

Xpert[®] EV

REF GXEV-100N-10

For Information Only - Not a Controlled Copy

Trademark, Patents and Copyright Statements

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

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

Copyright © 2007-2023 Cepheid. All rights reserved.

Marken-, Patent- und Urheberschutzangaben

Cepheid[®], das Cepheid-Logo, GeneXpert[®] und Xpert[®] sind Marken von Cepheid.
Windows[®] ist eine Marke der Microsoft Corporation.

MIT DEM ERWERB DIESES PRODUKTS WIRD DEM KÄUFER DAS NICHT ÜBERTRAGBARE RECHT ZU SEINER VERWENDUNG ENTSPRECHEND DER VORLIEGENDEN PACKUNGSBEILAGE GEWÄHRT. ES WERDEN KEINE ANDEREN RECHTE ÜBERTRAGEN, WEDER AUSDRÜCKLICH NOCH STILLSCHWEIGEND ODER DULDEND. DARÜBER HINAUS GEHT AUS DEM ERWERB DIESES PRODUKTS KEIN RECHT DES WEITERVERKAUFS HERVOR.

Copyright © 2007-2023 Cepheid. Alle Rechte vorbehalten.

For Information Only - Not a Controlled Copy

Xpert® EV

In-vitro-Diagnostikum.



1 Markenname

Xpert® EV

2 Gebräuchlicher oder üblicher Name

Xpert EV Assay

3 Verwendungszweck

Der Cepheid® Xpert EV Assay auf dem GeneXpert® Dx System ist ein Assay nach dem Prinzip der Reverse-Transkription-Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR) für den vorläufigen qualitativen Nachweis von Enterovirus(EV)-RNA in Proben von Zerebrospinalflüssigkeit (ZSF) von Personen, die Anzeichen und Symptome von Meningitis zeigen. Dieser Test kann in Verbindung mit anderen Laborbefunden und dem klinischen Bild als Hilfsmittel zur Diagnose von Enterovirusinfektionen bei Patienten verwendet werden, bei denen ein klinischer Verdacht auf Meningitis oder Meningoenzephalitis besteht. Die Leistungsmerkmale dieses Assays für immungeschwächte oder immunsupprimierte Patienten wurden nicht ermittelt.

Vorsicht



Die mit dem Xpert EV Assay erzielten Ergebnisse sollten nur zusammen mit klinischen Beobachtungen sowie anderen dem Arzt vorliegenden Informationen verwendet werden. Ein positives Ergebnis mit dem Xpert EV schließt andere Ursachen einer Meningitis wie Bakterien, Mykobakterien, andere Viren (z. B. Viren der Herpesfamilie, Arboviren, Mumpsvirus usw.) und Pilze nicht aus.

4 Zusammenfassung und Erklärung

Der Cepheid® Xpert EV Assay ist ein Assay nach dem Prinzip der Reverse-Transkription-Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR) für den Nachweis von Enterovirus-RNA in Proben von Zerebrospinalflüssigkeit (ZSF). Die Gattung Enterovirus umfasst Polioviren, Coxsackie-Viren, Echoviren und Enteroviren.³ Enteroviren verursachen ein breites Spektrum von Infektionen und werden meistens durch direkten Kontakt mit Atemwegssekreten einer infizierten Person übertragen.¹ Häufige Symptome sind Fieber, schwere Kopfschmerzen, Nackensteife, Lichtempfindlichkeit, Schläfrigkeit oder Verwirrung sowie Übelkeit und Erbrechen. Bei Säuglingen gehören Fieber, Quengeln oder Reizbarkeit, schwieriges Aufwecken oder Appetitlosigkeit zu den Symptomen.¹ Während die meisten Infektionen entweder asymptomatisch verlaufen oder leichte fieberhafte Erkrankungen verursachen, führen sie oft zu Krankenhauseinweisungen, insbesondere bei Säuglingen und Kindern. Etwa 90 % der Fälle viraler Meningitis werden durch Enteroviren verursacht² und Enteroviren sind die häufigste Ursache von Meningitis in den USA, mit schätzungsweise 30.000 bis 50.000 Krankenhauseinweisungen pro Jahr.³ Enterovirale Meningitis klingt normalerweise innerhalb von 7–10 Tagen von selbst ab. Nicht-virale Meningitis, zum Beispiel bakterielle Meningitis, kann jedoch schwerwiegend sein und zu Behinderungen oder zum Tod führen, wenn sie nicht umgehend behandelt wird. Deshalb sollte Meningitis ernst genommen werden.¹

Ein Enterovirus-Test in Verbindung mit klinischen Beobachtungen und anderen klinischen Informationen kann den Arzt dabei unterstützen, Patienten mit einer enteroviralen Meningitis zu identifizieren, und das Patientenmanagement erleichtern.⁴

5 Verfahrensprinzip

Das GeneXpert Dx System automatisiert und integriert Probenreinigung, Nukleinsäureamplifikation und Nachweis der Zielsequenz in einfachen oder komplexen Proben mithilfe von Echtzeit-PCR und RT-PCR-Assays. Das System besteht aus einem Instrument, einem PC und einer bereits vorgeladenen Software zur Durchführung von Tests an entnommenen Proben und zum Anzeigen der Ergebnisse. Das System sieht die Verwendung von Xpert GeneXpert®-Einwegkartuschen vor, die die PCR-Reagenzien enthalten und in denen der PCR-Prozess abläuft. Da die Kartuschen in sich abgeschlossen sind, werden Kreuzkontaminationen zwischen Proben verhindert. Eine vollständige Beschreibung des Systems ist im *Benutzerhandbuch zum GeneXpert® Dx System* zu finden.

Der Xpert EV Assay ist für den Nachweis von Enterovirus(EV)-RNA (5' untranslatierte Region [UTR] zwischen Nukleotid 452 und 596 des Enterovirus-Genoms) in ZSF-Proben konzipiert. Der Assay enthält Reagenzien, Primer und Sonden für den gleichzeitigen Nachweis von Nukleinsäure der EV-Zielsequenz und der Probenbearbeitungskontrolle (Sample Processing Control, SPC)/internen Kontrolle (Internal Control, IC). Der Assay enthält die SPC/IC, um die adäquate Bearbeitung des Zielvirus zu bestätigen und den RT-PCR-Assay auf vorhandene Hemmsubstanzen zu überwachen, um ein falsch negatives Ergebnis zu vermeiden. (Hinweis: In der Software des GeneXpert® Dx Systems wird die SPC/IC als CIC bezeichnet.) Darüber hinaus enthält der Assay eine Sondenprüfungskontrolle, um die Rehydrierung der Reagenzien, die Unversehrtheit der Sonde und die Füllung des Reaktionsbehälters zu bestätigen.

Um den Test durchzuführen, werden die ZSF-Probe und vier Reagenzien in markierte Kammern der Xpert EV-Kartusche gegeben. Das GeneXpert Dx System führt die Probenvorbereitung durch, indem es das Virus und die SPC (verkapseltes RNA-Pseudovirus) lysiert, die RNA an die Capture-Matrix bindet und die RNA eluiert. Die RNA wird mit trockenen RT-Reagenzien gemischt und in den Reaktionsbehälter für die Vorbereitung der cDNA überführt. Die cDNA wird anschließend mit trockenen PCR-Reagenzien gemischt und in den Reaktionsbehälter für die Echtzeit-PCR und den Nachweis überführt. Die EV-Primer und die EV-Sonde amplifizieren und detektieren eine Konsensregion der 5' untranslatierten Region (UTR) des Enterovirus. Der Test dauert ungefähr 2,5 Stunden.

6 Reagenzien

6.1 Enthaltene Materialien



Das Xpert EV Assay-Kit (GXEV-100N-10) enthält ausreichend Reagenzien für die Verarbeitung von 10 Proben. Das Kit enthält die folgenden Materialien:

Xpert EV-Kartuschen mit integrierten Reaktionsbehältern

- Kügelchen 1, Kügelchen 2, Kügelchen 3, Kügelchen 4, Kügelchen 5 (gefriergetrocknet)

Bindungsreagenz (Ethanol) (1)

Waschreagenz (2)

Elutionsreagenz (3)

Lysereagenz (Guanidinthiocyanat) (4)

CD

- Assay-Definitionsdatei (ADF)
- Anweisungen zum Importieren der ADF in die GeneXpert-Software
- Gebrauchsanweisung (Packungsbeilage)

10 Kartuschen pro Kit

Je 1 pro Kartusche

10 × 1 ml

10 × 3,2 ml

10 × 2,0 ml

10 × 300 µl

1 pro Kit

Hinweis

Sicherheitsdatenblätter (Safety Data Sheets, SDS) sind auf den Webseiten www.cepheid.com oder www.cepheidinternational.com unter dem Register **SUPPORT** erhältlich.

Hinweis

Das bovine Serumalbumin (BSA) in den Kügelchen dieses Produkts wurde ausschließlich aus bovinem Plasma gewonnen und hergestellt, das aus den USA stammt. 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.

7 Aufbewahrung und Handhabung




- Xpert EV-Kartuschen und Reagenzien bei 2–28 °C lagern.
- Die Kartuschen erst dann öffnen, wenn die Testdurchführung unmittelbar bevorsteht.
- Kartusche und Reagenzien innerhalb von 30 Minuten nach dem Öffnen der Verpackung verwenden.
- Kartuschen oder Reagenzien nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden.
- Keine Reagenzien verwenden, die trübe geworden sind oder sich verfärbt haben.

8 Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien


- GeneXpert Dx System (Bestellnummer hängt von der Konfiguration ab): GeneXpert Instrument, Computer, Barcodescanner und Benutzerhandbuch

- Drucker: Falls ein Drucker benötigt wird, wenden Sie sich bitte an einen Außendienstmitarbeiter von Cepheid, um einen empfohlenen Drucker zu erwerben.
- 200-µl-Pipette
- Sterile 200-µl-Pipettenspitzen

9 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur zum Gebrauch als *In-vitro*-Diagnostikum.
- Keine Reagenzien des Xpert EV Assays durch andere Reagenzien ersetzen.
- Der Deckel der Xpert EV-Kartusche darf nur für die Zugabe der Probe und der Reagenzien geöffnet werden.
- Keine Xpert EV-Kartuschen laden, die nach dem Befüllen mit der Probe und den Reagenzien heruntergefallen sind oder geschüttelt wurden.
- Keinesfalls eine Kartusche laden, deren Reaktionsbehälter beschädigt ist.
- Benutzte Xpert EV-Kartuschen nicht öffnen.
-  • Benutzte Xpert EV-Kartuschen dürfen nicht wiederverwendet werden.
- Proben nicht mehr als zwei Mal einfrieren und auftauen.
- Keine Proben verwenden, die zentrifugiert wurden.
-  • Lysereagenz enthält Guanidinthiocyanat, das in Kontakt mit Bleichmittel hoch reaktive Verbindungen bilden kann. Falls Flüssigkeiten verschüttet werden, die dieses Reagenz enthalten, den betroffenen Bereich mit Laborreiniger und Wasser reinigen.
-  • Alle biologischen Proben und auch die gebrauchten Kartuschen sind als potenziell infektiös zu behandeln. Alle biologischen Proben sollten mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen behandelt werden. Richtlinien für den Umgang mit Patientenproben sind von den U.S. Centers for Disease Control and Prevention⁵ und vom Clinical and Laboratory Standards Institute⁶ erhältlich.
- Biologische Proben, Transfervorrichtungen und gebrauchte Kartuschen sind als infektiös anzusehen und mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen zu handhaben. Halten Sie sich bezüglich der angemessenen Entsorgung gebrauchter Kartuschen und nicht verwendeter Reagenzien an die Umweltschutzvorschriften Ihrer Einrichtung. Diese Materialien können chemischen Sondermüll darstellen, der gemäß bestimmten nationalen oder regionalen Vorgehensweisen entsorgt werden muss. Falls die Vorschriften des jeweiligen Landes bzw. der jeweiligen Region keine klaren Anweisungen zur ordnungsgemäßen Entsorgung enthalten, sollten biologische Proben und gebrauchte Kartuschen gemäß den Richtlinien zur Handhabung und Entsorgung von medizinischen Abfällen der WHO (Weltgesundheitsorganisation) entsorgt werden.

10 Chemische Gefahren^{7,8}

- UN-GHS-Gefahrenpiktogramm: 
- Signalwort: GEFAHR
- **UN-GHS-Gefahrenhinweise**
 - Flüssigkeit und Dampf leicht entzündlich
 - Gesundheitsschädlich bei Verschlucken
 - Verursacht Hautreizungen
 - Verursacht schwere Augenreizung
 - Gesundheitsschädlich bei Einatmen
 - Kann Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen
 - Kann vermutlich genetische Defekte verursachen.
 - Giftig für Wasserorganismen
 - Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung
- **UN-GHS-Sicherheitshinweise**
 - **Prävention**
 - Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen.
 - Vor Gebrauch alle Sicherheitshinweise lesen und verstehen.
 - Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden.

- Nach Gebrauch gründlich waschen.
- Bei Gebrauch nicht essen, trinken oder rauchen.
- Nur im Freien oder in gut belüfteten Räumen verwenden.
- Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
- Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
- Vorgeschriebene persönliche Schutzausrüstung verwenden.
- **Reaktion**
 - BEI EINATMEN: An die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert.
 - Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.
 - BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen.
 - Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.
 - Besondere Behandlung: Siehe zusätzliche Erste-Hilfe-Informationen.
 - Bei Hautreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
 - BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen.
 - Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
 - BEI VERSCHLUCKEN: Bei Unwohlsein umgehend GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.
 - Mund ausspülen.
 - BEI Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
- **Lagerung/Entsorgung**
 - An einem gut belüfteten Ort aufbewahren. Behälter dicht verschlossen halten.
 - Unter Verschluss aufbewahren.
 - Entsorgen von Inhalten und/oder Behälter in Übereinstimmung mit den örtlichen, regionalen, nationalen und/oder internationalen Vorschriften.

11 Entnahme, Transport und Aufbewahrung der Patientenproben

ZSF wie an der jeweiligen Einrichtung üblich in einen sterilen Behälter entnehmen und ins Labor transportieren. Die Proben bis zum Test bei 2–8 °C aufbewahren oder einfrieren, wenn der Test nicht innerhalb von 72 Stunden nach der Entnahme durchgeführt wird. Proben nicht mehr als zwei Mal einfrieren und auftauen. Das Zentrifugieren der Proben wird nicht empfohlen.

12 Verfahren

12.1 Vorbereitung der Kartusche

Zugabe von Probe und Reagenzien in die Kartusche (Abbildung 1):

1. Eine Kartusche und die Reagenzien aus der Verpackung nehmen.
2. Die Ampulle mit Bindungsreagenz (1) durch Drehen und Abbrechen des Deckels öffnen.
3. Die Spitze der Ampulle mit Bindungsreagenz (1) in Kartuschenkammer 1 einführen und den gesamten Inhalt durch Zusammendrücken der Ampulle entleeren.
4. Die Ampulle mit Waschreagenz (2) durch Drehen und Abbrechen des Deckels öffnen.
5. Die Spitze der Ampulle mit Waschreagenz (2) in Kartuschenkammer 2 einführen und den gesamten Inhalt durch Zusammendrücken der Ampulle entleeren.
6. Die Ampulle mit Elutionsreagenz (3) durch Drehen und Abbrechen des Deckels öffnen.
7. Die Spitze der Ampulle mit Elutionsreagenz (3) in Kartuschenkammer 3 einführen und den gesamten Inhalt durch mehrmaliges Zusammendrücken der Ampulle entleeren.
8. Mit der 200- μ l-Pipette 140 μ l Lysereagenz (4) in Kartuschenkammer 4S geben. Das Lysereagenzfläschchen (4) entsorgen.
9. Mit der 200- μ l-Pipette 140 μ l Probe in Kartuschenkammer 4S geben. Um zu verhindern, dass sich große Luftblasen bilden, die Pipettenspitze an das obere Ende der Kammer halten und die Probe langsam abgeben.
10. Den Kartuschendeckel schließen.

Wichtig Die Kartusche innerhalb von 30 Minuten nach Zugabe der Reagenzien in das GeneXpert Dx-Instrument stellen und den Test starten.

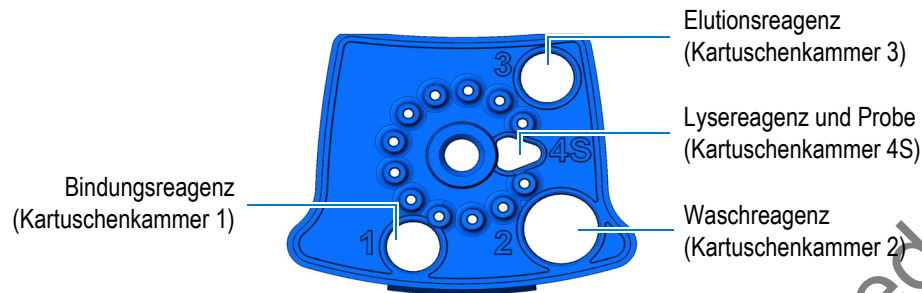


Abbildung 1. Xpert EV-Kartusche (Draufsicht)

12.2 Testbeginn

Hinweis Sicherstellen, dass die Assay-Definition für den Xpert EV in die Software importiert wurde, bevor der Test gestartet wird (die der Assay-CD beiliegenden Anweisungen beachten). Wenn die Xpert EV Assay-CD nicht vorhanden ist, den technischen Kundendienst von Cepheid verständigen.

In diesem Abschnitt werden die grundlegenden Schritte der Testdurchführung beschrieben. Genauere Anweisungen entnehmen Sie bitte dem *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Dx-System*.

1. Schalten Sie den Computer und anschließend das GeneXpert Dx-Instrument ein.
2. Auf dem Windows®-Desktop auf das Verknüpfungssymbol für GeneXpert Dx doppelklicken.
3. Melden Sie sich mit Ihrem Benutzernamen und Kennwort bei der GeneXpert Dx-Systemsoftware an.
4. Klicken Sie im GeneXpert Dx-Systemfenster auf **Test erstellen (Create Test)**. Das Dialogfenster „Kartuschen-Barcode scannen“ (Scan Cartridge Barcode) erscheint.
5. Scannen Sie den Barcode der Xpert EV-Kartusche ein. Das Fenster „Test erstellen“ (Create Test) erscheint. Anhand der über den Barcode erhaltenen Informationen werden die folgenden Felder automatisch ausgefüllt: „Assay auswählen“ (Select Assay), „Chargen-ID“ (Reagent Lot ID), „Kartuschen-Seriennr.“ (Cartridge S/N) und „Verfallsdatum“ (Expiration Date).
6. Die ID der Probe in das Feld „Proben-ID“ (Sample ID) einscannen oder eintippen. Vergewissern Sie sich, dass Sie die korrekte Proben-ID eingeben. Die Proben-ID ist mit den Testergebnissen verknüpft und erscheint im Fenster „Ergebnisse anzeigen“ (View Results) sowie in allen Berichten.
7. Klicken Sie auf **Test starten (Start Test)**. Tippen Sie im Dialogfenster, das sich daraufhin öffnet, Ihr Kennwort ein.
8. Öffnen Sie die Klappe des Instrumentenmoduls mit der grün blinkenden Anzeige und laden Sie die Kartusche.
9. Schließen Sie die Modulklappe. Stellen Sie sicher, dass die Anzeige dauernd grün leuchtet.
10. Wenn der Test abgeschlossen ist, erlischt die Leuchte des Instrumentenmoduls.
11. Warten Sie ab, bis das System die Klappenverriegelung freigibt. Öffnen Sie anschließend die Modulklappe und entnehmen Sie die Kartusche.
12. Befolgen Sie die Sicherheitsrichtlinien Ihres Labors zur Entsorgung der Kartusche.

13 Anzeigen und Drucken der Ergebnisse

Genaue Informationen zum Anzeigen und Drucken der Ergebnisse finden Sie im *GeneXpert Dx System-Benutzerhandbuch*.

14 Qualitätskontrolle

CONTROL Die Anforderungen an die Qualitätskontrolle gemäß lokalen, bundesstaatlichen und/oder bundesweiten Vorschriften bzw. Akkreditierungsregeln und den üblichen Qualitätskontrollverfahren des jeweiligen Labors müssen eingehalten werden.

Jeder Test enthält zwei Kontrollen zur Validierung des Assays: Probenbearbeitungskontrolle/interne Kontrolle und Sondenprüfung. Die Testproben werden anhand der folgenden Verfahren kontrolliert.

- Probenbearbeitungskontrolle/interne Kontrolle (SPC/IC)** – Die SPC/IC enthält ein verkapseltes RNA-Pseudovirus in Form eines trockenen Kügelchens und ist in jeder Kartusche enthalten. Die SPC/IC verifiziert die ordnungsgemäße Lyse der EV-Zielsequenz und Bearbeitung der Probe und stellt Assaystörungen fest.
 Sie wird mit der Probe gemischt, um die korrekte Bearbeitung der Probe zu kontrollieren und die Integrität des RT-PCR-Assays zu überwachen. Die SPC/IC gilt als bestanden, wenn sie die validierten Akzeptanzkriterien erfüllt. Hinweis: In der GeneXpert Dx Systemsoftware wird die SPC/IC als „CIC“ bezeichnet.
- Sondenprüfung** – Vor Beginn der PCR-Reaktion führt das System eine Sondenprüfung sowohl der EV-Zielsequenz als auch der SPC/IC durch, um die Rehydrierung der Reagenzienkügelchen und die Füllung des Reaktionsbehälters zu verifizieren. Die jeweilige Sondenprüfung gilt als bestanden, wenn sie die validierten Akzeptanzkriterien erfüllt.
- Externe Kontrollen** – Externe Kontrollen müssen für Schulungszwecke, Fähigkeitstests und zur externen QK des GeneXpert Dx Systems eingesetzt werden. Externe Kontrollen müssen in Übereinstimmung mit lokalen, bundesstaatlichen und bundesweiten Akkreditierungsvorschriften verwendet werden. Externe Kontrollen können angesetzt werden, indem Cocksackievirus A9, Stamm Bozek, oder Cocksackievirus A6, Stamm C.G. (Gdula), mit bekannt negativer Patienten-ZSF oder synthetischer ZSF (z. B. SeraCare Life Sciences Inc. Bestellnummer HSP-515) auf ungefähr 10–1000 TCID₅₀/ml verdünnt wird, was einen EV-C₁-Bereich von 32–35 für den Xpert EV Assay ergibt.

15 Interpretation der Ergebnisse

Die Ergebnisse werden im Fenster „Ergebnisse anzeigen“ (View Results) des GeneXpert Dx Systems angezeigt. Die möglichen Ergebnisse werden in diesem Abschnitt erläutert.

Hinweis Im Fenster „Ergebnisse anzeigen“ (View Results) des GeneXpert Dx Systems wird die SPC/IC in der Spalte „Analyt-Name“ (Analyte Name) als „CIC“ angezeigt.

Vorsicht  Die mit dem Xpert EV Assay erzielten Ergebnisse sollten nur zusammen mit klinischen Beobachtungen sowie anderen dem Arzt vorliegenden Informationen verwendet werden. Ein positives Ergebnis mit dem Xpert EV schließt andere Ursachen einer Meningitis wie Bakterien, Mykobakterien, andere Viren (z. B. Viren der Herpesfamilie, Arboviren, Mumpsvirus usw.) und Pilze nicht aus.

Tabelle 1. Ergebnisse und Interpretation beim Xpert EV

Ergebnis	Interpretation
POSITIV (POSITIVE) Abbildung 2	Nukleinsäure der EV-Zielsequenz nachgewiesen (GeneXpert Dx System – Fenster Ergebnisse anzeigen (View Results)). Hinweis: Die SPC/IC wird als „CIC“ angezeigt.): <ul style="list-style-type: none"> EV – POS CIC (SPC/IC) – KA (NA) (Bei hohem EV-Titer wird die RT-PCR für die SPC eventuell unterdrückt.) Sondentest – BEST. (Probe Check – PASS) Ein positives Ergebnis mit dem Xpert EV schließt andere Ursachen einer Meningitis wie Bakterien, Mykobakterien, andere Viren (z. B. Viren der Herpesfamilie, Arboviren, Mumpsvirus usw.) und Pilze nicht aus.
NEGATIV (NEGATIVE) Abbildung 3	Nukleinsäure der EV-Zielsequenz nicht nachgewiesen, die SPC erfüllt jedoch die Akzeptanzkriterien (GeneXpert Dx System – Fenster Ergebnisse anzeigen (View Results)). Hinweis: Die SPC/IC wird als „CIC“ angezeigt.): <ul style="list-style-type: none"> EV – NEG CIC (SPC/IC) – BEST. (CIC (SPC/IC) – PASS) Sondentest – BEST. (Probe Check – PASS) Negative Ergebnisse mit dem Xpert EV schließen Enteroviren als Ursachen der Meningitis nicht aus, sondern bedeuten, dass Enterovirus nicht nachgewiesen wurde.

Tabelle 1. Ergebnisse und Interpretation beim Xpert EV (Fortsetzung)

Ergebnis	Interpretation
UNGÜLTIG (INVALID) Abbildung 4	An- oder Abwesenheit von Nukleinsäure der EV-Zielsequenz kann nicht bestimmt werden. Den Test mit zusätzlichem Probenmaterial wiederholen. SPC/IC erfüllt nicht die Akzeptanzkriterien, die Probe wurde nicht sachgemäß bearbeitet oder die PCR war gehemmt (GeneXpert Dx System – Fenster „Ergebnisse anzeigen“ [View Results]. Hinweis: Die SPC/IC wird als „CIC“ angezeigt.): <ul style="list-style-type: none"> • EV – UNGÜLTIG (EV – INVALID) • CIC (SPC/IC) – DEFEKT (CIC (SPC/IC) – FAIL) • Sondentest – BEST. (Probe Check – PASS)
FEHLER (ERROR)	An- oder Abwesenheit von Nukleinsäure der EV-Zielsequenz kann nicht bestimmt werden. Den Test mit zusätzlichem Probenmaterial wiederholen. Die Sondenprüfungskontrolle ist fehlgeschlagen, wahrscheinlich weil ein Reaktionsbehälter unzureichend gefüllt war, ein Problem mit der Sondenintegrität festgestellt wurde oder der Assay abgebrochen wurde: <ul style="list-style-type: none"> • EV – KEIN ERGEBNIS (EV – NO RESULT) • CIC (SPC/IC) – KEIN ERGEBNIS (CIC (SPC/IC) – NO RESULT) • Sondentest – DEFEKT (Probe Check – FAIL)
KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)	An- oder Abwesenheit von Nukleinsäure der EV-Zielsequenz kann nicht bestimmt werden. Den Test mit zusätzlichem Probenmaterial wiederholen. Es wurden nicht genügend Daten gesammelt, um ein Testergebnis zu erzielen (zum Beispiel hat der Benutzer einen laufenden Test abgebrochen): <ul style="list-style-type: none"> • EV – KEIN ERGEBNIS (EV – NO RESULT) • CIC (SPC/IC) – KEIN ERGEBNIS (CIC (SPC/IC) – NO RESULT) • Sondentest – KA (Probe Check – NA)

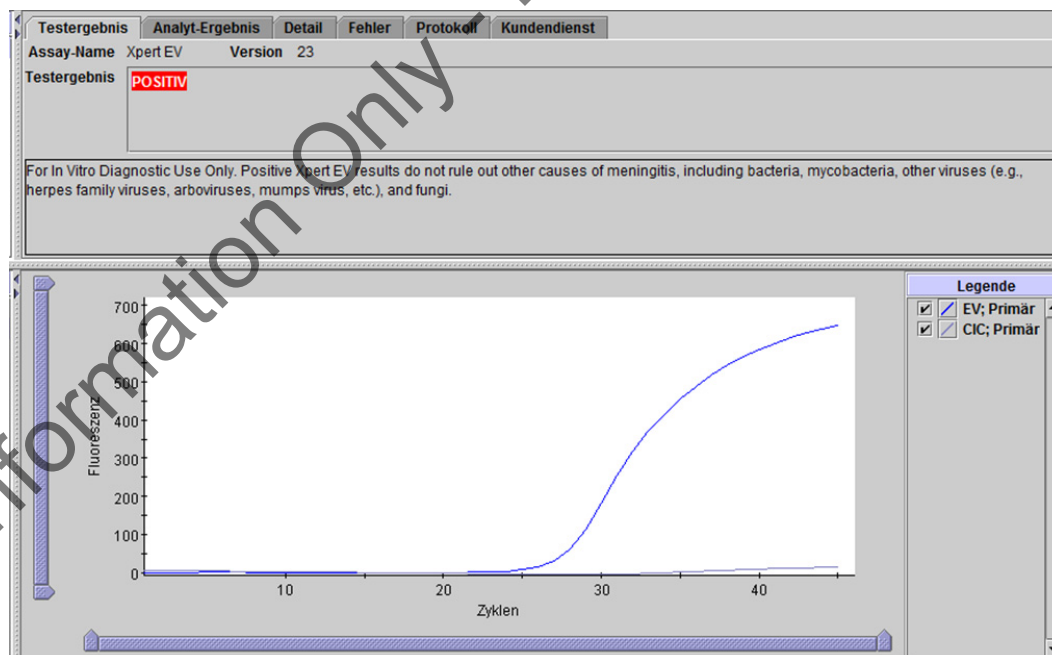


Abbildung 2. Positives Ergebnis mit dem Xpert EV (GeneXpert® Dx System – Fenster „Ergebnisse anzeigen“ [View Results]. Hinweis: Die SPC/IC wird als „CIC“ angezeigt.)

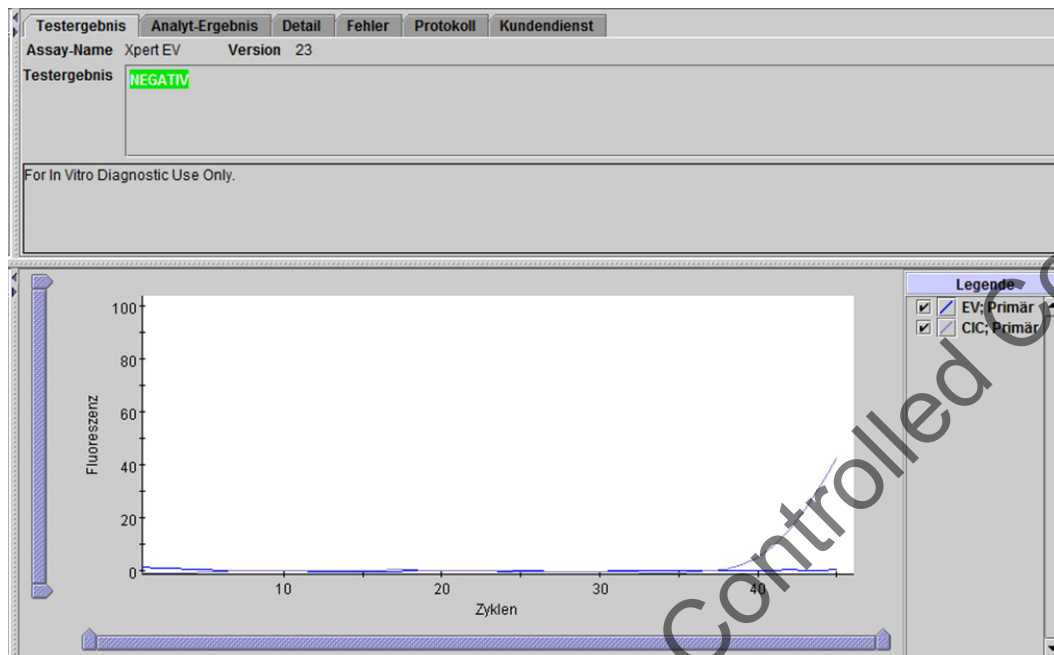


Abbildung 3. Negatives Ergebnis
(GeneXpert® Dx System – Fenster „Ergebnisse anzeigen“ [View Results]. Hinweis: Die SPC/IC wird als „CIC“ angezeigt.)

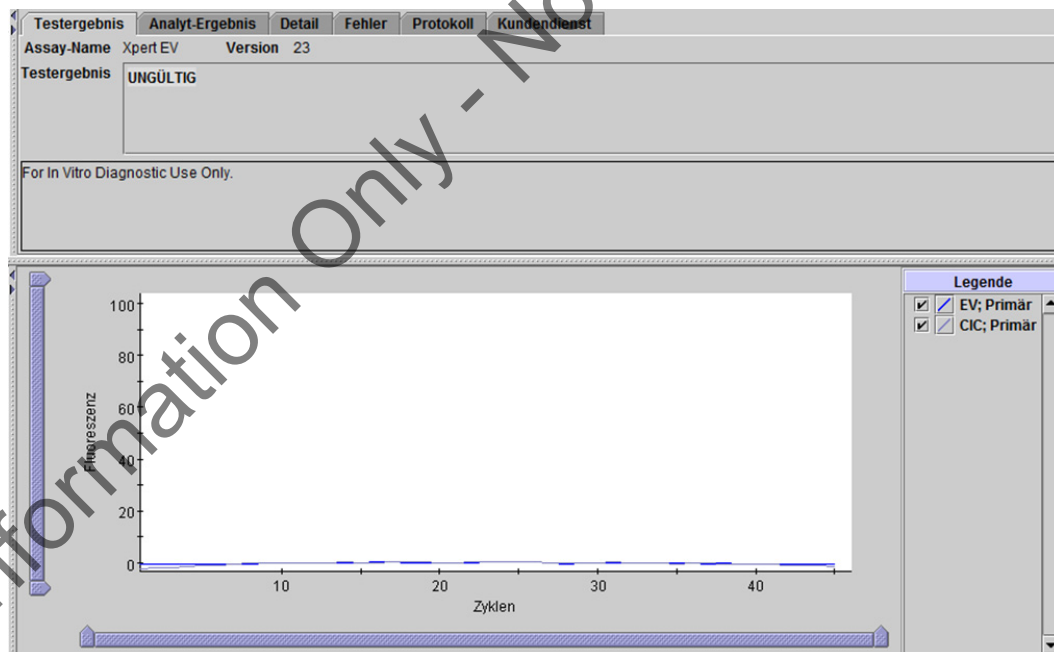


Abbildung 4. Ungültiges Ergebnis mit dem Xpert EV
(GeneXpert® Dx System – Fenster „Ergebnisse anzeigen“ [View Results]. Hinweis: Die SPC/IC wird als „CIC“ angezeigt.)

16 Gründe für eine Wiederholung des Assays

16.1 Gründe für eine Testwiederholung

Den Assay mit frischem Probenmaterial wiederholen, wenn eines der folgenden Ergebnisse ausgegeben wird:

- Das Ergebnis **UNGÜLTIG (INVALID)** bedeutet, dass die Kontrollen-SPC/IC fehlgeschlagen ist. Die Probe wurde nicht sachgemäß bearbeitet oder die PCR wurde gehemmt.

- Das Ergebnis **FEHLER (ERROR)** bedeutet, dass die Sondenprüfungskontrolle fehlgeschlagen ist und der Assay abgebrochen wurde. Mögliche Ursachen: unzureichende Füllung des Reaktionsbehälters, Problem mit der Unversehrtheit der Sonden oder Überschreitung der maximalen Druckgrenzwerte.
- **KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)** bedeutet, dass nicht genügend Daten erfasst wurden. Beispielsweise könnte der Bediener den Test abgebrochen haben, bevor er abgeschlossen war.

17 Einschränkungen

- Die mit dem Xpert EV Assay erzielten Ergebnisse müssen in Verbindung mit anderen dem Arzt vorliegenden Labordaten und klinischen Daten interpretiert werden. Ein positives Ergebnis mit dem Xpert EV schließt die Anwesenheit anderer Erreger wie z. B. Bakterien in der ZSF nicht aus. Wie bei jedem molekularen Assay sind falsch positive Ergebnisse stets möglich. In der Literatur finden sich Berichte über seltene Fälle einer gemischt bakteriell-viralen Meningitis.^{9, 10, 11} Die Leistungsdaten für den Xpert EV Assay wurden ausschließlich anhand der in dieser Packungsbeilage angegebenen Vorgehensweisen sowie mit dem Cepheid GeneXpert Dx System validiert. Änderungen an diesen Vorgehensweisen sollten unterbleiben, da sie die Leistung des Tests beeinträchtigen können.
- Der Xpert EV Assay ist ausschließlich zum Nachweis von Enteroviren bestimmt. Negative Testergebnisse schließen die Anwesenheit von Enteroviren nicht aus. Dieser Test schließt die Möglichkeit einer Herpes-induzierten Meningitis oder Pilzmeningitis nicht aus; um diese Infektionen auszuschließen, sind weitere Tests erforderlich.
- Falsche Testergebnisse können durch unsachgemäße Probenentnahme, Nichtbefolgung der empfohlenen Vorgehensweisen für Probenentnahme, -handhabung und -aufbewahrung, Technikfehler, Verwechslung von Proben oder für den Nachweis mit diesem Test zu geringe Anzahl der in der Probe vorhandenen Organismen zustande kommen. Zur Vermeidung falscher Ergebnisse ist die sorgfältige Einhaltung der Anweisungen in dieser Packungsbeilage erforderlich.
- Mutationen oder Polymorphismen in Primer oder Sonden bindenden Regionen wirken sich eventuell auf den Nachweis von neuen oder unbekanntem Varianten aus und können falsch negative Ergebnisse verursachen.

Vorsicht



Ebenso wie bei anderen diagnostischen Verfahren sollten die mit dem Xpert EV Assay erzielten Ergebnisse nur zusammen mit klinischen Beobachtungen sowie anderen dem Arzt vorliegenden Informationen verwendet werden. Ein positives Ergebnis mit dem Xpert EV schließt andere Ursachen einer Meningitis wie Bakterien, Mykobakterien, andere Viren (z. B. Viren der Herpesfamilie, Arboviren, Mumpsvirus usw.) und Pilze nicht aus.

18 Störsubstanzen

Es wurden Studien mit potenziellen Störsubstanzen durchgeführt, die in der ZSF vorkommen. Die getesteten Substanzen waren weiße Blutzellen (Leukozyten, LEU), Protein, Vollblut und Hämoglobin. Der LEU-Gehalt wurde anhand von Leukozyten (K562 humane Leukämiezellen) getestet, die ZSF zugesetzt wurden.

Um potenzielle Störungen durch eine blutige Lumbalpunktion zu berücksichtigen, wurden humane ZSF-Proben getestet, die mit Blut in verschiedenen Konzentrationen (bis zu 125.000 ERY/mm³) kontaminiert waren.

Die Konzentrationsbereiche und die in normaler ZSF vorkommenden Störsubstanzen gehen aus Tabelle 2 hervor. Die bei einer Meningitis potenziell in der ZSF vorkommenden Bereiche sind ebenfalls angegeben. Jede Substanz wurde in Konzentrationen zugesetzt, die bei gesunden oder an Meningitis erkrankten Patienten anzutreffen sind.

Alle Tests wurden mit ZSF durchgeführt, der Enterovirus Serotyp CVA9 bei 80 TCID₅₀/ml (~3x LoD) zugesetzt war.

Tabelle 2. Im Xpert EV getestete Proben potenzieller endogener Störsubstanzen

Substanz	In normaler ZSF vorkommender Konzentrationsbereich	Potenzieller ZSF-Konzentrationsbereich (während einer Meningitis)	Im Xpert EV getestete Probe	Getestete Konzentrationen
LEU	0–5 Zellen/mm ³	5–5000 Zellen/mm ³	K562-Zellen	Zellen/mm ³ : 0, 3,57, 35,7, 357, 7140
ZSF-Proteinen	13–40 mg/dl	15–217 mg/dl	BSA: IgG (Verhältnis 1:1)	Proteinkonzentration mg/dl 0, 30, 300, 1071

Tabelle 2. Im Xpert EV getestete Proben potenzieller endogener Störsubstanzen (Fortsetzung)

Substanz	In normaler ZSF vorkommender Konzentrationsbereich	Potenzieller ZSF-Konzentrationsbereich (während einer Meningitis)	Im Xpert EV getestete Probe	Getestete Konzentrationen
Blut	Keine	Nicht zutreffend	14 Proben humaner ZSF nach blutiger Lumbalpunktion	0 bis ungefähr 2,5 Vol.-% Blut
Hämoglobin	12–18 g/dl ERY	Nicht zutreffend, außer bei blutiger Lumbalpunktion	Hämoglobin-Zusatz (Eisenpulver) zu ZSF	HgB g/dl 0, 0,36, 0,71, 2,14, 3,6 [entsprechend jeweils ungefähr Vol.-% Blut in ZSF: 0%, 2,5%, 5%, 15%, 25%]

Wie aus Tabelle 3 hervorgeht, wurden selbst bei Zugabe der höchsten Konzentration der potenziellen Störsubstanz in den Assay positive Enterovirus-Ergebnisse erzielt.

Tabelle 3. Ergebnisse der Studie mit im Xpert EV getesteten potenziellen endogenen Störsubstanzen

Störsubstanz	Konzentration	EV C _t
Keine (Kontrolle n = 8)	Nicht zutreffend	36,1
Protein (n = 4)	1071 mg/dl	38,2
LEU (n = 4)	7140 Zellen/mm ³	37,2
Blutige Lumbalpunktion, Probe 1	2,5 Vol.-% Blut	35,9
Blutige Lumbalpunktion, Probe 2	2,5 Vol.-% Blut	35,0
Blutige Lumbalpunktion, Probe 3	2,5 Vol.-% Blut	35,3
Hämoglobin (n = 4)	3,6 g/dl	36,9

19 Leistungsmerkmale

19.1 Klinische Leistungsfähigkeit

Die Leistungsmerkmale des Xpert EV Assays wurden in einer multizentrischen Forschungsstudie an sechs Einrichtungen ermittelt.

Teilnehmer an der Studie waren Patienten, die sich aufgrund von Meningitissymptomen einer Lumbalpunktion unterzogen und deren Arzt einen EV-Test und/oder eine Virenkultur angeordnet hatte. Es musste ausreichend überschüssiges ZSF-Volumen (größer oder gleich 0,5 ml) vorhanden sein und die schriftliche Einwilligung nach Aufklärung des Patienten musste vorliegen. Patientenproben wurden ausgeschlossen, falls die ZSF für den Nukleinsäuretest zentrifugiert worden war oder falls der Xpert EV Assay und die Assays zur Ermittlung des wahren klinischen Status nicht im gleichen Einfrier-Auftau-Zyklus der Patientenprobe durchgeführt wurden. Die Anamnese der Patienten wurde ebenfalls berücksichtigt: klinische Anzeichen und Symptome; Tage seit dem Auftreten der Symptome; maximale Körpertemperatur; vorherige Kontakte; ERY, LEU und Differenzial der ZSF; Glukose und Gesamtprotein der ZSF; Bakterienkultur und Gramfärbung der ZSF; Blutzuckerspiegel sowie Virenkultur aus anderen Patientenproben, sofern vorhanden.

Ein Patient galt als an einer EV-Meningitis erkrankt (klinische Diagnose), wenn die folgenden Kriterien erfüllt waren: klinische Belege, die mit einer Meningitis vereinbar waren, Laborergebnisse für ZSF-Gramfärbung, ZSF-Bakterienkultur, ZSF-Glukose, ZSF-Blut-Glukoseverhältnis, ZSF-Gesamtproteinkonzentration, ZSF-Leukozytenzahl und entweder Nachweis eines EV-Genoms in ZSF und/oder positive ZSF-EV-Kultur.

Zunächst wurden 475 Patienten für die Studienteilnahme vorgeschlagen. Einundvierzig Patienten erfüllten die Einschlusskriterien der Studie nicht und wurden daraufhin von der Analyse ausgeschlossen, sodass 434 analysierbare Teilnehmer verblieben. Für 255 von diesen lagen Ergebnisse für alle oben beschriebenen Tests vor.

Insgesamt 199 aufnahmefähige prospektive Patienten wurden aufgenommen. Für 133 Patienten lagen die 6 Laborergebnisse zur Ermittlung des wahren klinischen Status vor. Klinische Sensitivität und Spezifität für den Xpert EV gehen aus Tabelle 4 hervor.

Tabelle 4. Prospektiv entnommene klinische Proben bewertet gegenüber der „Klinischen Diagnose“

Klinische Diagnose ^a			
Xpert EV			
		+	-
	+	26	3
-	1	103	
Insgesamt		27	106

Klinische Sensitivität: 96,3 % (26/27); 95%-KI 81,0–99,9 %
 Klinische Spezifität: 97,2 % (103/106); 95%-KI 91,9–99,4 %

Insgesamt 235 aufnahmefähige retrospektive Patienten wurden aufgenommen. Für 122 Patienten lagen die 6 Laborergebnisse zur Ermittlung des wahren klinischen Status vor. Klinische Sensitivität und Spezifität für den Xpert EV gehen aus Tabelle 5 hervor.

Tabelle 5. Prospektiv entnommene klinische Proben aus einer Bank bewertet gegenüber der „Klinischen Diagnose“

Klinische Diagnose ^a			
Xpert EV			
		+	-
	+	23	3
-	0	96	
Insgesamt		23	99

Klinische Sensitivität: 100 % (23/23); 95%-KI 85,2–100 %
 Klinische Spezifität: 97,0 % (96/99); 95%-KI 91,4–99,4 %

- a. Ein Patient galt als an einer EV-Meningitis erkrankt (klinische Diagnose), wenn die folgenden Kriterien erfüllt waren: klinische Belege, die mit einer Meningitis vereinbar waren, Laborergebnisse für ZSF-Gramfärbung, ZSF-Bakterienkultur, ZSF-Glukose, ZSF-Blut-Glukoseverhältnis, ZSF-Gesamtproteinkonzentration, ZSF-Leukozytenzahl und Nachweis eines EV-Genoms in ZSF oder positive ZSF-EV-Kultur.

Die 133 prospektiven und 122 prospektiv entnommenen klinischen Proben aus einer Bank wurden jeweils nach Alter gruppiert. Klinische Sensitivität und Spezifität für jede Altersgruppe gehen aus Tabelle 6 hervor.

Tabelle 6. Klinische Leistungsfähigkeit des Xpert EV Assays gegenüber der „Klinischen Diagnose“ nach Alter

Alter	Prospektive klinische Proben		Prospektiv entnommene klinische Proben aus einer Bank	
	Klinische Sensitivität	Klinische Spezifität	Klinische Sensitivität	Klinische Spezifität
Neugeborene (jünger als 2 Monate)	100,0% (14/14)	96,0% (24/25)	100,0% (4/4)	90,0% (18/20)
Kinder (2 Monate bis 17 Jahre)	92,3% (12/13)	97,2% (69/71)	100,0 (14/14)	98,1% (51/52)
Erwachsene (18 Jahre und älter)	(0/0)	100,0% (10/10)	100,0% (5/5)	100,0% (27/27)
Gesamt	96.3% (26/27)	97.2% (103/106)	100% (23/23)	97.0% (96/99)

Virenkulturen wurden bei 73,7 % (320/434) der aufnahmefähigen Proben durchgeführt; bei den übrigen war nicht genügend ZSF für eine Kultur vorhanden. ZSF-Proben von 263 Teilnehmern mit ausreichendem überschüssigem Volumen wurden zur Virenkultur an ein designiertes Zentrallabor geschickt. Zusätzlich wurden an den aufnehmenden Zentren Virenkulturen für 114 Patientenproben durchgeführt. Für 57 dieser 114 Teilnehmer wurden Virenkulturen sowohl im aufnehmenden Zentrum als auch im Zentrallabor durchgeführt. Für 56 von 57 Teilnehmern wurden übereinstimmende Kulturergebnisse erzielt und für einen Teilnehmer wichen das lokale und das zentrale Kulturergebnis voneinander ab.

Im Zentrallabor wurden Super E-Mix Shell Vials für Virenkulturen verwendet und die Zellen wurden mit Pan-Enterovirus-Antikörper gefärbt. Die Zellen, die für den Pan-Enterovirus-Antikörper positiv waren, wurden zur Identifikation des Enterovirus erneut mit indirektem Immunofluoreszenz-Antikörper gefärbt. Die aufnehmenden Zentren verwendeten jeweils das vor Ort übliche Verfahren für die Virenkultur.

Für 131 der 199 aufnahmefähigen prospektiven Proben lagen Virenkulturergebnisse vor. Es gab keine abweichenden Ergebnisse von Virenkulturen an aufnehmenden Zentren gegenüber dem Zentrallabor. Positive und negative Übereinstimmung zwischen dem Xpert EV und der Virenkultur gehen aus Tabelle 7 hervor.

Tabelle 7. Prospektive klinische Proben bewertet gegenüber der Virenkultur

		Virenkultur	
		+	-
Xpert EV	+	8	13
	-	0	110
Insgesamt		8	123

Positive Übereinstimmung: 100,0 % (8/8) 95%-KI 63,1–100,0 %

Negative Übereinstimmung: 89,4 % (110/123) KI 82,6–94,3 %

Für 211 der 235 aufnahmefähigen retrospektiven Proben lagen Virenkulturergebnisse vor. Positive und negative Übereinstimmung zwischen dem Xpert EV und der Virenkultur gehen aus Tabelle 8 hervor.

Tabelle 8. Prospektiv entnommene klinische Proben aus einer Bank bewertet gegenüber der Virenkultur

		Virenkultur	
		+	-
Xpert EV	+	22	35
	-	1	153
Insgesamt		23	188

Positive Übereinstimmung: 95,7 % (22/23) 95%-KI 78,1–99,9 %

Negative Übereinstimmung: 81,4 % (153/188) 95%-KI 75,1–86,7 %

Die 434 aufnahmefähigen Patienten sind nach Alter und Geschlecht gruppiert; Anzahl und Prozentanteil der positiven Fälle werden in Tabelle 9 berechnet und aufgeführt.

Tabelle 9. Erwartete Werte für Xpert EV in einer Population mit Zeichen und Symptomen, die mit einer Meningitis vereinbar sind

Altersbereich (Jahre)	Geschlecht	Ergebnis mit dem Xpert EV		Insgesamt
		Positiv n (%)	Negativ n (%)	
< 1	M	34 (29,3)	82 (70,7)	116
	F	26 (28,3)	66 (71,7)	92
1 - 5	M	8 (25,0)	24 (75,0)	32
	F	3 (11,1)	24 (88,9)	27
6 - 10	M	3 (31,4)	24 (68,6)	35
	F	3 (17,6)	14 (82,4)	17

Tabelle 9. Erwartete Werte für Xpert EV in einer Population mit Zeichen und Symptomen, die mit einer Meningitis vereinbar sind (Fortsetzung)

Altersbereich (Jahre)	Geschlecht	Ergebnis mit dem Xpert EV		Insgesamt
		Positiv n (%)	Negativ n (%)	
11 - 15	M	8 (33,3)	16 (66,7)	24
	F	3 (15,0)	17 (85,0)	20
16 - 21	M	3 (20,0)	12 (80,0)	15
	F	3 (25,0)	9 (75,0)	12
>21	M	2 (10,0)	18 (90,0)	20
	F	3 (12,5)	21 (87,5)	24
Insgesamt		107 (24,7)	327 (75,3)	434

19.2 Analytische Reaktivität/Enterovirus-Serotyp-Tests

Insgesamt 60 Enterovirus-Serotypen wurden mit dem Xpert EV Assay getestet. Verdünnungen der Virus-Stammlösung wurden in 3 Replikaten für jeden Serotyp bei der angenommenen LoD analysiert. Die Verdünnung erfolgte mit gepoolten, EV-negativen Humanproben. Die geschätzte analytische Sensitivität geht aus der nachstehenden Tabelle 10 hervor.

Sechzig der Serotypen wurden getestet. Die geschätzte TCID₅₀/ml, bei der diese Serotypen nachgewiesen werden können, geht aus Tabelle 10 hervor.

Tabelle 10. Geschätzte analytische Sensitivität

Spezies	Serotyp	Geschätzte TCID ₅₀ /ml
A	Coxsackie A3	5,01
A	Coxsackie A5	12,59
A	Coxsackie A6	12,59
A	Coxsackie A7	3,33
A	Coxsackie A10	2,81
A	Coxsackie A12	19,95
A	Coxsackie A14	0,10
A	Coxsackie A16	0,002
A	EV 71	0,16
B	Coxsackie A9	20,00
B	Coxsackie B1	4,00
B	Coxsackie B2	0,20
B	Coxsackie B3	0,028
B	Coxsackie B4	0,40
B	Coxsackie B5	0,04
B	Coxsackie B6	0,01
B	Echo 1	0,10
B	Echo 2	0,032
B	Echo 3	200,00
B	Echo 4	0,00032
B	Echo 5	0,032
B	Echo 6	200,00

Tabelle 10. Geschätzte analytische Sensitivität (Fortsetzung)

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



- a. ACHTUNG: Bei der Arbeit mit dem Poliovirus müssen unbedingt Isoliermaßnahmen der angemessenen Biosicherheitsstufe befolgt werden.

20 Analytische Spezifität

Die im Xpert EV Assay verwendeten Primer- und Sondensequenzen können aus den folgenden Organismen extrahierte Nukleinsäuren, die bekanntermaßen Meningitis-ähnliche Symptome verursachen, nicht nachweisen: EBV, HSV-1, HSV-2, HHV-6, HHV-7, AdV-2, Masern, Mumps, Parainfluenza 1-3, Influenza A, Influenza B, VZV, CMV, Gruppe-B-Streptokokken, *Haemophilus influenzae* Typ B, *H. influenzae* nicht Typ B, *Escherichia coli*, *Neisseria meningitidis*, *Citrobacter freundii* und *Citrobacter koseri*. Ebenso wenig erzeugte der Xpert EV Assay bei Bearbeitung „vollständiger Organismen“ der genannten Erreger in der Xpert EV-Kartusche nachweisbare Amplikons. In der nachstehenden Tabelle sind die getesteten Organismen zusammen mit der jeweiligen Konzentration aufgeführt.

Vollständige Organismen wurden auf Spezifität im Xpert EV Assay getestet. Die jeweilige Konzentration der getesteten Organismen geht aus Tabelle 11 hervor.

Tabelle 11. Analytische Spezifität des Xpert EV Assays

Organismus	Anz. Organismen/Test
HHV-6	3,1 x 10 ⁶ Partikel
HHV-7	1,4 x 10 ⁷ Partikel
CMV	700 TCID ₅₀
EBV	140 TCID ₅₀
HSV-1	1,4 x 10 ⁵ TCID ₅₀
HSV-2	1,4 x 10 ⁵ TCID ₅₀
AdV-2	1,4 x 10 ¹² TCID ₅₀
Masern	700 TCID ₅₀
Mumps	1,4 x 10 ⁴ TCID ₅₀
Parainfluenza 1	1,4 x 10 ³ TCID ₅₀
Parainfluenza 2	7 x 10 ³ TCID ₅₀
Parainfluenza 3	1,4 x 10 ⁴ TCID ₅₀
Influenza A	3,5 x 10 ⁴ TCID ₅₀
Influenza B	3,5 x 10 ⁴ TCID ₅₀
VZV	14 TCID ₅₀
Gruppe-B-Streptokokken	7 x 10 ⁶ Zellen
<i>H. influenzae</i> Typ B	7 x 10 ⁶ Zellen
<i>H. influenzae</i> nicht Typ B	7 x 10 ⁵ Zellen
<i>E. coli</i>	7 x 10 ⁶ Zellen
<i>N. meningitidis</i>	7 x 10 ⁶ Zellen
<i>C. freundii</i>	7 x 10 ⁶ Zellen
<i>C. koseri</i>	7 x 10 ⁶ Zellen

21 Analytische Sensitivität

Die analytische Sensitivität oder Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) ist definiert als die niedrigste Konzentration bzw. Analytmenge, die durch eine Laboranalyse belegt mit einer Zuverlässigkeit von 95 % reproduzierbar von einer negativen Probe unterschieden werden kann. Die Verdünnung erfolgte mit gepoolten, EV-negativen Humanproben. Zur Ermittlung der statistischen Konfidenz der LoD wurden jeweils 20 Replikate zusammen mit 20 EV-negativen Proben analysiert. Die analysierten Proben waren Coxsackievirus A6 (CVA6), Coxsackievirus A9 (CVA9), Coxsackievirus A17 (CVA17), Enterovirus 70 (EV70)

und Poliovirus 1 (PV1). Es wurden nicht alle 63 Serotypen in statistisch signifikanter Anzahl analysiert, da die Primer und Sonden bindenden Stellen über alle Serotypen hinweg erhalten bleiben und die Amplikonlänge für alle Serotypen identisch ist. Daher ist zu erwarten, dass die Amplifikationseffizienz für alle Serotypen gleich ist. Die o. a. fünf Serotypen wurden als repräsentativ für die Enterovirus-Spezies CVA6 (A), CVA9 (B), CVA17 (C), EV70 (D) und PV1 (Poliovirus) ausgewählt. Die LoD der fünf (5) Serotypen, jeweils einer pro Enterovirus-Spezies, geht aus Tabelle 12 hervor.

Tabelle 12. Nachweisgrenze für fünf (5) Serotypen

Serotyp	Nachweisgrenze (TCID ₅₀ /mL)
CVA9	80,0
EV70	1,3
PV1	4,0
CVA17	1,0
CVA6	33,0

22 Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit wurde in einer multizentrischen verblindeten Studie anhand eines aus vier Proben bestehenden Präzisionspanels beurteilt. An drei Zentren wurde jedes Panel über 10 Testtage jeweils drei Mal pro Tag getestet, was insgesamt 90 Ergebnissen pro Panelprobe entsprach. Das Präzisionspanel bestand aus einer negativen Probe und drei positiven Proben, wobei es sich um synthetische ZSF handelte, der jeweils ein bestimmter EV-Serotyp bei einer Konzentration nahe der Nachweisgrenze zugesetzt wurde.

Prozentuale Übereinstimmung, durchschnittlicher Ct-Wert für jede Konzentration, zugehörige Standardabweichung und prozentualer Variationskoeffizient zwischen Tagen und zwischen Zentren der multizentrischen Reproduzierbarkeitsstudie gehen aus Tabelle 13 hervor.

Tabelle 13. Zusammenfassung der Ergebnisse der ersten Reproduzierbarkeitsstudie

Anz. der korrekt eingestuft Proben				Mittlerer Ct-Wert, EV	Zwischen Tagen		Zwischen Zentren		Insgesamt	
Serotyp (TCID ₅₀ /mL)	Zentrum 1	Zentrum 2	Zentrum 3		SD	%VK	SD	%VK	SD	%VK
Negativ	30/30	30/30	30/30							
CVA6 (134)	30/30	30/30	29/29 ^a	35,0	0,343	0,98%	0,175	0,50%	1,101	3,15%
CVA9 (320)	30/30	30/30	30/30	34,4	0	0,00%	0	0,00%	0,61	1,77%
CVA17 (3)	30/30	30/30	29/29 ^a	33,8	0	0,00%	0	0,00%	0,414	1,22%
Gesamtübereinstimmung	120/120	120/120	118/118							
Übereinstimmung in %	100,00%	100,00%	100,00%							

a. Für zwei Proben konnte kein Ergebnis mit dem GeneXpert erzielt werden.

Um das System weiter zu belasten, wurde eine zweite Studie durchgeführt. Eine interne Reproduzierbarkeitsstudie wurde über vier verschiedene Tage hinweg auf mehreren GeneXpert Instrumenten (31) und ICORE-Modulen (121) durchgeführt. Zwei repräsentative Vollvirus-Subtypen (nämlich Coxsackievirus CVA9 und Enterovirus EV70) wurden humaner negativer ZSF zugesetzt, um simulierte Proben bei sowohl 2 x LoD als auch 4 x LoD zu erstellen. Die negative Probe wurde 20 Mal getestet, zwei positive Proben bei den beiden Konzentrationen hingegen fünf (5) Mal pro Tag. Von den insgesamt getesteten Proben erzielten zwei Proben das Ergebnis „Ungültig“ (Invalid) und drei Proben das Ergebnis „Kein Ergebnis“ (No Result) gemäß den Definitionen der Softwaresteuerung der Instrumente. Von den 157 berichts-fähigen Ergebnissen wurden 155 korrekt eingestuft.

Übereinstimmung, durchschnittlicher Ct-Wert für jede Konzentration, zugehörige Standardabweichung und prozentualer Variationskoeffizient für jeden Tag gehen aus Tabelle 14 hervor.

Tabelle 14. Zusammenfassung der Ergebnisse der zweiten Reproduzierbarkeitsstudie

Proben-ID		Gesamtübereinstimmung – C _t -Ergebnisse					Gesamtübereinstimmung in %
		Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Alle Tage	
Negativ	Gesamtübereinstimmung	20/20	18/18 ^a	20/20	20/20	78/78	100%
	Durchschnitt	N. zutr.	N. zutr.	N. zutr.	N. zutr.	N. zutr.	
	SD	N. zutr.	N. zutr.	N. zutr.	N. zutr.	N. zutr.	
	% VK	N. zutr.	N. zutr.	N. zutr.	N. zutr.	N. zutr.	
CA9 2x LoD	Gesamtübereinstimmung	4/5 ^b	5/5	4/5 ^b	5/5	18/20	90%
	Durchschnitt	36,65	36,54	36,53	36,54	36,56	
	SD	0,56	0,46	0,21	0,69	0,48	
	% VK	1,53%	1,26%	0,57%	1,89%	1,31%	
CA9 4x LoD	Gesamtübereinstimmung	5/5	5/5	5/5	4/4 ^c	19/19	100%
	Durchschnitt	34,98	35,56	35,52	35,03	35,28	
	SD	0,53	0,67	0,7	0,3	0,6	
	% VK	1,52%	1,88%	1,97%	0,86%	1,70%	
EV70 2x LoD	Gesamtübereinstimmung	5/5	5/5	5/5 ^d	5/5	20/20	100%
	Durchschnitt	37,38	37,3	37,55	36,88	37,2	
	SD	1,78	0,74	2,01	0,81	1,3	
	% VK	4,76%	1,98%	5,35%	2,20%	3,49%	
EV70 4x LoD	Gesamtübereinstimmung	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%
	Durchschnitt	36,50	36,60	36,12	35,94	36,29	
	SD	0,58	0,97	0,29	0,84	0,72	
	% VK	1,59%	2,65%	0,80%	2,34%	1,98%	
Anzahl der verwendeten Instrumente		10	11	10	10	31	
Anzahl der verwendeten Module		40	41	41	40	121	

a. Durchläufe insgesamt = 21, 2 – Kein Ergebnis (No Result), 1 – Ungültig (Invalid)

b. Durchläufe insgesamt = 5, 1 negatives anstatt positives Ergebnis

c. Durchläufe insgesamt = 5, 1 – Ungültig (Invalid)

d. Durchläufe insgesamt = 6, 1 – Kein Ergebnis (No Result)

23 Literatur

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

24 Standorte der Cepheid-Zentralen

Konzernzentrale

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
Vereinigte Staaten
Telefon: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Konzernzentrale in Europa

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

25 Technische Unterstützung

Halten Sie bitte die folgenden Informationen bereit, wenn Sie den technischen Kundendienst von Cepheid kontaktieren:

- Produktname
- Chargenbezeichnung
- Seriennummer des Instruments
- Fehlermeldungen (falls vorhanden)
- Software-Version und gegebenenfalls „Service-Kennnummer“ (Service Tag) des Computers






















Kontaktdaten

Vereinigte Staaten
Telefon: + 1 888 838 3222
E-Mail: techsupport@cepheid.com

Frankreich
Telefon: + 33 563 825 319
E-Mail: support@cepheideurope.com

Die Kontaktinformationen aller Vertretungen des technischen Kundendienstes von Cepheid finden Sie auf unserer Website:
www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

26 Symbolerklärung

Symbol	Bedeutung
	Bestellnummer
	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum
	Nicht wiederverwenden
	Chargencode
	Gebrauchsanweisung beachten
	Vorsicht
	Hersteller
	Herstellungsland
	Inhalt reicht aus für <n> Tests
	Kontrolle
	Verfallsdatum
	CE-Kennzeichnung – Einhaltung der EU-Richtlinien
	Temperaturbegrenzung
	Biologische Risiken
	Nur zur verschreibungsgemäßen Anwendung
	Gefahr durch entzündliche Flüssigkeiten
	Achtung
	Aspirationsgefahr
	Autorisierter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft
	Bevollmächtigter in der Schweiz
	Importeur



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA
Phone: +1 408.541.4191
Fax: +1 408.541.4192



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Frankreich

Tel: +33 563 825 300
Fax: +33 563 825 301
Email: support@cepheideurope.com



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



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



For Information Only - Not a Controlled Copy