

Xpert[®] MRSA/SA Blood Culture Assay

REF GXMRSA/SA-BC-CE-10

Trademark, Patents and Copyright Statements

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

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

© 2007-2023 Cepheid.

Marken-, Patent- und Urheberschutzangaben

Cepheid®, das Cepheid-Logo, GeneXpert® und Xpert® 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.

© 2007-2023 Cepheid.

Xpert® MRSA/SA Blood Culture Assay

Nur zum Gebrauch als *In-vitro*-Diagnostikum

1. Markenname

Xpert® MRSA/SA Blood Culture Assay

2. Gebräuchlicher oder üblicher Name

MRSA/SA Blood Culture Assay

3. Verwendungszweck

Der Cepheid Xpert MRSA/SA Assay auf dem GeneXpert® Dx-System ist ein qualitativer Test zur *In-vitro*-Diagnostik für den schnellen und gleichzeitigen Nachweis von *Staphylococcus aureus* (SA) und Methicillin-resistentem *Staphylococcus aureus* (MRSA) von Patienten mit positiver Blutkultur. Der Test verwendet das Prinzip der automatisierten Polymerase-Kettenreaktion (Polymerase Chain Reaction, PCR) in Echtzeit zum Nachweis von MRSA-/SA-DNA. Der Xpert MRSA/SA Assay ist zur Verwendung als Hilfsmittel für den Nachweis und die Identifikation von MRSA/SA aus positiven Blutkulturfläschchen bestimmt. Der Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay ist in Verbindung mit anderen Labortests, z. B. einer Kultur, sowie dem Arzt vorliegenden klinischen Daten indiziert zur Anwendung als Hilfsmittel beim Nachweis von MRSA/SA aus positiven Patientenblutproben. Subkulturen von positiven Blutkulturen sind erforderlich, um Organismen für Sensitivitätstests oder eine epidemiologische Typisierung zu gewinnen. Der Cepheid Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay ist nicht zur Überwachung von Behandlungen bei MRSA/SA-Infektionen bestimmt.

4. Zusammenfassung und Erklärung

Staphylococcus aureus (SA) ist einer der wichtigsten nosokomialen Erreger und verursacht eine Reihe von Krankheiten wie z. B. Endokarditis, Osteomyelitis, toxisches Schock-Syndrom, Lebensmittelvergiftungen, Karbunkel und Furunkel. In den frühen 1950-er Jahren vereitelte die Akquisition und Verbreitung von β -Lactamasen produzierenden Plasmiden die Wirksamkeit von Penicillin für die Behandlung von Infektionen mit *S. aureus*. Im Jahr 1959 wurde Methicillin, ein synthetisches Penicillin, eingeführt. Bereits 1960 wurden Methicillin-resistente *S.-aureus*-Stämme identifiziert. Als Ursache dafür wurde festgestellt, dass *S. aureus* das Gen *mecA* erworben hatte. Heute ist MRSA in den USA für etwa 25 % der nosokomialen Infektionen verantwortlich, während immer häufiger von MRSA-Infektionen in der nicht hospitalisierten Bevölkerung („community-acquired“) mit signifikanter Morbidität und Mortalität berichtet wird. Im Bestreben, die Ausbreitung derartiger Infektionen zu limitieren, werden in medizinischen Einrichtungen Kontrollstrategien und -richtlinien erarbeitet und praktisch umgesetzt. Die meisten Infektionskontrollprogramme an Krankenhäusern konzentrieren sich primär auf die Eindämmung von MRSA. Zurzeit ist die Standardmethode für den Nachweis von MRSA die Kultur. Dies ist mit hohem Arbeits- und Zeitaufwand verbunden.^{1,2,3,4,5}

Eine schnellere Methode mit höherer Sensitivität für den Nachweis von MRSA und SA aus positiven Blutkulturfläschchen stellt einen klaren Vorteil für das Patientenmanagement und den Einsatz der richtigen Antibiotika für die Behandlung dar.

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 und zum Anzeigen der Ergebnisse. Das System beruht auf der Anwendung von Einwegkartuschen, 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 für das GeneXpert Dx-System* zu finden.

Der Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay enthält Reagenzien für den Nachweis von MRSA und SA sowie eine Probenbearbeitungskontrolle (Sample Processing Control, SPC) für die Kontrolle der adäquaten Bearbeitung der Zielbakterien sowie die Überwachung von vorhandenen Hemmstoffen in der PCR-Reaktion. 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.

Die Primer und Sonden im Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay weisen proprietäre Sequenzen für das Staphylokokken-Protein A (*spa*), das Gen für Methicillin/Oxacillin-Resistenz (*mecA*) und das am Situs *attB* in das SA-Chromosom eingebaute Staphylokokken-Kassettenchromosom *mec* (*SCCmec*) nach.

6. Reagenzien und Instrumente

6.1 Im Lieferumfang enthaltenes Material



Das Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay-Kit enthält genügend Reagenzien zur Bearbeitung von 10 Patienten- oder Qualitätskontrollproben. Das Kit enthält die folgenden Materialien:

Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay-Kartuschen mit integrierten Reaktionsbehältern	10
• Kügelchen 1, Kügelchen 2 und Kügelchen 3 (gefriergetrocknet)	1 pro Kartusche
• Reagenz 1	3,0 ml pro Kartusche
• Reagenz 2 (Natriumhydroxid)	3,0 ml pro Kartusche
Elutionsreagenz für den Xpert MRSA/SA BC Assaybeutel	10 x 2,0 ml pro Beutel
• Elutionsreagenz (Guanidiniumthiocyanat)	
Kleine Einweg-Transferpipetten	12
CD	1 pro Kit
• Assay-Definitionsdatei (ADF)	
• Anweisungen zum Importieren der ADF in die GeneXpert-Software	
• Gebrauchsanweisung (Packungsbeilage)	

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.

6.2 Aufbewahrung und Handhabung



- Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay-Kartuschen und -Reagenzien bei 2–28 °C aufbewahren.
- Reagenzien oder Kartuschen nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden.
- Die Kartuschen erst dann öffnen, wenn die Testdurchführung unmittelbar bevorsteht.
- Kartusche und Reagenzien innerhalb von 30 Minuten nach dem Öffnen des Kartuschendeckels verwenden.
- Keine Reagenzien verwenden, die trübe geworden sind oder sich verfärbt haben.

7. Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

- GeneXpert Dx-System (Bestellnummer hängt von der Konfiguration ab): GeneXpert-Instrument, Computer mit proprietärer GeneXpert-Software, Version 4.0 oder höher, Hand-Barcode-Scanner und Benutzerhandbuch
- Drucker: Falls ein Drucker benötigt wird, wenden Sie sich bitte an den technischen Kundendienst von Cepheid, um einen empfohlenen Drucker zu erwerben.
- Vortex-Mixer
- Sterile Einweg-Transferpipetten

8. Erhältliche, jedoch nicht enthaltene Materialien


KWIK-STIKs™ von Microbiologics, Bestellnr. 0158MRSA und Bestellnr. 0360MSSA, als Positivkontrollen und Bestellnr. 0371MSSE (Methicillin-sensible *Staphylococcus epidermidis*) als Negativkontrolle.

9. Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen



- 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 Prevention⁶ und vom Clinical and Laboratory Standards Institute⁷ erhältlich.
- Die Sicherheitsvorkehrungen der jeweiligen Einrichtung für den Umgang mit Chemikalien und biologischen Proben sind zu befolgen.
- Der Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay liefert keine Ergebnisse zur Antibiotikasektivität. Für Kulturen und Sensitivitätstests ist zusätzlicher Zeitaufwand erforderlich.
- Keine Reagenzien des Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay durch andere Reagenzien ersetzen.
- Der Deckel der Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay-Kartusche darf nur für die Zugabe von Probe und Reagenz und bei der Durchführung von Wiederholungstests geöffnet werden.
- Keine Kartuschen verwenden, die nach der Zugabe von Probe und Reagenz fallen gelassen oder geschüttelt wurden.
- Kartuschen mit beschädigtem Reaktionsbehälter dürfen nicht verwendet werden.
- ② • Jede Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay-Einwegkartusche wird für die Bearbeitung eines Einzeltests verwendet. Benutzte Kartuschen dürfen nicht wiederverwendet werden.
- 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.¹¹
- Die folgenden Blutkulturmedien können mit dem Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay verwendet werden:
 - BACTEC™ PEDS PLUS™/F Medium
 - BACTEC™ Plus aerobes/F Medium
 - BACTEC™ Plus anaerobes/F Medium
 - BACTEC™ Standard anaerobes/F Medium
 - BACTEC™ Standard/10 aerobes/F Medium
 - BACTEC™ LYTIC/10 anaerobes/F Kulturfläschchen
 - bioMérieux BacT/ALERT SA Standard aerob
 - bioMérieux BacT/ALERT SN Standard anaerob
 - VersaTREK REDOX 1® (aerob)
 - VersaTREK REDOX 2® (anaerob)
- Blutkulturmedien, die Aktivkohle enthalten, können nicht mit dem Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay verwendet werden.
- Mit dem Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay dürfen nur Blutkulturfläschchen getestet werden, die positiv für ein mikrobielles Wachstum sind.

10. Chemische Gefahren^{9,10}

- UN-GHS-Gefahrenpiktogramm: 
- Signalwort: ACHTUNG
- **UN-GHS-Gefahrenhinweise**
 - Gesundheitsschädlich bei Verschlucken
 - Verursacht Hautreizungen
 - Verursacht schwere Augenreizung

- **UN-GHS-Sicherheitshinweise**
 - **Prävention**
 - Nach Gebrauch gründlich waschen.
 - Bei Gebrauch nicht essen, trinken oder rauchen.
 - Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
 - Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen
 - **Reaktion**
 - 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.
 - **Lagerung/Entsorgung**
 - Entsorgen von Inhalten und/oder Behälter in Übereinstimmung mit den örtlichen, regionalen, nationalen und/oder internationalen Vorschriften.

11. Entnahme, Transport und Aufbewahrung der Patientenproben

1. Sobald die Positivität nachgewiesen wurde, die Blutkulturfläschchen aus der Inkubation nehmen. Gemäß der im Labor üblichen Vorgehensweise eine Gram-Färbung an der positiven Blutkultur vornehmen. Falls das Blutkulturfläschchen nicht sofort aus dem Instrument genommen werden kann, wenn es als positiv identifiziert wird, sollte dies so bald wie möglich geschehen.
2. Von positiven Blutkulturfläschchen, die mittels Gram-Färbung als grampositive Haufenkokken (Gram Positive Cocci in Clusters, GPCC) oder grampositive einzelne Kokken (single Gram Positive Cocc, GPC) bestimmt wurden, ein Aliquot von 1 ml der gut durchmischten Bouillon nehmen und mit der Proben-ID beschriften.

Hinweis Die Ergebnisse der Blutkulturen sind von entscheidender Bedeutung für die Behandlung des Patienten. Die bestehenden Richtlinien und Vorschriften des jeweiligen Labors/Instituts für die Meldung von positiven Blutkulturergebnissen (mündlich, schriftlich oder elektronisch) an das medizinische Personal sind zu beachten.

3. Falls der Test mit dem Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay nicht sofort erfolgt, das Aliquot innerhalb von 30 Minuten nach der Entnahme aus dem Blutkulturfläschchen in die gekühlte Lagerung bei 2–8 °C stellen. Das Aliquot der positiven Blutkultur sollte innerhalb von 4 Stunden nach der Entnahme aus dem positiven Blutkulturfläschchen mit dem Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay getestet werden.

12. Mikrobiologiekultur

Zu MRSA-Kulturverfahren die aktuellen Standardarbeitsanweisungen des Labors befolgen. Für die Kultur sollten die verbleibenden, nicht getesteten Abstrichproben in geeigneten Transportbehälter aufbewahrt und innerhalb von 4 Tagen zur Beimpfung der Kultur verwendet werden.

13. Verfahren

13.1 Vorbereitung der Kartusche

Wichtig Starten Sie den Test innerhalb von 15 Minuten nach dem Hinzufügen von Elutionsreagenz zur Kartusche.

Zugabe von Probe und Elutionsreagenz in die Kartusche:

1. Die Kartusche und ein Röhrchen mit Elutionsreagenz aus dem Kit nehmen.
2. Mit der mitgelieferten kleinen Transferpipette 1 Tropfen der positiven Blutkultur (50 ?l) in das Elutionsreagenz geben.

Hinweis Um das Risiko einer Kontamination zu minimieren, den Tupfer mit einem Stück sterilen Mull anfassen.

3. Das Röhrchen mit Elutionsreagenz mit dem Deckel verschließen und 10 Sekunden lang bei hoher Geschwindigkeit im Vortex mixen.
4. Den Kartuschendeckel öffnen. Mit einer sterilen Transferpipette den gesamten Inhalt des Elutionsreagenzes in die Probenkammer der Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay-Kartusche transferieren.
5. Den Kartuschendeckel schließen.

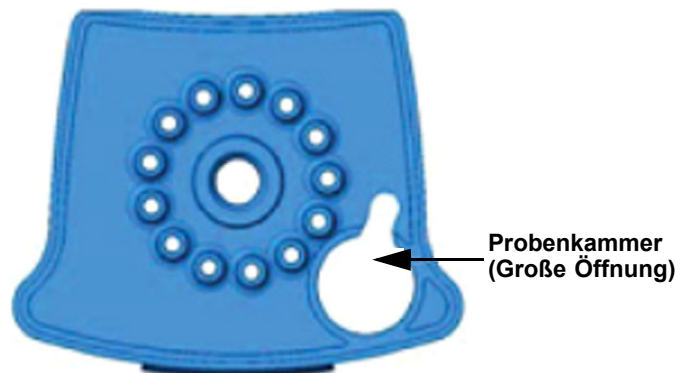


Abbildung 1. MRSA/SA Blood Culture Assay-Kartusche (Ansicht von oben)

13.2 Testbeginn

Wichtig Sicherstellen, dass die Assay-Definitionsdatei für den Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay in die Software importiert wurde, bevor der Test gestartet wird.

In diesem Abschnitt werden die Standardschritte bei der Bedienung des GeneXpert-Instrumentensystems beschrieben. Genauere Anweisungen entnehmen Sie bitte dem *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Dx-System*.

Hinweis Die zu befolgenden Schritte können sich von der hier enthaltenen Beschreibung unterscheiden, falls der Standard-Arbeitsfluss des Systems vom Systemverwalter geändert wurde.

1. Schalten Sie das GeneXpert Dx-Instrument ein und anschließend den Computer. 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.
2. Melden Sie sich mit Ihrem Benutzernamen und Kennwort bei der GeneXpert Dx-Systemsoftware an.
3. Im GeneXpert Dx-Systemfenster auf „Test erstellen“ (Create Test) klicken. Das Fenster „Test erstellen“ (Create Test) erscheint.
4. Scannen Sie die Patienten-ID (Patient ID) ein (optional). Vermeiden Sie Tippfehler beim Eintippen der Patienten-ID (Patient ID). Die Patienten-ID (Patient ID) ist mit den Testergebnissen verknüpft und erscheint im Fenster „Ergebnisse anzeigen“ (View Results).
5. Scannen oder tippen Sie die Proben-ID (Sample ID) ein. Vermeiden Sie Tippfehler beim Eintippen der Proben-ID (Sample ID). Die Proben-ID (Sample ID) ist mit den Testergebnissen verknüpft und erscheint im Fenster „Ergebnisse anzeigen“ (View Results).

- Den Strichcode der Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay-Kartusche einscannen. Anhand der über den Strichcode erhaltenen Informationen werden die folgenden Felder automatisch ausgefüllt: „Assay auswählen“ (Select Assay), „Chargen-ID“ (Reagent Lot ID), „Kartuschen-Seriennr.“ (Cartridge SN) und „Verfallsdatum“ (Expiration Date).

Hinweis

Falls der Barcode auf der Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay-Kartusche sich nicht einscannen lässt, wiederholen Sie den Test mit einer neuen Kartusche.

- Klicken Sie auf **Test starten (Start Test)**. Tippen Sie im Dialogfenster, das sich daraufhin öffnet, Ihr Kennwort ein.
- Öffnen Sie die Klappe des Instrumentenmoduls mit der grün blinkenden Anzeige und laden Sie die Kartusche.
- Schließen Sie die Klappe. Der Test beginnt und die grüne Anzeige hört auf zu blinken. Wenn der Test abgeschlossen ist, geht die Lampe aus.
- Warten Sie ab, bis das System die Klappenverriegelung freigibt. Öffnen Sie anschließend die Modulklappe und entnehmen Sie die Kartusche.
- Verbrauchte Kartuschen müssen entsprechend den üblichen Praktiken der jeweiligen Einrichtung in einem geeigneten Proben-Abfallbehälter entsorgt werden.

14. Anzeigen und Drucken der Ergebnisse

In diesem Abschnitt sind die grundsätzlichen Schritte für Anzeigen und Ausdrucken der Ergebnisse aufgelistet. Detaillierte Anweisungen zum Anzeigen und Ausdrucken der Ergebnisse sind im *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Dx-System* zu finden.

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

15. Qualitätskontrolle

15.1 Eingebaute Qualitätskontrollen

CONTROL

Alle Tests verwenden eine Probenbearbeitungskontrolle (Sample Processing Control, SPC) und eine Sondenprüfungskontrolle (Probe Check Control, PCC).

- Probenbearbeitungskontrolle (SPC)** – Stellt sicher, dass die Probe ordnungsgemäß bearbeitet wurde. Die SPC enthält Sporen von *Bacillus globigii* in Form einer trockenen Sporentablette und ist in jeder Kartusche enthalten, um die sachgemäße Bearbeitung der Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay-Probe zu verifizieren. Die SPC verifiziert, dass die Lyse von *Staphylococcus aureus* eingetreten ist, sofern diese Organismen vorhanden sind, und dass die Bearbeitung der Patientenprobe adäquat ist. Darüber hinaus stellt diese Kontrolle eine probenbedingte Hemmung des Echtzeit-PCR-Assays fest. Bei einer negativen Probe sollte die SPC positiv sein; bei einer positiven Probe kann sie negativ oder positiv sein. Die SPC hat den Test „bestanden“, wenn sie die validierten Akzeptanzkriterien erfüllt.
- Sondenprüfungskontrolle (PCC)** – Vor Beginn der PCR-Reaktion verifiziert das GeneXpert Dx-System anhand des gemessenen Fluoreszenzsignals der Sonden die Rehydrierung der Kügelchen, die Füllung des Reaktionsbehälters, die Unversehrtheit der Sonde und die Stabilität des Farbstoffs. Die Sondenprüfung gilt als bestanden, wenn die festgelegten Akzeptanzkriterien erfüllt sind.

15.2 Externe Kontrollen

KWIK-STIKs™ (Microbiologics, Bestellnr. 0158MRSA und Bestellnr. 0360SA, als Positivkontrollen und Bestellnr. 0371MSSE als Negativkontrolle) können für Schulungszwecke, Fähigkeitstests und zur externen QK des GeneXpert Dx-Systems eingesetzt werden. Zur Einhaltung von lokalen, bundesstaatlichen und bundesweiten Akkreditierungsvorschriften können ggf. externe Kontrollen verwendet werden. Dazu ist die nachstehend beschriebene Vorgehensweise für Microbiologics externe Kontrollen zu befolgen:

- Den Beutel an der Kerbe aufreißen und den KWIK-STIK entnehmen.
- Zur Freisetzung der Hydrierungsflüssigkeit den Boden der Ampulle im Deckel zusammendrücken.
- Senkrecht halten und leicht anklopfen, damit die Flüssigkeit leichter durch den Schaft zum Boden der Einheit fließen kann, in dem das Pellet enthalten ist.
- Damit das gefriergetrocknete Pellet sich leichter auflöst, sollte es zerdrückt und die Bodenkammer vorsichtig zusammengedrückt werden.
- Den KWIK-STIK auseinanderziehen, um den Tupfer freizugeben. Anschließend den Tupfer in das Röhrchen mit Elutionsreagenz (schwarzer Deckel) einführen.
- Der KWIK-STIK-Tupfer ist nun bereit für den Test mit dem Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay.

16. Interpretation der Ergebnisse

Das GeneXpert Dx-System interpoliert die Ergebnisse anhand der gemessenen Fluoreszenzsignale und eingebauten Berechnungsalgorithmen. Die Ergebnisse werden im Fenster **Ergebnisse anzeigen (View Results)** angezeigt. Die folgenden Ergebnisse sind möglich:

Tabelle 1. Ergebnisse und Interpretation beim Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay

Ergebnis	Interpretation
MRSA POSITIV/ SA POSITIV (MRSA POSITIVE/ SA POSITIVE) Abbildung 2	MRSA-Ziel-DNA-Sequenzen nachgewiesen/SA-Ziel-DNA-Sequenz nachgewiesen. <ul style="list-style-type: none"> • MRSA POSITIV (MRSA POSITIVE) – Alle MRSA-Zielsequenzen weisen einen Ct-Wert innerhalb des gültigen Bereichs sowie einen Endpunkt oberhalb der Minimumeinstellung auf. • SPC – KA (NA) (keine Angabe); SPC wird ignoriert, da die MRSA-Amplifikation u. U. mit dieser Kontrolle konkurriert. • Sondentest – BEST. (PASS); alle Ergebnisse der Sondenprüfung waren erfolgreich.
MRSA NEGATIV/ SA POSITIV (MRSA NEGATIVE/ SA POSITIVE)	<ul style="list-style-type: none"> • MRSA-Ziel-DNA-Sequenzen nicht nachgewiesen/SA-Ziel-DNA-Sequenz nachgewiesen. • SA POSITIV (SA POSITIVE) – Die SA-Zielsequenz weist einen Ct-Wert innerhalb des gültigen Bereichs sowie einen Endpunkt oberhalb der Minimumeinstellung auf. • SPC – KA (NA) (keine Angabe); SPC wird ignoriert, da die SA-Amplifikation u. U. mit dieser Kontrolle konkurriert. • Sondentest – BEST. (PASS); alle Ergebnisse der Sondenprüfung waren erfolgreich. • Ein positives Testergebnis weist nicht zwingend auf das Vorhandensein lebensfähiger Organismen hin. Jedoch muss vermutet werden, dass SA vorhanden sind.
MRSA NEGATIV/ SA NEGATIV (MRSA NEGATIVE/ SA NEGATIVE) Abbildung 3	<ul style="list-style-type: none"> • Ziel-DNA-Sequenz für <i>Staphylococcus aureus</i> nicht nachgewiesen. Die SPC erfüllt die Akzeptanzkriterien. • NEGATIV (NEGATIVE) – Ziel-DNA-Sequenz für <i>Staphylococcus aureus</i> nicht nachgewiesen. • Sondentest – BEST. (PASS); die SPC weist einen Ct-Wert innerhalb des gültigen Bereichs sowie einen Endpunkt oberhalb der Minimumeinstellung auf. • Sondentest – BEST. (PASS); alle Ergebnisse der Sondenprüfung waren erfolgreich.
UNGÜLTIG (INVALID) Abbildung 4	<ul style="list-style-type: none"> • Vorliegen oder Abwesenheit von MRSA/SA-Zielsequenzen ist nicht zu bestimmen. Den Test mit einer neuen Probe wiederholen. SPC erfüllt nicht die Akzeptanzkriterien, die Probe wurde nicht sachgemäß bearbeitet oder die PCR war gehemmt. • UNGÜLTIG (INVALID) – Vorliegen oder Abwesenheit von <i>Staphylococcus-aureus</i>-DNA ist nicht zu bestimmen. • SPC – DEFEKT (FAIL) – das SPC-Zielergebnis ist negativ und der SPC-Ct-Wert liegt nicht innerhalb des gültigen Bereichs und der Endpunkt liegt unterhalb der Minimumeinstellung. • Sondentest – BEST. (PASS); alle Ergebnisse der Sondenprüfung waren erfolgreich.

Tabelle 1. Ergebnisse und Interpretation beim Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay (Fortsetzung)

Ergebnis	Interpretation
FEHLER (ERROR)	<ul style="list-style-type: none"> • Vorliegen oder Abwesenheit von MRSA/SA ist nicht zu bestimmen. Den Test mit einer neuen Probe wiederholen. Die Sondenprüfungskontrolle ist fehlgeschlagen. Dies ist wahrscheinlich auf eine unzureichende Füllung des Reaktionsbehälters, ein Problem mit der Unversehrtheit der Sonden oder eine Überschreitung der maximalen Druckgrenzwerte zurückzuführen. • MRSA – KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) • SA – KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) • SPC – KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) • Sondentest – DEFEKT* (FAIL*); ein oder mehrere Sondenprüfungsergebnisse sind fehlgeschlagen. • * Bei erfolgreichem Sondentest geht der Fehler auf den Ausfall einer Systemkomponente zurück.
KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)	<ul style="list-style-type: none"> • Vorliegen oder Abwesenheit von MRSA/SA-DNA-Zielsequenzen ist nicht zu bestimmen. Den Test entsprechend den Anweisungen im nachstehenden Abschnitt wiederholen. Es wurden nicht genügend Daten gesammelt, um ein Testergebnis zu erzielen. Zum Beispiel hat der Benutzer einen laufenden Test abgebrochen. • MRSA – KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) • SA – KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) • SPC – KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) • Sondentest – KA (NA) (keine Angabe)

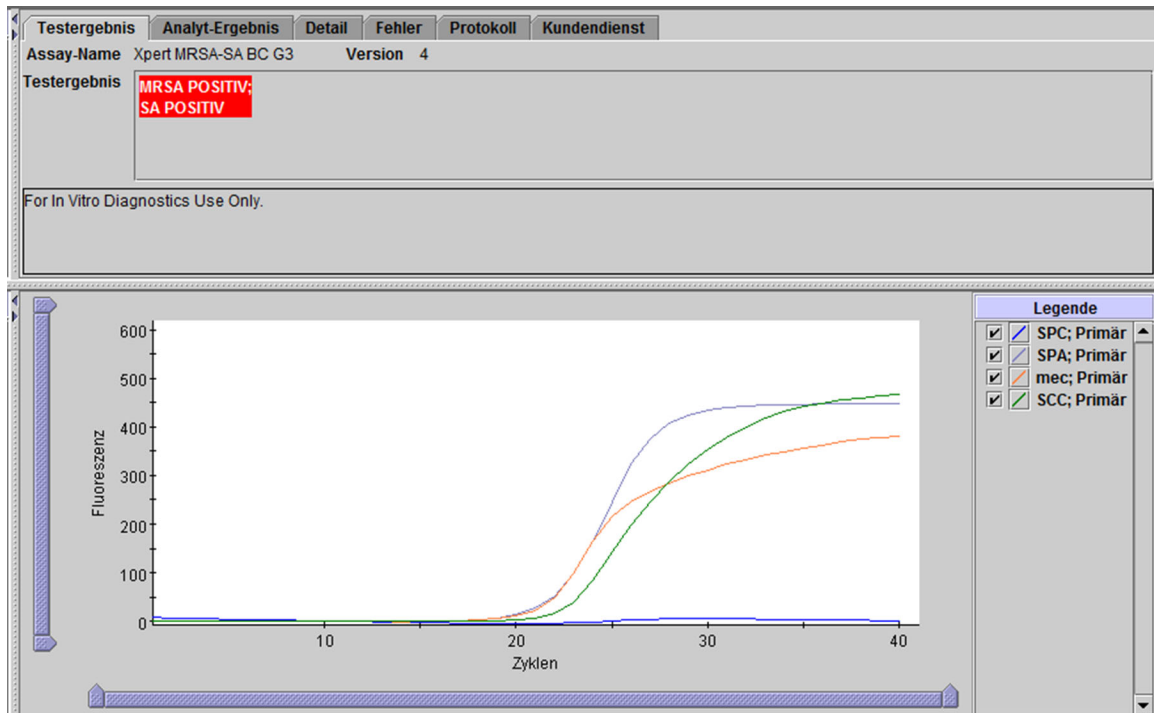


Abbildung 2. Beispiel für das Ergebnis „MRSA Positiv“

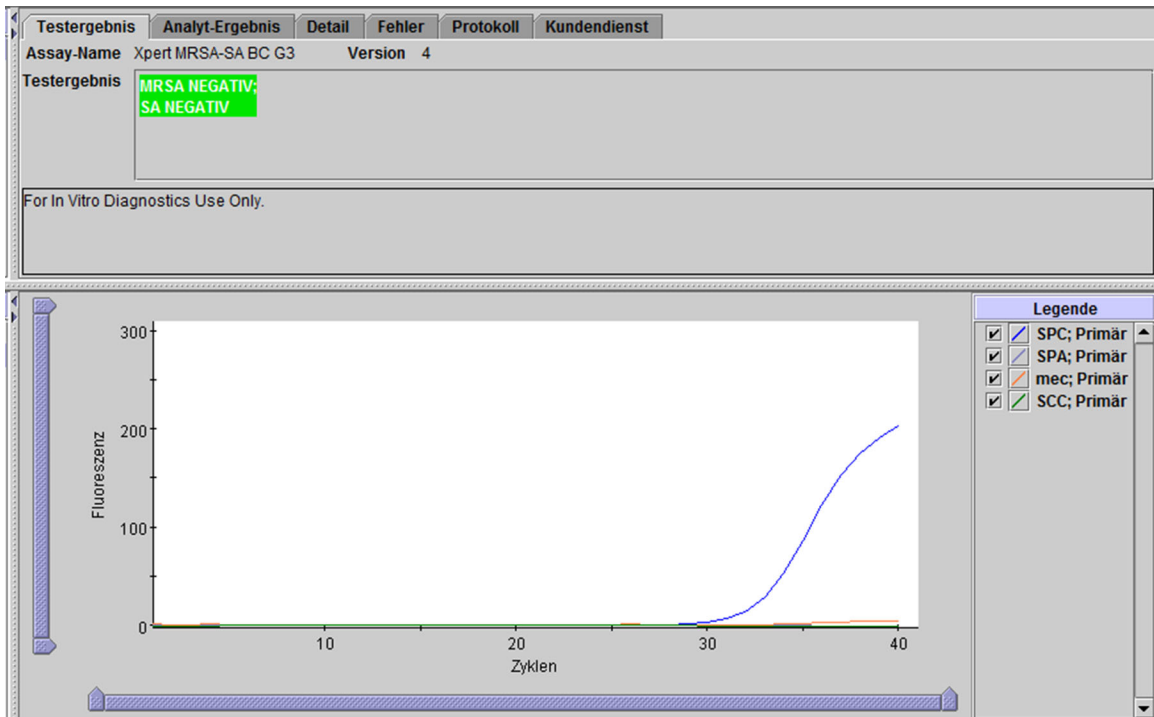


Abbildung 3. Beispiel für ein negatives Ergebnis

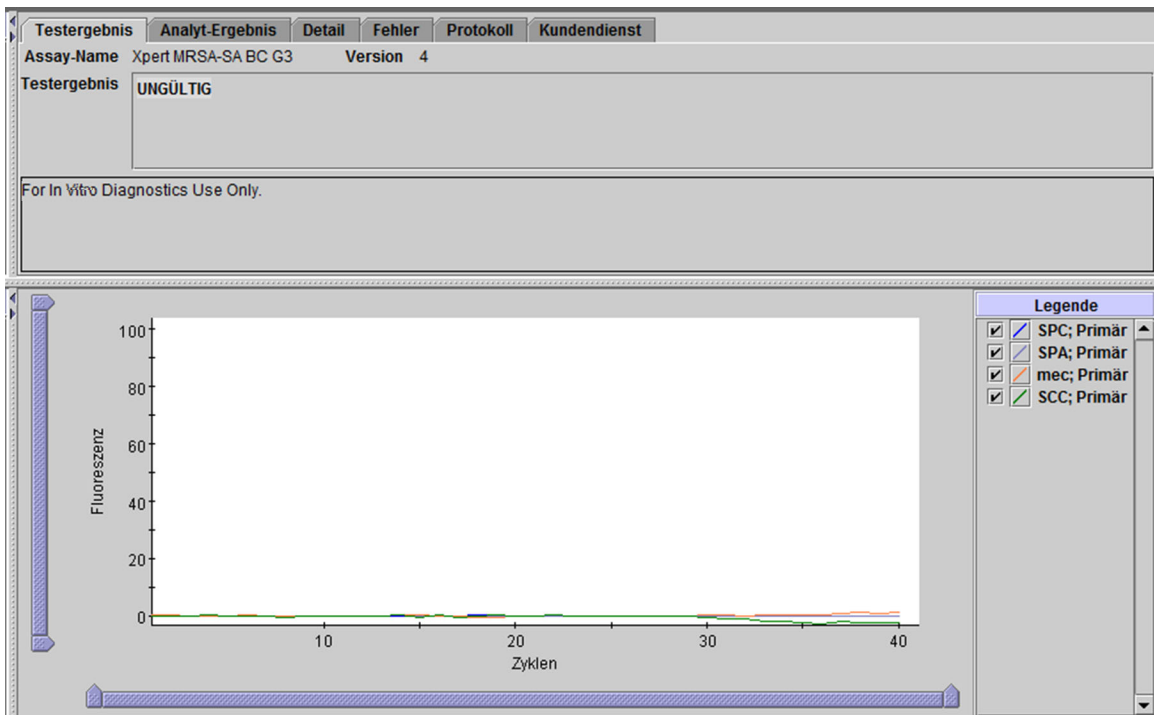


Abbildung 4. Beispiel für das Ergebnis Ungültig

17. Gründe für eine Wiederholung des Assays

17.1 Grund für eine Testwiederholung

Falls eines der im Weiteren aufgeführten Ergebnisse erzielt wird, ist der Test mit einer neuen Kartusche (Kartusche nicht wiederverwenden) zu wiederholen. Der Wiederholungstest muss innerhalb von 3 Stunden nach einem unbestimmten Ergebnis durchgeführt werden.

- Das Ergebnis **UNGÜLTIG (INVALID)** bedeutet, dass die SPC-Kontrolle 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. Durchführung eines Wiederholungstests:
 - Den Restinhalt aus der Probenkammer in ein neues Elutionsreagenz transferieren.
 - Im Vortex mischen und den gesamten Inhalt des Elutionsreagenzes in die Probenkammer der neuen MRSA/SA Blood Culture Assay-Kartusche transferieren.
 - Den Deckel schließen und einen neuen Test starten.

17.2 Testwiederholung

Falls eine externe QK nicht wie erwartet ausfällt, den Test mit der externen Kontrolle wiederholen und/oder Cepheid um Unterstützung bitten.

Durchführung eines Wiederholungstests:

Bei einem Wiederholungstest innerhalb von 3 Stunden nach einem unbestimmten Ergebnis*:

1. Den verbleibenden Inhalt der Probenkammer mithilfe einer Einweg-Transferpipette in ein neues Elutionsreagenz transferieren.
2. Im Vortex mischen und den gesamten Inhalt des Elutionsreagenzes in die Probenkammer der Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay-Kartusche transferieren.
3. Den Deckel schließen und einen neuen Test starten.

*Falls der Wiederholungstest nicht innerhalb von 3 Stunden durchgeführt werden kann, muss eine neue Probe verwendet werden.

18. Einschränkungen

- Die Leistungsdaten für den Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay wurden ausschließlich anhand der in dieser Packungsbeilage angegebenen Vorgehensweisen validiert. Änderungen an diesen Vorgehensweisen können die Leistung des Tests beeinträchtigen. Die mit dem Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay erzielten Ergebnisse müssen in Verbindung mit anderen dem Arzt vorliegenden Labordaten und klinischen Daten interpretiert werden.
- Blutkulturmedien, die Aktivkohle enthalten, können nicht mit dem Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay verwendet werden.
- Der Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay kann falsch negative MRSA-Ergebnisse ausgeben, wenn grenzwertig Oxacillin-resistente (borderline oxacillin resistant) *S. aureus* (BORSA) getestet werden. Der Mechanismus der Oxacillin-Resistenz bei BORSA-Stämmen beruht auf einer erhöhten Produktion von β -Lactamasen, nicht auf dem *mecA*-Gen. BORSA mit einer Oxacillin-MHK von 4–8 $\mu\text{g/ml}$ gelten als grenzwertig resistent, würden aber vom Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay als MRSA-negativ ausgegeben. BORSA-Stämme kommen in den USA selten vor.
- Der Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay kann falsch negative MRSA-Ergebnisse ausgeben, wenn modifizierte *S. aureus* (MOD-SA) getestet werden. Der Mechanismus der Oxacillin-Resistenz bei MOD-SA-Stämmen beruht auf einer veränderten Affinität der Penicillin bindenden Proteine für Oxacillin, nicht auf dem *mecA*-Gen. MOD-SA mit einer Oxacillin-MHK von 4–8 $\mu\text{g/ml}$ gelten als grenzwertig resistent, würden aber vom Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay als MRSA-negativ ausgegeben. MOD-SA-Stämme kommen in den USA selten vor. 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.
- Da der Nachweis von MRSA und SA von der Anzahl der in der Probe enthaltenen Organismen abhängt, hängen zuverlässige Ergebnisse von der sachgemäßen Probenentnahme, -handhabung und -aufbewahrung ab.

- Ein positives Testergebnis weist nicht zwingend auf das Vorhandensein lebensfähiger Organismen hin. Jedoch muss vermutet werden, dass MRSA bzw. SA vorhanden sind.
- Die Tests mit dem Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay sollten als Ergänzung zu anderen verfügbaren Methoden eingesetzt werden.
- Mutationen oder Polymorphismen in Primer oder Sonden bindenden Regionen wirken sich eventuell auf den Nachweis von neuen oder unbekanntem MRSA-Varianten aus, sodass es zu falsch negativen Ergebnissen kommt.
- In gemischten Kulturen, die sowohl MRSA als auch SA enthalten, ist die LoD für MRSA variabel, wenn extrem hohe Konzentrationen von SA vorliegen. Eine Konkurrenz durch SA wurde bei einem Verhältnis von MRSA:SA von 1:1x10⁶ festgestellt.
- Der Xpert MRSA/SA Blood Culture-Test kann ein falsch positives MRSA-Ergebnis erzeugen, wenn eine Probe getestet wird, in der sowohl Methicillin-resistente, Koagulase-negative Staphylokokken (MRCNS) als auch Methicillin-sensible *Staphylococcus aureus* enthalten sind.
- Wie bei allen PCR-basierten Tests für die *In-vitro*-Diagnostik können extrem niedrige Konzentrationen der Zielsequenzen unterhalb der LoD des Assays zwar nachgewiesen werden, eventuell sind die Ergebnisse jedoch nicht reproduzierbar.
- Die Ergebnisse mit dem Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay können bisweilen **UNGÜLTIG (INVALID)** aufgrund einer fehlgeschlagenen SPC-Kontrolle, **FEHLER (ERROR)** oder **KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)** sein, was eine Testwiederholung erforderlich macht, die eine Verzögerung der endgültigen Ergebnisse verursacht.
- Aufgrund des mit der Durchführung eines Wiederholungstests verbundenen Verdünnungsfaktors ist es möglich, dass MRSA- oder SA-positive Patientenproben, die sehr nahe an bzw. genau an der Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) des Xpert MRSA/SA Blood Culture Assays liegen, beim Wiederholungstest ein falsch negatives Ergebnis erzielen.

19. Störsubstanzen

Es wurde eine Studie zur Beurteilung potenzieller Hemmwirkungen von Substanzen durchgeführt, die u. U. in mit dem Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay bearbeiteten positiven Blutkulturen vorhanden sein können. Potenzielle Hemmstoffe sind insbesondere Blut und Bestandteile von Blutkulturmedien. Die Substanzen wurden unverdünnt in drei Replikaten und mit Zusatz von MRSA-Zellen nahe der analytischen Nachweisgrenze (~2,5 x LoD) und höher (~10 x LoD) getestet.

- Bei Anwesenheit von BACTEC™ (Becton Dickinson) Standard aerobem/anaerobem Sojabohnen-Casein-Verdauungsmedium mit dem Antikoagulans SPS bzw. den „PLUS“ aeroben/anaeroben Medien mit Ionenaustausch- und nichtionischen adsorbierenden Harzen zur Beseitigung von antimikrobiellen Stoffen des gleichen Herstellers wurden keine Hemmwirkungen im Vergleich zu Pufferkontrollen beobachtet.
- Bei Anwesenheit von BacT/ALERT® (bioMérieux) Standard aerober/anaerober Trypticase-Soja-Bouillon mit dem Antikoagulans SPS wurden keine Hemmwirkungen im Vergleich zu Pufferkontrollen beobachtet.
- Bei Anwesenheit von Vollblut wurden keine Hemmwirkungen im Vergleich zu Pufferkontrollen beobachtet.

20. Leistungsmerkmale

20.1 Klinische Leistungsfähigkeit

Die Leistungsmerkmale des Xpert MRSA/SA Blood Culture Assays wurden in einer multizentrischen, prospektiven, investigativen Studie an fünf Einrichtungen (4 in den USA und 1 in der Europäischen Union) durch Vergleich des Xpert MRSA/SA Blood Culture Assays auf dem GeneXpert System (Xpert MRSA/SA Assay) mit der Kultur ermittelt. Die Teilnehmer waren Personen, deren Blutkultur positiv für Wachstum war. Die Studie umfasste Proben aus neun verschiedenen Blutkulturfläschchen für Erwachsene sowie einem pädiatrischen Fläschchen. Aktivkohle enthaltende Blutkulturfläschchen wurden ausgeschlossen.

Ein Aliquot aus jedem Blutkulturfläschchen wurde mit dem Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay und mittels Kultur getestet. An den Zentren wurden unterschiedliche Kulturmethoden verwendet, jedoch erfolgte die Bestimmung der Sensitivität gegenüber Oxacillin/Methicillin an allen Zentren mittels Blättchendiffusionstest mit einem 30-µg-Cefoxitin-Blättchen und einem Grenzwert von 21/22 mm.

Die Leistungsfähigkeit des Xpert MRSA/SA Blood Culture Assays wurde relativ zu den Ergebnissen der Kultur berechnet.

20.2 Gesamtergebnisse

Insgesamt 406 Patientenproben wurden mit dem Xpert und der Kultur auf MRSA und SA getestet (212 in den USA und 194 in der EU).

Der Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay konnte im Vergleich zur Kulturmethode 98,3 % der für MRSA positiven Patientenproben und 99,4 % der für MRSA negativen Patientenproben identifizieren. Für die getesteten Proben betragen der positive prädiktive Wert für MRSA 96,6 % und der negative prädiktive Wert für MRSA 99,7 %.

Der Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay konnte im Vergleich zur Kulturmethode 100 % der für SA positiven Patientenproben und 98,6 % der für SA negativen Patientenproben identifizieren. Für die getesteten Proben betragen der positive prädiktive Wert für SA 96,7 % und der negative prädiktive Wert für SA 100 %.

Tabelle 2. MRSA – Kombiniert für US- und EU-Zentren

		Kultur			
		+	-		
Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay	+	57	2	59	Sens 98,3 %
	-	1 ^a	346	347	Spez 99,4 %
		58	348	406	

^a Die eine falsch negative Probe im Test mit dem Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay wurde mithilfe des PBP2a-Latexagglutinationstests (Oxiod, GB) und der üblichen Labormethoden näher untersucht. Die Ergebnisse des besagten Tests zeigten, dass dieses Isolat eine Überproduktion von Penicillinase aufwies und von der Kultur fälschlich als MRSA identifiziert wurde.

Tabelle 3. SA – Kombiniert für US- und EU-Zentren

		Kultur			
		+	-		
Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay	+	120	4	124	Sens 100 %
	-	0	282	282	Spez 98,6 %
		120	286	406	

21. Analytische Leistungsdaten

21.1 Analytische Spezifität

Kulturen von 98 Stämmen, die von der American Type Culture Collection (ATCC), und 7 Stämmen, die vom Network on Antimicrobial Resistance in Staphylococcus aureus (NARSA) bezogen wurden und repräsentativ für phylogenetisch mit *Staphylococcus aureus* verwandte oder potenziell in der Krankenhausumgebung anzutreffende Spezies waren, 29 Stämme von Methicillin-sensiblen, Koagulase-negativen Staphylokokken und 9 Stämme von Methicillin-resistenten, Koagulase-negativen Staphylokokken wurden mit dem Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay getestet. Die getesteten Organismen waren repräsentativ für 74 grampositive, 28 gramnegative, 3 Hefe-, 95 aerobe und 10 anaerobe Spezies. Zwei oder mehr Replikate für jedes Isolat wurden bei 1,7–3,2 McFarland-Einheiten getestet. Unter den Bedingungen dieser Studie wurden alle Isolate als „MRSA negativ; SA negativ“ ausgegeben; keines der Isolate wurde vom Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay nachgewiesen. Es wurden positive und negative Kontrollen in die Studie mit einbezogen. Die Spezifität betrug 100 %.

21.2 Analytische Ubiquität (Inklusivität)

Die analytische Ubiquität (Inklusivität) des Xpert MRSA/SA Blood Culture Assays wurde anhand von 25 *Staphylococcus-aureus*-Stämmen ermittelt, die von Dr. Fred C. Tenover von den Centers for Disease Control and Prevention (CDC) bezogen wurden. Diese Proben werden als repräsentativ für die derzeit im Gesundheitswesen anzutreffenden MRSA- und MSSA-Stämme angesehen. Alle Stämme wurden unter Verwendung von 100 µl Zellsuspensionen in der stationären Phase nach 10-millionenfacher Verdünnung dreifach getestet. Das Panel besteht aus MRSA-Stämmen, die die SCCmec-Typen II, IV, IVa, IVb und IVc sowie mehrere unbekannte Typen repräsentieren. Von den CDC bereitgestellte Daten zeigen, dass diese Stämme gemäß Charakterisierung mittels Pulsed-Field-Gelelektrophorese (PFGE) zahlreiche USA-Typen repräsentieren, darunter USA 100, den am häufigsten in medizinischen Einrichtungen erworbenen Stamm, und USA 300 und 400, die am häufigsten in der nicht hospitalisierten Bevölkerung erworbenen Stämme.⁸

Wie aus Tabelle 4 hervorgeht, wurden alle MRSA-Stämme vom Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay korrekt als „MRSA positiv; SA positiv“ ausgegeben. Darüber hinaus wurden alle MSSA-Stämme korrekt als „MRSA negativ; SA positiv“ ausgegeben. Nachdem die Ergebnisse mit CHROMagar und dem Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay an die CDC gemeldet wurden, gaben diese zu erkennen, dass der Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay die Probe 95:99 nicht falsch identifiziert hatte. Probe 95:99 war von den CDC falsch ausgezeichnet worden. Der Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay hatte die Probe 95:99 korrekt als „MRSA negativ; SA negativ“ ausgegeben. Die koloniebildenden Einheiten pro Assay wurden durch zweifache Plattenzählung ermittelt.

Tabelle 4. Analytische Ubiquität des MRSA/SA Blood Culture Assays

Labor- kennung	Einsender	Quelle	PFGE- Typ	SCC _{mec} - Typ	CHROMagar- MRSA- Ergebnis	Ergebnis mit dem Xpert MRSA/SA BC Assay	SPC Ct	spa Ct	mecA Ct	SCC Ct	CFU pro Assay
94:1013	VT	Hautläsion	USA1000	IV	+	MRSA POSITIV; SA POSITIV (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	34,7	30,7	31	32,6	152
95:99 ^a	CT	Blut	USA500	IV	-	MRSA NEGATIV; SA NEGATIV (MRSA NEGATIVE; SA NEGATIVE)	34,1	0	0	0	37
96:308	NM	Stuhl	USA900	MSSA	-	MRSA NEGATIV; SA POSITIV (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE)	34	29,4	0	0	201
96:281	NC	Blut	USA200	II	+	MRSA POSITIV; SA POSITIV (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	33,4	33,6	34	35,3	101
148-99	NY	Blut	USA600	II	+	MRSA POSITIV; SA POSITIV (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	34,3	33,2	33,1	35,2	43
182-99	MN	Unbekannt	USA400	IVa	+	MRSA POSITIV; SA POSITIV (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	43,7	26,7	27,1	28,7	417
18626	OH	Blut	USA100	II	+	MRSA POSITIV; SA POSITIV (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	34,8	30,7	31	32,7	138
0:50	TN	Stuhl	USA600	nicht typisiert	+	MRSA POSITIV; SA POSITIV (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	33,6	31,2	31,4	33,2	115
0-25-4	MS	Nasal	USA700	IVa	+	MRSA POSITIV; SA POSITIV (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	35,5	29,1	29,3	30,9	178
0-25-37	MS	Haut/Weichteile	USA300	IVa	+	MRSA POSITIV; SA POSITIV (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	34,7	32,3	32,7	34,2	94

Tabelle 4. Analytische Ubiquität des MRSA/SA Blood Culture Assays (Fortsetzung)

Labor- kennung	Einsender	Quelle	PFGE- Typ	SCC _{mec} - Typ	CHROMagar- MRSA- Ergebnis	Ergebnis mit dem Xpert MRSA/SA BC Assay	SPC Ct	spa Ct	mecA Ct	SCC Ct	CFU pro Assay
1-1-81	WA	Nasal	USA400	nicht typisiert	+	MRSA POSITIV; SA POSITIV (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	34,3	33	33,7	35,5	106
1-1-493	WA	Wunde	USA800	IV	+	MRSA POSITIV; SA POSITIV (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	33,7	31,5	31,7	33,4	113
N7129	NHANES	Nasal	USA900	MSSA	-	MRSA NEGATIV; SA POSITIV (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE)	34,3	29,9	0	0	84
107-03	NV	Blut	USA200	nicht typisiert	+	MRSA POSITIV; SA POSITIV (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	34	33	33,3	34,9	99
GA201	GA-ABC	Unbekannt	USA100	II	+	MRSA POSITIV; SA POSITIV (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	33,6	32,3	32,4	34	95
GA217	GA-ABC	Unbekannt	USA300	IVb	+	MRSA POSITIV; SA POSITIV (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	33,6	30,8	31,2	33	121
GA229	GA-ABC	Unbekannt	USA500	IV	+	MRSA POSITIV; SA POSITIV (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	37,8	31,7	31,9	33,3	81
7031	AK	Abszess	USA1100	IVa	+	MRSA POSITIV; SA POSITIV (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	34,2	30,8	31,5	32,9	73
102-04	CA	Nasal	USA1200	MSSA	-	MRSA NEGATIV; SA POSITIV (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE)	33,9	29,4	0	0	110
8-03	WI	Unbekannt	USA700	nicht typisiert	+	MRSA POSITIV; SA POSITIV (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	33,3	29	29,2	30,9	202
510-04	Uruguay	Abszess	USA1100	IVc	+	MRSA POSITIV; SA POSITIV (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	34,6	31,5	32	33,8	143

Tabelle 4. Analytische Ubiquität des MRSA/SA Blood Culture Assays (Fortsetzung)

Labor- kennung	Einsender	Quelle	PFGE- Typ	SCC _{mec} - Typ	CHROMagar- MRSA- Ergebnis	Ergebnis mit dem Xpert MRSA/SA BC Assay	SPC Ct	spa Ct	mecA Ct	SCC Ct	CFU pro Assay
27-05	HI	Wunde	USA800	IVc	+	MRSA POSITIV; SA POSITIV (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	40,7	27,8	28,1	29,8	373
CA46	CA	Blut	USA1000	IV	+	MRSA POSITIV; SA POSITIV (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	33,4	32,6	33,7	35,8	81
398-05	HI	Wunde	USA1000	IVb	+	MRSA POSITIV; SA POSITIV (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	33,6	32,8	33,4	35,9	59
N4151	NHANES	Nasal	USA800	IVb	+	MRSA POSITIV; SA POSITIV (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	34	30,7	31,2	32,9	101

^a Probe 95:99: Nachdem die Ergebnisse mit CHROMagar und dem Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay an die CDC gemeldet wurden, gaben diese zu erkennen, dass der Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay die Probe 95:99 korrekt identifiziert hatte. Probe 95:99 war von den CDC falsch ausgezeichnet worden. Der Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay hatte die Probe 95:99 korrekt als „MRSA negativ; SA negativ“ ausgegeben. Die Ct-Werte sind der Mittelwert aus drei Replikaten. Die Angaben in den grauen Spalten wurden Cepheid von Dr. Fred C. Tenover von den CDC zur Verfügung gestellt.

21.3 Analytische Sensitivität

Zusätzliche Studien wurden durchgeführt, um das 95%-Konfidenzintervall für die analytische Nachweisgrenze (LoD) dieses Assays zu bestimmen. Die Nachweisgrenze ist definiert als die niedrigste Anzahl der Kolonien bildenden Einheiten (Colony Forming Units, CFU) pro Probe, die reproduzierbar von negativen Proben mit einer Zuverlässigkeit von 95 % unterschieden werden können. Für die Datenanalyse sowohl für MRSA als auch für SA wird ein maximaler gültiger Zyklus von 36,0 festgelegt. Jegliches Ergebnis für spa, mecA oder SCC mit einem Ct-Wert über 36,0 wird als negativ ausgegeben. Für MRSA (Typ-II-Zellen) wurden je 20 Replikate bei sieben Konzentrationen beurteilt (0, 50, 75, 100, 125, 150 und 200 CFU/Probe). Für SA wurden je 20 Replikate bei sechs Konzentrationen beurteilt (0, 20, 25, 40, 50 und 60 CFU/Probe).

Unter den Bedingungen der Studie und mit einer maximalen gültigen Ct-Einstellung von 36,0 lag der LoD-Punktschätzwert für SA bei 48,0 CFU/Probe mit einem 95%-Konfidenzintervall zwischen 42,4 CFU und 57,2 CFU. Der Schätzwert und die Konfidenzstufen wurden anhand einer logistischen Regression mit Daten (Anzahl der Positiven pro Anzahl der Tests auf jeder Stufe), die bei sechs Konzentrationen (0, 20, 25, 40, 50 und 60 CFU/Probe) erfasst wurden, ermittelt. Es ist zu beachten, dass die analytische LoD für SA konservativ mit 58 CFU/50 ?l Probe angegeben wird.

Der LoD-Punktschätzwert für MRSA lag bei 109,4 CFU/Probe mit einem 95%-Konfidenzintervall zwischen 98,8 CFU und 128,2 CFU. Der Schätzwert und die Konfidenzstufen wurden anhand einer logistischen Regression mit Daten (Anzahl der Positiven pro Anzahl der Tests auf jeder Stufe), die bei sieben Konzentrationen (0, 50, 75, 100, 125, 150 und 200 CFU/Probe) erfasst wurden, ermittelt. Es ist zu beachten, dass die analytische LoD für MRSA konservativ mit 130 CFU/50 ?l Probe angegeben wird.

Die Konfidenzintervalle wurden mittels Maximum-Likelihood-Schätzern zu den logistischen Modellparametern und der Varianz-Kovarianzmatrix für große Proben bestimmt.

22. Literatur

1. Mainous AG, Hueston WJ, Everett, CJ, Vanessa A. Diaz VA. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *S aureus* in the United States, 2001-2002. *An Family Medicine*. 2006; 4(2): 132-137.
2. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. *Am J Infect Control* 2004; 32: 470-85.
3. Chaix C, Durand-Zileski I, Alberti C, Buisson B. Control of Endemic Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. *JAMA* 1999; 282(19): 1745-51.
4. Shopsin B, Kreiswirth BN. Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerging Infectious Diseases* 2001; 7(2) 323-6.
5. Salgado CD et al. Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: A Meta-analysis of Prevalence and Risk Factors. *CID* 2003; 36: 131.
6. 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.
7. 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).
8. McDougal L, Steward C, Killgore G, Chaitram J, McAllister S, Tenover F. Pulsed-Field Gel Electrophoresis Typing of Oxacillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates from the United States: Establishing a national Database. *J Clin Micro* 2003; 41(11): 5113-20.
9. REGULATION (EO) 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/EC (amending Regulations (EO) No 1907/2007)
10. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R, pt. 1910, subpt. Z).
11. World Health Organization. Safe management of wastes from health-care activities. 2nd Edition. WHO, 2014. Accessed April 20, 2018 at http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/wastemanag/en/.

23. Standorte der Cepheid-Zentralen

Konzernzentrale	Konzernzentrale in Europa
Cepheid 904 Caribbean Drive Sunnyvale, CA 94089 USA	Cepheid Europe SAS Vira Solelh 81470 Maurens-Scopont Frankreich
Telefon: +1 408.541.4191	Telefon: +33 563 825 300
Fax: +1 408.541.4192	Fax: +33 563 825 301
www.cepheid.com	www.cepheidinternational.com/

24. 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

Kontaktdaten

Vereinigte Staaten

Telefon: + 1 888 838 3222

E-Mail: techsupport@cepheid.com















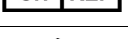

Frankreich

Telefon: + 33 563 825 319

E-Mail: support@cepheideurope.com

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

25. Symbolerklärung

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



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Schweden

Hergestellt in Schweden



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



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



