

Xpert® MTB/RIF

REF CGXMTB/RIF-50

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.

© 2012-2023 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.

© 2012-2023 Cepheid.



Cepheid AB

Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Schweden

Tel.: +46 8 6843 7000

Fax: +46 8 6843 7010

Technischer Kundendienst: TechSupport@cepheid.com

Xpert® MTB/RIF

In-vitro-Diagnostikum

Markenname

Xpert® MTB/RIF Assay

Gebräuchlicher oder üblicher Name

Xpert MTB/RIF Assay

A. Verwendungszweck

Der Xpert MTB/RIF Assay zur Verwendung mit den Cepheid GeneXpert® Systemen ist ein semiquantitativer *In-vitro*-Diagnostiktest basierend auf einer nested Echtzeit-PCR für den Nachweis von:

- *Mycobacterium tuberculosis*-Komplex-DNA in Sputumproben oder konzentrierten Sedimenten, die aus induzierten oder expektorierten Sputa aufbereitet worden sind, welche im Ausstrichtest auf säurefeste Stäbchen entweder positiv oder negativ sind
- Rifampicinresistenz-assoziierte Mutationen des *rpoB*-Gens in Proben von Patienten, bei denen ein Risiko für Rifampicinresistenz besteht

Der Xpert MTB/RIF Assay ist zur Verwendung mit Proben von unbehandelten Patienten vorgesehen, bei denen ein klinischer Verdacht auf Tuberkulose (TB) besteht. Die Verwendung des Xpert MTB/RIF Assays zum Nachweis von *M. tuberculosis* (MTB) bzw. zur Ermittlung der Rifampin-Sensitivität bei Patienten, die eine Tuberkulosebehandlung erhalten, wurde nicht validiert.

B. Zusammenfassung und Erklärung

Weltweit sind ungefähr 2 Milliarden Menschen mit MTB infiziert.¹ Pro Jahr kommt es bei fast 9 Millionen Menschen zu einer aktiven Erkrankung; 2 Millionen Menschen sterben daran. Aktive MTB ist überwiegend eine Lungenerkrankung, hochgradig ansteckend und wird über die Luft übertragen. Wegen der Infektionsgefahr durch MTB ist die schnelle und genaue Diagnose ein wichtiger Bestandteil der MTB-Behandlung und -Eindämmung.

Die Behandlung beinhaltet die Verabreichung mehrerer Medikamente über einen längeren Zeitraum, was in der Regel äußerst effektiv ist. Stämme von MTB können jedoch gegen einen oder mehrere Wirkstoffe resistent werden, was die Heilung erschwert. Die folgenden vier Medikamente werden üblicherweise zur First-Line-Behandlung von Tuberkulose verwendet:

- Isoniazid (INH)
- Rifampicin (RIF oder Rifampin)
- Ethambutol (EMB)
- Pyrazinamid (PZA)

RIF-Resistenz tritt selten isoliert auf und bedeutet normalerweise eine Resistenz gegenüber mehreren anderen Anti-TB-Wirkstoffen.² RIF-Resistenz wird am häufigsten bei multiresistenten (Multi-Drug Resistant TB, MDR-TB) Stämmen beobachtet; ihre Frequenz in derartigen Isolaten wird mit über 95% angegeben.^{3,4,5} MDR-TB wird als Tuberkuloseerkrankung definiert, die durch einen Bakterienstamm hervorgerufen wird, der zumindest gegen INH und RIF resistent ist. Die Resistenz gegenüber RIF oder anderen Medikamenten erster Wahl weist in der Regel darauf hin, dass ein vollständiger Resistenztest durchgeführt werden muss, einschließlich von Tests auf die Empfindlichkeit gegenüber Wirkstoffen zweiter Wahl.

Der molekulare Nachweis von MTB und der mit RIF-Resistenz assoziierten Mutationen des *rpoB*-Gens führen zu einer schnelleren Diagnose sowohl der auf Medikamente sensitiven als auch der MDR-TB. Mit dem Xpert MTB/RIF Assay kann dies in frischen Sputumproben oder präparierten Sedimenten in weniger als 2,5 Stunden erreicht werden. Durch den schnellen Nachweis von MTB und der RIF-Resistenz ist es dem Arzt möglich, direkt während eines einzigen Arztbesuches, wichtige Patientenmanagement-Entscheidungen hinsichtlich der Therapie zu fällen.

C. Verfahrensprinzip

Die GeneXpert-Instrumentensysteme automatisieren und integrieren Probenbearbeitung, Nukleinsäureamplifikation und Nachweis der Zielsequenz in einfachen oder komplexen Proben mithilfe von Echtzeit-PCR und Reverse-Transkriptase-PCR. Das System besteht aus einem Instrument, einem PC, einem Strichcodescanner und einer vorinstallierten Software, die zur Durchführung von Tests an entnommenen Proben und zur Anzeige der Ergebnisse dient. Das System sieht die Verwendung von GeneXpert-Einwegkartuschen vor, die die PCR-Reagenzien enthalten und in denen der PCR-Prozess abläuft. Da die Kartuschen in sich abgeschlossen sind, werden Kreuzkontaminationen zwischen Proben verhindert. Eine vollständige Beschreibung des Systems findet sich im *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Dx System* oder dem *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Infinity System*.

Xpert MTB/RIF enthält Reagenzien für den Nachweis von MTB und der RIF-Resistenz 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 im Xpert MTB/RIF Assay amplifizieren einen Anteil des *rpoB*-Gens, der die „Kernregion“ von 81 Basenpaaren enthält. Die Sonden können zwischen der konservierten Wildtyp-Sequenz und Mutationen in der Kernregion differenzieren, die mit einer RIF-Resistenz einhergehen.

D. Reagenzien und Instrumente

D.1 Im Lieferumfang enthaltenes Material



Das Xpert MTB/RIF-Kit (CGXMTB/RIF-50) enthält genügend Reagenzien zur Bearbeitung von 50 Patienten- oder Qualitätskontrollproben. Das Xpert MTB/RIF-Kit enthält die folgenden Materialien:

Xpert MTB/RIF-Kartuschen mit integrierten Reaktionsbehältern	50 pro Kit
• Kügelchen 1 und Kügelchen 2 (gefriergetrocknet)	Je 2 pro Kartusche
• Kügelchen 3 (gefriergetrocknet)	1 pro Kartusche
• Reagenz 1	4,0 ml pro Kartusche
• Reagenz 2	4,0 ml pro Kartusche
Fläschchen mit Probenreagenz	50 pro Kit
• Probenreagenz (PR)	8 ml pro Fläschchen
• Natriumhydroxid	
• Isopropanol	
Einweg-Transferpipetten	60 pro Kit
CD	1 pro Kit
• Assay-Definitionsdatei (ADF)	
• Anweisungen zum Importieren der ADF in die Software	
• Gebrauchsanweisung (Packungsbeilage)	

Hinweis Das Probenreagenz (PR) kann farblos über gelb bis bernsteinfarben sein. Die Farbe kann im Laufe der Zeit intensiver werden, hat jedoch keine Auswirkungen auf die Leistungsfähigkeit.

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.

Hinweis Die Transferpipetten sind mit einer einzelnen Markierung versehen, die das Mindestvolumen behandelter Probe angibt, das in die Kartusche transferiert werden muss. Sie sind ausschließlich zu diesem Zweck zu verwenden. Alle anderen Pipetten werden vom Labor gestellt.

D.2 Aufbewahrung und Handhabung



- Den Inhalt des Xpert MTB/RIF-Kits bei 2–28 °C aufbewahren.
- Reagenzien oder Kartuschen nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden.
- Die Kartuschen erst dann öffnen, wenn die Testdurchführung unmittelbar bevorsteht.
- Nach dem Öffnen des Beutels sind die Kartuschen bis zu 6 Wochen lang bei 2–45 °C stabil.

E. Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

- GeneXpert Dx System oder GeneXpert Infinity System (Bestellnummer variiert abhängig von der Konfiguration): GeneXpert-Instrument, Computer, Barcodescanner und Benutzerhandbuch
 - GeneXpert Dx System: Softwareversion 4.0 oder höher
 - Für das GeneXpert Infinity-48 System: Softwareversion Xpertise 4.3 oder höher
 - Für die Systeme GeneXpert Infinity-80 und Infinity-48s: Softwareversion Xpertise 6.0 oder höher
- Drucker: Falls ein Drucker benötigt wird, wenden Sie sich bitte an einen Außendienstmitarbeiter von Cepheid, um einen empfohlenen Drucker zu erwerben.
- Auslaufsichere, sterile Probenentnahmebehälter mit Schraubverschluss
- Einweghandschuhe und Augenschutz
- Etiketten und/oder wischfester Schreibstift
- Sterile Pipetten für die Probenbearbeitung

F. Warnhinweise, Vorsichtsmaßnahmen und chemische Gefahren

F.1 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.
- 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.
- Es sind die Sicherheitsverfahren der jeweiligen Institution für den Umgang mit Chemikalien und die Handhabung von biologischen Proben zu beachten.
- Die Leistung des Xpert MTB/RIF Assays für den Nachweis des MTB-Komplexes in nicht aus den Atemwegen stammenden Proben, wie z. B. Blut, Liquor, Stuhl oder Urin, wurde nicht nachgewiesen. Die Leistung des Xpert MTB/RIF Assays bei Verwendung von Proben, die mit anderen als den in der Packungsbeilage beschriebenen Methoden bearbeitet wurden, wurde nicht ermittelt.
- Werden mehrere Proben gleichzeitig bearbeitet, ist nur eine Kartusche zu öffnen; die mit Probenreagenz behandelte Probe hinzugeben und die Kartusche schließen, bevor die nächste Probe bearbeitet wird. Nach jeder Probe Handschuhe wechseln.
- Den Deckel der Xpert MTB/RIF-Kartusche ausschließlich zum Hinzufügen des behandelten Probenmaterials öffnen.
- Kartuschen, die nach der Entnahme aus dem Kit fallen gelassen wurden, dürfen nicht verwendet werden.
- Kartuschen, die nach dem Hinzufügen der behandelten Probe fallen gelassen oder geschüttelt wurden oder deren Inhalt teilweise ausgetreten ist, dürfen nicht verwendet werden. Wenn eine Kartusche nach dem Öffnen des Deckels geschüttelt oder fallen gelassen wird, kann es zu falschen oder unbestimmten Ergebnissen kommen.
- Kartuschen, die nass aussehen oder deren Deckelversiegelung aufgebrochen zu sein scheint, dürfen nicht verwendet werden.
- Kartuschen mit beschädigtem Reaktionsbehälter dürfen nicht verwendet werden.
- Jede Xpert MTB/RIF-Kartusche dient zur Durchführung eines einzigen Tests. Verbrauchte Kartuschen nicht wiederverwenden.
- Es sind alle vor Ort geltenden Vorschriften zur Beseitigung von Risikoabfall und von medizinischem Abfall zu prüfen. Wenn die Bestimmungen keine klaren Vorgaben für die sachgemäße Beseitigung von Proben bzw. gebrauchten Kartuschen enthalten, müssen diese wie infektiöse Substanzen behandelt werden. Gebrauchte Kartuschen entsprechend den Richtlinien zur Handhabung und Beseitigung von medizinischem Abfall der WHO (Weltgesundheitsorganisation) als chemischen/medizinischen Risikoabfall in haltbaren Abfallbehältern entsorgen.



F.2 Chemische Gefahren^{8,9}**Probenreagenz:**

Das Probenreagenz enthält Natriumhydroxid (pH > 12,5) und Isopropanol.

- UN-GHS-Gefahrenpiktogramme: 
- Signalwort: GEFAHR
- **UN-GHS-Gefahrenhinweise**
 - Flüssigkeit und Dampf entzündbar
 - Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden
 - Verursacht schwere Augenschäden
 - Kann vermutlich genetische Defekte verursachen.
 - Kann vermutlich die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen.
 - Kann die Organe schädigen bei längerer oder wiederholter Exposition
- **UN-GHS-Sicherheitshinweise**
 - Prävention
 - Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen.
 - Vor Gebrauch alle Sicherheitshinweise lesen und verstehen.
 - Von Hitze, Funken, offenen Flammen und/oder heißen Oberflächen fernhalten. Nicht rauchen.
 - Behälter dicht verschlossen halten.
 - Nebel/Dampf/Aerosol nicht einatmen.
 - Nach Gebrauch gründlich waschen.
 - Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
 - Vorgeschriebene persönliche Schutzausrüstung verwenden.
 - Reaktion
 - Bei Brand: Geeignete Mittel zum Löschen verwenden.
 - BEI EINATMEN: An die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert.
 - Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.
 - BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle beschmutzten, getränkten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen/duschen.
 - Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen.
 - Besondere Behandlung: Siehe zusätzliche Erste-Hilfe-Informationen.
 - BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen.
 - BEI VERSCHLUCKEN: Mund ausspülen. KEIN Erbrechen herbeiführen.
 - BEI Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
 - Bei Unwohlsein ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
 - Lagerung/Entsorgung
 - Entsorgen von Inhalten und/oder Behälter in Übereinstimmung mit den örtlichen, regionalen, nationalen und/oder internationalen Vorschriften.

G. Entnahme, Transport und Aufbewahrung der Patientenproben



Mit diesem Test kann resuspendiertes Sediment oder frisches Sputum bearbeitet werden. Zur Bestimmung eines geeigneten Probenvolumens vgl. Tabelle 1.

Tabelle 1. Erforderliches Probenvolumen

Probentyp	Mindestvolumen für einen Test	Mindestvolumen für einen Test und eine Testwiederholung
Sputumsediment	0,5 ml	1 ml
Frisches Sputum	1 ml	2 ml

Hinweis

Zur Gewinnung adäquater frischer Sputumproben müssen die Anweisungen in diesem Abschnitt befolgt werden. Der Patient muss sitzen oder stehen.

G.1 Lagerung und Transport



Proben vor der Bearbeitung möglichst bei 2–8 °C lagern und transportieren. Falls erforderlich, können die Proben jedoch ≤ 3 Tage lang bei maximal 35 °C und 4 bis 10 Tage lang bei 2–8 °C gelagert werden.

G.2 Probenentnahme

1. Den Patienten bitten, sich den Mund zwei Mal mit Wasser auszuspülen.
2. Den Deckel des Sputumentnahmebehälters öffnen.
3. Den Patienten bitten, tief einzuatmen, kräftig zu husten und das Material in den Behälter zu spucken. Verschütten und Verunreinigung der Behälteraußenseite vermeiden.
4. Den Deckel auf den Sammelbehälter aufschrauben und den Behälter in den Bearbeitungsbereich schicken.

H. Assayverfahren

H.1 Vorbereitung der Sputumsedimente

Hinweis

Proben mit sichtbaren Speiseresten oder anderen festen Partikeln sind zurückzuweisen.

Volumenanforderungen: Gemäß dem Verfahren von Kent und Kubica¹⁰ präparierte und in 67 mM Phosphat/H₂O-Puffer resuspendierte Sputumsedimente können mit dem Xpert MTB/RIF Assay getestet werden. Nach dem Resuspendieren sind mindestens 0,5 ml des Resuspensionssediments für den Xpert MTB/RIF Assay aufzubewahren.

1. Jede Xpert MTB/RIF-Kartusche mit der Proben-ID beschriften. Siehe Abbildung 1.

Hinweis

Zum Beschriften oder Befestigen eines ID-Etiketts die Seiten der Kartusche verwenden. Das Etikett weder auf den Deckel der Kartusche noch über den vorhandenen 2D-Barcode der Kartusche kleben.

2. Mit einer sterilen Pipette 0,5 ml des gesamten resuspendierten Pellets in ein konisches Röhrchen mit Schraubverschluss für den Xpert MTB/RIF transferieren. Alternativ kann die gesamte Probe im ursprünglichen Röhrchen bearbeitet werden.



Hinweis

Resuspendierte Sedimente bei 2–8 °C lagern, wenn sie nicht sofort bearbeitet werden. Maximal 12 Stunden lagern.

3. Mit einer Transferpipette 1,5 ml Xpert MTB/RIF-Probenreagenz (PR) zu 0,5 ml des resuspendierten Sediments geben.
4. 10 bis 20 Mal kräftig schütteln oder mindestens 10 Sekunden auf dem Vortex mischen.

Hinweis

Eine Vor- und Zurückbewegung wird hier als eine Schüttelbewegung gezählt.

5. Die Probe 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren und anschließend 10 bis 20 Mal kräftig schütteln oder mindestens 10 Sekunden auf dem Vortex mischen.
6. Die Probe weitere 5 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.

H.2 Vorbereitung der expektorierten Sputumprobe

Hinweis Proben mit sichtbaren Speiseresten oder anderen festen Partikeln sind zurückzuweisen.

1. Jede Xpert MTB/RIF-Kartusche mit der Proben-ID beschriften. Siehe Abbildung 1.

Hinweis Zum Beschriften oder Befestigen eines ID-Etiketts die Seiten der Kartusche verwenden. Das Etikett weder auf den Deckel der Kartusche noch über den vorhandenen 2D-Barcode der Kartusche kleben.

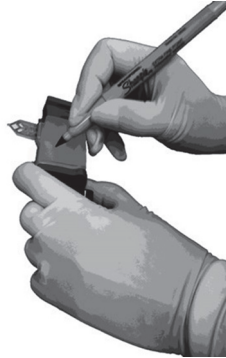


Abbildung 1. Beschriften der Kartusche mit einem Permanentmarkerstift

2. In einem auslaufsicheren Sputumentnahmebehälter:
 - A. Den Deckel des Sputumentnahmebehälters vorsichtig öffnen.



Abbildung 2. Öffnen des Probenbehälters

- B. Etwa das doppelte Probenreagenz-Volumen zum Sputum hinzugeben (2:1-Verdünnung, PR:Sputum).

Hinweis Das restliche Probenreagenz und die Flasche in einen Behälter für chemischen Abfall entsorgen.

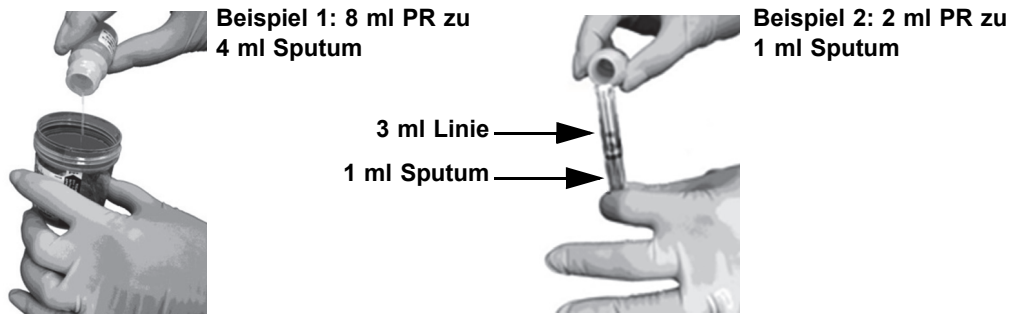


Abbildung 3. Beispiele für 2:1-Verdünnungen

- C. Deckel wieder fest aufschrauben.
- D. 10 bis 20 Mal kräftig schütteln oder mindestens 10 Sekunden auf dem Vortex mischen.

Hinweis Eine Vor- und Zurückbewegung wird hier als eine Schüttelbewegung gezählt.

3. Die Probe 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren und anschließend 10 bis 20 Mal kräftig schütteln oder mindestens 10 Sekunden auf dem Vortex mischen.
4. Die Probe weitere 5 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.

H.3 Vorbereitung der Kartusche

Hinweis

Bei Verwendung des GeneXpert Dx Systems muss der Test innerhalb von 4 Stunden nach der Zugabe der Probe zur Kartusche gestartet werden. Bei Verwendung des GeneXpert Infinity Systems muss der Test innerhalb von 30 Minuten nach der Zugabe der mit Probenreagenz behandelten Probe zur Kartusche gestartet und die Kartusche auf das Förderband gestellt werden. Die Xpertise Software verfolgt die verbleibende Haltbarkeit, damit Tests vor Ablauf der vier Stunden im System durchgeführt werden.

1. Zuerst den Kartuschendeckel und danach den Probenbehälter öffnen.
2. Die verflüssigte Probe mithilfe der mitgelieferten Transferpipette bis zur Linie auf der Pipette aspirieren. Falls das Volumen nicht ausreicht, darf die Probe nicht weiter bearbeitet werden. Siehe Abbildung 4.



Abbildung 4. Aspirieren bis zur Linie auf der Pipette

3. Die Probe in die Probenkammer der Xpert MTB/RIF-Kartusche transferieren. Die Probe langsam dispensieren, um das Risiko einer Aerosolbildung zu minimieren. Siehe Abbildung 5.



Abbildung 5. Dispensieren der dekontaminierten verflüssigten Probe in die Probenkammer der Kartusche

4. Den Kartuschendeckel fest verschließen.

Wichtig

Bei Verwendung des GeneXpert Dx Systems muss innerhalb von 4 Stunden nach der Zugabe der Probe zur Kartusche die Kartusche in das Instrument geladen und der Test gestartet werden. Bei Verwendung des GeneXpert Infinity Systems muss der Test innerhalb von 30 Minuten nach der Zugabe der mit Probenreagenz behandelten Probe zur Kartusche gestartet und die Kartusche auf das Förderband gestellt werden. Die Xpertise Software verfolgt die verbleibende Haltbarkeit, damit Tests vor Ablauf der vier Stunden im System durchgeführt werden.

H.4 Testbeginn

Wichtig

Sicherstellen, dass die Assay-Definitionsdatei (ADF) für den Xpert MTB/RIF Assay in die Software importiert wurde. In diesem Abschnitt werden die grundlegenden Schritte der Testdurchführung beschrieben. Eine ausführliche Anleitung findet sich im *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Dx System* bzw. *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Infinity 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-Instrument 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 GeneXpert Dx auf dem Windows®-Desktop gestartet werden.

oder

 - Bei Verwendung des GeneXpert Infinity-Instruments das Instrument hochfahren. Die GeneXpert-Software startet automatisch; eventuell müssen Sie sie durch Doppelklicken des Verknüpfungssymbols für die Xpertise-Software auf dem Windows-Desktop starten.
2. Melden Sie sich mit Ihrem Benutzernamen und Kennwort bei der Software des GeneXpert-Instrumentensystems an.
3. Klicken Sie im GeneXpert System-Fenster auf **Test erstellen (Create Test)** (GeneXpert Dx) bzw. **Anforderungen (Orders)** und **Test anfordern (Order Test)** (Infinity). Das Fenster „Test erstellen“ (Create Test) erscheint.
4. Scannen Sie die Patienten-ID (Patient ID) oder geben Sie sie manuell ein. Vermeiden Sie Tippfehler beim Eintippen der Patienten-ID (Patient ID). Die Patienten-ID (Patient ID) ist mit den Testergebnissen verknüpft. Sie wird im Fenster „Ergebnisse anzeigen“ (View Results) angezeigt und ist in allen Berichten enthalten.
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 „View Results“ (Ergebnisse anzeigen) sowie in allen Berichten.
6. Den Strichcode der Xpert MTB/RIF-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).
7. Klicken Sie auf **Test starten (Start Test)** (GeneXpert Dx) bzw. **Einreichen (Submit)** (Infinity). Geben Sie im Dialogfenster, das sich daraufhin öffnet, falls erforderlich Ihr Kennwort ein.
8. Bei Verwendung des GeneXpert Infinity Systems stellen Sie die Kartusche auf das Förderband. Die Kartusche wird automatisch geladen, der Test läuft und die benutzte Kartusche wird in einen 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 ab, bis das System die Klappenverriegelung freigibt. Öffnen Sie anschließend die Modulklappe und entnehmen Sie die Kartusche.
- D. Die benutzten Kartuschen müssen entsprechend den üblichen Praktiken der jeweiligen Einrichtung in geeigneten Proben-Abfallbehältern entsorgt werden.

H.5 Beseitigung gebrauchter Kartuschen

1. Gebrauchte Kartuschen sind in einem hartwandigen Behälter für biogefährliche Stoffe nach der in der Einrichtung üblichen Standardpraxis zu entsorgen. Siehe Abbildung 6.



Abbildung 6. Gebrauchte Kartuschen sachgemäß entsorgen

2. Gebrauchte Kartuschen dürfen nicht verbrannt werden. Siehe Abbildung 7.



Abbildung 7. Gebrauchte Kartuschen dürfen nicht verbrannt werden

3. Gebrauchte Kartuschen nicht auf einer Abfallhalde oder Mülldeponie entsorgen. Siehe Abbildung 8.



Abbildung 8. Gebrauchte Kartuschen nicht auf einer Mülldeponie entsorgen

H.6 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 Modell Sie verwenden.

Hinweis

Sollten Sie Ergebnisse mithilfe eines LIS berichten, prüfen Sie, ob die Ergebnisse mit LIS den Systemergebnissen für das Patienten-ID-Feld entsprechen. Wenn dies nicht der Fall ist, berichten Sie ausschließlich die Systemergebnisse.

1. Klicken Sie auf das Symbol **Ergebnisse anzeigen (View Results)**, um die Ergebnisse anzuzeigen.
2. 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.

I. Qualitätskontrolle

CONTROL

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

SPC: Stellt sicher, dass die Probe korrekt bearbeitet wurde. Die SPC enthält nicht infektiöse Sporen in Form einer trockenen Sporentablette und ist in jeder Kartusche enthalten, um die sachgemäße Bearbeitung des MTB zu verifizieren. Die SPC verifiziert, dass die Lyse von MTB eingetreten ist, sofern diese Organismen vorhanden sind, und dass die Bearbeitung der Patientenprobe adäquat ist. Ferner wird mit dieser Kontrolle auch eine durch die Probe verursachte Inhibition des Echtzeit-PCR-Assays detektiert.

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. Das Testergebnis ist **UNGÜLTIG (INVALID)**, wenn die SPC bei negativem Testergebnis nicht nachgewiesen wurde.

PCC: Vor Beginn der PCR-Reaktion misst das GeneXpert-Instrumentensystem das Fluoreszenzsignal der Sonden, um die Rehydrierung der Kügelchen, Füllung des Reaktionsbehälters, Unversehrtheit der Sonden und Stabilität des Farbstoffs zu überprüfen. Die PCC hat den Test „bestanden“, wenn sie die validierten Akzeptanzkriterien erfüllt.

J. Interpretation der Ergebnisse

Das GeneXpert-Instrumentensystem erzeugt die Ergebnisse ausgehend von den gemessenen Fluoreszenzsignalen und den integrierten Berechnungsalgorithmen. Die Ergebnisse können im Fenster „Ergebnisse anzeigen“ (View Results) angezeigt werden. Abbildung 9, Abbildung 10 und Abbildung 11 enthalten spezifische Beispiele, während in Tabelle 2 alle möglichen Ergebnisse aufgeführt sind.

Tabelle 2. Ergebnisse und Interpretationen des Xpert MTB/RIF Assays

Ergebnis	Interpretation
MTB ERMITTELT MITTEL; Rif Resistance NICHT ERMITTELT (MTB DETECTED MEDIUM; Rif Resistance NOT DETECTED) Siehe Abbildung 9.	Die MTB-Zielsequenz ist in der Probe vorhanden: <ul style="list-style-type: none"> • Es wurde keine Mutation im rpoB-Gen ermittelt. • PVK: KA (Keine Angabe). Ein SPC-Signal ist nicht erforderlich, da die MTB-Amplifikation mit dieser Kontrolle konkurrieren kann. • Sondentest: BEST. (PASS) Alle Ergebnisse mit Sondenprüfung waren erfolgreich.
MTB ERMITTELT GERING; Rif Resistance ERMITTELT (MTB DETECTED LOW; Rif Resistance DETECTED) Siehe Abbildung 10.	Die MTB-Zielsequenz ist in der Probe vorhanden: <ul style="list-style-type: none"> • Eine Mutation im rpoB-Gen wurde ermittelt, die innerhalb der gültigen Delta-Ct-Einstellung liegt. • PVK: KA (Keine Angabe). Ein SPC-Signal ist nicht erforderlich, da die MTB-Amplifikation mit dieser Kontrolle konkurrieren kann. • Sondentest: BEST. (PASS) Alle Ergebnisse mit Sondenprüfung waren erfolgreich.

Tabelle 2. Ergebnisse und Interpretationen des Xpert MTB/RIF Assays

Ergebnis	Interpretation
MTB ERMITTELT; Rif Resistance NICHT FESTSTELLBAR (MTB DETECTED; Rif Resistance INDETERMINATE)	Die MTB-Zielsequenz ist in der Probe vorhanden: <ul style="list-style-type: none"> • Die RIF-Resistenz konnte nicht bestimmt werden, da nicht genügend Signale erfasst wurden. • PVK: KA (Keine Angabe). Ein SPC-Signal ist nicht erforderlich, da die MTB-Amplifikation mit dieser Kontrolle konkurrieren kann. • Sondentest: BEST. (PASS) Alle Ergebnisse mit Sondenprüfung waren erfolgreich.
MTB nicht ermittelt (MTB Not Detected) Siehe Abbildung 11.	Die MTB-Zielsequenz wurde in der Probe nicht nachgewiesen: <ul style="list-style-type: none"> • PVK: BEST. (PASS) Die SPC erfüllt die Akzeptanzkriterien. • Sondentest: BEST. (PASS) Alle Ergebnisse mit Sondenprüfung waren erfolgreich.
UNGÜLTIG (INVALID)	An- oder Abwesenheit von MTB kann nicht bestimmt werden. Die SPC erfüllt nicht die Akzeptanzkriterien, die Probe wurde nicht sachgemäß bearbeitet oder die PCR war gehemmt. Der Test muss wiederholt werden. Siehe Abschnitt J.2, Testwiederholung. <ul style="list-style-type: none"> • MTB UNGÜLTIG (INVALID): An- oder Abwesenheit von MTB-DNA kann nicht bestimmt werden. • PVK: DEFEKT (FAIL). Das Ergebnis für die MTB-Zielsequenz ist negativ, und der SPC-Ct-Wert liegt nicht im gültigen Bereich. • Sondentest: BEST. (PASS) Alle Ergebnisse mit Sondenprüfung waren erfolgreich.
FEHLER (ERROR)	An- oder Abwesenheit von MTB kann nicht bestimmt werden. Der Test muss wiederholt werden. Siehe Abschnitt J.2, Testwiederholung. <ul style="list-style-type: none"> • MTB: KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) • PVK: KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) • Sondentest: DEFEKT (FAIL). Alle Ergebnisse oder ein Ergebnis des Sondentests war(en) nicht erfolgreich. Hinweis: Bei erfolgreicher Sondenprüfung geht der Fehler auf den Ausfall einer Systemkomponente zurück.
KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)	An- oder Abwesenheit von MTB kann nicht bestimmt werden. Der Test muss wiederholt werden. Siehe Abschnitt J.2, Testwiederholung. KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) bedeutet, dass nicht genügend Daten erfasst wurden. Beispielsweise könnte der Bediener den Test abgebrochen haben, bevor er abgeschlossen war. <ul style="list-style-type: none"> • MTB: KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) • PVK: KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) • Sondentest: KA (Keine Angabe).

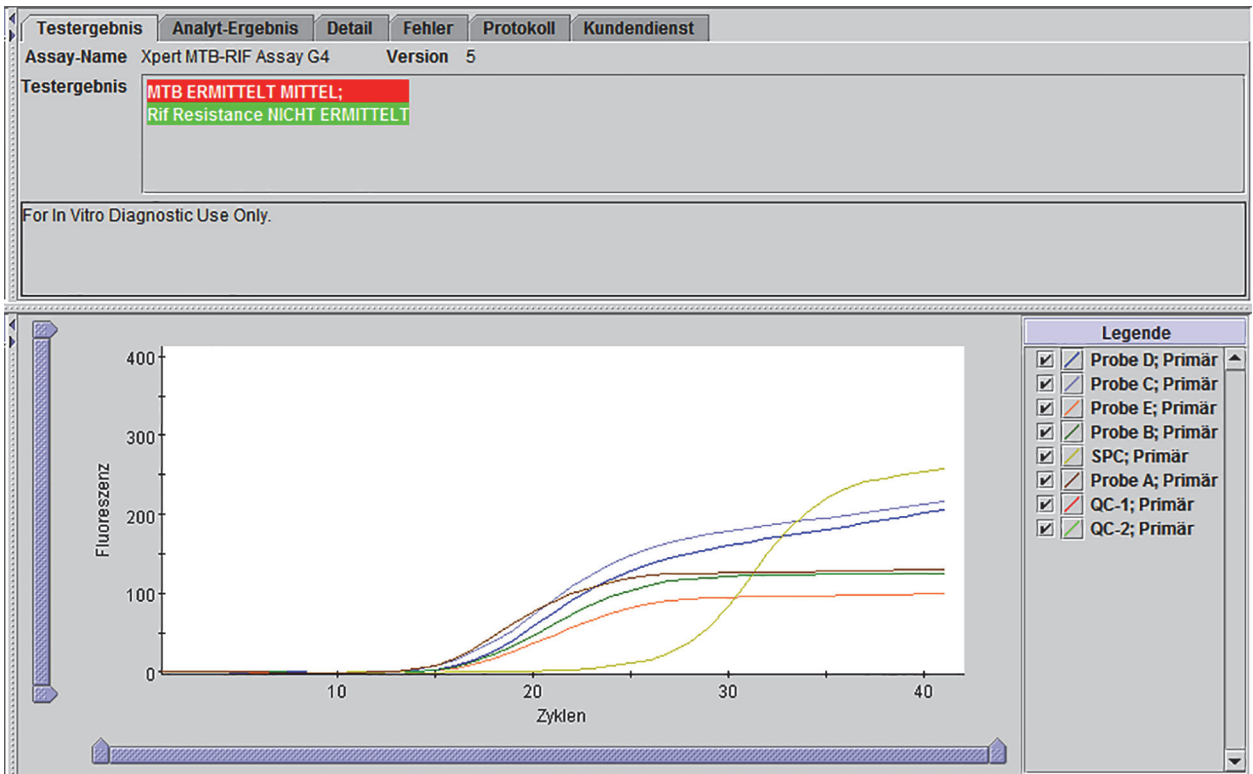


Abbildung 9. MTB ERMITTELT MITTEL, Rif Resistance NICHT ERMITTELT (Ansicht für „Detail“-Benutzer von GeneXpert Dx)

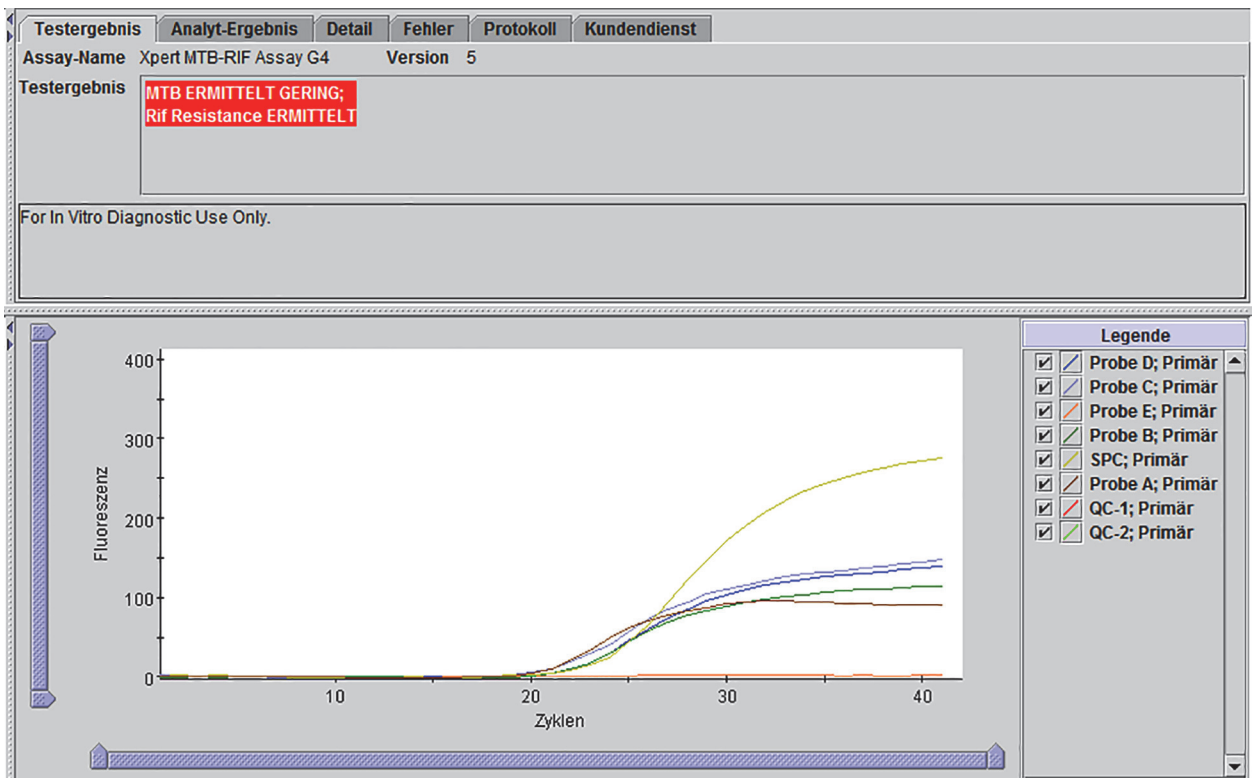


Abbildung 10. MTB ERMITTELT GERING, Rif Resistance ERMITTELT (Ansicht für „Detail“-Benutzer von GeneXpert Dx)

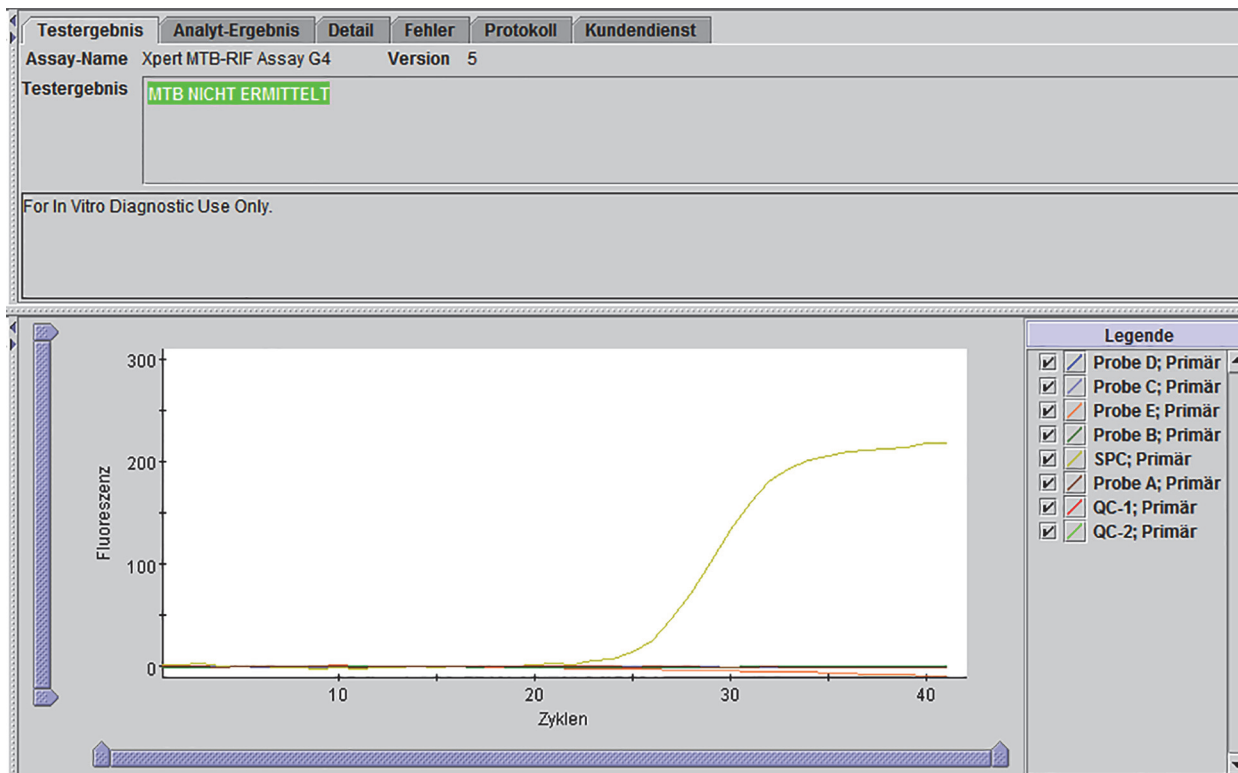


Abbildung 11. MTB NICHT ERMITTELT (Ansicht für „Detail“-Benutzer von GeneXpert Dx)

J.1 Gründe für eine Wiederholung des Assays

Der Test muss mit einer neuen Kartusche wiederholt werden, wenn eines der folgenden Testergebnisse auftritt:

- Das Ergebnis **UNGÜLTIG (INVALID)** bedeutet, dass die Probenbearbeitungskontrolle (PVK) fehlgeschlagen ist. Die Probe wurde nicht sachgemäß bearbeitet oder die PCR wurde gehemmt.
- Das Ergebnis **FEHLER (ERROR)** bedeutet, dass die PCC fehlgeschlagen ist und der Assay abgebrochen wurde. Mögliche Ursachen: unzureichende Füllung des Reaktionsbehälters, Problem mit der Unversehrtheit der Reagenziensonden, Überschreitung der maximalen Druckgrenzwerte oder defektes GeneXpert-Modul.
- **KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)** bedeutet, dass nicht genügend Daten erfasst wurden. Beispielsweise könnte der Bediener den Test abgebrochen haben, bevor er abgeschlossen war.

J.2 Testwiederholung

Wenn frisches Sputum oder rekonstituiertes Sediment übrig ist, ist zur Dekontamination und Verflüssigung des Sputums vor Durchführung des Tests stets frisches Probenreagenz zu verwenden. Vgl. Abschnitt H.1, Vorbereitung der Sputumsedimente oder Abschnitt H.2, Vorbereitung der expektorierten Sputumprobe.

Falls eine ausreichende Restmenge an PR-behandelter Probe übrig ist und maximal 4 Stunden zurückliegen, seit PR erstmals der Probe zugegeben worden ist, kann die Probenrestmenge verwendet werden, um eine neue Kartusche vorzubereiten und zu bearbeiten. Für Testwiederholungen stets eine neue Kartusche verwenden. Siehe Abschnitt H.3, Vorbereitung der Kartusche.

Hinweis

Bei Verwendung des Infinity-Instruments sollte die Testwiederholung auf Modulen gestartet werden, die als reservierte STAT-Module gekennzeichnet sind.

K. Einschränkungen

Die Leistung des Xpert MTB/RIF Assays wurde anhand der Prozeduren geprüft, die in der Packungsbeilage beschrieben sind. Änderungen an diesen Vorgehensweisen können die Leistung des Tests beeinträchtigen. Ergebnisse des Xpert MTB/RIF Assays sollten unter Berücksichtigung anderer Labor- und klinischer Daten interpretiert werden, die dem Kliniker zur Verfügung stehen.

Da der Nachweis von MTB von der Anzahl der Organismen in der Probe abhängig ist, ist die ordnungsgemäße Entnahme, Handhabung und Lagerung der Proben zur Erzielung verlässlicher Ergebnisse unverzichtbar. Zu fehlerhaften Testergebnissen kann es kommen, wenn die Probe unsachgemäß entnommen wurde, wenn die empfohlenen Verfahren zur Probenentnahme, Handhabung oder Lagerung nicht befolgt wurden, wenn technische Fehler aufgetreten sind, Proben verwechselt wurden oder das Ausgangsmaterial eine unzureichende Konzentration aufweist. Zur Vermeidung fehlerhafter Ergebnisse sind die Anweisungen in dieser Beilage zu befolgen.

Ein positives Testergebnis weist nicht zwingend auf das Vorhandensein lebensfähiger Organismen hin. Jedoch muss vermutet werden, dass MTB und RIF-Resistenz vorhanden sind.

Testergebnisse können durch vorangegangene oder gleichzeitig erfolgende Antibiotika-Therapien beeinflusst werden. Der Therapieerfolg bzw. das Therapieversagen kann daher nicht mit diesem Test bewertet werden, da die DNA nach einer antimikrobiellen Therapie u. U. weiterhin vorhanden ist.

Mutationen oder Polymorphismen in Primer oder Sonden bindenden Regionen können den Nachweis von neuen oder unbekanntem MDR-MTB- bzw. RIF-resistenten Stämmen beeinträchtigen und zu einem falsch negativen Ergebnis führen.

Bei semiquantitativen Ergebnissen, die auf **MTB ERMITTELT GERING (MTB DETECTED LOW)** bzw. **MTB ERMITTELT SEHR GERING (MTB DETECTED VERY LOW)** zusammen mit **RIF-Resistenz ERMITTELT (RIF Resistance DETECTED)** lauten, muss das Rifampicin-Resistenzergebnis eventuell mittels DST oder einer sonstigen Methode bestätigt werden, insbesondere wenn nur ein geringer klinischer Verdacht auf MDR-TB besteht.

L. Leistungsmerkmale

In diesem Abschnitt werden die Leistungsmerkmale und Einschränkungen des Xpert MTB/RIF Assays beschrieben.

L.1 Leistungstest - Klinisch

Die Leistungsmerkmale des Xpert MTB/RIF Assays auf TB und zum Nachweis einer Rifampicin-Resistenz wurden in fünf Einrichtungen in Asien, Europa, Afrika und Südamerika evaluiert.¹¹

Die Studie wurde im Einklang mit dem Protokoll der Stiftung für innovative neue Diagnostika (Foundation for Innovative New Diagnostics, FIND) *Xpert MTB Evaluation Study: Evaluation of the FIND/Cepheid Xpert MTB assay for the detection of pulmonary TB in sputum of symptomatic adults* (Xpert MTB-Evaluierungsstudie: Evaluierung des FIND/Cepheid Xpert-Tests zum Nachweis von Lungen-TB im Sputum symptomatischer Erwachsener) durchgeführt.

Die Probanden waren Personen mit Symptomen einer Lungen-TB und Risiko für Mehrfachresistenz gegen Medikamente. Von den infrage kommenden Probanden wurden jeweils drei Sputumproben für die Untersuchung mit dem Xpert MTB/RIF Assay und mit dem Referenztest genommen.

Die Leistung des Xpert MTB/RIF Assays wurde verglichen mit:

- ZN-Ausstrichmikroskopie¹²
- Flüssigkulturen (Becton Dickinson BACTEC™ 960 MGIT™) und festen Kulturen (Löwenstein-Jenson)¹³
- Arzneimittelempfindlichkeitstests (AET) hinsichtlich L-J-Anteil oder auf MGIT bei mindestens vier First-Line-Medikamenten¹⁴
- NAAT-Standardtests (Gen-Probe Amplified Mycobacterium TB Direct Test und Roche AMPLICOR® MTB Test) bei Durchführung

Die Proben waren Sputumproben, die im Rahmen von Routinetests von Patienten mit Verdacht auf Tuberkuloseinfektion und mit Risiko einer TB mit Mehrfachresistenz gegen Arzneimittel genommen wurden.

L.2 Gesamtergebnisse

Insgesamt 1448 Sputumproben wurden mit dem Xpert MTB/RIF Assay, Ausstrich-Mikroskopie und Bakterienkultur auf MTB und RIF-Resistenz getestet. Die Proben an drei der Einrichtungen wurden außerdem mit dem AMPLICOR MTB-Test (UCT, Südafrika und Indien) oder dem Amplified Mycobacterium TB Direct Test (Aserbaidschan) beurteilt. Von den 1448 Teilnehmern hatten 563 ausstrich- und kulturpositive TB (S+C+), 170 hatten ausstrichnegative, kulturpositive TB (S-C+) und bei 618 konnte TB ausgeschlossen werden. Die verbleibenden 97 Patienten wurden ausgehend vom klinischen Symptombild gegen TB behandelt und erzielten unter TB-Behandlung eine Besserung, wurden aber nicht durch Ausstrich-Mikroskopie oder Kultur getestet; diese Patienten wurden bei den in den Tabellen aufgeführten Datenanalysen nicht berücksichtigt.

L.3 MTB-Nachweisergebnisse

Bei Berücksichtigung der Kombination von drei Sputumproben pro Patient zeigte der Xpert MTB/RIF Assay bei kulturpositiven Proben insgesamt eine Sensitivität von 97,3% (713/733). Bei Patienten mit dem Status S+C+ betrug die Sensitivität des Xpert MTB/RIF Assays 99,5% (560/563); bei Patienten mit dem Status S-C+ betrug die Sensitivität 90,0% (153/170). Die Spezifität des Xpert MTB/RIF Assays bei Patienten ohne TB betrug 97,9% (605/618). Siehe Tabelle 3.

Tabelle 3. Leistung des Xpert MTB/RIF Assays bei Sputumproben^{a,b}

Zentrum	Sensitivität S+C+	Sensitivität S-C+	Spezifität
Peru	100% (199/199) [98,1%-100%]	83,3% (10/12) [55,2%-95,3%]	100% (102/102) [96,4%-100%]
Aserbaidshan	100% (76/76) [95,2%-100%]	92,3% (60/65) [83,2%-96,7%]	95,8% (69/72) [88,5%-98,6%]
Südafrika-1	99,0% (95/96) [94,3%-99,8%]	90,4% (47/52) [79,4%-95,8%]	98,4% (186/189) [95,4%-99,5%]
Südafrika-2	100% (30/30) [88,6%-100%]	86,7% (13/15) [62,1%-96,3%]	97,3% (213/219) [94,2%-98,7%]
Indien	98,8% (160/162) [95,6%-99,7%]	88,5% (23/26) [71,0%-96,0%]	97,2% (35/36) [85,8%-99,5%]
Gesamt	99,5% (560/563) [98,4%-99,8%]	90,0% (153/170) [84,6%-93,7%]	97,9% (605/618) [96,4%-98,8%]

- a. Repräsentiert Ergebnisse von 3 Xpert-Tests, 3 Ausstrichen und 4 Kulturen.
b. S=Ausstrich; C=Kultur

Wenn nur eine einzelne direkte Sputumprobe berücksichtigt wurde, betrug die Sensitivität des MTB/RIF Assays bei S+C+-Patienten 97,8% (545/557) und bei S-C+-Patienten 73,1% (122/167). Die Spezifität bei Patienten ohne TB betrug 99,0% (605/611).

L.4 RIF-Resistenz

Bei Berücksichtigung der Kombination der Ergebnisse von drei Sputumproben pro Patient zeigte der Xpert MTB/RIF Assay hinsichtlich des Nachweises einer RIF-Resistenz bei phänotypischen RIF-resistenten Patienten insgesamt eine Sensitivität von 96,1% (195/203). Die Spezifität des Xpert MTB/RIF Assays bei phänotypischen RIF-sensitiven Patienten betrug 98,6% (502/509). Siehe Tabelle 4.

Tabelle 4. Leistung des Xpert MTB/RIF Assays bei Sputumproben^a

Zentrum	Sensitivität bei RIF-resistenten Fällen	Spezifität bei RIF-sensitiven Fällen
Peru	100% (16/16) [80,6%-100%]	98,4% (190/193) [95,5%-99,5%]
Aserbaidshan	95,5% (42/44) [84,9%-98,7%]	98,9% (90/91) [94,0%-99,8%]
Südafrika-1	93,8% (15/16) [71,7%-98,9%]	100% (126/126) [97,0%-100%]

Tabelle 4. Leistung des Xpert MTB/RIF Assays bei Sputumproben^a (Fortsetzung)

Zentrum	Sensitivität bei RIF-resistenten Fällen	Spezifität bei RIF-sensitiven Fällen
Südafrika-2	100% (3/3) [43,8%-100%]	100% (38/38) [90,8%-100%]
Indien	96,0% (119/124) [90,9%-98,3%]	95,1% (58/61) [86,5%-98,3%]
Gesamt	96,1% (195/203) [92,4%-98,0%]	98,6% (502/509) [97,2%-99,3%]

a. Repräsentiert Ergebnisse von 3 Xpert-Tests, 3 Ausstrichen und 4 Kulturen.

Wenn nur eine einzelne direkte Sputumprobe berücksichtigt wurde, betrug die Sensitivität des MTB/RIF Assays hinsichtlich des Nachweises einer RIF-Resistenz bei RIF-resistenten Patienten 97,2% (141/145). Die Spezifität bei RIF-sensitiven Fällen betrug 98,3% (412/419). Siehe Tabelle 5.

Tabelle 5. Leistung des Xpert MTB/RIF Assays bei Sputumproben^a

Zentrum	Sensitivität bei RIF-resistenten Fällen	Spezifität bei RIF-sensitiven Fällen
Peru	100% (16/16) [80,6%-100%]	98,4% (180/183) [95,3%-99,4%]
Aserbaidshen	97,4% (38/39) [86,8%-99,5%]	98,7% (74/75) [92,8%-99,8%]
Südafrika-1	90,9% (10/11) [62,3%-98,4%]	98,1% (102/104) [93,3%-99,5%]
Südafrika-2	100% (1/1) [20,7%-100%]	100% (23/23) [85,7%-100%]
Indien	97,4% (76/78) [91,1%-99,3%]	97,1% (33/34) [85,1%-99,5%]
Gesamt	97,2% (141/145) [93,1%-98,9%]	98,3% (412/419) [96,6%-99,2%]

a. Repräsentiert Ergebnisse von 1 direkten Xpert-Test, 3 Ausstrichen und 4 Kulturen.

Die Ergebnisse des Xpert MTB/RIF Assays bei Proben von denjenigen Einrichtungen, an denen auch ein NAAT-Test durchgeführt wurde, gehen aus Tabelle 6 hervor. Zum Vergleich ist das NAAT-Testergebnis angegeben.

Tabelle 6. Vergleich der Leistung des Xpert MTB/RIF Assays und des NAAT-Alternativtests bei Sputumproben

Statistik	Test ^a	Aserbaidschan	Südafrika-1	Indien	Gesamt
Sensitivität S+C+	Xpert(3)	100% (76/76) [95,2%-100%]	99,0% (95/96) [94,3%-99,8%]	98,8% (160/162) [95,6%-99,7%]	99,1% (331/334) [97,4%-99,8%]
	Xpert(1)	97,3% (73/75) [90,8%-99,3%]	96,8% (92/95) [91,1%-98,9%]	98,8% (159/161) [95,6%-99,7%]	97,9% (324/331) [95,7%-99,2%]
	NAAT	100% (76/76) [95,2%-100%]	93,7% (89/95) [86,9%-97,1%]	94,2% (147/156) [89,4%-96,9%]	95,4% (312/327) [92,3%-97,4%]
Sensitivität S-C+	Xpert(3)	92,3% (60/65) [83,2%-96,7%]	90,4% (47/52) [79,4%-95,8%]	88,5% (23/26) [71,0%-96,0%]	90,9% (130/143) [85,0%-95,1%]
	Xpert(1)	68,8% (44/64) [56,6%-78,8%]	86,3% (44/51) [74,3%-93,2%]	69,2% (18/26) [50,0%-83,5%]	75,2% (106/141) [67,2%-82,1%]
	NAAT	66,2% (43/65) [54,0%-76,5%]	45,7% (16/35) [30,5%-61,8%]	72,0% (18/25) [52,4%-85,7%]	61,6% (77/125) [52,5%-70,2%]
Spezifität	Xpert(3)	95,8% (69/72) [88,5%-98,6%]	98,4% (186/189) [95,4%-99,5%]	97,2% (35/36) [85,8%-99,5%]	97,6% (290/297) [95,2%-99,1%]
	Xpert(1)	97,2% (69/71) [90,3%-99,2%]	99,5% (185/186) [97,0%-99,9%]	100% (35/35) [90,1%-100%]	99,0% (289/292) [97,0%-99,8%]
	NAAT	95,8% (69/72) [88,5%-98,6%]	100% (187/187) [98,0%-100%]	100% (36/36) [90,4%-100%]	99,0% (292/295) [97,1%-99,8%]

- a. Xpert(3) = Ergebnisse von 3 Xpert-Tests, 3 Ausstrichen und 4 Kulturen; Xpert(1) = Ergebnisse von 1 direkten Xpert-Test, 3 Ausstrichen und 4 Kulturen; NAAT = ProbeTec (Aserbaidschan) und AMPLICOR (Südafrika und Indien); NAAT „borderline“ (grenzwertig) wurde als negativ behandelt.

Von den in Verbindung mit dieser Studie durchgeführten Durchläufen mit dem Xpert MTB/RIF Assay waren 96,5% (4327/4484) bereits beim ersten Versuch erfolgreich. Die verbleibenden 157 ergaben beim ersten Versuch unbestimmte Ergebnisse. Einhundertacht der 157 Proben ergaben bei Testwiederholung gültige Ergebnisse. Die Gesamterfolgsquote des Tests betrug 98,9% (4435/4484).

L.5 Störsubstanzen

Es wurde eine Studie zur Beurteilung potenzieller inhibitorischer Wirkungen von Substanzen durchgeführt, die u. U. in mit dem Xpert MTB/RIF Assay bearbeitetem Sputum vorhanden sein können. Dies sind insbesondere Blut, Eiter, Säugetierzellen und Hämoglobin. Diese Substanzen wurden bei einer Endkonzentration in der Probe von 5% (Blut, Eiter, Säugetierzellen) bzw. 0,2% (Hämoglobin) getestet, um eine ggf. vorhandene Wirkung auf die Leistung des Xpert MTB/RIF zu ermitteln. Die Substanzen wurden jeweils einer Probe zugesetzt, die BCG-Zellen beim 5-Fachen der Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) enthielt, und zweifach getestet.

Eine inhibitorische Wirkung wurde bei keinem der oben genannten potenziellen Inhibitoren beobachtet.

L.6 Analytische Sensitivität

Zusätzliche Studien wurden durchgeführt, um das 95%-Vertrauensintervall für die analytische Nachweisgrenze (LoD) dieses Assays zu bestimmen. Die Nachweisgrenze ist definiert als die niedrigste Anzahl der Kolonien bildenden Einheiten (KBE) pro Probe, die reproduzierbar von negativen Proben mit einer Zuverlässigkeit von 95% unterschieden werden können. Die analytische Nachweisgrenze wurde ermittelt, indem 20 Duplikate von *M. tuberculosis*-Zellen in unterschiedlichen Konzentrationen getestet wurden, die klinisch negativen Sputumproben beigelegt worden waren. Unter den Bedingungen der Studie lag der Punkt-Schätzwert von *M. tuberculosis* bei 131 KBE/ml mit einem 95% igen Vertrauensintervall zwischen 106,2 KBE und 176,4 KBE. Der Schätzwert und die Vertrauensniveaus wurden unter Verwendung der logistischen Regressionsanalyse ermittelt, anhand von Daten (Anzahl der Positiven pro Anzahl der Tests auf jeder Stufe) basierend auf unterschiedlichen Konzentrationen.

Die Vertrauensintervalle wurden mithilfe der maximalen Wahrscheinlichkeitsberechnung basierend auf den logistischen Modellparametern unter Verwendung der Varianz-Kovarianz-Matrix für große Probenzahlen ermittelt.

L.7 Analytische Spezifität (Exklusivität)

Es wurden Kulturen von 18 atypischen Mykobakterien-Stämmen, NTM (vormals MOTT), mit dem Xpert MTB/RIF Assay getestet. Jedes einzelne Isolat wurde mindestens zweimal negativen Sputumproben beigelegt und bei einer Konzentration von 10^6 KBE/ml getestet. Siehe Tabelle 7.

Tabelle 7. Auf ihre Spezifität getestete NTM-Stämme

Getestete NTM-Stämme (10^6 KBE/ml)			
1	<i>M. avium</i> , SmT Mc2, 2500	10	<i>M. genevenses</i> , Nr. 51233
2	<i>M. avium</i> , SmD Mc2, 2501	11	<i>M. xenopi</i> , Nr. 2278
3	<i>M. intracellulare</i> , Nr. 35790	12	<i>M. szulgai</i> , Cap E9-1997
4	<i>M. intracellulare</i> , Nr. 35771	13	<i>M. celatum</i> , Nr. 51131
5	<i>M. kansasii</i> , Nr. 12478	14	<i>M. marinum</i> , Cap E10
6	<i>M. scrofulaceum</i> , Cap E5-1985	15	<i>M. simiae</i> , Nr. 25275
7	<i>M. malmoense</i> , Nr. 29571	16	<i>M. asiaticum</i> , E1-1985
8	<i>M. fortuitum</i> , Nr. 35754	17	<i>M. thermoresistabile</i> , e22-1985
9	<i>M. chelonae</i> , Nr. 35749	18	<i>M. flavescens</i> , PoH 193D

Alle NTM-Isolate wurden unter den Studienbedingungen der Studie als MTB-negativ getestet.

Um festzustellen, ob hohe NTM-Konzentrationen den Nachweis von TB in geringer Konzentration stören, wurden zusätzlich die in Tabelle 7 aufgeführten Stämme mit dem TB-Stamm H37Rv in Sputum auf eine Endkonzentration von 10^6 KBE/ml NTM und 200 KBE/ml H37Rv gemischt.

Die auf eine mögliche Störung des TB-Nachweises getesteten NTM-Stämme waren:

- *M. avium*, SmT Mc2, 2500
- *M. avium*, SmD Mc2, 2501
- *M. intracellulare*, Nr. 35790
- *M. intracellulare*, Nr. 35771
- *M. kansasii*, Nr. 12478
- *M. malmoense*, Nr. 29571

Die vier Stämme störten den Nachweis von 200 KBE/ml *M. tuberculosis* nicht; d. h. die Signale waren identisch mit denen beim Test mit ausschließlich H37Rv. Der sechste Stamm, *M. malmoense*, erzeugte eine schwache Störung bei 10^6 KBE/ml, jedoch nicht bei 10^5 KBE/ml und darunter. Daher wird der Nachweis von *M. tuberculosis* selbst bei 10^5 KBE/ml NTM nicht gestört.

Nicht-Mykobakterium-Organismen (n = 59), die ein breites Spektrum von Krankheitserregern, häufigen Verunreinigungen und der im Sputum bzw. Mund häufig anzutreffenden Mikroflora repräsentieren, wurden in einer Konzentration von 10^6 DNA-Kopien pro endgültigem Reaktionsvolumen getestet. Der Xpert MTB/RIF Assay identifizierte alle Organismen korrekt als MTB-negativ. Es wurden Positiv- und Negativkontrollen in die Studie mit einbezogen. Die Spezifität betrug 100%.

L.8 Auf ihre Spezifität getestete Spezies/Stämme

Die auf ihre Spezifität getesteten Spezies/Stämme gehen aus Tabelle 8 hervor.

Tabelle 8. Auf ihre Spezifität getestete Spezies/Stämme

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Actinomyces meyeri</i>	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Bordetella parapertussis</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Staphylococcus capitis</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Listeria grayi</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus equi</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Neisseria lactamica</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	<i>Streptococcus constellatus</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Escherichia coli</i> (Stamm Typ 2)	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Streptococcus uberis</i>
<i>Escherichia coli</i> O157/H7 (Stamm Typ 1)	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	

L.9 Analytische Inklusivität

Mit dem des für DNA-Tests angepassten Xpert MTB/RIF-Protokolls wurden DNA-Proben von insgesamt 79 MTB-Stämmen auf dem GX getestet. Die endgültigen Reaktionskomponenten und die PCR-Cycling-Bedingungen wurden unverändert aus dem zur Testung von Patientenproben entwickelten Protokoll übernommen. Siebzig der Stämme stammten aus der Sammlung des Forschungsprogramms Tropenkrankheiten der WHO (WHO/TDR) und 9 aus der Laborsammlung der University of Medicine and Dentistry of New Jersey (UMDNJ), USA. Zusammen stellen diese Stämme Isolate aus 31 Ländern dar und enthielten 37 RIF-resistente Isolate, die aus 13 einmaligen Mutationen der *rpoB*-Kernregion bestanden. Diese schließen jede bekannte *rpoB*-Mutation aus der TDR-Datenbank ein. Für die negativen Reaktionen wurde als Probe Wasser verwendet.

Die endgültige Reaktionsmischung enthielt 90 Genkopien der Isolate in einem Gesamtvolumen von 100 µl.

Tabelle 9 zeigt, dass der Xpert MTB/RIF alle MTB-Stämme korrekt nachweisen und die RIF-resistenten Isolate korrekt identifizieren konnte.

Tabelle 9. Nachweis von MTB-Stämmen und RIF-resistenten Isolaten

		GeneXpert-Ergebnis			
		MTB-positiv		MTB-negativ	
		RIF ermittelt	RIF nicht ermittelt		
Referenz	MTB +	RIF-Resistenz	37	0	0
		RIF-sensitiv	0	42	0
	MTB –		0	0	52

L.10 Analytische Inaktivierung von Mykobakterien in Sputumproben

Die Desinfektionswirkung des Xpert MTB/RIF-Probenreagenzes wurde mithilfe einer standardisierten quantitativen tuberkuloziden Kulturmethode nachgewiesen.¹⁵ Sputumproben wurden mit lebenden *M.-bovis*-Stämmen in hoher Konzentration versetzt, im Verhältnis 2:1 mit dem Probenreagenz vermischt und 15 Minuten lang inkubiert. Nach der Inkubation wurde die Probenreagenz/Sputummischung durch Dilution und Filtration neutralisiert. Anschließend wurden Kulturen angesetzt. Die Lebensfähigkeit der *M.-bovis*-Organismen aus dem behandelten Sputum war im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle um mindestens 6 Logarithmenstufen herabgesetzt.

Jedes Labor muss die Desinfektionswirkung des Probenreagenzes mit seinen eigenen standardisierten Methoden bestimmen und die empfohlenen Vorschriften hinsichtlich der biologischen Sicherheit einhalten.

M. Literatur

1. WHO report 2008. http://www.who.int/tb/publications/global_report/2008
2. Anti-tuberculosis resistance in the world: fourth global report. WHO/HTM/TB/2008.394
3. Morris SL, Bai G, Suffys P, Portillo-Gomez L, Fairchok M, Rouse D. *Molecular mechanisms of multidrug resistance in clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis*. J Infect Dis 1995; 171:954-60.
4. Ashok Rattan, Awdhesh Kalia, and Nishat Ahmad. *Multidrug-Resistant Mycobacterium tuberculosis: Molecular Perspectives*, Emerging Infectious Diseases, Vol.4 No.2, <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol4no2/rattan.htm>
5. Francis J. Curry National Tuberculosis Center and California Department of Public Health, 2008: *Drug-Resistant Tuberculosis, A Survival Guide for Clinicians*, Second Edition.
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. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
8. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
9. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpart Z).
10. Kent PT, Kubica GP 1985. Public Health Mycobacteriology—*A Guide for Level III Laboratory*, Centers of Disease Control, Atlanta, Publication no. PB 86-216546.
11. Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, Nicol MP, et al. *Rapid Molecular Detection of Tuberculosis and Rifampin Resistance*. N Engl J Med 2010;363:1005-15.
12. Laboratory Services in Tuberculosis Control: Part II, Microscopy WHO/TB/98.258; p 1-61.
13. Laboratory Services in Tuberculosis control: Part III Culture. WHO/TB/98.258. p 1- 74.
14. NCCLS, Susceptibility testing of Mycobacteria, Nocardia, and other Aerobic Actinomycetes: Approved Standard. NCCLS document M24-A (ISBN 1- 56238-500-3). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087 – 1898, USA. 2003.
15. Banada, P. et al. Containment of Bioaerosol Infection Risk by the Xpert MTB/RIF Assay and Its Applicability to Point-of-Care Settings. Journal of Clinical Microbiology. 2010. 48:10. 3551-3557.

N. Standorte der Cepheid-Zentralen

Konzernzentrale

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

Konzernzentrale in Europa

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

O. Technische Unterstützung

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

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





















Kontaktdaten

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

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

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

P. Symbolerklärung

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



Cepheid AB
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



