da amostra), leia ou introduza a ID da amostra. Certifique-se de que introduz a ID da amostra correcta. A ID da amostra está associada aos resultados do teste e é apresentada na janela **View Results** (Ver resultados) e em todos os relatórios.
6. Clique em **Start Test** (Iniciar teste). Na caixa de diálogo apresentada, introduza a sua palavra-passe.

7. Abra a porta do módulo do instrumento com a luz verde a piscar e coloque o cartucho.
8. Feche a porta. O teste inicia-se e a luz verde pára de piscar. Quando o teste termina, a luz desliga-se.
9. Antes de abrir a porta do módulo e retirar o cartucho, aguarde até o sistema desbloquear a porta.
10. Se for absolutamente necessário, o eluato da amostra pode ser recuperado da câmara do cartucho assinalada com um "S", usando uma pipeta de transferência. Este eluato pode ser usado como reserva da segunda zaragatoa não utilizada e recolhida da paciente para os testes de susceptibilidade efectuados pelo laboratório de microbiologia. As culturas a partir do Reagente 1 Xpert GBS ainda não foram validadas. Os laboratórios devem validar os seus procedimentos de cultura ou usar a segunda zaragatoa recolhida para efectuar a identificação baseada em culturas e os testes de susceptibilidade.
11. Os cartuchos usados devem ser eliminados nos contentores adequados para resíduos biológicos, de acordo com as práticas normalizadas da sua instituição.

### Visualização e impressão dos resultados

Para obter instruções detalhadas sobre como visualizar e imprimir os resultados, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx*.

#### **CONTROL**

### Controlo de qualidade

Cada teste inclui os seguintes controlos internos e uma verificação da sonda.

- **Controlo de processamento da amostra (SPC):** assegura que a amostra foi correctamente processada. O SPC é constituído por *B. globigii* sob a forma de uma esfera desidratada e vem incluído em todos cartuchos. O SPC monitoriza a lise e o processo de eluição. O SPC deve ter aprovação - gerar um limite de ciclo (Ct) válido numa amostra negativa - e não poderá amplificar numa amostra positiva alta. O SPC é aprovado se preencher os critérios de aceitação atribuídos.
  - **Controlo interno (IC):** verifica os reagentes de PCR funcionais e a ausência de inibição que iria evitar a amplificação do PCR. O IC deve ter aprovação - gerar um limite de ciclo (Ct) válido numa amostra negativa - e não poderá amplificar numa amostra positiva alta. O IC é aprovado se preencher os critérios de aceitação atribuídos.
  - **Verificação da sonda:** antes do início da reacção de PCR, o sistema GeneXpert Dx mede o sinal de fluorescência das sondas para monitorizar a reidratação das esferas, o enchimento do tubo de reacção, a integridade da sonda e a estabilidade do corante. A verificação da sonda é aprovada se preencher os critérios de aceitação atribuídos.
  - **Controlos externos:** o KWIK-STIK™ (MicroBioLogics, ref. 8164) pode ser utilizado para formação, testes de proficiência e controlo de qualidade externo do sistema GeneXpert Dx Os controlos externos podem ser utilizados de acordo com os organismos de acreditação locais, regionais e nacionais, conforme aplicável. Siga o procedimento do controlo externo da MicroBioLogics descrito a seguir.
1. Abra a bolsa no entalhe e retire o KWIK-STIK.
  2. Aperte o fundo da ampola na tampa para libertar o líquido hidratante.
  3. Segure na vertical e bata levemente para facilitar a passagem do líquido pela haste até ao fundo da unidade que contém o *pellet*.
  4. Para facilitar a dissolução do *pellet* de células liofilizadas, esmague-o e aperte suavemente a câmara inferior.
  5. Rasgue o KWIK-STIK para libertar a zaragatoa e insira-a na câmara S do cartucho Xpert GBS.
  6. A zaragatoa KWIK-STIK está pronta para ser analisada com o Xpert GBS.

O controlo positivo baixo tem cerca de 620 UFC/zaragatoa (~36 Ct) de EGB e o controlo negativo tem cerca de 17 000 UFC/zaragatoa de *Lactobacillus acidophilus* (0 Ct ou >42 Ct).

### Interpretação dos resultados

Os resultados são interpolados pelo sistema GeneXpert Dx a partir dos sinais de fluorescência medidos e dos algoritmos de cálculo incorporados, sendo apresentados na janela **View Results** (Ver resultados). Os resultados possíveis são:

#### POSITIVE (POSITIVO)

Foi detectado o ácido nucleico alvo do EGB - presumível colonização por EGB

- SPC - NA (SPC - não aplicável)
- IC - NA (IC - não aplicável)
- Probe Check - PASS (Verificação da sonda - APROVADA)

A segunda zaragatoa da paciente no tubo de colheita/transporte pode ser efectuada para testes de susceptibilidade antimicrobiana. Se necessário, o cartucho usado pode ser enviado para o laboratório de microbiologia para testes de susceptibilidade de reserva.

### NEGATIVE (NEGATIVO)

Não foi detectado o ácido nucleico alvo do EGB - presumível ausência de colonização por EGB

- GBS - NEG (EGB - NEG)
- SPC - PASS (SPC - APROVADO)
- IC - PASS (IC - APROVADO)
- Probe Check - PASS (Verificação da sonda - APROVADA)

### INVALID (INVÁLIDO)

Não pode ser determinada a presença ou ausência de EGB. O IC e/ou SPC não preenchem os critérios de aceitação ou ocorreu formação de bolhas de ar no tubo de reacção.

- GBS - INVALID (EGB - INVÁLIDO)
- SPC - FAIL\* (SPC - NÃO APROVADO)
- IC - FAIL\* (IC - NÃO APROVADO)
- Probe Check - PASS (Verificação da sonda - APROVADA)

\* O SPC e/ou IC não foram aprovados.

### ERROR (ERRO)

Não pode ser determinada a presença ou ausência de EGB. Ocorreu uma falha num componente do sistema, foi alcançada a pressão máxima ou a verificação da sonda não foi aprovada.

- GBS - NO RESULT (EGB - SEM RESULTADO)
- SPC - NO RESULT (SPC - SEM RESULTADO)
- IC - NO RESULT (IC - SEM RESULTADO)
- Probe Check - FAIL\* (Verificação da sonda - NÃO APROVADA)

\*Se a verificação da sonda for aprovada, o erro é causado por uma falha de um componente do sistema.

### NO RESULT (SEM RESULTADO)

Não pode ser determinada a presença ou ausência de EGB. O operador interrompeu o teste, ocorreu uma falha de energia durante o teste ou foram detectados problemas no cartucho.

- GBS - NO RESULT (EGB - SEM RESULTADO)
- SPC - NO RESULT (SPC - SEM RESULTADO)
- IC - NO RESULT (IC - SEM RESULTADO)
- Probe Check - NA (Verificação da sonda - não aplicável)

**Note:** Se obteve "INVALID", "ERROR" ou "NO RESULT", o teste poderá ser repetido ou poderão ser iniciados métodos alternativos.

- No caso de um resultado "ERROR" (cancelamento por pressão máxima ou insucesso da verificação da sonda), repita imediatamente o teste, ensaie a segunda zaragatoa ou inicie métodos alternativos. Os resultados "ERROR" podem ocorrer nos primeiros 30 minutos do teste.
- Quando se fazem testes intraparto, a repetição do teste poderá não ser exequível e vai depender das práticas e políticas de cada instituição. A coordenação entre os médicos e o laboratório é importante para não atrasar a administração dos antibióticos enquanto se aguarda pelos resultados.

A Figure 2 mostra a janela **View Results** (Ver resultados) do sistema GeneXpert Dx. Como pode ver, o Error Status (Estado do erro) é visualizado na janela. Clique no separador Errors (Erros) para aceder à descrição dos erros.

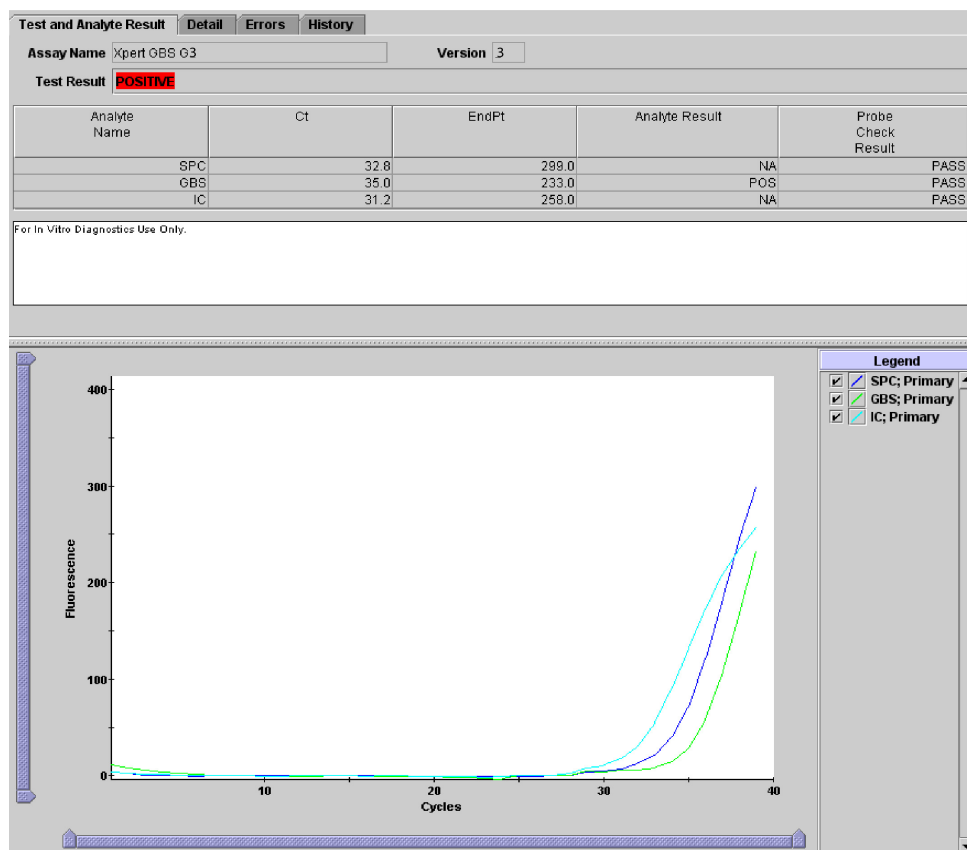


Figure 2. Sistema GeneXpert Dx – Janela View Results (Ver resultados)

## Motivos para repetir um ensaio ou dar início a procedimentos alternativos

Repita o teste ou dê início a procedimentos alternativos, caso ocorra um dos seguintes resultados de teste:

- **Error (Erro):** o teste foi cancelado porque correu uma falha num componente do sistema, foi alcançada a pressão máxima ou a verificação da sonda não foi aprovada.
- **Invalid (Inválido):** o SPC e/ou o IC não foram aprovados quando o EGB é negativo. Um resultado inválido também pode ser causado por bolhas de ar no tubo de reacção.
- **No Result (Sem resultado):** o operador interrompeu o teste, ocorreu uma falha de energia durante o teste ou foram detectados problemas no cartucho.

Se existir líquido na câmara S do cartucho, use uma pipeta de transferência para transferir todo o líquido para a câmara S de um cartucho novo e volte a repetir o teste. Se não existir líquido, use pinças esterilizadas para transferir a zaragatoa para um cartucho novo e volte a repetir o teste a partir do passo "Adicione o Reagente 1 à câmara 1 do cartucho". Em alternativa, prepare um cartucho novo usando a segunda zaragatoa e volte a repetir o teste.

## Limitações

- O desempenho do ensaio Xpert GBS foi estabelecido com o sistema GeneXpert Dx da Cepheid, com amostras vaginais-rectais de pacientes no anteparto e intraparto, recolhidas com o dispositivo de colheita Cepheid (ref. 900-0370). Este produto só pode ser usado com o sistema GeneXpert Dx. Não é recomendada a utilização de sistemas de colheita e transporte de amostras diferentes dos listados na secção Materiais necessários não fornecidos. A utilização do ensaio Xpert GBS de outras fontes clínicas não foi avaliada e as características do desempenho do teste com outros tipos de amostra são desconhecidas.
- Podem ocorrer resultados de teste errados devido a colheita de amostra incorrecta, manuseamento e conservação da amostra, erro técnico, troca de amostras ou porque o número de organismos na amostra está abaixo do limite de detecção do teste. É necessário o cumprimento cuidadoso das instruções deste folheto e do documento *Protocolo de colheita de amostras vaginais/rectais* para evitar resultados errados. A recolha de amostras da zona inferior da vagina e do recto aumenta substancialmente o rendimento por comparação com a recolha de amostra do colo do útero ou ainda da vagina sem recolher amostras do recto.
- Como a detecção de estreptococos do Grupo B depende do número de organismos presentes na amostra, os resultados fidedignos dependem da correcta colheita, manuseamento e conservação da amostra. Recomenda-se a execução do teste às 35-37 semanas de gestação para melhorar a sensibilidade e a especificidade da detecção em mulheres que ainda estão colonizadas no momento do parto.
- A formação do pessoal que utiliza o sistema GeneXpert Dx é importante para garantir resultados exactos e atempados.
- A repetição do ensaio Xpert GBS quando os resultados são INVALID, ERROR e NO RESULT (INVÁLIDO, ERRO e SEM RESULTADO) deve depender das práticas e políticas de cada instituição. Devem estar disponíveis procedimentos alternativos (por exemplo, culturas, conforme recomendado, com caldo selectivo de enriquecimento durante 18 a 24 h). São necessários isolados de culturas para efectuar os testes de susceptibilidade, conforme recomendado para as mulheres alérgicas à penicilina. Para efectuar as culturas, as zaragoas restantes devem ser colocadas em sistemas de transporte adequados e semeadas nos 4 dias seguintes. As culturas a partir do Reagente 1 Xpert GBS ainda não foram validadas. Os laboratórios devem validar os seus procedimentos de cultura ou usar a segunda zaragatoa recolhida para efectuar a identificação baseada em culturas e os testes de susceptibilidade.
- Um resultado positivo não indica necessariamente a presença de um organismo viável. Indica, no entanto, a presença presumível de estreptococos do Grupo B.
- O teste intraparto com o ensaio Xpert GBS deve ser usado como teste complementar de outros métodos disponíveis e não deve ser usado para substituir o teste anteparto (às 35-37 semanas de gestação). O teste não se destina a diferenciar entre portadores de estreptococos do Grupo B e indivíduos com infecção estreptocócica.
- Os resultados do teste também podem ser afectados por antibioterapia concomitante. Por conseguinte, o sucesso ou insucesso terapêutico não pode ser avaliado com este teste porque o DNA pode persistir após a terapia antimicrobiana.
- As boas práticas laboratoriais e a troca de luvas entre amostras de pacientes são recomendadas para evitar a contaminação de amostras e reagentes.

## Valores esperados

Aproximadamente 10 a 30% das grávidas estão colonizadas com EGB na vagina ou recto. A colonização por EGB pode ser transitória, crónica ou intermitente. O rastreio através de culturas, vaginais e rectais, da colonização tardia por EGB na gravidez durante os cuidados pré-natais pode detectar mulheres com probabilidade de estarem colonizadas com EGB no momento do parto.<sup>2,3</sup> Em vários estudos, foram registadas sensibilidades de 87% (IC de 83 a 92%) e de 69% (IC de 57 a 79%) e especificidades de 96% (IC de 95 a 98%) e de 92% (IC de 89 a 94%) para culturas pré-natais tardias efectuadas para a identificação do estado de colonização no momento do parto.<sup>8</sup> Durante as avaliações clínicas do ensaio Xpert GBS, 25,4% (201 de 791) das mulheres estavam colonizadas com EGB, com métodos de cultura.

## Características de desempenho

### Desempenho clínico

As características de desempenho do ensaio Xpert GBS foram determinadas num estudo investigacional prospectivo multicêntrico realizado em seis instituições com serviços de maternidade nos EUA. Cada instituição tinha um programa de rastreio baseado em culturas ou num teste de amplificação de ácidos nucleicos (NAAT). Os testes foram efectuados em laboratórios clínicos ligados a cada instituição assim como ao bloco de partos. No estudo foram incluídas participantes tanto na fase intraparto como anteparto. Para serem incluídas no ramo intraparto do estudo, as mulheres tinham que dar o seu consentimento por escrito, estar em trabalho de parto e não terem contra-indicações relativamente a exame vaginal (por exemplo, hemorragia). Para serem incluídas no ramo anteparto do estudo, as mulheres tinham que dar o seu consentimento por escrito, estar nas 35-37 semanas de gestação e não terem contra-indicações relativamente a exame vaginal (por exemplo, hemorragia). Igualmente e para todas as participantes, não havia evidência de placenta prévia, não havia qualquer indicação de proceder ao parto com urgência e não tinham sido usados antibióticos na semana anterior ao internamento.



Foram colhidas amostras vaginais/rectais de todas as 794 participantes elegíveis usando dois conjuntos de zaragoas marcadas (Dispositivos de colheita Cepheid). Uma das zaragoas do primeiro conjunto foi usada para cultura. O segundo conjunto de zaragoas marcadas foi dividido da seguinte forma: uma zaragatoa foi usada no ensaio Xpert GBS Assay no sistema GeneXpert Dx; a outra foi usada no 2º ensaio NAAT. O 2º ensaio NAAT tem como alvo uma sequência no gene *gfb* e é aprovado pela FDA. Os resultados deste teste não foram usados nas estimativas do desempenho. Após a utilização nestes testes, cada uma das zaragoas foi colocada num caldo de cultura LIM, incubada, subcultivada em placas de gelose de sangue e observada quanto à presença de EGB.

Todas as instituições usaram a técnica de cultura recomendada nas orientações do CDC de 2002<sup>2</sup>: cultura microbiológica em meio de cultura selectivo (caldo LIM, ou seja, caldo Todd-Hewitt suplementado com 15 µg/ml de ácido nalidíxico e 10 µg/ml de colistina), seguida por uma incubação durante 18 a 24 horas e subcultura em gelose de sangue. A identificação específica das colónias sugestivas de EGB foi feita através de testes de aglutinação em lâmina.

### Resultados totais

As características de desempenho do ensaio Xpert GBS foram determinadas a partir da avaliação dos testes laboratoriais efectuados com as amostras das 794 pacientes da maternidade: 373 em anteparto e 421 em intraparto. Três mulheres não tiveram resultados nas culturas e foram excluídas das análises (0 foram Xpert GBS positivo e 3 foram Xpert GBS negativo), restando 791 resultados de culturas que podiam ser avaliados. Foram feitas culturas para todas as participantes (conforme descrito anteriormente) e, para a maioria, também foi efectuado um 2º NAAT para EGB. O 2º NAAT tem como alvo uma sequência no gene *gfb* e é aprovado pela FDA; os resultados deste teste não foram usados nas estimativas do desempenho. Dos 791 casos, o ensaio Xpert GBS produziu 726 resultados reportáveis na primeira tentativa (91,8%). Obtiveram-se 65 resultados não reportáveis (ou seja, inválidos, com erro ou sem resultado); destes casos, 55 foram solucionados mediante a repetição do teste. Globalmente, 201 mulheres apresentaram culturas positivas para EGB, quer a partir da zaragatoa única usada para a cultura quer a partir das zaragoas eluídas do teste Xpert GBS e do 2º NAAT. Inicialmente, o ensaio Xpert GBS produziu 168 resultados positivos (168/201, 83,6%). Após repetição dos testes, os resultados positivos aumentaram para 178/201 ou 88,6%. Das mulheres, 590 apresentaram culturas negativas e 520 eram inicialmente negativas com o teste Xpert GBS (88,1%) assim como 561 após repetição do teste (95,1%).

A Table 1 mostra os testes Xpert GBS com base nos resultados positivos e negativos das culturas de EGB para 791 participantes (3 participantes tinham culturas com crescimento excessivo ou que não puderam de outra forma serem interpretadas). A sensibilidade, especificidade e estimativas do valor negativo e positivo apresentadas são baseadas nos resultados após a repetição do teste. Após repetição do teste, 10 casos continuaram não conclusivos (n = 781).

**Table 1.** Resultados do ensaio Xpert GBS e desempenho estimado por categoria de paciente

Categoria de paciente	Resultados	N Total <sup>1</sup>	Pacientes com cultura positiva <sup>1</sup>	Pacientes com cultura negativa <sup>1</sup>	Sensibilidade após a repetição do teste [95% de confiança]	Especificidade após a repetição do teste [95% de confiança]	VPP <sup>7</sup> após a repetição do teste [95% de confiança]	VPN <sup>8</sup> após a repetição do teste [95% de confiança]
Todos as pacientes	Xpert GBS Pos	197 (186)	178 (168)	19 (18)	88,6% [83,3% A 92,6%]	96,7% [94,9% A 98,0%]	90,4% [85,4% A 94,1%]	96,1% [94,2% A 97,5%]
	Xpert GBS Neg	584 (540)	23 (20)	561 (520)				
	Sem resultado <sup>2</sup>	10 (65)	0 (13)	10 (52)				
	Total	791 <sup>3</sup>	201 <sup>4</sup>	590				
Anteparto	Xpert GBS Pos	92 (88)	87 (83)	5 (5)	85,3% [76,9% A 91,5%]	98,1% [95,6% A 99,4%]	94,6% [87,8% A 98,2%]	94,5% [94,1% A 96,9%]
	Xpert GBS Neg	274 (253)	15 (13)	259 (240)				
	Sem resultado <sup>2</sup>	7 (32)	0 (6)	7 (26)				
	Total	373	102	271				
Intraparto	Xpert GBS Pos	105 (98)	91 (85)	14 (13)	91,9% [84,7% A 96,5%]	95,6% [92,7% A 97,6%]	86,7% [78,6% A 92,5%]	97,4% [95,0% A 98,9%]
	Xpert GBS Neg	310 (287)	8 (7)	302 (280)				
	Sem resultado <sup>2</sup>	3 (33)	0 (7)	3 (26)				
	Total	418	99	319				
RM <sup>5</sup>	Xpert GBS Pos	27 (24)	21 (19)	6 (5)	91,3% [72,0% A 98,9%]	94,3% [88,1% A 97,9%]	77,8% [57,7% A 91,4%]	98,0% [93,1% A 99,8%]
	Xpert GBS Neg	102 (92)	2 (2)	100 (90)				
	Sem resultado <sup>2</sup>	0 (13)	0 (2)	0 (11)				
	Total	129	23	106				
Sem RM <sup>6</sup>	Xpert GBS Pos	78 (74)	70 (66)	8 (8)	92,1% [83,6% A 97,1%]	96,2% [92,6% A 98,3%]	89,7% [80,8% A 95,5%]	97,1% [93,8% A 98,9%]
	Xpert GBS Neg	208 (195)	6 (5)	202 (190)				
	Sem resultado <sup>2</sup>	3 (20)	0 (5)	3 (15)				
	Total	289	76	213				

<sup>1</sup> Todos os resultados Xpert GBS apresentados foram obtidos após a repetição do teste. Os resultados iniciais do teste são apresentados entre parêntesis.

<sup>2</sup> "Sem resultados" num teste Xpert GBS pode dever-se a um teste inválido, um erro do sistema ou a um teste "sem resultado" quando a presença ou a ausência de DNA de EGB não pôde ser notificada.

<sup>3</sup> Foram excluídas das análises três mulheres em intraparto sem resultados por cultura.

<sup>4</sup> A prevalência global da colonização por EGB, determinada por cultura, é de 25,3%.

<sup>5</sup> Subconjunto de mulheres em intraparto com amostras colhidas após a ruptura das membranas (ruptura das membranas, RM).

<sup>6</sup> Subconjunto de mulheres em intraparto com amostras colhidas antes da ruptura das membranas (RM). Não seriam de esperar diferenças biológicas entre as amostras colhidas no intraparto e as colhidas no anteparto.

<sup>7</sup> Valor preditivo positivo.

<sup>8</sup> Valor preditivo negativo.

**Table 2.** Desempenho do ensaio Xpert GBS e do 2º NAAT<sup>1</sup> em relação às culturas

Categoria	Xpert GBS						2º NAAT <sup>1</sup>					
	Sensibilidade	IC inferior	IC superior	Especificidade	IC inferior	IC superior	Sensibilidade	IC inferior	IC superior	Especificidade	IC inferior	IC superior
Global	88,6%	83,3%	92,6%	96,7%	94,9%	98,0%	77,9%	71,5%	83,5%	96,3%	94,4%	97,6%
	(178/201)			(561/580)			(155/199)			(567/589)		
Anteparto	85,3%	76,9%	91,5%	98,1%	95,6%	99,4%	74,5%	64,9%	82,6%	97,0%	94,3%	98,7%
	(87/102)			(259/264)			(76/102)			(263/271)		
Intraparto	91,9%	84,7%	96,4%	95,6%	92,7%	97,6%	81,4%	72,3%	88,6%	95,6%	92,7%	97,6%
	(91/99)			(302/316)			(79/97)			(304/318)		
RM <sup>2</sup>	91,3%	72,0%	98,9%	94,3%	88,1%	97,9%	90,9%	70,8%	98,9%	95,2%	89,2%	98,4%
	(21/23)			(100/106)			(20/22)			(100/105)		
Sem RM <sup>3</sup>	92,1%	83,6%	97,0%	96,2%	92,6%	98,3%	78,7%	67,7%	87,3%	95,8%	92,1%	98,0%
	(70/76)			(202/210)			(59/75)			(204/213)		

<sup>1</sup> O 2º ensaio NAAT tem como alvo uma sequência no gene *cfb* e é aprovado pela FDA.

<sup>2</sup> Subconjunto de mulheres em intraparto com amostras colhidas após a ruptura das membranas (ruptura das membranas, RM).

<sup>3</sup> Subconjunto de mulheres em intraparto com amostras colhidas antes da ruptura das membranas (RM).

A tabela seguinte mostra uma comparação directa entre os 2 testes por PCR, o ensaio Xpert GBS e o 2º NAAT.

**Table 3.** Comparação directa entre os dois testes por PCR

	Cultura Pos			Cultura Neg			Cultura ND			Xpert GBS total
	2º NAAT Pos	2º NAAT Neg	Não conclusivo	2º NAAT Pos	2º NAAT Neg	Não conclusivo	2º NAAT Pos	2º NAAT Neg	Não conclusivo	
Xpert GBS Pos	149	27	2	10	9	0	0	0	0	197
Xpert GBS Neg	6	17	0	11	549	1	0	3	0	587
Inválido/Erro/ Sem resultado	0	0	0	1	9	0	0	0	0	10
2º NAAT total	165	44	2	22	567	1	0	3	0	794

A Table 4 mostra o número de pacientes testadas em cada um dos seis laboratórios clínicos dos locais participantes na avaliação e o desempenho estimado para o teste Xpert GBS (comparado com os resultados das culturas).

**Table 4.** Comparação entre centros

Local de testes clínicos	Pacientes no anteparto	Pacientes no intraparto	Total de pacientes	Cultura Positiva	Prevalência	Xpert GBS com "Sem resultados"		Sensibilidade			Especificidade		
						Inicialmente	Com repetição	Estimativa	95% inferior	95% superior	Estimativa	95% inferior	95% superior
1	0	51	51	11	21,6%	4	1	72,7%	39,0%	94,0%	92,3%	79,1%	98,4%
2	113	5	118	31	26,3%	12	2	90,3%	74,2%	98,0%	97,6%	91,8%	99,7%
3	94	0	94	17	18,1%	9	1	76,5%	50,1%	93,2%	100,0%	95,3%	100,0%
4	64	175	239	75	31,4%	13	2	85,3%	75,3%	92,4%	96,3%	92,1%	98,6%
5	22	152	174	38	21,8%	16	1	97,4%	86,2%	99,9%	94,8%	89,6%	97,9%
6	80	35	115	29	25,2%	11	3	96,6%	82,2%	99,9%	98,8%	93,5%	100,0%
<b>Total</b>	<b>373</b>	<b>418</b>	<b>791</b>	<b>201</b>	<b>25,4%</b>	<b>65</b>	<b>10</b>	<b>88,6%</b>	<b>83,3%</b>	<b>92,6%</b>	<b>96,7%</b>	<b>94,9%</b>	<b>98,0%</b>

**Note:** O local 6 tinha 3 resultados da cultura intraparto em gelose de sangue em falta.

### Análise do prazo de execução

O prazo de execução para as 390 participantes intraparto incluídas no ensaio clínico é descrito a seguir. O prazo de execução médio desde o começo do ensaio Xpert GBS inicial até à entrega dos resultados foi de 1,84 horas (todas as 390 participantes). O prazo de execução médio para as 360 participantes com resultados válidos na primeira tentativa foi de 1,76 horas. O prazo de execução médio para as 30 participantes com resultados válidos na segunda tentativa foi de 2,74 horas. A mediana do prazo de execução para as 360 participantes com resultados válidos na primeira tentativa foi de 1,47 horas e de 2,44 horas para as 30 participantes com resultados válidos na segunda tentativa.

**Table 5.** Prazo de execução desde o começo do teste inicial até à entrega dos resultados de EGB para as 390 participantes intraparto

	Global	Resultado na primeira tentativa	Resultado na segunda tentativa
<b>Média (horas)</b>	1,84	1,76	2,74
<b>Mediana (horas)</b>	1,48	1,47	2,44

### Especificidade analítica

Foi testado DNA humano e DNA genómico purificado, obtido comercialmente, de 101 estirpes representando 28 estreptococos, 73 outras espécies incluindo estirpes filogeneticamente relacionadas com o *S. agalactiae* e outra microflora (bactérias e leveduras) usualmente encontrada na flora vagina e anal. Foram testadas réplicas de três numa reacção 1,5 ng/25 µl (~2 × 10<sup>5</sup> cópias genómicas equivalentes por reacção). Nenhum dos 28 isolados estreptocócicos (não EGB) apresentou resultados positivos. Das restantes 73 estirpes, quatro (*Enterococcus gallinarium*, *Staphylococcus simulans*, *Micrococcus luteus* e *Propionibacterium acnes*) apresentaram resultados positivos fracos numa das seis réplicas.

## Sensibilidade analítica

A sensibilidade analítica ou limite de detecção (LD) foi determinado usando 11 estirpes de *S. agalactiae*. Foram identificados nove serótipos distintos de EGB (Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII e VIII). A maioria dos casos de sépsis neonatal causada por EGB é atribuída a 1 de 4 serótipos: Ia, Ib, II ou III. O EGB tipo V tem vindo a revelar-se uma causa importante de infecção por EGB nos EUA e tem aumentado a prevalência das estirpes dos tipos VI e VIII entre as mulheres japonesas.<sup>9</sup> As culturas quantificadas foram testadas em quatro réplicas. A Table 6 apresenta a concentração mais baixa de cada subtipo que resulta num resultado positivo nas quatro réplicas.

**Table 6.** Limite de detecção obtido para cada serótipo testado

Serótipo	UFC/zaragatoa
ATCC 12973 (II)	250
Ia/c	250
Ib/c	250
II	250
III	250
IV	250
IVc	250
V	250
VI	250
VII	250
VIII	250

## Reprodutibilidade

Um painel de amostras com concentrações variáveis de EGB e *Lactobacillus acidophilus* (negativo) foi testado em triplicado em 10 dias diferentes, em cada um dos três locais (4 amostras × 3 × 10 dias × 3 locais). Foi usado um lote de kits Xpert GBS em todos os 3 locais de teste, de acordo com o procedimento do Xpert GBS.

**Table 7.** Resumo dos resultados da reprodutibilidade

Amostra UFC/zaragatoa	Local 1	Local 2	Local 3	Resultados esperados (Intervalo Ct) <sup>1</sup>	Concordância total	% concordância total
EGB Negativo <i>L. acidophilus</i> $1,7 \times 10^4$ UFC/zaragatoa	30/30	30/30	30/30	Negativo (0 ou >42)	90/90	100%
EGB Baixo $6,2 \times 10^2$ UFC/zaragatoa	30/30	30/30	30/30	Positivo (31 a 41)	90/90	100%
EGB Moderado $8,3 \times 10^3$ UFC/zaragatoa	30/30	30/30	30/30	Positivo (27 a 37)	90/90	100%
EGB Alto $1,3 \times 10^6$ UFC/zaragatoa	30/30	30/30	30/30	Positivo (19 a 29)	90/90	100%
Concordância total	120/120	120/120	120/120		360/360	100%
% de concordância	100%	100%	100%		100%	100%

<sup>1</sup>Intervalo esperado dos valores de Ct; todos os valores dentro dos intervalos esperados.

---

## Bibliografia

- <sup>1</sup> Schrag et al. A population-based comparison of strategies to prevent early-onset group B streptococcal disease in neonates. NEJM. 2002; 247(4): 233-239.
- <sup>2</sup> Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. MMWR 2002; 51 (No. RR-11): 1-26.
- <sup>3</sup> Schuchat A. Epidemiology of Group B Streptococcal Disease in the United States: Shifting Paradigms. Clin Micro Rev. 1998; 11(3): 497-513.
- <sup>4</sup> Davis et al. Multicenter Study of a Rapid Molecular-Based Assay for the Diagnosis of Group B Streptococcus Colonization in Pregnant Women. C. Infectious Disease. 2004; 30: 1129-35.
- <sup>5</sup> Puopolo et al. Early-Onset Group B Streptococcal Disease in the Era of Maternal Screening. Pediatrics. 2005; 115:1240-1246.
- <sup>6</sup> 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.
- <sup>7</sup> Clinical and Laboratory Standards Institute (anteriormente National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Documento M29 (refere-se à edição mais recente).
- <sup>8</sup> Yancey MK, Schuchat A, Brown LK, Ventura VL, Markenson GR. The accuracy of late antenatal screening cultures in predicting genital group B streptococcal colonization at delivery. Obstet Gynecol 1996; 88: 811-15.
- <sup>9</sup> Paoletti, Lawrence C., Ph.D. Research Interests. Acedido em 19/07/2006. < <http://www.channing.harvard.edu/paoletti.htm> >.

## Assistência

Para obter assistência, contacte a Cepheid através de uma das seguintes informações de contacto. No seu contacto telefónico ou quando enviar uma mensagem de e-mail, certifique-se de que indica o número de série do instrumento e a ID do lote de reagente.

### América do Norte

Para obter apoio técnico, utilize as seguintes informações de contacto:

Telefone: +1.888.838.3222 Opção 2

E-mail: [techsupport@cepheid.com](mailto:techsupport@cepheid.com)

Pode contactar o Apoio Técnico Cepheid através do telefone, de 2ª a 6ª feira, das 5h às 17h (hora do Pacífico).

### União Europeia

Para obter apoio técnico, utilize as seguintes informações de contacto:











Telefone: +33.563.82.53.19

E-mail: [techsupport@cepheideurope.fr](mailto:techsupport@cepheideurope.fr)

### Outras localizações

Contacte o representante Cepheid local.

## Tabela de símbolos

Símbolo	Significado
	Referência
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Não reutilizar
	Atenção, consultar os documentos anexos
	Fabricante
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Prazo de validade
	Controlo
	Representante autorizado na Comunidade Europeia
	Limites de temperatura
	Risco biológico

### Fabricante

Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089-1189  
EUA

Telefone: +1.408.541.4191  
Fax: +1.408.541.4192

### Representante autorizado

Cepheid Europe  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
França

Telefone: +33.563.82.53.00  
Fax: +33.563.82.53.01  
E-mail: cepheid@cepheideurope.fr

