

# Xpert® Ebola

**REF** GXEBOLA-CE-10  
GXEBOLA-CE-50

## **Trademark, Patents and Copyright Statements**

Cepheid<sup>®</sup>, the Cepheid logo, GeneXpert<sup>®</sup>, and Xpert<sup>®</sup> are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries. All other trademarks are the property of their respective owners.

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

© 2015-2022 Cepheid.

## **Marken-, Patent- und Urheberschutzangaben**

Cepheid<sup>®</sup>, das Cepheid-Logo, GeneXpert<sup>®</sup> und Xpert<sup>®</sup> sind Marken von Cepheid, die in den USA und anderen Ländern eingetragen sind.

Alle anderen Marken sind Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber.

MIT DEM ERWERB DIESES PRODUKTS WIRD DEM KÄUFER DAS NICHT ÜBERTRAGBARE RECHT ZU SEINER VERWENDUNG ENTSPRECHEND DER VORLIEGENDEN GEBRAUCHSANWEISUNG 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.

© 2015-2022 Cepheid.



Cepheid AB  
Röntgenvägen 5  
SE-171 54 Solna  
Sweden

# Xpert<sup>®</sup> Ebola

---

Nur zum Gebrauch als *In-vitro*-Diagnostikum.

## 1 Markenname

Xpert<sup>®</sup> Ebola

## 2 Gebräuchlicher oder üblicher Name

Xpert Ebola Assay

## 3 Verwendungszweck

Der Xpert Ebola Assay ist ein Test nach dem Prinzip der Echtzeit-Reverse-Transkription-Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR) für den qualitativen Nachweis von RNA des Zaire-Ebolavirus (das beim Ausbruch der Krankheit in Westafrika 2014 nachgewiesen wurde) in mit EDTA entnommenem venösem Vollblut, nach einem Stich aus der Fingerbeere entnommenem peripherem Blut oder einem Wangenabstrich von Personen mit Anzeichen und Symptomen der Ebola-Viruskrankheit (EVK) in Verbindung mit epidemiologischen Risikofaktoren.

Ein Test mit dem Xpert Ebola Assay sollte nur bei Personen durchgeführt werden, die klinische und epidemiologische Kriterien für die Testung von Verdachtsfällen erfüllen.

Die Ergebnisse ermöglichen eine vorläufige Identifikation des Zaire-Ebolavirus. Zur definitiven Identifikation einer Infektion mit dem Zaire-Ebolavirus sind weitere Tests und Bestätigungsverfahren in Absprache mit den Gesundheits- oder sonstigen Behörden, gegenüber denen eine Meldepflicht besteht, erforderlich. Die Diagnose einer Infektion mit dem Zaire-Ebolavirus muss anhand von Anamnese, Anzeichen, Symptomen, Kontaktwahrscheinlichkeit sowie anderen Labornachweisen zusätzlich zur Identifikation des Zaire-Ebolavirus gestellt werden.

Negative Ergebnisse schließen eine Infektion mit dem Zaire-Ebolavirus oder einem anderen Ebolavirus nicht aus und sollten nicht als einziges Kriterium für Entscheidungen bei der Betreuung eines Patienten benutzt werden.

Die im Blut bzw. Wangenabstrich von Personen im Frühstadium einer systemischen Infektion vorhandene Ebolaviren-Konzentration ist nicht bekannt. Aufgrund der schwierigen Beschaffung von Ebola-positiven klinischen Patientenproben wurde der Xpert Ebola Assay mit einer kleinen Anzahl von simulierten Patientenproben bewertet, die mit lebenden Zaire-Ebolaviren bzw. mit Zaire-Ebolaviren-RNA versetzt wurden. Der Assay wurde nicht mit Blut oder Wangenabstrichen von mit dem Zaire-Ebolavirus infizierten Personen bewertet.

Benachrichtigung von Gesundheitsbehörden: Bei jeglichem Verdachtsfall einer EVK sind die lokalen und nationalen Gesundheitsbehörden zu unterrichten. Bei positiven Ergebnissen und eventuell auch bei negativen Ergebnissen sind Bestätigungstests im Labor der Gesundheitsbehörde erforderlich. Das Labor sollte den Bedarf für weitere Tests und den angemessenen Probentransport bei positiven bzw. negativen Testergebnissen mit dem Xpert Ebola Assay mit den lokalen oder nationalen Gesundheitsbehörden besprechen.

## 4 Zusammenfassung und Erklärung

Die Ebola-Viruskrankheit (EVK) tritt seit Jahrzehnten sporadisch in Form von Ausbrüchen im gesamten westafrikanischen Raum auf. Die aktuelle Epidemie ist jedoch die bislang größte. Stand März 2015 haben sich über 24.000 Personen infiziert und sind über 10.000 im Gefolge gestorben. Die EVK hat sich nun über Afrika hinaus bis nach Europa und in die USA ausgebreitet. In den endemischen Gebieten ist darüber hinaus eine erhebliche Belastung der Mitarbeiter im Gesundheitswesen mit einer Letalität von über 50 % zu beklagen.<sup>1</sup> Seit der Erstentdeckung des Ebolavirus 1976 sind fünf Spezies von Ebola beschrieben worden: Zaire-, Sudan-, Côte-d'Ivoire- (Taï-Forest-), Bundibugyo- und Reston-Ebolavirus. Von diesen Spezies des Ebolavirus ist das Zaire-Ebolavirus geographisch am weitesten verbreitet und ist auch der Erreger des aktuellen Ausbruchs.

Der Xpert Ebola Assay verwendet RT-PCR-Technologie, um eine hohe Sensitivität für den qualitativen Nachweis der Gesamtnukleinsäuren des Zaire-Ebolavirus in Patientenproben zu erzielen.

Um einen genauen Nachweis zu sichern, ist der Xpert Ebola Assay für den Nachweis des Glykoprotein (GP)-Gens und/oder Nukleoprotein (NP)-Gens ausgelegt. Man geht davon aus, dass beide Zielsequenzen in 100 % der bekannten Zaire-Ebolaviren vorhanden sind.

## 5 Verfahrensprinzip

Der Xpert Ebola Assay ist ein automatisierter Schnelltest für den qualitativen Nachweis des Zaire-Ebolavirus. Der Assay wird auf den Cepheid GeneXpert-Instrumentensystemen durchgeführt.

Die GeneXpert-Instrumentensysteme automatisieren und integrieren Probenvorbereitung, Nukleinsäureamplifikation und Nachweis der Zielsequenz in einfachen oder komplexen Proben mithilfe von Echtzeit-Reverse-Transkription-PCR. Die Systeme bestehen aus einem Instrument, einem Computer und einer vorinstallierten Software zur Durchführung der Tests und zum Anzeigen der Ergebnisse. Die Systeme arbeiten mit GeneXpert-Kartuschen (Einwegartikel), die die Reagenzien für die Echtzeit-Reverse-Transkription-PCR enthalten und in denen das Echtzeit-Reverse-Transkription-Verfahren abläuft. Da die Kartuschen abgeschlossene Einheiten darstellen, wird die Kreuzkontamination zwischen Proben minimiert. Eine vollständige Beschreibung der Systeme findet sich im zugehörigen *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Dx* bzw. *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Infinity*.

Der Xpert Ebola Assay enthält Reagenzien für den Nachweis der Zaire-Ebolavirus-Gesamt-Nukleinsäuren in Patientenproben sowie eine Probenadäquanzkontrolle und eine interne Kontrolle, die sowohl die korrekte Zugabe der Probe und Bearbeitung der Zielsequenz sicherstellt als auch das Vorliegen von Hemmsubstanzen bei der Reverse-Transkription- und der PCR-Reaktion überwacht. Mit der Sondenprüfungskontrolle (Probe Check Control, PCC) werden die Rehydrierung der Reagenzien, die Befüllung des PCR-Gefäßes in der Kartusche, die Sondenintegrität und die Farbstoffstabilität überprüft.

## 6 Reagenzien und Instrumente

### 6.1 Enthaltene Materialien



Die Xpert Ebola Assay-Kits enthalten genügend Reagenzien für die Bearbeitung von 10 bzw. 50 Patientenproben oder Qualitätskontrollproben. Die Kits enthalten die folgenden Materialien:

#### GeneXpert Ebola Assay-Kartuschen mit integrierten Reaktionsbehältern

- Kügelchen 1, Kügelchen 2 und Kügelchen 3 (gefriergetrocknet)
- Spülreagenz
- Elutionsreagenz
- Bindungsreagenz

#### 10 pro Kit

je 1 pro Kartusche

#### 50 pro Kit

je 1 pro Kartusche

0,5 ml pro Kartusche

0,5 ml pro Kartusche

2,0 ml pro Kartusche

2,0 ml pro Kartusche

2,0 ml pro Kartusche

2,0 ml pro Kartusche

#### Ebola-Probenreagenz (Probenreagenz)

- Lysereagenz (Guanidinthiocyanat)

#### 10 flaschen pro kit

10 x 2,5 ml pro Flasche

#### 50 flaschen pro kit

50 x 2,5 ml pro Flasche

#### Einweg-Transferpipetten (1 ml)

#### 10 pro Kit

#### 50 pro Kit

#### CD

#### 1 pro Kit

#### 1 pro Kit

### Hinweis

Sicherheitsdatenblätter (Safety Data Sheets, SDS) sind auf [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com) unter dem Register SUPPORT (KUNDENDIENST) 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 Lagerung und Handhabung



- Lagern Sie die Xpert Ebola Assay-Kartuschen und Reagenzien bei 2 °C bis 28 °C.
- Keine Reagenzien verwenden, die trübe geworden sind oder sich verfärbt haben.
- Verwenden Sie keine leckenden Kartuschen.

## 8 Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

- GeneXpert Dx System oder eines der GeneXpert Infinity Systeme (Bestellnummer variiert abhängig von der Konfiguration): GeneXpert-Instrument, Computer mit spezieller GeneXpert-Software, Version 4.4a oder höher, Xpertise 6.2 oder höher, Strichcodescanner und Benutzerhandbuch.
- Drucker: Falls ein Drucker benötigt wird, wenden Sie sich bitte an den technischen Kundendienst von Cepheid, um einen empfohlenen Drucker zu erwerben.
- Einwegtupfer (Bestellnr. SWAB/E-50)
- Vortex-Mixer
- Chlorbleiche

## 9 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen



- Nur zum Gebrauch als *In-vitro*-Diagnostikum.
- Alle biologischen Patientenproben und auch die gebrauchten Kartuschen sind als potenziell infektiös zu behandeln. Da es oft unmöglich ist, potenziell infektiöse Proben zu erkennen, sind alle biologischen Proben gemäß den üblichen Vorsichtsmaßnahmen zu behandeln. Richtlinien für den Umgang mit Patientenproben sind von den U.S. Centers for Disease Control and Prevention und dem Clinical and Laboratory Standards Institute erhältlich.
- Bei jeglichem Verdachtsfall einer Ebola-Viruskrankheit (EVK) sind die lokalen und nationalen Gesundheitsbehörden zu unterrichten. Bei positiven Ergebnissen und eventuell auch bei negativen Ergebnissen sind Bestätigungstests im Labor der Gesundheitsbehörde erforderlich. Das Labor sollte den Bedarf für weitere Tests und den angemessenen Probentransport bei positiven bzw. negativen EVK-Testergebnissen mit den lokalen oder nationalen Gesundheitsbehörden besprechen.
- 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 oder der jeweiligen Region keine klaren Anweisungen zur ordnungsgemäßen Entsorgung enthalten, sollten biologische Proben und gebrauchte Kartuschen gemäß den Richtlinien der WHO (Weltgesundheitsorganisation) zur Handhabung und Entsorgung von medizinischen Abfällen entsorgt werden.
- Alle Ergebnisse müssen durch eine geschulte Fachkraft in Verbindung mit einer Durchsicht der klinischen Anzeichen und Symptome des Patienten sowie seiner Anamnese ausgewertet werden.
- Die Verwendung dieses Assays ist geschultem Personal vorbehalten.
- Wenn mehr als eine Probe gleichzeitig bearbeitet wird, stets nur eine Kartusche öffnen. Die mit Probenreagenz behandelte Probe zugeben und die Kartusche schließen, bevor die nächste Probe bearbeitet wird. Nach jeder Probe Handschuhe wechseln.
- Beim Umgang mit Proben und Reagenzien sind Einweg-Schutzhandschuhe, Laborschutzbekleidung und Augenschutz zu tragen. Nach dem Umgang mit Proben und Testreagenzien sind die Hände sorgfältig zu waschen.
- Die Sicherheitsvorkehrungen der jeweiligen Einrichtung für den Umgang mit Chemikalien und biologischen Proben sind zu befolgen.
- Ersetzen Sie keine Xpert Ebola Assay-Reagenzien durch andere Reagenzien.
- Der Deckel der Xpert Ebola Assay-Kartusche darf nur für die Zugabe der mit Probenreagenz behandelten Probe geöffnet werden.
- Kartuschen, die nass aussehen oder deren Deckelversiegelung aufgebrochen zu sein scheint, dürfen nicht verwendet werden.
- Keine Kartuschen verwenden, die nach der Entnahme aus der Verpackung fallen gelassen wurden.
- Die Kartusche nicht schütteln. Wenn die Kartusche nach dem Öffnen des Kartuschendeckels geschüttelt oder fallen gelassen wird, sind die Ergebnisse möglicherweise ungültig.
- Kartuschen mit beschädigtem Reaktionsbehälter dürfen nicht verwendet werden.
- Jede Xpert Ebola Assay-Kartusche dient zur Durchführung eines einzigen Tests (Einwegartikel). Verwenden Sie benutzte Kartuschen nicht wieder.
- Jede Einwegpipette dient zum Transfer nur einer Patientenprobe. Verwenden Sie benutzte Einwegpipetten nicht wieder.
- Jeder Einwegtupfer dient zur Entnahme und/oder zum Transfer nur einer Patientenprobe. Verwenden Sie benutzte Einwegtupfer nicht wieder.
- Lagern Sie das Xpert Ebola Assay-Kit bei 2 °C bis 28 °C



**Hinweis** Vor dem Beginn die Flasche mit dem Probenreagenz aus dem Kit nehmen und auf Raumtemperatur kommen lassen. Siehe Abbildung 1. Falls die Flasche nicht aufrecht stehend aufbewahrt wurde, sicherstellen, dass der Puffer sich am Boden der Flasche befindet, indem diese kräftig geschüttelt wird.

---

**Hinweis** Einweghandschuhe tragen. Die Flasche mit dem Probenreagenz mit der Identifikation der Patientenprobe beschriften.

---

## 10 Chemische Gefahren<sup>2,3</sup>

- UN
- Signalwort: ACHTUNG
- **UN-GHS-Gefahrenhinweise**
  - Gesundheitsschädlich bei Verschlucken
  - Möglicherweise gesundheitsschädlich bei Hautkontakt
  - Verursacht Augenreizungen
- **UN-GHS-Sicherheitshinweise**
  - **Prävention**
    - Nach Gebrauch gründlich waschen.
  - **Reaktion**
    - Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.
    - 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.

## 11 Entnahme, Transport und Aufbewahrung der Patientenproben

### 11.1 Vollblutentnahme



Vollblut sollte entsprechend den Anweisungen des jeweiligen Herstellers per Venenpunktion in EDTA-Röhrchen entnommen werden. Für den Xpert Ebola Assay ist eine Mindestmenge von 100 µl Vollblut erforderlich. Alternativ mit dem Tupfer (SWAB/E-50) Blutproben nach einem Stich in die Fingerbeere entnehmen. Dabei muss sich die Tupferspitze mindestens zu 2/3 mit Blut vollsaugen. Den Tupfer unverzüglich in die Flasche mit dem Probenreagenz transferieren (siehe Abbildung 1 unter „Probenvorbereitung“).

### 11.2 Wangenabstrich

Mit dem Tupfer (SWAB/E-50) entsprechend den WHO-Richtlinien für die Entnahme von Mundabstrichen bei Ebola-Patienten einen Wangenabstrich entnehmen.\* Berührung der Tupferspitze mit den Handschuhen oder anderen Oberflächen vermeiden. Lebende Patienten auffordern, den Mund zu öffnen, und die Tupferspitze unmittelbar zur Innenseite der Wange bringen. Mindestens 20 Sekunden lang mit festem, anhaltendem Druck und in kreisförmigen Bewegungen mit der gesamten Tupferspitze reiben. Bei verstorbenen Patienten die Handfläche auf das Kinn legen und fest nach unten drücken, um den Mund leicht zu öffnen. Den Tupfer seitlich in die Wange einführen und mindestens 20 Sekunden lang mit festem, anhaltendem Druck und in kreisförmigen Bewegungen mit der gesamten Tupferspitze reiben. Auf der anderen Seite wiederholen, sofern diese zugänglich ist.

\*WHO-Referenznummer: WHO/EVD/Guidance/Lab/14.2

---

**Wichtig** Unverzüglich mit der Probenvorbereitung fortfahren, um sicherzustellen, dass das Ebolavirus inaktiviert wird.

---

**Hinweis** Einweghandschuhe tragen. Die Flasche mit dem Probenreagenz mit der Identifikation der Patientenprobe beschriften.

---

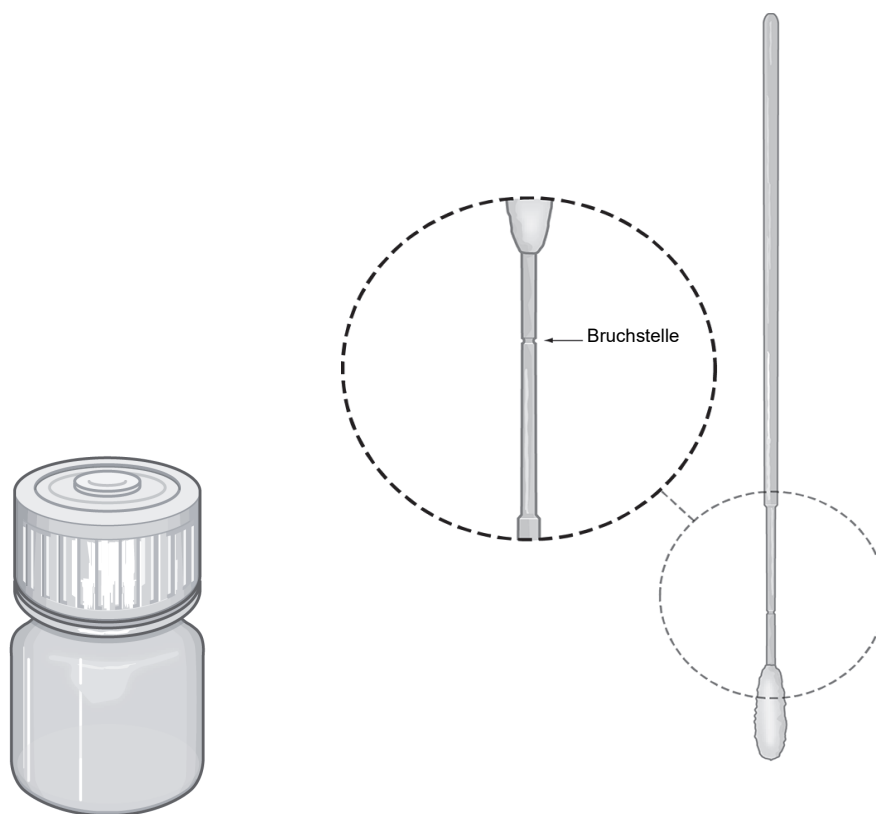
**Probenvorbereitung In EDTA-Röhrchen entnommenes venöses Vollblut:** Den Deckel der Flasche mit Probenreagenz öffnen. Ein Blutvolumen von 0,1 ml transferieren, indem der Tupfer (SWAB/E-50) in das EDTA-Röhrchen gesteckt und mindestens 5 Sekunden abgewartet wird, sodass er sich mit Blut vollsaugen kann. Die Probe transferieren, indem der vorbereitete Tupfer in die Flasche mit Probenreagenz gesteckt wird (siehe Abbildung 1). Den Tupfer am Stiel festhalten und die Sollbruchstelle gegen den Flaschenrand drücken. Den Tupfer durch seitliches Biegen abbrechen. Alternativ mit einer automatischen Pipette mit Filterbarrierspitzen 0,1 ml Blut aus dem EDTA-Röhrchen transferieren.

**Wangenabstrich:** Den Deckel der Flasche mit Probenreagenz öffnen. Den vorbereiteten Tupfer in das Probenreagenz stecken (siehe Abbildung 1). Den Tupfer am Stiel festhalten und die Sollbruchstelle gegen den Flaschenrand drücken. Den Tupfer durch seitliches Biegen abbrechen.

**Blut aus einem Stich in die Fingerbeere:** Mit dem Tupfer (SWAB/E-50) Blut aus einem Stich in die Fingerbeere entnehmen. Dabei muss der Tupfer 0,1 ml Blut absorbieren. Sicherstellen, dass mindestens 2/3 der Tüpferspitze mit Blut bedeckt sind. Die Probe transferieren, indem der vorbereitete Tupfer in die Flasche mit Probenreagenz gesteckt wird (siehe Abbildung 1). Den Tupfer am Stiel festhalten und die Sollbruchstelle gegen den Flaschenrand drücken. Den Tupfer durch seitliches Biegen abbrechen.

**Hinweis** Sterilen Mull verwenden, um das Kontaminationsrisiko zu minimieren.

Den Deckel der Flasche mit Probenreagenz schließen und die Probe 10 Sekunden lang im Vortex-Mixer mischen. 20 Minuten lang bei Zimmertemperatur inkubieren.



**Abbildung 1. Flasche mit Probenreagenz und Tupfer zur Entnahme von Ebolaprobe des Xpert Ebola Assays**

### 11.3 Transport und Aufbewahrung von Proben

Die mit Probenreagenz behandelten Proben entsprechend den WHO-Richtlinien für den Transport von Ebola-Patientenproben mit dem Titel „How to safely collect blood samples from persons suspected to be infected with highly infectious blood-borne pathogens (e.g. Ebola)“ (Sichere Entnahme von Blutproben bei Personen mit Verdacht auf hochgradig infektiöse, durch Blut übertragbare Krankheitserreger (z. B. Ebola)) einzeln in wiederverschließbaren Beuteln verpackt zur weiteren Bearbeitung in die Testlabors transportieren. Die mit Probenreagenz behandelten Blutproben können bis zu 72 Stunden bei 2 °C bis 8 °C und bis zu 48 Stunden bei maximal 28 °C oder bis zu 24 Stunden bei maximal 35 °C aufbewahrt werden. Die mit Probenreagenz behandelten Wangenabstriche können bis zu 72 Stunden bei 2 °C bis 8 °C und bis zu 24 Stunden bei maximal 28 °C aufbewahrt werden.

## 12 Verfahren

### 12.1 Vorbereitung der Kartusche

**Hinweis** Eine dünne Plastikfolie bedeckt den inneren Ring mit den Öffnungen der Testkartusche. Diese Folie darf nicht entfernt werden.

**Wichtig** Der Test muss innerhalb von 30 Minuten nach der Zugabe der Probe zur Kartusche begonnen werden.

1. Einweg-Schutzhandschuhe tragen.
2. Die Testkartusche auf Beschädigungen überprüfen. Falls die Kartusche beschädigt ist, darf sie nicht verwendet werden.
3. Die Kartusche mit der Identifikation der Patientenprobe beschriften.
4. Den Kartuschendeckel öffnen.
5. Mit der 1-ml-Transferpipette (siehe Abbildung 2) oder einer automatischen Pipette mit Filterbarrierenspitze 1 ml der mit Probenreagenz behandelten Patientenprobe in die Probenkammer der Kartusche transferieren (siehe Abbildung 3). Die Patientenprobe **NICHT** in die Probenkammer gießen.

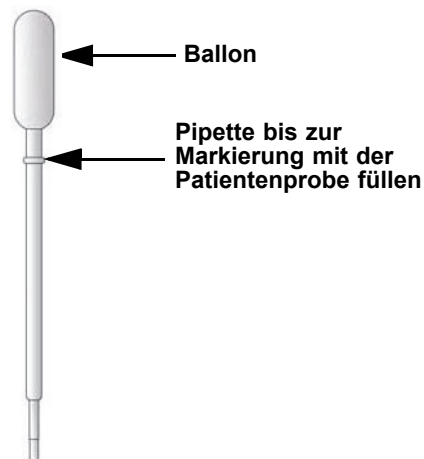


Abbildung 2. 1-ml-Transferpipette des Xpert Ebola Assays

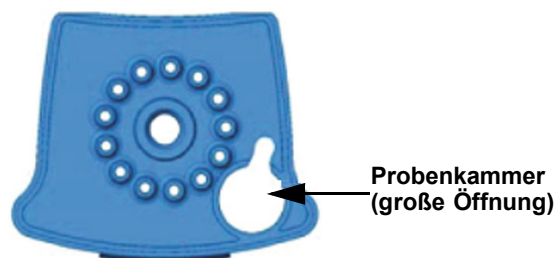


Abbildung 3. Xpert Ebola Assay-Kartusche (Draufsicht)



## 12.2 Testbeginn

**Wichtig** **Achten Sie vor Testbeginn darauf, dass die Definitionsdatei für den Xpert Ebola Assay in die Software importiert wurde.**

In diesem Abschnitt werden die grundlegenden Schritte der Testdurchführung beschrieben. Detaillierte Anweisungen finden Sie, abhängig vom benutzten Modell, im *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Dx System* oder im *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Infinity System*.

1. Schalten Sie das GeneXpert-Instrumentensystem ein:
  - Schalten Sie bei Verwendung des GeneXpert Dx-Instruments zuerst das Instrument und dann den Computer ein. Die GeneXpert-Software startet automatisch oder muss eventuell durch einen Doppelklick auf das Verknüpfungssymbol für die GeneXpert Dx-Software auf dem Windows®-Desktop gestartet werden.
  - oder
  - Bei Verwendung des GeneXpert Infinity Instruments das Instrument hochfahren. Die Xpertise-Software startet automatisch oder muss eventuell durch einen Doppelklick auf das Verknüpfungssymbol für die Xpertise-Software auf dem Windows-Desktop gestartet werden.
2. Melden Sie sich mit Ihrem Benutzernamen und Kennwort bei der Software des GeneXpert-Instrumentensystems an.
3. Klicken Sie im Fenster des GeneXpert Systems auf **Test erstellen** (GeneXpert Dx) bzw. **Orders** (Anforderungen) und **Order Test** (Test anfordern) (Infinity).
4. Scannen Sie die Patienten-ID ein (optional). Vermeiden Sie Tippfehler beim Eintippen der Patienten-ID. Die Patienten-ID ist mit den Testergebnissen verknüpft und erscheint im Fenster **View Results** (Ergebnisse anzeigen).
5. Scannen oder tippen Sie die Proben-ID ein. Vermeiden Sie Tippfehler beim Eintippen der Proben-ID. Die Proben-ID ist mit den Testergebnissen verknüpft und erscheint im Fenster **View Results** (Ergebnisse anzeigen) sowie in allen Berichten. Das Dialogfenster **Scan Cartridge** (Kartuschen-Barcode scannen) erscheint.
6. Scannen Sie den Strichcode der Xpert Ebola Assay-Kartusche ein. Das Fenster **Create Test** (Test erstellen) erscheint. Anhand der über den Strichcode erhaltenen Informationen werden die folgenden Felder automatisch ausgefüllt: **Select Assay** (Assay auswählen), **Reagent Lot ID** (Chargen-ID), **Cartridge SN** (Kartuschen-Seriennr.).
7. Klicken Sie auf **Test starten** (GeneXpert Dx) bzw. **Submit** (Einreichen) (Infinity). Geben Sie Ihr Kennwort ein, falls eine entsprechende Aufforderung angezeigt wird.
8. Bei Verwendung des GeneXpert Infinity Systems stellen Sie die Kartusche auf das Förderband. Die Kartusche wird automatisch geladen, der Test wird ausgeführt, und die benutzte Kartusche wird in den Abfallbehälter gelegt.

oder

Bei Verwendung des GeneXpert Dx Instruments:

- A. Öffnen Sie die Klappe des Instrumentenmoduls mit der grün blinkenden Anzeige und laden Sie die Kartusche.
- B. Schließen Sie die Klappe. Der Test beginnt und die grüne Anzeige hört auf zu blinken. Wenn der Test abgeschlossen ist, geht die Lampe aus.
- C. Warten Sie, bis das System die Klappenverriegelung freigegeben hat, und öffnen Sie anschließend die Modulklappe. Entfernen Sie dann die Kartusche.
- D. Verbrauchte Kartuschen müssen entsprechend den üblichen Praktiken der jeweiligen Einrichtung in geeigneten Proben-Abfallbehältern entsorgt werden.

## 13 Anzeigen und Drucken der Ergebnisse

In diesem Abschnitt sind die grundsätzlichen Schritte für Anzeigen und Ausdrucken der Ergebnisse aufgelistet. Detailliertere Anweisungen zum Anzeigen und Ausdrucken der Ergebnisse finden Sie im *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Dx System* oder im *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Infinity System*, je nachdem, welches Instrument Sie verwenden.

1. Klicken Sie auf das Symbol **View Results** (Ergebnisse anzeigen), um die Ergebnisse anzuzeigen.
2. Nach Durchführen des Tests klicken Sie auf die Schaltfläche **Report** (Bericht) auf dem Bildschirm **View Results** (Ergebnisse anzeigen), um eine Berichtdatei im PDF-Format anzuzeigen bzw. zu erstellen.

## 14 Qualitätskontrolle

### CONTROL

Jeder Test enthält eine Probenadäquanzkontrolle (Sample Adequacy Control, SAC), eine Cepheid-interne Kontrolle (Cepheid Internal Control, CIC) sowie eine Sondenprüfungskontrolle (Probe Check Control, PCC).

- **Probenadäquanzkontrolle (SAC):** Die SAC stellt sicher, dass humane Zellen in die Probenkammer gegeben wurden. Die SAC ist erfolgreich, wenn sie die validierten Akzeptanzkriterien erfüllt.
- **Cepheid-interne Kontrolle (CIC):** Die CIC stellt sicher, dass die Probe korrekt bearbeitet wurde. Die CIC ist eine Armored RNA<sup>®</sup> in Form eines getrockneten Kügelchens, das in jeder Probenkartusche enthalten ist. Sie dient der Sicherstellung einer korrekten Bearbeitung eines Virus in der Probe. Die CIC überprüft, ob die Lyse des Ebola-Virus stattgefunden hat, sofern dieses vorhanden ist. Ferner wird kontrolliert, ob die Probe ordnungsgemäß bearbeitet wurde. Darüber hinaus stellt diese Kontrolle eine probenbedingte Hemmung der PCR-Reaktion fest. Bei einer negativen Probe sollte die CIC positiv sein; bei einer positiven Probe kann sie negativ oder positiv sein. Die CIC ist erfolgreich, wenn sie die validierten Akzeptanzkriterien erfüllt.
- **Sondenprüfungskontrolle (PCC, QC1, QC2):** Vor Beginn des Reverse-Transkription-PCR-Assays misst das GeneXpert-Instrumentensystem das Fluoreszenzsignal von zwei der Sonden (die als QC1 und QC2 bezeichnet werden), um die Rehydrierung der Kügelchen, Füllung des Reaktionsbehälters, Unversehrtheit der Sonden und Stabilität des Farbstoffs zu überprüfen. Da QC1 und QC2 zum Zeitpunkt des Reverse-Transkription-PCR-Schritts gemessen werden (vor dem Echtzeit-PCR-Schritt), stehen keine Wachstumskurven zur Verfügung. Die PCC ist erfolgreich, wenn sie die zugewiesenen Akzeptanzkriterien erfüllt.
- **Externe Kontrollen:** Externe Kontrollen müssen gegebenenfalls in Übereinstimmung mit lokalen, bundesstaatlichen und bundesweiten Akkreditierungsvorschriften verwendet werden.
- Negative venöse Vollblutproben können als externe Negativkontrollen verwendet werden, die wie Patientenproben analysiert werden.
- Informationen zur Beschaffung von optionalen externen Kontrollmaterialien erteilt der technische Kundendienst unter TechSupport@cepheid.com oder auf www.cepheid.com unter dem Register **SUPPORT** (KUNDENDIENST).

## 15 Interpretation der Ergebnisse

Die Ergebnisse werden vom GeneXpert-Instrumentensystem automatisch aus den gemessenen Fluoreszenzsignalen und den eingebetteten Berechnungsalgorithmen ausgewertet und im Fenster **View Results** (Ergebnisse anzeigen) klar angezeigt (siehe Abbildung 4, Abbildung 5, Abbildung 6 und Abbildung 7). Die möglichen Ergebnisse gehen aus Tabelle 1 hervor.

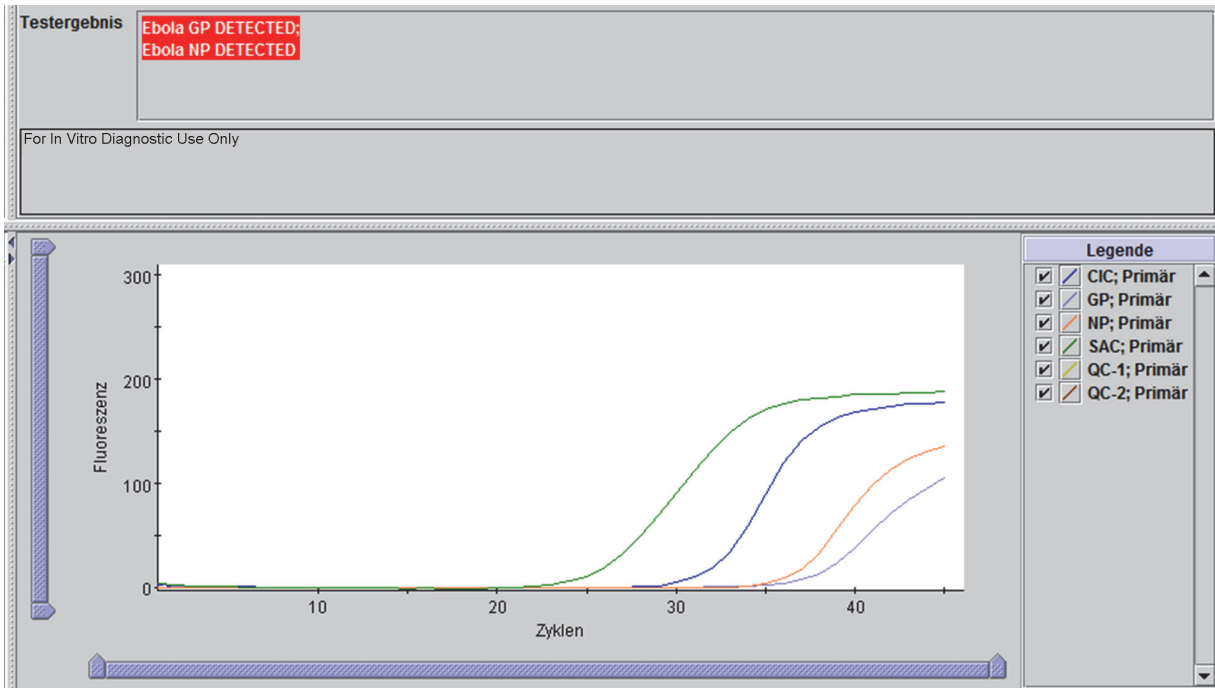
Tabelle 1. Xpert Ebola Assay – Ergebnisse und Auswertung

Ergebnis	Auswertung
<b>Ebola GP DETECTED, Ebola NP DETECTED</b> <b>(Ebola GP ERMITTELT, Ebola NP ERMITTELT)</b> oder <b>Ebola GP DETECTED, Ebola NP NOT DETECTED</b> <b>(Ebola GP ERMITTELT, Ebola NP NICHT ERMITTELT)</b> oder <b>Ebola GP NOT DETECTED, Ebola NP DETECTED</b> <b>(Ebola GP NICHT ERMITTELT, Ebola NP ERMITTELT)</b>  Siehe Abbildung 4, Abbildung 5 und Abbildung 6.	Die EBOLA-Ziel-Nukleinsäuren wurden nachgewiesen. <ul style="list-style-type: none"> <li>• Das EBOLA-Signal für beide oder eine der beiden Ziel-Nukleinsäuren weist einen Ct-Wert innerhalb des gültigen Bereichs sowie einen Endpunkt oberhalb des eingestellten Minimums auf.</li> <li>• SAC: NA (Nicht zutreffend); die SAC wird ignoriert, da die EBOLA-Ziel-Amplifikation stattgefunden hat.</li> <li>• CIC: NA (Nicht zutreffend); die CIC wird ignoriert, da die EBOLA-Ziel-Amplifikation stattgefunden hat.</li> <li>• Sondenprüfung: BEST.; alle Ergebnisse mit Sondenprüfung waren erfolgreich.</li> </ul>
<b>Ebola GP NOT DETECTED, Ebola NP NOT DETECTED</b> <b>(Ebola GP NICHT ERMITTELT, Ebola NP NICHT ERMITTELT)</b>  Siehe Abbildung 7.	Die EBOLA-Ziel-Nukleinsäuren wurden nicht nachgewiesen. Die CIC erfüllt die Akzeptanzkriterien. <ul style="list-style-type: none"> <li>• SAC: BEST.; die SAC weist einen Ct-Wert innerhalb des gültigen Bereichs sowie einen Endpunkt oberhalb des eingestellten Minimums auf.</li> <li>• CIC: BEST.; die CIC weist einen Ct-Wert innerhalb des gültigen Bereichs sowie einen Endpunkt oberhalb des eingestellten Minimums auf.</li> <li>• Sondenprüfung: BEST.; alle Ergebnisse mit Sondenprüfung waren erfolgreich.</li> </ul>

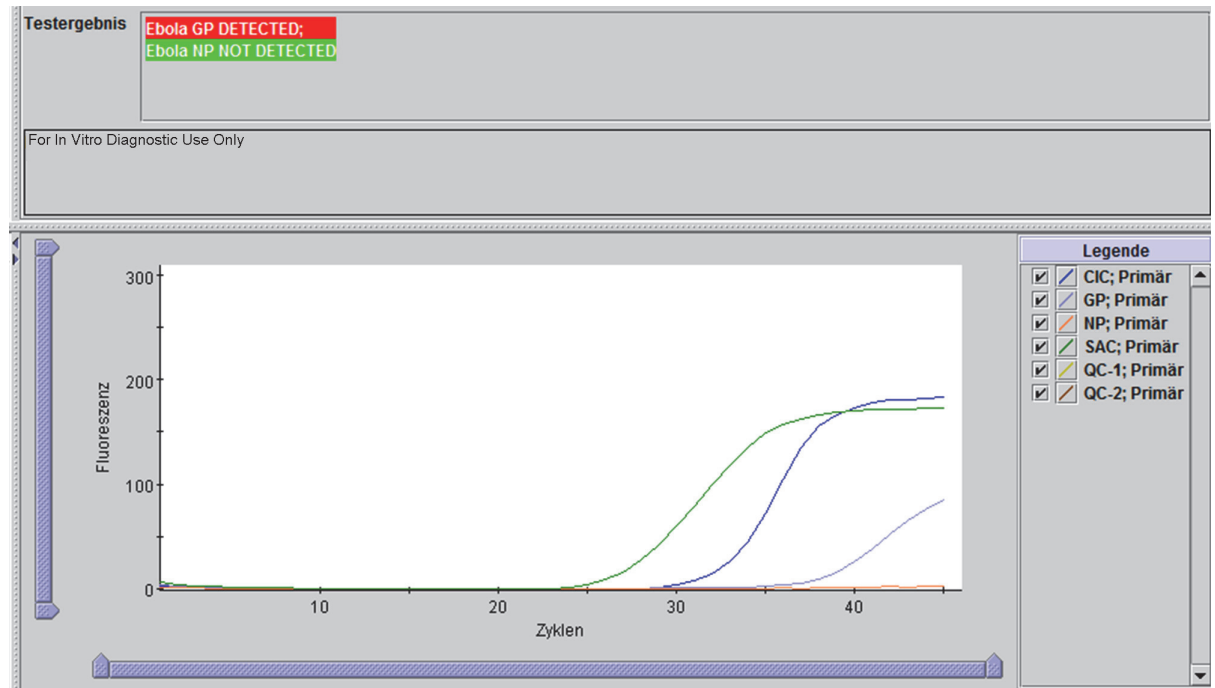
Tabelle 1. Xpert Ebola Assay – Ergebnisse und Auswertung (Fortsetzung)

Ergebnis	Auswertung
<b>INVALID (UNGÜLTIG)</b>	<p>Vorliegen oder Abwesenheit der Ziel-Nukleinsäuren ist nicht zu bestimmen. Wiederholen Sie den Test gemäß den Anweisungen unter „Testwiederholung“.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• SAC: DEFEKT; die SAC weist einen Ct-Wert außerhalb des gültigen Bereichs sowie einen Endpunkt unterhalb des eingestellten Minimums auf.</li> <li>• CIC: BEST.; die CIC weist einen Ct-Wert innerhalb des gültigen Bereichs sowie einen Endpunkt oberhalb des eingestellten Minimums auf.</li> <li>• Sondenprüfung: BEST.; alle Ergebnisse mit Sondenprüfung waren erfolgreich.</li> </ul> <p>Oder</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• SAC: BEST.; die SAC weist einen Ct-Wert innerhalb des gültigen Bereichs sowie einen Endpunkt oberhalb des eingestellten Minimums auf.</li> <li>• CIC: DEFEKT; die CIC weist einen Ct-Wert außerhalb des gültigen Bereichs sowie einen Endpunkt unterhalb des eingestellten Minimums auf.</li> <li>• Sondenprüfung: BEST.; alle Ergebnisse mit Sondenprüfung waren erfolgreich.</li> </ul>
<b>ERROR (FEHLER)</b>	<p>Vorliegen oder Abwesenheit der EBOLA-Nukleinsäuren ist nicht zu bestimmen. Wiederholen Sie den Test gemäß den Anweisungen unter „Testwiederholung“.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• EBOLA: KEIN ERGEBNIS</li> <li>• SAC: KEIN ERGEBNIS</li> <li>• CIC: KEIN ERGEBNIS</li> <li>• Sondenprüfung: DEFEKT; ein oder alle Ergebnisse mit Sondenprüfung sind fehlgeschlagen.</li> </ul>
<b>NO RESULT (KEIN ERGEBNIS)</b>	<p>Vorliegen oder Abwesenheit der EBOLA-Ziel-Nukleinsäuren ist nicht zu bestimmen. Wiederholen Sie den Test gemäß den Anweisungen unter „Testwiederholung“. <b>NO RESULT (KEIN ERGEBNIS)</b> bedeutet, dass nicht genügend Daten erfasst wurden. Beispielsweise könnte der Bediener den Test abgebrochen haben, bevor er abgeschlossen war.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• EBOLA: NO RESULT (KEIN ERGEBNIS)</li> <li>• SAC: NO RESULT (KEIN ERGEBNIS)</li> <li>• CIC: NO RESULT (KEIN ERGEBNIS)</li> <li>• Sondenprüfung: NA (Nicht zutreffend)</li> </ul>

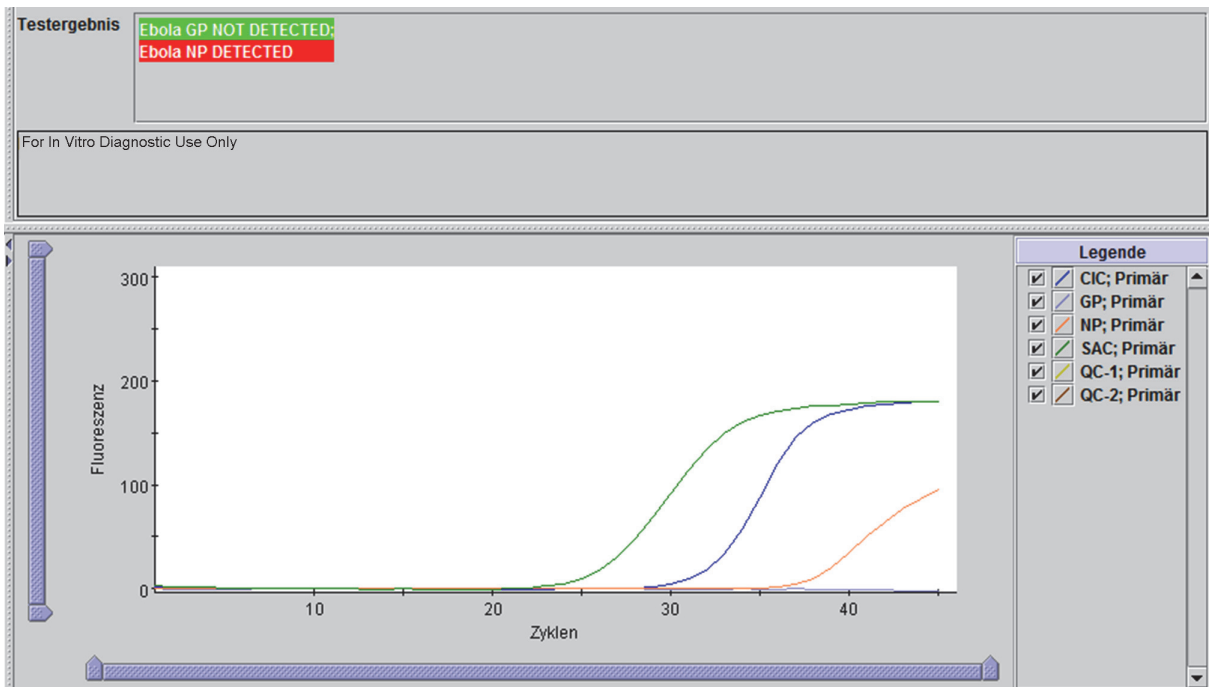
**Hinweis** Die Assay-Bildschirmfotos in dieser Packungsbeilage dienen nur als Beispiele. Leichte Abweichungen sind möglich. QC1 und QC2 in der Legende auf Abbildung 4, Abbildung 5, Abbildung 6 und Abbildung 7 überprüfen das Vorhandensein der Sonden (siehe „Sondenprüfungskontrolle“ in Abschnitt 14, Qualitätskontrolle); es werden keine Amplifikationskurven erstellt.



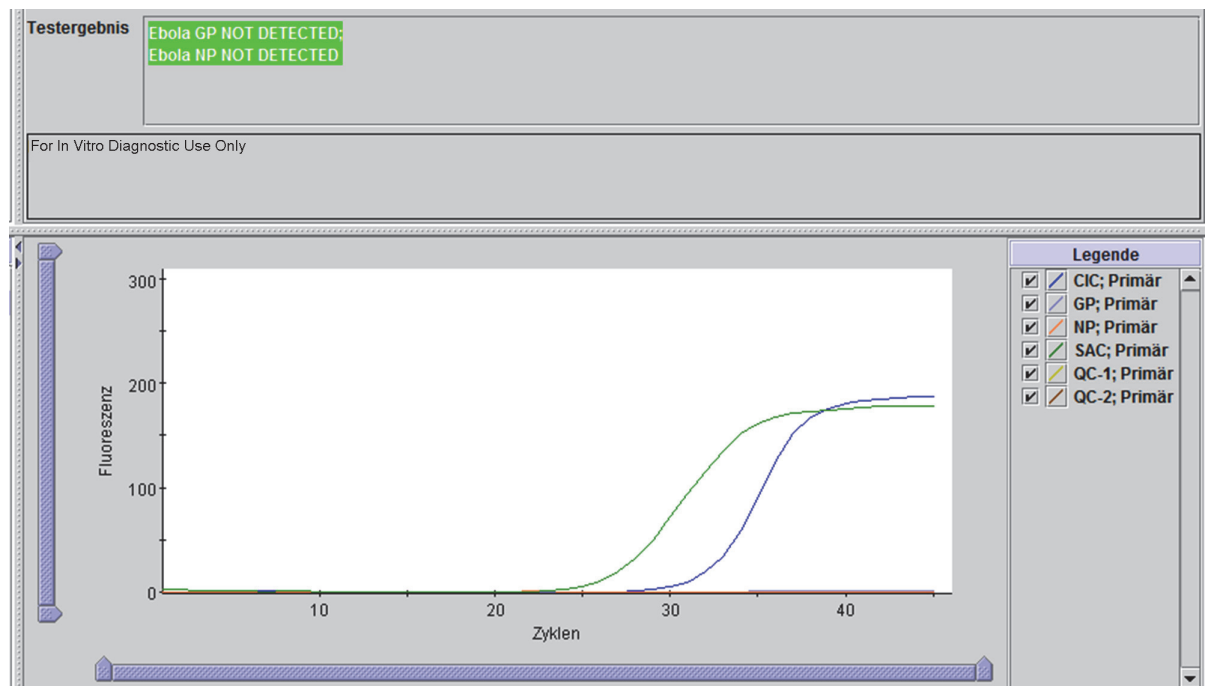
**Abbildung 4. Ebola GP DETECTED, Ebola NP DETECTED  
 (Ebola GP ERMITTELT, Ebola NP ERMITTELT)**



**Abbildung 5. Ebola GP DETECTED, Ebola NP NOT DETECTED  
 (Ebola GP ERMITTELT, Ebola NP NICHT ERMITTELT)**



**Abbildung 6. Ebola GP NOT DETECTED, Ebola NP DETECTED  
(Ebola GP NICHT ERMITTELT, Ebola NP ERMITTELT)**



**Abbildung 7. Ebola GP NOT DETECTED, Ebola NP NOT DETECTED  
(Ebola GP NICHT ERMITTELT, Ebola NP NICHT ERMITTELT)**

## 16 Wiederholungstests

### 16.1 Gründe für eine Testwiederholung

Falls eines der im Weiteren aufgeführten Testergebnisse erzielt wird, ist der Test gemäß den Anweisungen in Abschnitt 16.2, „Testwiederholung“, zu wiederholen.

- Für das Ergebnis **INVALID** (UNGÜLTIG) kann es einen oder mehrere der folgenden Gründe geben
  - Die CIC der Kontrolle ist fehlgeschlagen.
  - Die Probe wurde nicht sachgemäß bearbeitet oder die PCR wurde gehemmt.
  - Die SAC der Kontrolle ist fehlgeschlagen.
  - Es wurde nicht genügend Probenmaterial zugegeben.
- Das Ergebnis **ERROR** (FEHLER) bedeutet, dass der Assay abgebrochen wurde. Mögliche Ursachen sind z. B.: Das Reaktionsgefäß wurde unsachgemäß befüllt, es wurde ein Problem mit der Integrität des Sondenreagenzes festgestellt oder der Grenzwert für den Maximaldruck wurde überschritten.
- **NO RESULT** (KEIN ERGEBNIS) bedeutet, dass nicht genügend Daten erfasst wurden. Zum Beispiel hat der Benutzer einen laufenden Test abgebrochen oder es ist zu einem Stromausfall gekommen.

### 16.2 Testwiederholung

Verwenden Sie für den erneuten Testlauf aufgrund eines auf **NO RESULT** (KEIN ERGEBNIS), **INVALID** (UNGÜLTIG) oder **ERROR** (FEHLER) lautenden Ergebnisses eine neue Kartusche (verwenden Sie die alte Kartusche nicht nochmals) und neue Reagenzien.

1. Nehmen Sie eine neue Kartusche aus dem Kit.
2. Siehe Abschnitt 12.1, Vorbereitung der Kartusche, und Abschnitt 12.2, Testbeginn.

## 17 Leistungsmerkmale

### 17.1 Nachweisgrenze für Vollblut

Die Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) des Xpert Ebola Assays wurde für Zaire-Ebolavirus-RNA und lebende Zaire-Ebolaviren geschätzt. Die Tests erfolgten mit drei Verdünnungsreihen, die jeweils mit genau einer Reagenzienkitcharge analysiert wurden. Virale RNA, die aus dem Mayinga-Zaire-Ebolavirus aufgereinigt und von der schwedischen Gesundheitsbehörde bezogen wurde, wurde in einer Mischung aus Probenreagenz und Vollblut verdünnt, während die lebenden Ebolaviren 2014/Gueckedou-C05 und 2014/Gueckedou-C07 jeweils in EDTA-Vollblut verdünnt wurden. Insgesamt wurden 20 RNA-Replikate und 4 Lebendvirus-Replikate pro Konzentration und Patientenprobe getestet. Die LoD für RNA wurde geschätzt als die niedrigste Konzentration von Ziel-RNA des Zaire-Ebolavirus, die mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % anhand einer Probit-Analyse reproduzierbar von negativen Proben unterschieden werden konnte. Die behauptete LoD für Mayinga-RNA wurde bestätigt, indem mindestens zwanzig auf die geschätzte LoD-Konzentration verdünnte Replikate mit drei Reagenzienchargen des Xpert Ebola Assays analysiert wurden. 95 % der Replikate waren in einer Reagenziencharge positiv und 100 % in zwei Reagenzienchargen. Die geschätzte LoD für Lebendviren wurde bestätigt als die niedrigste Konzentration von plaquebildenden Einheiten (Plaque Forming Units, PFU) pro ml EDTA-Vollblut, bei der mindestens 19 von 20 Replikaten positiv waren. Die Ergebnisse für Zaire-Ebolavirus-RNA und Lebendviren gehen aus Tabelle 2 und Tabelle 3 hervor.

**Tabelle 2. Nachweisgrenze für Zaire-Ebolavirus-RNA für den Xpert Ebola Assay mittels Probit-Regression**

Probe	Nennkonzentration (Kopien/ml)	Replikate insgesamt (N)	Positive insgesamt (N)	Positivitätsrate (%)	LoD mit 95 % Wahrscheinlichkeit mittels Probit-Schätzung (95 %-Konfidenzintervall)
Mayinga-Zaire-Ebolavirus-RNA	700	20	20	100	232,4 Kopien/ml (95 %-KI 163,1-301,6)
	300	20	20	100	
	150	20	13	65	
	75	20	12	60	
	30	20	9	45	
	15	20	5	25	

**Tabelle 3. Anzahl der positiven Replikate pro Konzentration für Zaire-Ebolavirus Makona-Gueckedou 07 und 05 in EDTA-Vollblut und Bestätigung der Nachweisgrenze**

Probe	Nennkonzentration (PFU/ml)	Replikate insgesamt (N)	Positive insgesamt (N)	Positivitätsrate (%)	Bestätigung der Nachweisgrenze		
					Nennkonzentration (PFU/ml)	Replikate insgesamt (N)	Positive insgesamt (N)
Zaire-Ebolavirus Makona-Gueckedou 07	50	4	4	100	1,0	20	20
	25	4	4	100			
	12,5	4	4	100			
	1	4	4	100			
	0,1	3	1	33			
	0,01	4	0	0			
Zaire-Ebolavirus Makona-Gueckedou 05	0,13	4	4	100	0,13	20	20
	0,065	4	4	100			
	0,0325	4	3	75			
	0,01625	4	1	25			

### 17.2 Nachweisgrenze für Wangenabstriche

Die Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) für Wangenabstriche des Xpert Ebola Assays wurde für Zaire-Ebolavirus-RNA ermittelt. Eine aus acht Proben bestehende Verdünnungsreihe wurde aus einer Mayinga-Zaire-Ebolavirus-RNA enthaltenden Patientenprobe angesetzt und mit genau einer Reagenziencharge analysiert. Die Verdünnungsreihe wurde angesetzt, indem ein Pool von Tupfern in Probenreagenz mit Ebola-RNA im Bereich von ungefähr 0 bis 1000 Ebola-RNA-Kopien/Tupfer versetzt wurde. Die LoD für Wangenabstriche mit RNA wurde anhand einer Probit-Analyse geschätzt. Die behauptete LoD wurde bestätigt, indem mindestens 20 auf die geschätzten LoD-Konzentrationen verdünnte Replikate mithilfe von zwei Reagenzienchargen des Xpert Ebola Assays analysiert wurden. Die behauptete LoD ist definiert als diejenige Konzentration, bei der 95 % von mindestens 20 Replikaten pro Reagenziencharge positiv sind (Tabelle 4). Die LoD für den Xpert Ebola Assay bei Wangenabstrichen, die mit Mayinga-Zaire-Ebolavirus-RNA versetzt wurden, wurde zu 350,0 Kopien/Tupfer ermittelt.

**Tabelle 4. Nachweisgrenze für Zaire-Ebolavirus-RNA in Wangenabstrichen für den Xpert Ebola Assay mittels Probit-Regression und Bestätigung der Nachweisgrenze**

Probe	Nennkonzentration (Kopien/Tupfer)	Replikate insgesamt (N)	Positive insgesamt (N)	Positivitätsrate (%)	LoD mit 95 % Wahrscheinlichkeit mittels Probit-Analyse (99,9 %-Konfidenzintervall)	Bestätigung der Nachweisgrenze			
						Nennkonzentration (Kopien/Tupfer)	Reagenziencharge	Replikate insgesamt (N)	Positive insgesamt (N)
Zaire-Ebolavirus-RNA in Wangenabstrichen	600	20	20	100	250,0 Kopien/Tupfer (99,9 %-KI 149,3-350,0)	350	1	20	20
	400	20	19	95					
	200	20	18	90					
	100	20	18	90					
	50	20	5	25		2	20	20	
	25	20	5	25					
	12,5	20	1	5					
	0	20	0	0					

**Gleichwertigkeit der Probentypen (venöses EDTA-Vollblut und Vollblut aus der Fingerbeere)**

Mit dem Xpert Ebola Assay wurde die gleichwertige Leistungsfähigkeit für die beiden Probentypen venöses EDTA-Vollblut und Vollblut aus der Fingerbeere anhand von Proben von zwanzig gesunden Personen nachgewiesen. Mittels Venenpunktion gewonnenes Blut wurde in ein EDTA-Röhrchen entnommen und in die Flasche mit dem Probenreagenz transferiert, während Blut aus der Fingerbeere sofort in das Probenreagenz gegeben wurde. Beide Probentypen wurden mit Mayinga-Ebolavirus-RNA bei 1500 Kopien/ml versetzt und nebeneinander analysiert. Die gleichwertige Leistungsfähigkeit für die beiden Probentypen konnte bestätigt werden.

**Linearer Bereich**

Der lineare Bereich des Xpert Ebola Assays wurde für die Zielsequenzen Ebola GP und NP durch Analyse eines aus sechs Proben bestehenden Panels ermittelt, das mittels Reihenverdünnung von Mayinga-Ebola-RNA-Proben im Bereich von  $3 \times 10^2$  bis  $1 \times 10^7$  Kopien/ml Vollblut angesetzt wurde. Jede Panelprobe wurde in sechs Replikaten unter Verwendung genau einer Reagenziencharge analysiert. Die Ergebnisse gehen aus den Abbildungen 8 und 9 hervor und belegen, dass der Assay im Bereich von  $3 \times 10^2$  bis  $1 \times 10^7$  Kopien/ml mit einem  $R^2$ -Wert (der sich aus einer Standardkurve ergibt) von 0,99 für die Zielsequenz Ebola GP und 0,98 für die Zielsequenz Ebola NP linear ist.

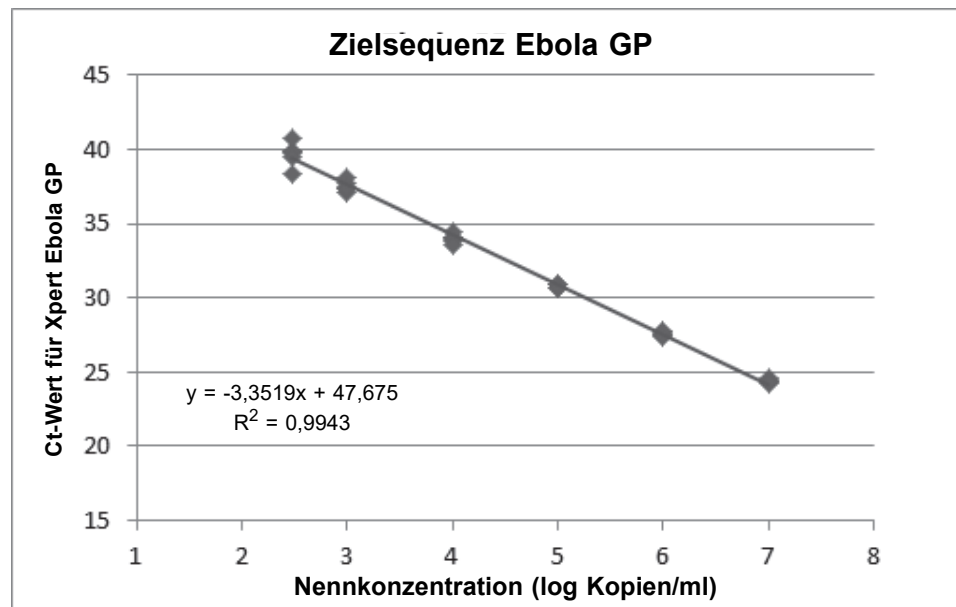


Abbildung 8. Linearität für die Xpert-Zielsequenz Ebola GP



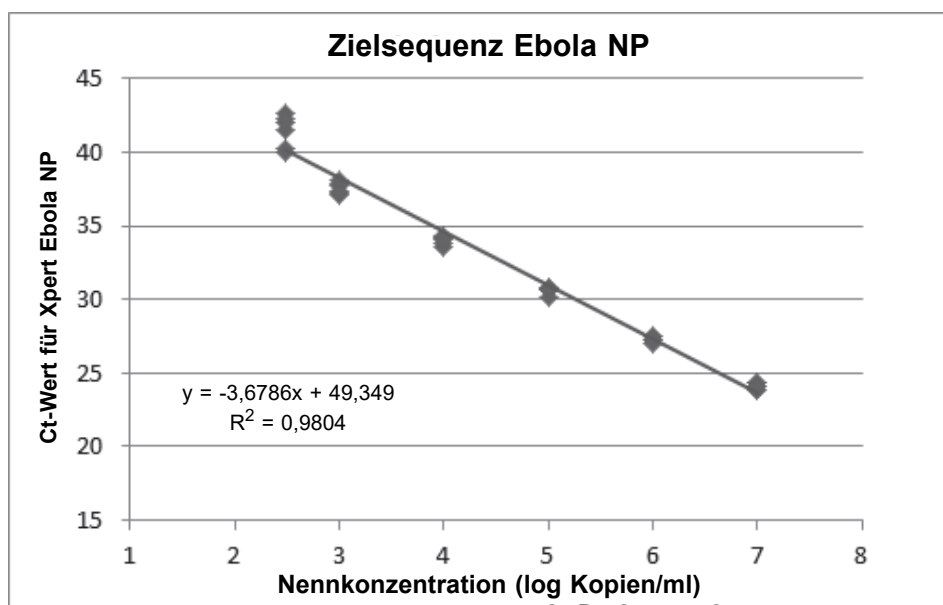


Abbildung 9. Linearität für die Xpert-Zielsequenz Ebola NP

### 17.3 Analytische Reaktivität (Inklusivität)

Die analytische Reaktivität (Inklusivität) des Xpert Ebola Assays wurde außer für Mayinga für vier weitere Stämme des Zaire-Ebolavirus, die als Lebendviren oder virale RNA beschafft werden konnten, ermittelt. Darüber hinaus wurde eine *In-silico*-Analyse für alle anderen (nicht getesteten) verfügbaren Sequenzen von Zaire-Ebolavirus-Stämmen durchgeführt. Die Testproben wurden angesetzt, indem jede einzelne Patientenprobe zu Ebola-negativem EDTA-Vollblut bzw., bei Verwendung von aus dem Virus präparierter RNA, zu mit Probenreagenz (PR) vermischem Ebola-negativem EDTA-Vollblut zugegeben wurde. Jede Patientenprobe wurde in 20 Replikaten getestet. Zudem wurde eine aus Ebola-negativem EDTA-Vollblut bestehende negative Kontrollprobe in drei Replikaten getestet. Für die Tests wurde genau eine Kitcharge von Reagenzien verwendet. Die Testergebnisse für Ebola-positive Patientenproben gehen aus Tabelle 5 hervor. Für alle Ebola-negativen Kontrollproben wurde **Ebola GP NOT DETECTED** (Ebola GP NICHT ERMITTELT), **Ebola NP NOT DETECTED** (Ebola NP NICHT ERMITTELT) ausgegeben.

Tabelle 5. Analytische Reaktivität für den Xpert Ebola Assay

Zaire-Ebolavirus-Stamm	Probentyp	Testkonzentration	Replikate insgesamt (N)	Positive insgesamt (N)	Positivitätsrate (%)
Guinea	Lebendvirus	1 x LoD	20	20	100 %
Ekron	Lebendvirus	3 x LoD	20	20	100 %
Gabon	Lebendvirus	3 x LoD	20	20	100 %
Kikwit	RNA	5 x LoD	20	20	100 %

Es wurde eine *In-silico*-Analyse durchgeführt, um die Leistungsfähigkeit des Xpert Ebola Assays beim Nachweis aller in GenBank vorhandenen Variantensequenzen für das Zaire-Ebolavirus vorherzusagen; diese reichen von den 1976 veröffentlichten ersten Zaire-Sequenzdaten bis hin zu den Sequenzen des aktuellen Ausbruchs in Westafrika. Die beiden von den Genen Glykoprotein (GP) und Nukleoprotein (NP) des Zaire-Ebolavirus abgeleiteten Xpert Ebola-Amplikonsequenzen wurden jeweils bei BLAST (NCBI) eingereicht. Außerdem wurden alle sechs Xpert Ebola-Oligosequenzen einzeln mit einer lokalen Datenbank verglichen, die alle in GenBank vorhandenen Zaire-Ebolavirus-Sequenzen enthält. Die Analysen ergaben, dass die Oligonukleotide GP und NP des Zaire-Ebolavirus vollständig mit allen in GenBank vorhandenen Zaire-Sequenzen übereinstimmen.

#### 17.4 Analytische Spezifität (Exklusivität)

Die analytische Spezifität des Xpert Ebola Assays wurde bewertet, indem Nicht-Ebola-Viren und -Bakterien sowie Nicht-Zaire-Stämme des Ebolavirus bei klinisch relevanten Konzentrationen getestet wurden. Die Proben wurden angesetzt, indem jeder einzelne Organismus zu Ebola-negativem EDTA-Vollblut bzw., bei Verwendung von genomischer RNA/DNA des Organismus, zu mit Probenreagenz vermischem Ebola-negativem EDTA-Vollblut zugegeben wurde. Die Ergebnisse der Tests zur Ermittlung der analytischen Spezifität gehen aus Tabelle 6 und Tabelle 7 hervor. Die analytische Spezifität des Xpert Ebola Assays für die bewerteten Organismen beträgt 100 %.

**Tabelle 6. Ermittlung der analytischen Spezifität des Xpert Ebola Assays, für Nicht-Zaire-Ebolaviren positive Proben**

Organismus	Probentyp	Testkonz. (für die Nukleinsäure-Isolierung verwendete Partikelkonz.)	Einheit (ng oder PFU/ml VB)	N	Positive Ergebnisse	Negative Ergebnisse
Côte-d'Ivoire-Ebolavirus	Nukleinsäuren	546 <sup>a</sup>	ng/ml	3	0	3
Reston-Ebolavirus	Nukleinsäuren	3,0 x 10 <sup>5</sup>	PFU/ml	3	0	3

a. RNA-Konzentration des Ausgangsmaterials

**Tabelle 7. Ermittlung der analytischen Spezifität des Xpert Ebola Assays, Nicht-Ebola-Proben**

Organismus	Probentyp	Testkonz. (für die Nukleinsäure-Isolierung verwendete Partikelkonz.)	Einheit (ng oder PFU/ml VB)	N	Positive Ergebnisse	Negative Ergebnisse
Chikungunya-Virus (181/25)	Nukleinsäuren	2798 <sup>a</sup>	ng/ml	3	0	3
<i>Coxiella burnetti</i>	Nukleinsäuren	50	ng/ml	3	0	3
Krim-Kongo-Fieber-Virus (Dubai)	Nukleinsäuren	3,4 x 10 <sup>6</sup>	PFU/ml	3	0	3
Dengue-Virus (Typ 2)	Nukleinsäuren	2,7 x 10 <sup>6</sup>	PFU/ml	3	0	3
<i>Hemophilus influenzae</i>	Nukleinsäuren	50	ng/ml	3	0	3
Influenzavirus A (H9N2)	Nukleinsäuren	1,0 x 10 <sup>5</sup>	PFU/ml	3	0	3
Lassa-Virus (Pinneo)	Nukleinsäuren	5,7 x 10 <sup>3</sup>	PFU/ml	3	0	3
Marburg (Angola)	Nukleinsäuren	2,6 x 10 <sup>6</sup>	PFU/ml	3	0	3
Marburg (Angola)	Lebendvirus	5,0 x 10 <sup>4b</sup>	PFU/ml	3	0	3
Marburg (Musoke)	Nukleinsäuren	6,0 x 10 <sup>4</sup>	PFU/ml	3	0	3
Marburg (Musoke)	Lebendvirus	5,0 x 10 <sup>4b</sup>	PFU/ml	3	0	3
Marburg (Ravn)	Nukleinsäuren	4,8 x 10 <sup>5</sup>	PFU/ml	3	0	3
Stechmücke	Nukleinsäuren	50	ng/ml	3	0	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Nukleinsäuren	50	ng/ml	3	0	3
<i>Rickettsia conorii</i>	Nukleinsäuren	50	ng/ml	3	0	3
<i>Rickettsia prowazekii</i>	Nukleinsäuren	50	ng/ml	3	0	3
<i>Rickettsia typhi</i>	Nukleinsäuren	50	ng/ml	3	0	3
Riftalfieber-Virus (SA51)	Nukleinsäuren	7,5 x 10 <sup>5</sup>	PFU/ml	3	0	3
<i>Salmonella bongori</i>	Nukleinsäuren	50	ng/ml	3	0	3

Tabelle 7. Ermittlung der analytischen Spezifität des Xpert Ebola Assays, Nicht-Ebola-Proben (Fortsetzung)

Organismus	Probentyp	Testkonz. (für die Nukleinsäure- Isolierung verwendete Partikelkonz.)	Einheit (ng oder PFU/ml VB)	N	Positive Ergebnisse	Negative Ergebnisse
<i>Salmonella typhi</i>	Nukleinsäuren	50	ng/ml	3	0	3
<i>Shigella flexneri Typ 2</i>	Nukleinsäuren	50	ng/ml	3	0	3
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Nukleinsäuren	50	ng/ml	3	0	3
Zecke	Nukleinsäuren	50	ng/ml	3	0	3
Gelbfieber (OBS-6745)	Nukleinsäuren	1,0 x 10 <sup>6</sup>	PFU/ml	3	0	3
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Nukleinsäuren	50	ng/ml	3	0	3
<i>Yersinia pestis</i>	Nukleinsäuren	50	ng/ml	3	0	3

- a. RNA-Konzentration des Ausgangsmaterials  
b. Testkonzentration für Lebendviren.

*In-silico*-Analysen wurden durchgeführt, um das Risiko einer Kreuzreaktivität der Zaire-Ziel-Oligonukleotide (GP und NP) des Xpert Ebola Assays auf Nicht-Zaire-Ebolaviren sowie alle in Tabelle 7 und Tabelle 8 aufgeführten Exklusivitäts-Krankheitserreger vorherzusagen. Die Analysen konnten nachweisen, dass die Primer- und Sondensequenzen des Xpert Ebola Assays spezifisch sind und bei den bewerteten Organismen keine falsch-positiven Zaire-Ebolavirus-Ergebnisse erbringen sollten.

Tabelle 8. Analytische Spezifität für *in silico* analysierte Organismen

Organismus
Sudan-Boniface-Ebolavirus
Sudan-Bundibugyo-Ebolavirus
Sudan-Gulu-Ebolavirus
Adenovirus
<i>Borrelia recurrentis</i>
Enterovirus
Influenzavirus B
Gattung <i>Leptospira</i>
Marburg (Ci67)
<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Plasmodium falciparum</i>
<i>Plasmodium malariae</i>
<i>Plasmodium ovale</i>
<i>Plasmodium vivax</i>
<i>Rickettsia africae</i>
Rotavirus
RSV
<i>Trypanosoma</i>
<i>Vibrio cholera</i>

### 17.5 Potenzielle Störsubstanzen

Die Anfälligkeit des Xpert Ebola Assays gegenüber Störungen durch erhöhte Konzentrationen von in Vollblut anzutreffenden endogenen Substanzen wurde bewertet. Für die endogenen Substanzen wurden jeweils mit den Substanzen versetztes Ebola-negatives EDTA-Vollblut und Ebola-positives EDTA-Vollblut getestet. Zur Herstellung der Ebola-positiven Proben wurde Mayinga-Zaire-Ebolavirus-RNA (2500 Kopien/ml) zu dem Probenreagenz gegeben, das anschließend mit EDTA-Vollblut gemischt wurde, das einzeln mit jeder Störsubstanz versetzt worden war. Insgesamt wurden fünf Substanzen bei den in Tabelle 9 aufgeführten Konzentrationen getestet. Sechs Replikate jeder Probe wurden mit genau einer Reagenzienkitcharge analysiert. Es wurde nachgewiesen, dass erhöhte Konzentrationen der in Tabelle 9 aufgeführten endogenen Substanzen weder die Spezifität des Assays beeinflussen noch den Ebola-Nachweis stören.

**Tabelle 9. Endogene Substanzen und getestete Konzentrationen**

Endogene Substanzen	Getestete Konzentration
Albumin	90,0 mg/ml
Bilirubin	0,300 mg/ml
Humane DNA	4,0 µg/ml
Hämoglobin	5,0 mg/ml
Triglyceride	30,0 mg/ml

### 17.6 Tests mit simulierten klinischen Proben

Die Leistungsmerkmale des Xpert Ebola Assays wurden anhand von simulierten klinischen Proben bewertet. Die ausgegebenen Daten für diese simulierten klinischen Proben wurden mit verblindeten Strategien beschafft. Aufgrund der schwierigen Beschaffung von klinischen Proben von Ebola-Infizierten wurden simulierte Patientenproben angesetzt, indem lebende Ebolaviren bzw. Ebolaviren-RNA zu EDTA-Vollblut (VB)-Proben von verschiedenen Ebola-negativen Personen gegeben wurden. Das VB wurde mit Ebolaviren bzw. Viren-RNA in verschiedenen Konzentrationen im Bereich von nahe der LoD bis zu hohen Konzentrationen (bis zum 200-Fachen der Nachweisgrenze [LoD]) versetzt. Außerdem wurden nicht versetzte EDTA-VB-Proben von verschiedenen negativen Einzelspendern getestet. Die Patientenproben wurden für die Tests mit dem Xpert Ebola Assay verblindet.

Die positive prozentuale Übereinstimmung (Positive Percent Agreement, PPA) betrug 100,0 % (50/50, [95 %-KI: 92,9-100,0]) für EBOV-Mayinga-RNA, 100,0 % (50/50, [95 %-KI: 92,9-100,0]) für Makona-Gueckedou-05-Lebendvirus und 84,0 % (42/50, [95 %-KI: 71,5-97,1]) für Makona-Gueckedou-07-Lebendvirus. Die negative prozentuale Übereinstimmung betrug in allen Studien 100,0 % (50/50 [97,5 %-KI 92,9-100,0]). Tabelle 10, Tabelle 11 und Tabelle 12 enthalten die Ergebnisse für die negativen und die mit Ebola versetzten Proben.

**Tabelle 10. Anzahl der positiven und negativen Testergebnisse für mit Mayinga-Zaire-Ebolavirus-RNA versetzte Proben und negative Kontrollproben**

Nennkonzentration	N	Positive Ergebnisse		Negative Ergebnisse
0	50	0		50
1 x LoD	25	25		0
3 x LoD	10	10		0
10 x LoD	10	10		0
100 x LoD	5	5		0
				<b>95%-KI</b>
<b>Positive prozentuale Übereinstimmung</b>		50/50	100 %	92,9 %-100 %
<b>Negative prozentuale Übereinstimmung</b>		50/50	100 %	92,9 %-100 %

**Tabelle 11. Anzahl der positiven und negativen Testergebnisse für mit Makona-Gueckedou-05-Ebolavirus versetzte Proben und negative Kontrollproben**

Nennkonzentration	N	Positive Ergebnisse		Negative Ergebnisse
0	50	0		50
1 x LoD	25	25		0
3 x LoD	10	10		0
10 x LoD	10	10		0
100 x LoD	5	5		0
				<b>95%-KI</b>
<b>Positive prozentuale Übereinstimmung</b>		50/50	100 %	92,9 %-100 %
<b>Negative prozentuale Übereinstimmung</b>		50/50	100 %	92,9 %-100 %

**Tabelle 12. Anzahl der positiven und negativen Testergebnisse für mit Makona-Gueckedou-07-Ebolavirus versetzte Proben und negative Kontrollproben**

Nennkonzentration	N	Positive Ergebnisse		Negative Ergebnisse
0	50	0		50
2 x LoD	25	21		4
6 x LoD	10	10		0
20 x LoD	10	6		4
200 x LoD	5	5		0
				<b>95%-KI</b>
<b>Positive prozentuale Übereinstimmung</b>		42/50	84,0 %	71,5 %-97,1 %
<b>Negative prozentuale Übereinstimmung</b>		50/50	100 %	92,9 %-100 %

Eine Untersuchung der unterschiedlichen PPA-Ergebnisse für die simulierten Proben mit Zusatz von Makona-Gueckedou-07-Ebolavirus (Tabelle 12) im Vergleich zu den beiden anderen Gruppen simulierter Proben (Tabelle 10 und Tabelle 11) ergab Unregelmäßigkeiten bei der Probenvorbereitung. Die Tupfer waren nicht vollständig in die mit Makona-Gueckedou-07-Ebolavirus versetzten Vollblutproben eingetaucht worden, wodurch nur ein begrenztes Probenvolumen für den Test zur Verfügung stand. Die Tests für die simulierten Proben mit Zusatz von Makona-Gueckedou-07-Ebolavirus wurden mit 50 einzelnen VB-Proben mit der korrekten Endkonzentration und dem korrekten Volumen für jede Probe wiederholt. Tabelle 13 enthält die zusammengefassten Ergebnisse für jede getestete Konzentration sowie die positive und negative prozentuale Übereinstimmung für die Wiederholungsstudie.

**Tabelle 13. Zusammengefasste Ergebnisse sowie positive und negative prozentuale Übereinstimmung für simulierte klinische Proben mit Zusatz von Makona-Gueckedou-07-Ebolavirus – Texas**

Nennkonzentration	N	Positive Ergebnisse		Negative Ergebnisse
0	6	0		6
1 x LoD	25	20		5
3 x LoD	10	10		0
10 x LoD	10	10		0
100 x LoD	5	5		0

**Tabelle 13. Zusammengefasste Ergebnisse sowie positive und negative prozentuale Übereinstimmung für simulierte klinische Proben mit Zusatz von Makona-Gueckedou-07-Ebolavirus – Texas**

Nennkonzentration	N	Positive Ergebnisse		Negative Ergebnisse
				<b>95%-KI</b>
<b>Positive prozentuale Übereinstimmung</b>		45/50	90,0 %	78,6 %-95,7 %
<b>Negative prozentuale Übereinstimmung</b>		6/6	100 %	61,0 %-100 %

## 18 Viruzide Wirkung

Die Wirksamkeit des Probenreagenzes (PR) des Xpert Ebola Assays zur Inaktivierung des Ebolavirus (EBOV) nach 20-minütiger Inkubation in PR wurde bewertet, indem  $4,6 \times 10^6$  PFU lebende Zaire-Guinea-Ebolaviren zu 2,5 ml PR zugegeben wurden. Im Anschluss an die Inaktivierung wurde die EBOV/PR-Mischung einer Dialyse in einer Einweg-Gleichgewichtsdialyse-Kammer unterzogen. Als Kontrolle für das Inaktivierungsexperiment dienten lebende Zaire-Kikwit-Ebolaviren ( $\sim 1 \times 10^7$  PFU/ml), die 10-fach in vollständigem AVL-Lysepuffer verdünnt und 5 min bei 90 °C inaktiviert wurden. Die lebenden Zaire-Guinea-Viren ( $4,6 \times 10^6$  PFU) dienen als Positivkontrolle. Die viruzide Wirkung des PR wurde untersucht, indem die Virus/PR-Mischung auf konfluente Vero-E6-Zellen gegeben und die zytopathische Wirkung (Cytopathic Effect, CPE) über 2 Durchläufe (7 + 7 Tage) in drei Replikaten beobachtet wurde.

Das PR des Xpert Ebola Assays bewirkt eine vollständige Inaktivierung des EBOV und war nachweislich 100 % wirksam für bis zu 6 Logarithmenstufen von EBOV.

## 19 Einschränkungen des Assays

- Negative Testergebnisse schließen eine Infektion mit einem Ebolavirus nicht aus und sollten nicht als einziges Kriterium für eine Behandlung oder Entscheidungen bei der Betreuung eines Patienten benutzt werden.
- Testergebnisse müssen grundsätzlich durch eine geschulte Fachkraft in Verbindung mit der Anamnese und den klinischen Anzeichen und Symptomen des Patienten ausgewertet werden.
- Dieser Test wurde nur für die Verwendung mit humanen Vollblutproben und Wangenabstrichen bewertet.
- Bei Proben von Patienten, die therapeutische Wirkstoffe oder Impfstoffe erhalten haben, die auf vom Zaire-Ebolavirus abgeleiteten Nukleinsäuresequenzen beruhen, sind falsch-positive oder anderweitig irreführende Testergebnisse möglich.
- Dieser Test ist ein qualitativer Test, der keinen quantitativen Wert für die Viren in der Probe ausgibt.
- Bei der Auswertung der Ergebnisse des Xpert Ebola Assays muss berücksichtigt werden, dass falsch-positive und falsch-negative Ergebnisse möglich sind.
- Falsch-positive Ergebnisse können durch Kreuzkontamination mit dem Zielorganismus, mit seinen Nukleinsäuren oder mit PCR-Amplikon verursacht werden.
- Nichteinhaltung der Assayverfahren kann zu falschen Ergebnissen führen.
- In den Proben vorhandene Hemmsubstanzen können falsch-negative Ergebnisse verursachen.
- Fehlerhafte Testergebnisse können bei unsachgemäßer Entnahme, Handhabung oder Lagerung der Patientenprobe oder Probenverwechslung ausgegeben werden, oder weil die Anzahl der Organismen in der Patientenprobe zu niedrig für den Nachweis mit dem Test ist. Zur Vermeidung fehlerhafter Ergebnisse sind die Anweisungen in dieser Packungsbeilage sorgfältig zu befolgen.
- 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.

## 20 Referenzen

1. WHO Ebola Situation Reports, <http://apps.who.int/ebola/en/ebola-situation-reports>.
2. 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)).
3. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z)

## 21 Standorte der Cepheid-Zentralen

### Konzernzentrale

Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

Telefon: + 1 408 541 4191

Fax: + 1 408 541 4192

[www.cepheid.com](http://www.cepheid.com)

### Konzernzentrale in Europa

Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France

Telefon: + 33 563 825 300

Fax: + 33 563 825 301

[www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com)

## 22 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 Tag“ (Service-Kennnummer) des Computers

### Kontaktinformationen

USA

Telephone: + 1 888 838 3222

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

















Frankreich

Telephone: + 33 563 825 319

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

Die Kontaktinformationen aller Vertretungen des technischen Kundendiensts von Cepheid finden Sie auf unserer Website: [www.cepheid.com/en/CustomerSupport](http://www.cepheid.com/en/CustomerSupport).

## 23 Symbolerklärung

Symbol	Bedeutung
	Bestellnummer
	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum
	CE-Kennzeichnung – Einhaltung der EU-Richtlinien
	Nicht wiederverwenden
	Chargencode
	Gebrauchsanweisung beachten
	Hersteller
	Herstellungsland
	Inhalt reicht aus für <n> Tests
	Kontrolle
	Temperaturbegrenzung
	Biologische Risiken
	Warnung
	Verfallsdatum
	Bevollmächtigter Vertreter in der Schweiz
	Importeur





Cepheid  
Röntgenvägen 5  
SE-171 54 Solna  
Sweden



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



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



