

Xpert® Carba-R

REF **GXCARBARP-CE-10**

GXCARBARP-CE-120

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®] and Xpert[®] are trademarks of Cepheid.

Remel[™] is a trademark of Remel.

BBL[™] and Sensi-Disc[™] are trademarks of Becton Dickinson.

Windows[®] is a trademark of Microsoft Corporation.

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

Copyright © Cepheid 2018-2023. All rights reserved.

Marken-, Patent- und Urheberschutzangaben

Cepheid[®], das Cepheid-Logo, GeneXpert[®] und Xpert[®] sind Marken von Cepheid.

Remel[™] ist eine Marke von Remel.

BBL[™] und Sensi-Disc[™] sind Marken von Becton Dickinson.

Windows[®] ist eine Marke der Microsoft Corporation.

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

Copyright © Cepheid 2018-2023. Alle Rechte vorbehalten.



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA
Phone: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France
Phone: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301

Xpert[®] Carba-R

Nur zum Gebrauch als *In-vitro*-Diagnostikum

1 Markenname

Xpert[®] Carba-R

2 Gebräuchlicher oder üblicher Name

Xpert Carba-R Assay

3 Verwendungszweck

Der auf den GeneXpert[®] Instrumentensystemen durchgeführte Xpert Carba-R Assay ist ein qualitativer *In-vitro*-Diagnostiktest für den Nachweis und die Differenzierung der mit Carbapenem-Nichtempfindlichkeit assoziierten *bla*_{KPC}⁻, *bla*_{NDM}⁻, *bla*_{VIM}⁻, *bla*_{OXA-48}⁻ und *bla*_{IMP}⁻-Gensequenzen. Der Test verwendet das Prinzip der automatisierten Polymerase-Kettenreaktion (PCR) in Echtzeit.

Der Xpert Carba-R Assay ist bei der Infektionskontrolle als Hilfsmittel für den Nachweis von Carbapenem-nichtempfindlichen Bakterien vorgesehen, die Patienten in einem Krankenhaus oder einer Pflegeeinrichtung kolonisieren. Ein negatives Xpert Carba-R Assayergebnis schließt das Vorhandensein anderer Resistenzmechanismen nicht aus.

Der Xpert Carba-R Assay kann mit folgenden Probenotypen verwendet werden:

Reine Kolonien

Der Assay wird an Carbapenem-nichtempfindlichen reinen Kolonien von Enterobakterien, *Acinetobacter baumannii* oder *Pseudomonas aeruginosa* durchgeführt, die auf Blutagar oder MacConkey-Agar kultiviert wurden. Beim Testen reiner Kolonien sollte der Xpert Carba-R Assay in Verbindung mit anderen Labortests, einschließlich phänotypischer antimikrobieller Empfindlichkeitstests, verwendet werden.

Der Arzt kann die Identifikation eines *bla*_{IMP}⁻, *bla*_{NDM}⁻ oder *bla*_{VIM}⁻-Metallo-Beta-Lactamase-Gens (d. h. die Gene, die für die Metallo-beta-Lactamasen IMP, NDM bzw. VIM kodieren) als Hilfsmittel bei der Bestimmung geeigneter therapeutischer Strategien für Patienten mit bekannten oder vermuteten Carbapenem-nichtempfindlichen bakteriellen Infektionen verwenden.

Rektale und perirektale Abstrichproben

Der Assay wird an rektalen und perirektalen Abstrichproben von Patienten durchgeführt, bei denen das Risiko einer Darmbesiedlung mit Carbapenem-nichtempfindlichen Bakterien besteht. Es müssen gleichzeitig Kulturen angelegt werden, um Organismen für die epidemiologische Typisierung, antimikrobielle Empfindlichkeitstests und die zusätzliche bestätigende Identifizierung der Bakterien zu gewinnen.

Bei Durchführung an rektalen und perirektalen Abstrichproben ist der Xpert Carba-R Assay nicht zur Behandlungsführung bzw. -überwachung von Carbapenem-nichtempfindlichen bakteriellen Infektionen vorgesehen oder zur Bestimmung einer Infektion durch Carbapenem-nichtempfindliche Bakterien.

4 Zusammenfassung und Erklärung

Die weltweite Verbreitung von Carbapenemase-produzierenden Enterobakterien, *Pseudomonas-aeruginosa* und *Acinetobacter*-Arten (d. h. Carbapenem-nichtempfindlichen Organismen, CRO) stellt ein ernstes medizinisches und volksgesundheitliches Problem dar.^{1,2} Diese Bakterien sind häufig gegen alle Beta-Lactame und oft gleichzeitig gegen mehrere Klassen anderer antimikrobieller Mittel resistent, sodass die Behandlungsoptionen stark eingeschränkt sind.³ Die Nachverfolgung der Verbreitung von CROs wird durch die Vielfältigkeit der neu aufgetretenen Carbapenem-hydrolysierenden Enzyme sowie die Fähigkeit der Gene zur Ausbreitung in mehreren Bakterienarten kompliziert. Einige der Resistenzgene wie z. B. die Carbapenemase-Determinanten von *Klebsiella pneumoniae* (KPC) sind mit erfolgreichen klonalen Bakterienlinien (z. B. *K. pneumoniae* ST258)⁴ assoziiert, die in Krankenhausumgebungen mit hohem Verbrauch an antimikrobiellen Mitteln einen selektiven Vorteil besitzen. Die Möglichkeiten der Erregerübertragung sind oft zahlreich, und die Resistenzgene können zusätzlich über übertragbare Plasmide und Integrons verbreitet werden. Der *K. pneumoniae*-Stamm ST258 hat mehrere Epidemien auf der ganzen Welt verursacht, vor allem in den USA¹ und in Israel.⁵ Erreger mit dem Neu Delhi Metallo-Beta-Lactamase (NDM) kodierenden Gen sind ebenfalls in Europa von Personen eingeschleppt worden, die in vielen Fällen Indien oder Pakistan besucht hatten.⁶

Ein dritter Mechanismus der Carbapenem-Resistenz, der durch Verona-Integron-kodierte Metallo-Beta-Lactamase (VIM) vermittelte Pfad, gibt seit mehreren Jahren in Europa Anlass zur Beunruhigung. Weitere Metallo-Beta-Lactamasen, wie die in der Klasse der Imipenemasen (IMP), sind seit vielen Jahren in Japan und anderen asiatischen Ländern bekannt und breiten sich nun in der ganzen Welt aus,³ während Oxacillinase (OXA-48) der Klasse D, die oft eine niedrige Carbapenem-Resistenz vermittelt, sich jetzt rasch in Europa ausbreitet.^{7,8} Die derzeitige Standardmethode zur Erkennung von mit Carbapenem-nichtempfindlichen Erregern besiedelten Patienten ist die Kultur von rektalen oder perirektalen Abstrichproben auf gramnegativen selektiven Agarplatten (z. B. MacConkey-Agar), gefolgt von antimikrobiellen Empfindlichkeitstests Laktose-fermentierender Kolonien, oder die Verwendung von Selektiv-Agarscreeningmedien.⁹ Die erste Methode ist arbeitsaufwendig und führt manchmal erst nach mehreren Tagen zu einem endgültigen Ergebnis, während bei der zweiten Methode die Sensitivität und Spezifität je nach verwendetem Selektivmedium stark unterschiedlich sind.

Eine schnelle und genaue Methode zur Bestimmung, ob eine rektale bzw. perirektale Abstrichprobe oder ein Carbapenem-nichtempfindliches Bakterienisolat eine dieser fünf häufigen Klassen des Carbapenem-Resistenzgens besitzt, wäre ein signifikantes Hilfsmittel für Infektionsschutzprogramme, insbesondere bei Ausbrüchen, da dies potenziell: 1) das im Organismus vorhandene spezifische Resistenzgen identifizieren könnte und 2) die Organismen mit den häufigsten übertragbaren Carbapenem-Resistenzgenen, die Carbapenemase-Enzyme kodieren, von den Organismen differenzieren könnte, die aufgrund anderer Beta-Lactamasen und/oder Veränderungen in der Zellwand des Organismus resistent sind, d. h. dass diese Patienten nicht unbedingt Kontaktschutzmaßnahmen benötigen.

Die therapeutischen Herausforderungen, die mit Carbapenem-nichtempfindlichen Enterobakterien verbunden sind, haben ein erhöhtes Bewusstsein für die Notwendigkeit eines schnellen Nachweises und die Implementierung wirksamer Maßnahmen zur Eindämmung der Ausbreitung und Prävention der Übertragung geschaffen. Antibiotika, wie beispielsweise neue Beta-Lactam/Beta-Lactamase-Inhibitor-Kombinationen, weisen unterschiedliche Aktivität gegen Bakterien auf, die verschiedene Arten von Beta-Lactamasen produzieren. Xpert Carba-R Assayergebnisse, die das Vorhandensein von *bla*_{IMP}⁻, *bla*_{VIM}⁻ und *bla*_{NDM}⁻ Metallo-Beta-Lactamase-Genen aus reinen Kolonien der getesteten Organismen nachweisen, können bei der Bestimmung einer therapeutischen Strategie, die Beta-Lactam/Beta-Lactamase-Inhibitor-Kombinationen einschließt, hilfreich sein.^{10,11,12,13,14}

5 Verfahrensprinzip

Die GeneXpert Instrumentensysteme automatisieren und integrieren die Probenvorbereitung, Nukleinsäureextraktion und -amplifikation und den Nachweis der Zielsequenz in einfachen oder komplexen Proben mithilfe von Echtzeit-PCR-Assays. Die Systeme bestehen aus einem Instrument, einem PC und einer vorinstallierten Software zur Durchführung der Tests und zum Anzeigen der Ergebnisse. Die Systeme sehen die Verwendung von Einweg-Kartuschen vor, die die PCR-Reagenzien enthalten und in denen der PCR-Prozess abläuft. Da die Kartuschen abgeschlossene Einheiten darstellen, wird die Kreuzkontamination zwischen Proben minimiert. Eine vollständige Beschreibung des Systems findet sich im *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Dx System* oder dem *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Infinity System*.

Der Xpert Carba-R Assay enthält Reagenzien zum Nachweis der *bla*_{KPC}⁻, *bla*_{NDM}⁻, *bla*_{VIM}⁻, *bla*_{OXA-48}⁻ und *bla*_{IMP}⁻ Gensequenzen sowie eine Probenverarbeitungskontrolle (PVK) zur Kontrolle der ordnungsgemäßen Verarbeitung der Zielbakterien und zur Anzeige möglicherweise vorhandener Hemmstoffe in der PCR-Reaktion. Darüber hinaus stellt die PVK sicher, dass die Bedingungen der PCR-Reaktion (Temperatur und Zeit) für die Amplifikationsreaktion geeignet sind und dass die PCR-Reagenzien funktionstüchtig sind. Mit einer weiteren internen Kontrolle, der Sondenprüfungskontrolle (Probe Check Control, PCC), werden die Rehydrierung der Reagenzien, die Befüllung des PCR-Gefäßes in der Kartusche, die Unversehrtheit der Sonde und die Farbstoffstabilität überprüft.

Die Primer und Sonden im Xpert Carba-R Assay weisen proprietäre Sequenzen für die Gensequenzen *bla*_{KPC} (KPC), *bla*_{NDM} (NDM), *bla*_{VIM} (VIM), *bla*_{OXA-48} (OXA-48) und *bla*_{IMP} (IMP) nach, die mit einer Carbapenem-Resistenz in gramnegativen Bakterien assoziiert sind.

6 Reagenzien und Instrumente

6.1 Enthaltene Materialien



Das Xpert Carba-R Assay-Kit (GXCARBARP-CE-10) enthält ausreichend Reagenzien für die Verarbeitung von 10 Proben, das Xpert Carba-R Assay-Kit (GXCARBARP-CE-120) enthält ausreichend Reagenzien für die Verarbeitung von 120 Proben. Die Kits enthalten die folgenden Materialien:

Xpert Carba-R Assay-Kartuschen mit integrierten Reaktionsbehältern

	10	120
• Kügelchen 1, Kügelchen 2 und Kügelchen 3 (gefriergetrocknet)	Je 1 pro Kartusche	Je 1 pro Kartusche
• Reagenz 1	3 ml pro Kartusche	3 ml pro Kartusche

• Reagenz 2 (Guanidiniumchlorid)	2,5 ml pro Kartusche	2,5 ml pro Kartusche
Xpert Carba-R Assay-Probenreagenzgefäße	10	120
• Probenreagenz	5,0 ml pro Gefäß	5,0 ml pro Gefäß
Einweg-Transferpipetten (1,7 ml)	10	120
CD	1	1
• Assay-Definitionsdateien (Assay Definition Files, ADF)		
• Anweisungen zum Importieren der ADF in die 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

- Die Xpert Carba-R Assay-Kartuschen bei 2–28 °C aufbewahren.



- Die Kartuschen erst dann öffnen, wenn die Testdurchführung unmittelbar bevorsteht.
- Reagenzien oder Kartuschen nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden.
- Das Probenreagenz ist eine klare, farblose Flüssigkeit. Wenn das Probenreagenz trübe oder verfärbt ist, darf es nicht verwendet werden.
- Die Kartuschen innerhalb von 30 Minuten nach Öffnen des Deckels verwenden.
- Keine leckenden Kartuschen verwenden.


6.3 Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

- GeneXpert Dx Instrument oder eines der GeneXpert Infinity Systeme (Bestellnummer variiert abhängig von der Konfiguration): GeneXpert Instrument, Computer, Barcodescanner, Benutzerhandbuch.
 - Für das GeneXpert Dx-System: GeneXpert Dx-Software ab Version 4.3
- Produkt zur Probenentnahme: Cepheid-Bestellnummer 900-0370
- Blutagar (z. B. Remel™ Blutagar: Bestellnummer R01200 oder gleichwertiger Agar)
- MacConkey-Agar (z. B. Remel™ MacConkey-Agar: Bestellnummer R01550 oder gleichwertiger Agar)
- 10-µg-Meropenem-Blättchen (z. B. BD BBL™ Sensi-Disc™ Blättchen zur antimikrobiellen Empfindlichkeitsprüfung, Meropenem, Bestellnummer 231704 oder gleichwertige Blättchen)
- Sterile Pinzette
- Sterile 10-µl-Einwegimpfösen (z. B. Copan: Bestellnummer COPS-10, oder Hardy Diagnostics: Bestellnummer L2002A oder gleichwertige Impfösen)
- Vortex-Mixer
- Drucker: Falls ein Drucker benötigt wird, wenden Sie sich bitte an den technischen Kundendienst von Cepheid, um einen empfohlenen Drucker zu erwerben.

7 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Zum Gebrauch als *In-vitro*-Diagnostikum.
- Verschreibungspflichtig.
-  • Alle biologischen Patientenproben und auch die gebrauchten Kartuschen sind als potenziell infektiös zu behandeln. Da es oft unmöglich ist, potenziell infektiöse Proben zu erkennen, sind alle biologischen Proben gemäß den üblichen Vorsichtsmaßnahmen zu behandeln. Richtlinien für den Umgang mit Patientenproben sind von den U.S. Centers for Disease Control and Prevention^{15,16} und vom Clinical and Laboratory Standards Institute erhältlich.¹⁷
- Es sind die Sicherheitsverfahren der jeweiligen Institution für den Umgang mit Chemikalien und die Handhabung von biologischen Proben/Agarplatten mit reinen Kolonien zu beachten.
- 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.
- Um eine Kontamination der Proben oder Reagenzien zu vermeiden, werden die Einhaltung der Guten Laborpraxis und Handschuhwechsel nach Handhabung jeder Probe empfohlen.
- Keine Probenreagenzien des Xpert Carba-R Assay durch andere Reagenzien ersetzen.
- Den Deckel der Xpert Carba-R Assay-Kartusche erst unmittelbar vor Zugabe der Probe öffnen.
- Keine Kartuschen verwenden, die nach der Entnahme aus der Verpackung fallen gelassen wurden.
- Die Kartusche nicht schütteln. Wenn die Kartusche nach dem Öffnen des Kartuschendeckels geschüttelt oder fallen gelassen wird, sind die Ergebnisse möglicherweise ungültig.
- Das Etikett mit der Proben-ID nicht auf den Kartuschendeckel oder über das Barcode-Etikett kleben.
-  • Jede Xpert Carba-R Assay-Kartusche dient zur Durchführung eines einzigen Tests (Einwegartikel). Benutzte Kartuschen dürfen nicht wiederverwendet werden.
- Kartuschen mit beschädigtem Reaktionsbehälter dürfen nicht verwendet werden.
- Saubere Laborkittel und Handschuhe verwenden. Nach der Bearbeitung jeder einzelnen Probe die Handschuhe wechseln.
- Bei einer Kontamination des Arbeitsbereichs oder von Geräten mit Proben oder Kontrollen den kontaminierten Bereich mit 1:10 verdünnter haushaltsüblicher Chlorbleiche und anschließend mit 70 %igem Ethanol gründlich reinigen. Die Arbeitsoberflächen abwischen, bis sie vollständig getrocknet sind, bevor fortgefahren wird.

8 Chemische Gefahren^{18,19}

- UN-GHS-Gefahrenpiktogramm: 
- Signalwort: ACHTUNG
- **UN-GHS-Sicherheitshinweise**
 - **Prävention**
 - Nach Gebrauch gründlich waschen.
 - Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
 - **Reaktion**
 - BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen.
 - Besondere Behandlung: Siehe zusätzliche Erste-Hilfe-Informationen.
 - Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.
 - 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 Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.

9 Probenvorbereitung und -aufbewahrung

Rektale oder perirektale Abstrichproben:

Zu verwendende Tupfer Abschnitt 6.3, Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien entnehmen.

- Entnahme eines gepaarten rektalen Abstrichs: Beide Tupferspitzen vorsichtig etwa 1 cm über den Afterschließmuskel hinaus einführen und behutsam drehen. Zu verwendende Tupfer können dem Abschnitt „Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien“ entnommen werden. In Abbildung 1 und Abbildung 2 sind Beispiele akzeptabler und nicht akzeptabler Abstriche zur Verwendung mit dem Xpert Carba-R Assay dargestellt.
- Entnahme eines gepaarten perirektalen Abstrichs: Beide Tupferspitzen vorsichtig maximal 1 cm in die Analöffnung vor dem Afterschließmuskel einführen und behutsam drehen.
- Die Abstriche können im Transportbehälter bis zu fünf Tage lang bei 15–28 °C aufbewahrt werden.
- Abbildung 1 unten enthält Beispiele akzeptabler Abstrichproben zur Verwendung mit dem Xpert Carba-R Assay und Abbildung 2 enthält Beispiele stark behafteter Abstrichproben, die nicht zur Verwendung mit dem Xpert Carba-R Assay geeignet sind.



Abbildung 1. Beispiele akzeptabler Abstrichproben zur Verwendung mit dem Xpert Carba-R Assay

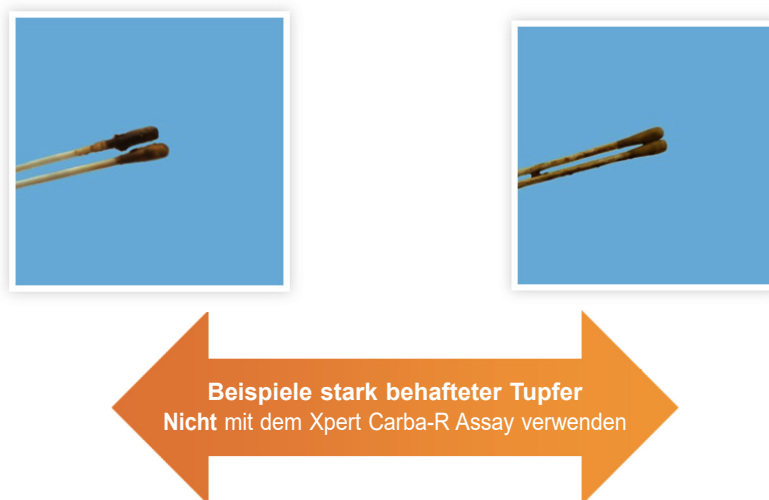


Abbildung 2. Beispiele nicht akzeptabler Abstrichproben zur Verwendung mit dem Xpert Carba-R Assay

Bakterienisolate:

1. Vor dem Testen mit dem Xpert Carba-R Assay sollten die Organismen identifiziert werden und deren Carbapenem-Resistenzstatus gemäß der aktuellen FDA-genehmigten Packungsbeilage des Arzneimittels und der neuesten Version der CLSI-Richtlinie M100²⁰ bestimmt werden.
2. Entweder eine Blut- oder MacConkey-Agarplatte mit dem Organismus inokulieren, zur Isolierung ausstreichen und ein 10-µg-Meropenem-Blättchen im ersten Ausstrichquadranten auflegen, um zu verifizieren, dass das Isolat wirklich gegenüber Carbapenem nicht empfindlich ist.
3. Die Platte 18–24 Stunden lang bei 35 °C in Umgebungsluft inkubieren.
4. Die direkte Kolonie-Suspensionsmethode verwenden. Dazu isolierte Kolonien mit einem Tupfer oder einer Impföse aufnehmen und eine Suspension des Bakterienisolats zubereiten, die einem 0,5-McFarland-Trübungsstandard entspricht (siehe CLSI M07 Approved Standard²¹). Die Schritte sind nachstehend beschrieben.
 - A. Eine Bouillon- oder Kochsalzsuspension mit isolierten Kolonien von einer Agarplatte, die 18–24 Stunden lang inkubiert wurde, herstellen (es sollte ein nichtselektives Medium wie Blutagar verwendet werden).
 - B. Die Suspension einstellen, bis die Trübung dem 0,5-McFarland-Standard entspricht. Daraus ergibt sich eine Suspension, die 1 bis 2×10^8 CFU/ml *E. coli* enthält ATCC (American Type Culture Collection) 25922.
 - C. Entweder ein photometrisches Gerät oder, bei visuellem Vergleich, ausreichend Licht, verwenden, um das Inokulum-Röhrchen mit dem 0,5-McFarland-Standard gegen eine Karte mit weißem Hintergrund und kontrastierenden schwarzen Linien zu vergleichen.

10 Verfahren**10.1 Vorbereitung der Kartusche**

Wichtig	Die Kartusche innerhalb von 30 Minuten nach Zugabe der Probe in die Kartusche in das GeneXpert Instrument stellen.
	<ol style="list-style-type: none"> 1. Eine Xpert Carba-R Assay-Kartusche, ein Probenreagenzfläschchen und eine Transferpipette aus dem Kit entnehmen. Das Fläschchen mit Probenreagenz öffnen. 2. Zugabe der Probe in die Kartusche: <ul style="list-style-type: none"> • Zugabe von rektalen oder perirektalen Abstrichproben in die Kartusche: <ul style="list-style-type: none"> • Bei gepaarten Tupfern einen der Tupfer in das Fläschchen mit Probenreagenz stecken. Den nicht benutzten Tupfer wieder in das Transportröhrchen stecken und aufbewahren.
Hinweis	Abschnitt 9 enthält Angaben zu den Lagerbedingungen für rektale und perirektale Abstrichproben. Der nicht benutzte zweite Tupfer kann für einen Wiederholungstest benutzt werden.
Hinweis	Abschnitt 14, Testwiederholung enthält Angaben zu Wiederholungstests für rektale und perirektale Abstrichproben. <ul style="list-style-type: none"> • Den Tupfer am Stiel nahe dem Flaschenrand fassen, den Tupfer einige Millimeter vom Behälterboden anheben und den Stiel über die Flaschenkante biegen, um ihn an der Kerbmarkierung abzubrechen. Der restliche Tupfer muss kurz genug sein, um in die Flasche zu passen und den Deckel fest verschließen zu können. • Zugabe der 0,5-McFarland-Suspension aus Bakterienisolaten in die Kartusche: <ul style="list-style-type: none"> • Die 0,5-McFarland-Suspension vortexen. Mithilfe einer 10-µl-Impföse 10 µl der 0,5-McFarland-Suspension in ein 5-ml-Probenreagenzfläschchen überführen. Die Impföse mindestens drei Mal im Probenreagenz schwenken. Nach dem initialen Test kann das restliche Probenmaterial im Probenreagenzfläschchen für einen eventuell erforderlichen Wiederholungstest bis zu fünf Tage bei 2–28 °C aufbewahrt werden.
Hinweis	Abschnitt 14, Testwiederholung enthält Anleitungen zu Wiederholungstests von Bakterienisolatproben.
Hinweis	Sicherstellen, dass die 10-µl-Impföse mit der Probe gefüllt ist und die Probensuspension in der Impföse nicht platzt, während die 0,5-McFarland-Suspension in das Probenreagenz überführt wird.
	<ol style="list-style-type: none"> 3. Das Probenreagenzfläschchen mit dem Deckel fest verschließen und 10 Sekunden lang bei hoher Geschwindigkeit im Vortexer mischen.

4. Den Kartuschendeckel öffnen. Den Deckel des Probenreagenzfläschchens öffnen. Mit der mitgelieferten Transferpipette die vorbereitete Probe (Probenreagenz mit Probe aus Schritt 2) bis zur Markierung an der Pipette (entspricht etwa 1,7 ml; siehe Abbildung 3) aufnehmen und das Material in die große Öffnung der Probenkammer (siehe Abbildung 4) der Xpert Carba-R Assay-Kartusche überführen.
5. Den Kartuschendeckel schließen und die Kartusche innerhalb von 30 Minuten nach Zugabe der Probe in die Kartusche in das GeneXpert Instrument stellen.

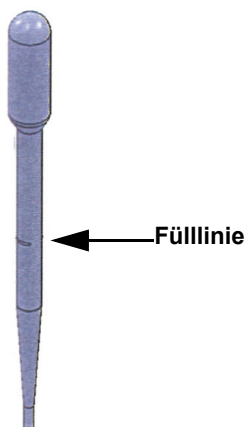


Abbildung 3. Transferpipette für die Überführung der Probe in die Kartusche

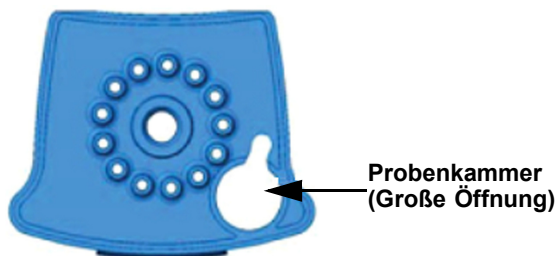


Abbildung 4. Xpert Carba-R Assay-Kartusche (Aufsicht)

10.2 Testbeginn

Wichtig

Bevor der Test gestartet wird, ist sicherzustellen, dass die Assay-Definitionsdatei für den Xpert Carba-R 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. im *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. Nachfolgend ist der Standard-Arbeitsfluss beschrieben.

1. Schalten Sie das GeneXpert-Instrumentensystem ein:
 - Schalten Sie bei Verwendung des GeneXpert Dx-Instruments zuerst das Instrument und dann den Computer ein. Die GeneXpert-Software startet automatisch oder muss eventuell durch einen Doppelklick auf das Verknüpfungssymbol für die GeneXpert Dx-Software auf dem Windows®-Desktop gestartet werden.
 - oder
 - Bei Verwendung des GeneXpert Infinity Instruments das Instrument hochfahren. Die Xpertise-Software startet automatisch oder muss eventuell durch einen Doppelklick auf das Verknüpfungssymbol für die Xpertise-Software auf dem Windows-Desktop gestartet werden.
2. Melden Sie sich mit Ihrem Benutzernamen und Kennwort bei der Software des GeneXpert-Instrumentensystems an.
3. Klicken Sie im Fenster des GeneXpert Systems auf **Test erstellen (Create Test)** (GeneXpert Dx) bzw. auf **Anforderungen (Orders)** und **Test anfordern (Order Test)** (Infinity).

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)“.
6. Scannen Sie den Barcode der Xpert Carba-R Assay-Kartusche ein. 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

Wenn sich der Barcode der Xpert Carba-R Kartusche nicht scannen lässt, befolgen Sie die Schritte zur Testwiederholung in Abschnitt 14, um einen neuen Test zu erstellen.

7. Klicken Sie auf **Test starten (Start Test)** (GeneXpert Dx) bzw. auf **Einreichen (Submit)** (Infinity). Geben Sie Ihr Kennwort ein, falls eine entsprechende Aufforderung angezeigt wird.
8. Bei Verwendung des GeneXpert Infinity Systems stellen Sie die Kartusche auf das Förderband. Die Kartusche wird automatisch geladen, der Test wird ausgeführt, und die benutzte Kartusche wird in den Abfallbehälter gelegt.

oder

Bei Verwendung des GeneXpert Dx Instruments:

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

10.3 Anzeigen und Drucken der Ergebnisse

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

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

11 Qualitätskontrolle**CONTROL****Eingebaute Qualitätskontrollen**

Jeder Test beinhaltet eine Probenverarbeitungskontrolle und eine Sondenprüfungskontrolle.

- **Probenverarbeitungskontrolle (PVK)** – Stellt sicher, dass die Probe ordnungsgemäß bearbeitet wurde. Die PVK enthält Sporen von *Bacillus globigii* in Form eines trockenen Kügelchens, das in jeder Kartusche enthalten ist, um die angemessene Bearbeitung der Probe zu verifizieren. Die PVK verifiziert, dass die Lyse der Bakterien erfolgt ist, sofern die Organismen vorhanden sind, und dass die Probe angemessen verarbeitet wurde. Darüber hinaus stellt diese Kontrolle eine probenbedingte Hemmung des Echtzeit-PCR-Assays fest und stellt sicher, dass die Bedingungen der PCR-Reaktion (Temperatur und Zeit) für die Amplifikationsreaktion geeignet und die PCR-Reagenzien funktionsfähig sind.

Bei einer negativen Probe sollte die PVK positiv sein; bei einer positiven Probe kann sie negativ oder positiv sein. Die PVK hat den Test „bestanden“, wenn sie die validierten Akzeptanzkriterien erfüllt.

- **Sondenprüfungskontrolle (PCC)** – Vor Beginn der PCR-Reaktion verifiziert das GeneXpert System anhand des gemessenen Fluoreszenzsignals der Sonden die Rehydrierung der Kügelchen, Füllung des Reaktionsbehälters, Unversehrtheit der Sonden und Stabilität des Farbstoffs. Der Sondentest gilt als bestanden, wenn die festgelegten Akzeptanzkriterien erfüllt sind.

Externe Kontrollen

Zur Einhaltung von lokalen, bundesstaatlichen und bundesweiten Akkreditierungsvorschriften können ggf. externe Kontrollen verwendet werden.

12 Interpretation der Ergebnisse

Die Ergebnisse werden vom GeneXpert System anhand der gemessenen Fluoreszenzsignale und der integrierten Berechnungsalgorithmen ausgewertet und im Fenster „Ergebnisse anzeigen“ (View Results) angezeigt. Es sind keine Screenshots und Auswertungen für jede mögliche Ergebniskombination für die fünf Zielanalyten im Xpert Carba-R Assay abgebildet; die nachfolgenden Beispiele zeigen jedoch, welche Art von Ergebnissen erwartet werden kann.

Hinweis Die nachstehende Tabelle und die Abbildungen zeigen lediglich repräsentative Beispiele für die Ergebnisarten, die bei dem Xpert Carba-R Assay erwartet werden können. Es werden nicht alle möglichen Ergebniskombinationen für die fünf Zielanalyten dargestellt.

Tabelle 1. Repräsentative Ergebnisse mit dem Xpert Carba-R Assay und Auswertung

Ergebnis	Interpretation
<p>IMP ERMITTELT (IMP DETECTED); VIM NICHT ERMITTELT (VIM NOT DETECTED); NDM NICHT ERMITTELT (NDM NOT DETECTED); KPC NICHT ERMITTELT (KPC NOT DETECTED); OXA48 NICHT ERMITTELT (OXA48 NOT DETECTED)</p> <p>Siehe Abbildung 5.</p>	<p>IMP-Ziel-DNA-Sequenz wurde nachgewiesen; VIM-, NDM-, KPC- und OXA-48-Ziel-DNA-Sequenzen wurden nicht nachgewiesen.</p> <ul style="list-style-type: none"> Die PCR-Amplifikation der IMP-Ziel-DNA ergibt einen Ct-Wert innerhalb des gültigen Bereichs und einen Fluoreszenzendpoint oberhalb des eingestellten Schwellenwerts; VIM-, NDM-, KPC- und OXA-48-Ziel-DNA-Sequenzen sind nicht vorhanden oder unter der Nachweisgrenze des Assays. PVK: Nicht zutreffend. Die PVK wird ignoriert, da die Amplifikation der IMP-Ziel-DNA mit dieser Kontrolle konkurrieren kann. PCC: BEST. (PASS); alle Sondentestergebnisse waren erfolgreich. Therapeutische Strategien mit Antibiotika, wie beispielsweise Beta-Lactam/Beta-Lactamase-Inhibitor-Kombinationen mit begrenzter oder keiner Aktivität gegen Metallo-Beta-Lactamase-produzierende Bakterien, sollten mit Vorsicht eingesetzt werden. Xpert Carba-R Assayergebnisse, die das Vorhandensein von <i>bla</i>_{IMP}-, <i>bla</i>_{VIM}- und <i>bla</i>_{NDM}-Metallo-Beta-Lactamase-Genen aus reinen Kolonien der getesteten Organismen nachweisen, können bei der Festlegung einer geeigneten therapeutischen Strategie für Patienten mit bekannten oder vermuteten Carbapenem-nichtempfindlichen bakteriellen Infektionen hilfreich sein.
<p>IMP NICHT ERMITTELT (IMP NOT DETECTED); VIM ERMITTELT (VIM DETECTED); NDM NICHT ERMITTELT (NDM NOT DETECTED); KPC NICHT ERMITTELT (KPC NOT DETECTED); OXA48 NICHT ERMITTELT (OXA48 NOT DETECTED)</p> <p>Siehe Abbildung 6.</p>	<p>VIM-Ziel-DNA-Sequenz wurde nachgewiesen; IMP-, NDM-, KPC- und OXA-48-Ziel-DNA-Sequenzen wurden nicht nachgewiesen.</p> <ul style="list-style-type: none"> Die PCR-Amplifikation der VIM-Ziel-DNA ergibt einen Ct-Wert innerhalb des gültigen Bereichs und einen Fluoreszenzendpoint oberhalb des eingestellten Schwellenwerts; IMP-, NDM-, KPC- und OXA-48-Ziel-DNA-Sequenzen sind nicht vorhanden oder unter der Nachweisgrenze des Assays. PVK: Nicht zutreffend. Die PVK wird ignoriert, da die Amplifikation der VIM-Ziel-DNA mit dieser Kontrolle konkurrieren kann. PCC: BEST. (PASS); alle Sondentestergebnisse waren erfolgreich. Therapeutische Strategien mit Antibiotika, wie beispielsweise Beta-Lactam/Beta-Lactamase-Inhibitor-Kombinationen mit begrenzter oder keiner Aktivität gegen Metallo-Beta-Lactamase-produzierende Bakterien, sollten mit Vorsicht eingesetzt werden. Xpert Carba-R Assayergebnisse, die das Vorhandensein von <i>bla</i>_{IMP}-, <i>bla</i>_{VIM}- und <i>bla</i>_{NDM}-Metallo-Beta-Lactamase-Genen aus reinen Kolonien der getesteten Organismen nachweisen, können bei der Festlegung einer geeigneten therapeutischen Strategie für Patienten mit bekannten oder vermuteten Carbapenem-nichtempfindlichen bakteriellen Infektionen hilfreich sein.

Tabelle 1. Repräsentative Ergebnisse mit dem Xpert Carba-R Assay und Auswertung (Fortsetzung)

Ergebnis	Interpretation
<p>IMP NICHT ERMITTELT (IMP NOT DETECTED); VIM ERMITTELT (VIM DETECTED); NDM ERMITTELT (NDM DETECTED); KPC NICHT ERMITTELT (KPC NOT DETECTED); OXA48 NICHT ERMITTELT (OXA48 NOT DETECTED)</p> <p>Siehe Abbildung 7.</p>	<p>VIM- und NDM-Ziel-DNA-Sequenzen wurden nachgewiesen; IMP-, KPC- und OXA-48-Ziel-DNA-Sequenzen wurden nicht nachgewiesen.</p> <ul style="list-style-type: none"> Die PCR-Amplifikation der VIM- und NDM-Ziel-DNAs ergibt Ct-Werte innerhalb des gültigen Bereichs und Fluoreszenzendpunkte oberhalb des eingestellten Schwellenwerts; IMP-, KPC- und OXA-48-Ziel-DNA-Sequenzen sind nicht vorhanden oder unter der Nachweisgrenze des Assays. PVK: Nicht zutreffend. Die PVK wird ignoriert, da die Amplifikation von VIM- und NDM-Ziel-DNA mit dieser Kontrolle konkurrieren kann. PCC: BEST. (PASS); alle Sondentestergebnisse waren erfolgreich. Therapeutische Strategien mit Antibiotika, wie beispielsweise Beta-Lactam/Beta-Lactamase-Inhibitor-Kombinationen mit begrenzter oder keiner Aktivität gegen Metallo-Beta-Lactamase-produzierende Bakterien, sollten mit Vorsicht eingesetzt werden. Xpert Carba-R Assayergebnisse, die das Vorhandensein von <i>bla</i>_{IMP}-, <i>bla</i>_{VIM}- und <i>bla</i>_{NDM}-Metallo-Beta-Lactamase-Genen aus reinen Kolonien der getesteten Organismen nachweisen, können bei der Festlegung einer geeigneten therapeutischen Strategie für Patienten mit bekannten oder vermuteten Carbapenem-nichtempfindlichen bakteriellen Infektionen hilfreich sein.
<p>IMP ERMITTELT (IMP DETECTED); VIM NICHT ERMITTELT (VIM NOT DETECTED); NDM ERMITTELT (NDM DETECTED); KPC NICHT ERMITTELT (KPC NOT DETECTED); OXA48 NICHT ERMITTELT (OXA48 NOT DETECTED)</p> <p>Siehe Abbildung 8.</p>	<p>IMP- und NDM-Ziel-DNA-Sequenzen wurden nachgewiesen; VIM-, KPC- und OXA-48-Ziel-DNA-Sequenzen wurden nicht nachgewiesen.</p> <ul style="list-style-type: none"> Die PCR-Amplifikation der IMP- und NDM-Ziel-DNAs ergibt Ct-Werte innerhalb des gültigen Bereichs und Fluoreszenzendpunkte oberhalb des eingestellten Schwellenwerts; VIM-, KPC- und OXA-48-Ziel-DNA-Sequenzen sind nicht vorhanden oder unter der Nachweisgrenze des Assays. PVK: Nicht zutreffend. Die PVK wird ignoriert, da die Amplifikationen von IMP- und NDM-Ziel-DNA mit dieser Kontrolle konkurrieren können. PCC: BEST. (PASS); alle Sondentestergebnisse waren erfolgreich. Therapeutische Strategien mit Antibiotika, wie beispielsweise Beta-Lactam/Beta-Lactamase-Inhibitor-Kombinationen mit begrenzter oder keiner Aktivität gegen Metallo-Beta-Lactamase-produzierende Bakterien, sollten mit Vorsicht eingesetzt werden. Xpert Carba-R Assayergebnisse, die das Vorhandensein von <i>bla</i>_{IMP}-, <i>bla</i>_{VIM}- und <i>bla</i>_{NDM}-Metallo-Beta-Lactamase-Genen aus reinen Kolonien der getesteten Organismen nachweisen, können bei der Festlegung einer geeigneten therapeutischen Strategie für Patienten mit bekannten oder vermuteten Carbapenem-nichtempfindlichen bakteriellen Infektionen hilfreich sein.
<p>IMP ERMITTELT (IMP DETECTED); VIM ERMITTELT (VIM DETECTED); NDM NICHT ERMITTELT (NDM NOT DETECTED); KPC NICHT ERMITTELT (KPC NOT DETECTED); OXA48 ERMITTELT (OXA48 DETECTED)</p> <p>Siehe Abbildung 9.</p>	<p>IMP-, VIM- und OXA-48-Ziel-DNA-Sequenzen wurden nachgewiesen; NDM- und KPC-Ziel-DNA-Sequenzen wurden nicht nachgewiesen.</p> <ul style="list-style-type: none"> Die PCR-Amplifikation der IMP-, VIM- und OXA-48-Ziel-DNAs ergibt Ct-Werte innerhalb des gültigen Bereichs und Fluoreszenzendpunkte oberhalb des eingestellten Schwellenwerts; KPC- und NDM-Ziel-DNA-Sequenzen sind nicht vorhanden oder unter der Nachweisgrenze des Assays. PVK: Nicht zutreffend. Die PVK wird ignoriert, da die Amplifikationen von IMP-, VIM- und OXA-48-Ziel-DNA mit dieser Kontrolle konkurrieren können. PCC: BEST. (PASS); alle Sondentestergebnisse waren erfolgreich. Therapeutische Strategien mit Antibiotika, wie beispielsweise Beta-Lactam/Beta-Lactamase-Inhibitor-Kombinationen mit begrenzter oder keiner Aktivität gegen Metallo-Beta-Lactamase-produzierende Bakterien, sollten mit Vorsicht eingesetzt werden. Xpert Carba-R Assayergebnisse, die das Vorhandensein von <i>bla</i>_{IMP}-, <i>bla</i>_{VIM}- und <i>bla</i>_{NDM}-Metallo-Beta-Lactamase-Genen aus reinen Kolonien der getesteten Organismen nachweisen, können bei der Festlegung einer geeigneten therapeutischen Strategie für Patienten mit bekannten oder vermuteten Carbapenem-nichtempfindlichen bakteriellen Infektionen hilfreich sein.

Tabelle 1. Repräsentative Ergebnisse mit dem Xpert Carba-R Assay und Auswertung (Fortsetzung)

Ergebnis	Interpretation
<p>IMP ERMITTELT (IMP DETECTED); VIM ERMITTELT (VIM DETECTED); NDM ERMITTELT (NDM DETECTED); KPC NICHT ERMITTELT (KPC NOT DETECTED); OXA48 ERMITTELT (OXA48 DETECTED)</p> <p>Siehe Abbildung 10.</p>	<p>IMP-, VIM-, NDM- und OXA-48-Ziel-DNA-Sequenzen wurden nachgewiesen; KPC-Ziel-DNA-Sequenzen wurden nicht nachgewiesen.</p> <ul style="list-style-type: none"> Die PCR-Amplifikation der IMP-, VIM-, NDM- und OXA-48-Ziel-DNAs ergibt Ct-Werte innerhalb des gültigen Bereichs und Fluoreszenzpunkte oberhalb des eingestellten Schwellenwerts; KPC-Ziel-DNA-Sequenzen sind nicht vorhanden oder unter der Nachweisgrenze des Assays. PVK: Nicht zutreffend. Die PVK wird ignoriert, da die Amplifikationen von IMP-, VIM-, NDM- und OXA-48-Ziel-DNA mit dieser Kontrolle konkurrieren können. PCC: BEST. (PASS); alle Sondentestergebnisse waren erfolgreich. Therapeutische Strategien mit Antibiotika, wie beispielsweise Beta-Lactam/Beta-Lactamase-Inhibitor-Kombinationen mit begrenzter oder keiner Aktivität gegen Metallo-Beta-Lactamase-produzierende Bakterien, sollten mit Vorsicht eingesetzt werden. Xpert Carba-R Assayergebnisse, die das Vorhandensein von <i>bla</i>_{IMP}-, <i>bla</i>_{VIM}- und <i>bla</i>_{NDM}-Metallo-Beta-Lactamase-Genen aus reinen Kolonien der getesteten Organismen nachweisen, können bei der Festlegung einer geeigneten therapeutischen Strategie für Patienten mit bekannten oder vermuteten Carbapenem-nichtempfindlichen bakteriellen Infektionen hilfreich sein.
<p>IMP ERMITTELT (IMP DETECTED); VIM ERMITTELT (VIM DETECTED); NDM ERMITTELT (NDM DETECTED); KPC ERMITTELT (KPC DETECTED); OXA48 ERMITTELT (OXA48 DETECTED)</p> <p>Siehe Abbildung 11.</p>	<p>IMP-, VIM-, NDM-, KPC- und OXA-48-Ziel-DNA-Sequenzen wurden nachgewiesen.</p> <ul style="list-style-type: none"> Die PCR-Amplifikation der IMP-, VIM-, NDM-, KPC- und OXA-48-Ziel-DNAs ergibt Ct-Werte innerhalb des gültigen Bereichs und Fluoreszenzpunkte oberhalb des eingestellten Schwellenwerts. PVK: Nicht zutreffend. Die PVK wird ignoriert, da die Amplifikationen von IMP-, VIM-, NDM-, KPC- und OXA-48-Ziel-DNA mit dieser Kontrolle konkurrieren können. PCC: BEST. (PASS); alle Sondentestergebnisse waren erfolgreich. Therapeutische Strategien mit Antibiotika, wie beispielsweise Beta-Lactam/Beta-Lactamase-Inhibitor-Kombinationen mit begrenzter oder keiner Aktivität gegen Metallo-Beta-Lactamase-produzierende Bakterien, sollten mit Vorsicht eingesetzt werden. Xpert Carba-R Assayergebnisse, die das Vorhandensein von <i>bla</i>_{IMP}-, <i>bla</i>_{VIM}- und <i>bla</i>_{NDM}-Metallo-Beta-Lactamase-Genen aus reinen Kolonien der getesteten Organismen nachweisen, können bei der Festlegung einer geeigneten therapeutischen Strategie für Patienten mit bekannten oder vermuteten Carbapenem-nichtempfindlichen bakteriellen Infektionen hilfreich sein.
<p>IMP NICHT ERMITTELT (IMP NOT DETECTED); VIM NICHT ERMITTELT (VIM NOT DETECTED); NDM NICHT ERMITTELT (NDM NOT DETECTED); KPC NICHT ERMITTELT (KPC NOT DETECTED); OXA48 NICHT ERMITTELT (OXA48 NOT DETECTED)</p> <p>Siehe Abbildung 12.</p>	<p>IMP-, VIM-, NDM-, KPC- und OXA-48-Ziel-DNA-Sequenzen wurden nicht nachgewiesen.</p> <ul style="list-style-type: none"> IMP-, VIM-, NDM-, KPC- und OXA-48-Ziel-DNA-Sequenzen sind nicht vorhanden oder unter der Nachweisgrenze des Assays. PVK: BEST. (PASS); die PCR-Amplifikation der PVK-DNA-Sequenz ergibt einen Ct-Wert innerhalb des gültigen Bereichs und einen Fluoreszenzpunkt oberhalb des eingestellten Minimums. PCC: BEST. (PASS); alle Sondentestergebnisse waren erfolgreich.
<p>UNGÜLTIG (INVALID)</p> <p>Siehe Abbildung 13.</p>	<p>Die An- bzw. Abwesenheit von IMP-, VIM-, NDM-, KPC- und OXA-48-Ziel-DNA-Sequenzen kann nicht bestimmt werden. Wiederholen Sie den Test gemäß den Anweisungen in Abschnitt 14, Testwiederholung.</p> <ul style="list-style-type: none"> PVK: DEFECT (FAIL); keine PCR-Amplifikation der PVK-DNA-Sequenz oder der PVK-Ct-Wert liegt nicht innerhalb des gültigen Bereichs und der Fluoreszenzpunkt liegt unterhalb des eingestellten Schwellenwerts. PCC: BEST. (PASS); alle Sondentestergebnisse waren erfolgreich.

Tabelle 1. Repräsentative Ergebnisse mit dem Xpert Carba-R Assay und Auswertung (Fortsetzung)

Ergebnis	Interpretation
FEHLER (ERROR)	<p>Die An- bzw. Abwesenheit von IMP-, VIM-, NDM-, KPC- und OXA-48-Ziel-DNA-Sequenzen kann nicht bestimmt werden. Wiederholen Sie den Test gemäß den Anweisungen in Abschnitt 14, Testwiederholung.</p> <ul style="list-style-type: none"> PVK: KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) PCC: DEFEKT (FAIL)*; ein oder mehrere Sondentestergebnisse sind fehlgeschlagen. Die PCC ist wahrscheinlich fehlgeschlagen, weil der Reaktionsbehälter unsachgemäß gefüllt wurde oder ein Problem mit der Unversehrtheit einer Sonde festgestellt wurde. <p>* Wenn die Sondenprüfung bestanden wurde, wurde der Fehler durch den Ausfall einer Systemkomponente verursacht.</p>
KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)	<p>Die An- bzw. Abwesenheit von IMP-, VIM-, NDM-, KPC- und OXA-48-Ziel-DNA-Sequenzen kann nicht bestimmt werden. Wiederholen Sie den Test gemäß den Anweisungen in Abschnitt 14, Testwiederholung. Es wurden nicht genügend Daten gesammelt, um ein Testergebnis zu erzielen (zum Beispiel hat der Benutzer einen laufenden Test abgebrochen oder es ist zu einem Stromausfall gekommen).</p> <ul style="list-style-type: none"> PVK: KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) PCC: Nicht zutreffend

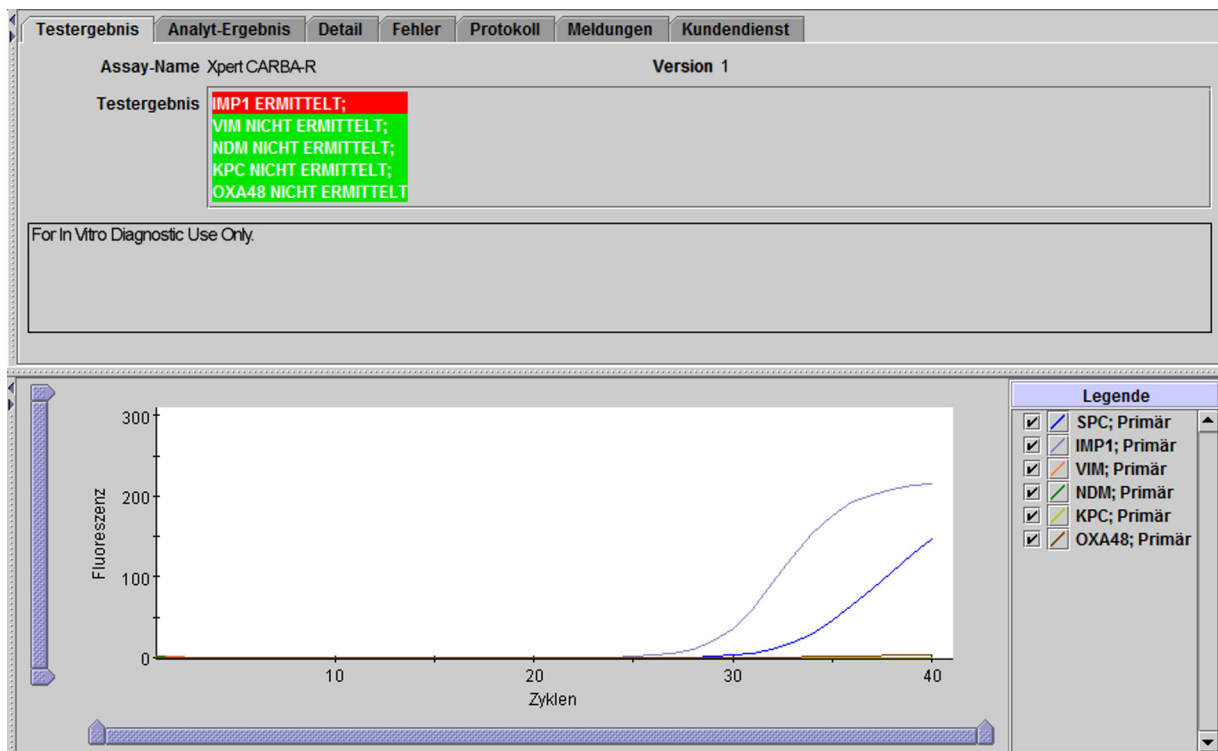


Abbildung 5. Carba-R Assay – IMP ermittelt

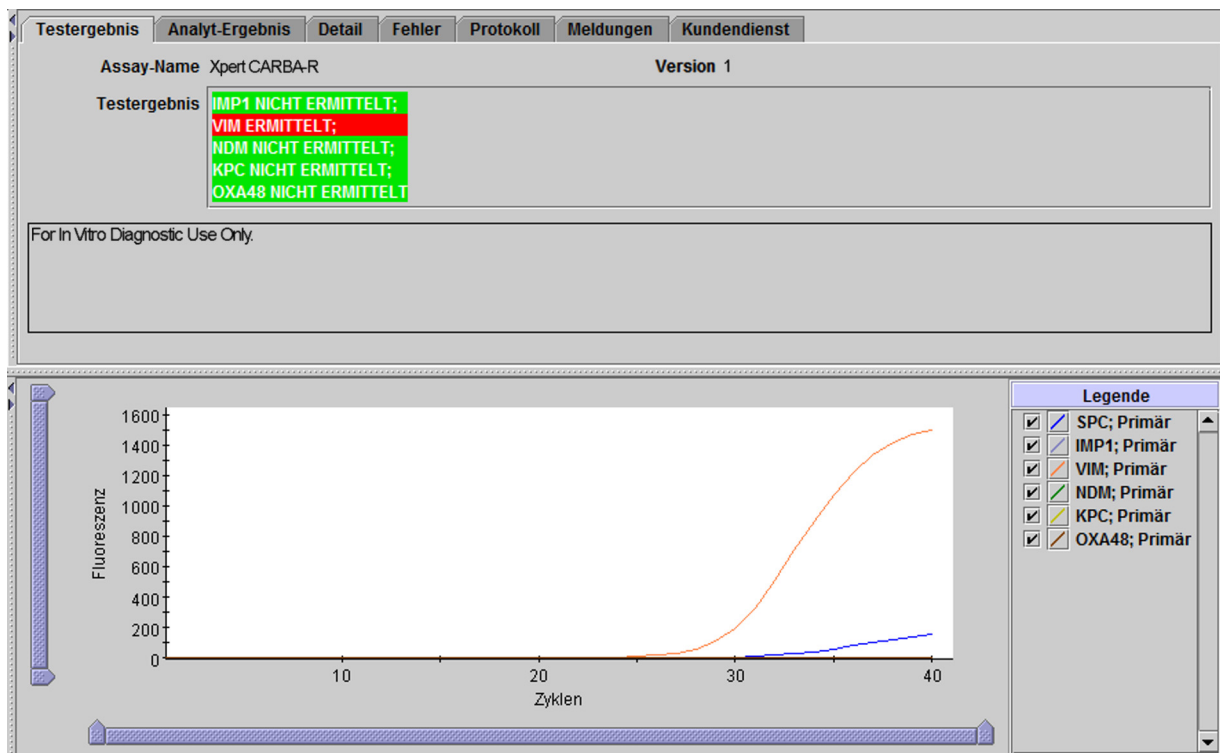


Abbildung 6. Carba-R Assay – VIM ermittelt

Hinweis Es sind keine Beispiele für NDM-positive, KPC-positive und OXA-positive Proben abgebildet.

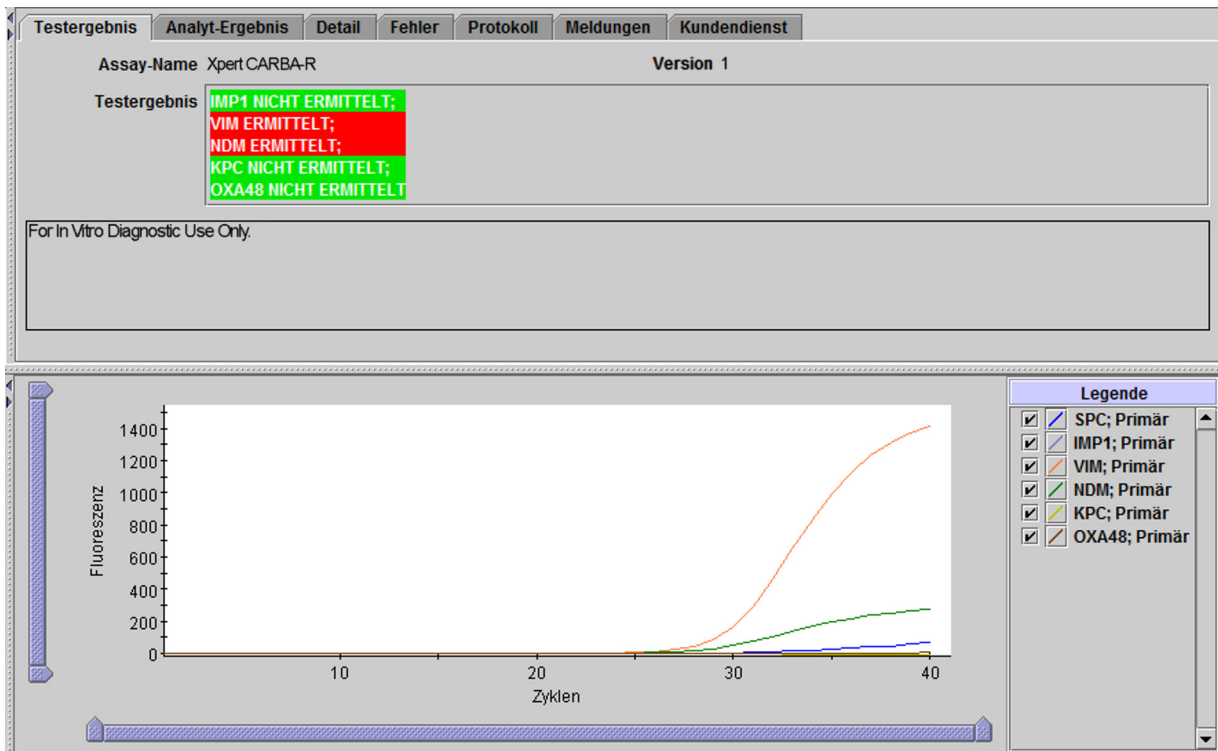


Abbildung 7. Carba-R Assay – VIM und NDM ermittelt

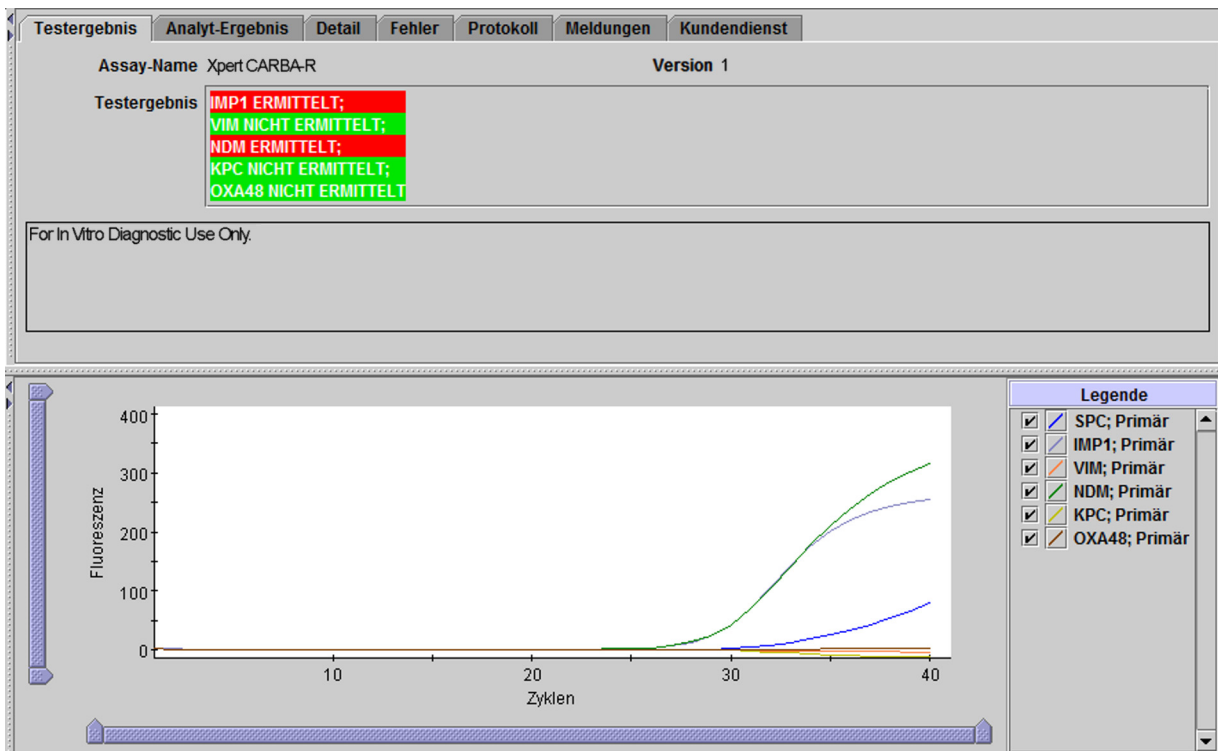


Abbildung 8. Carba-R Assay – IMP und NDM ermittelt

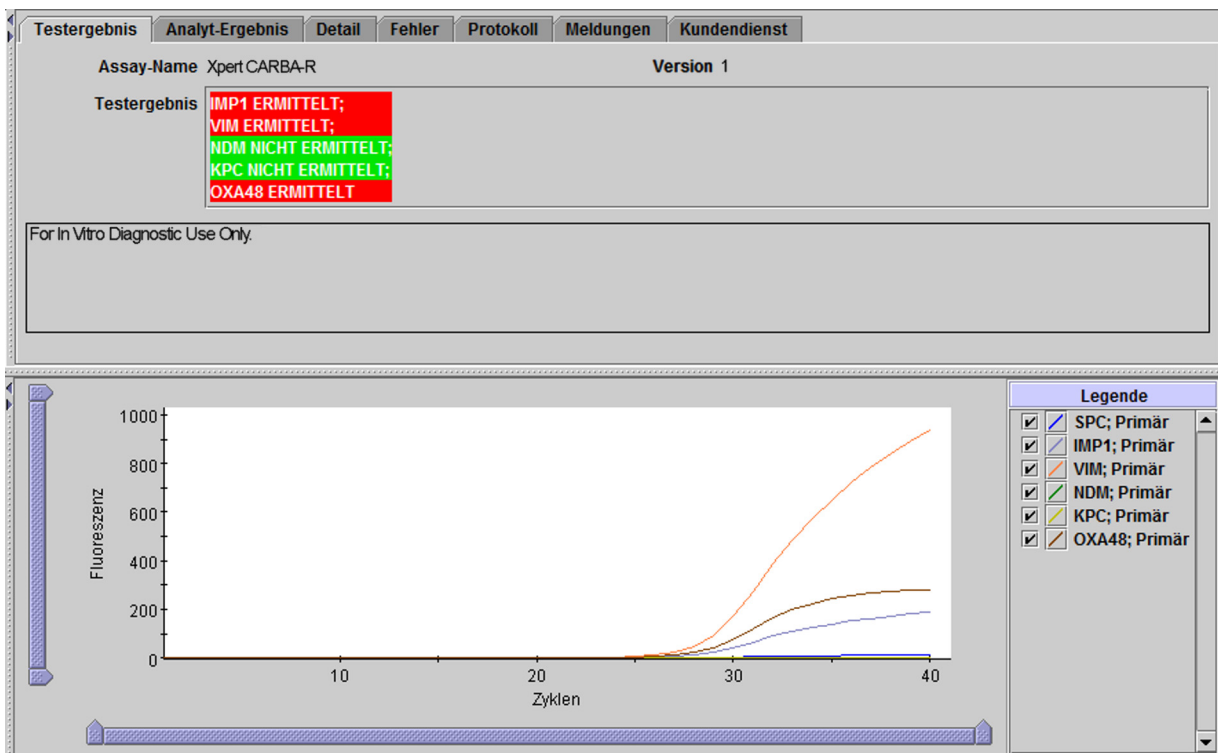


Abbildung 9. Carba-R Assay – IMP, VIM und OXA-48 ermittelt

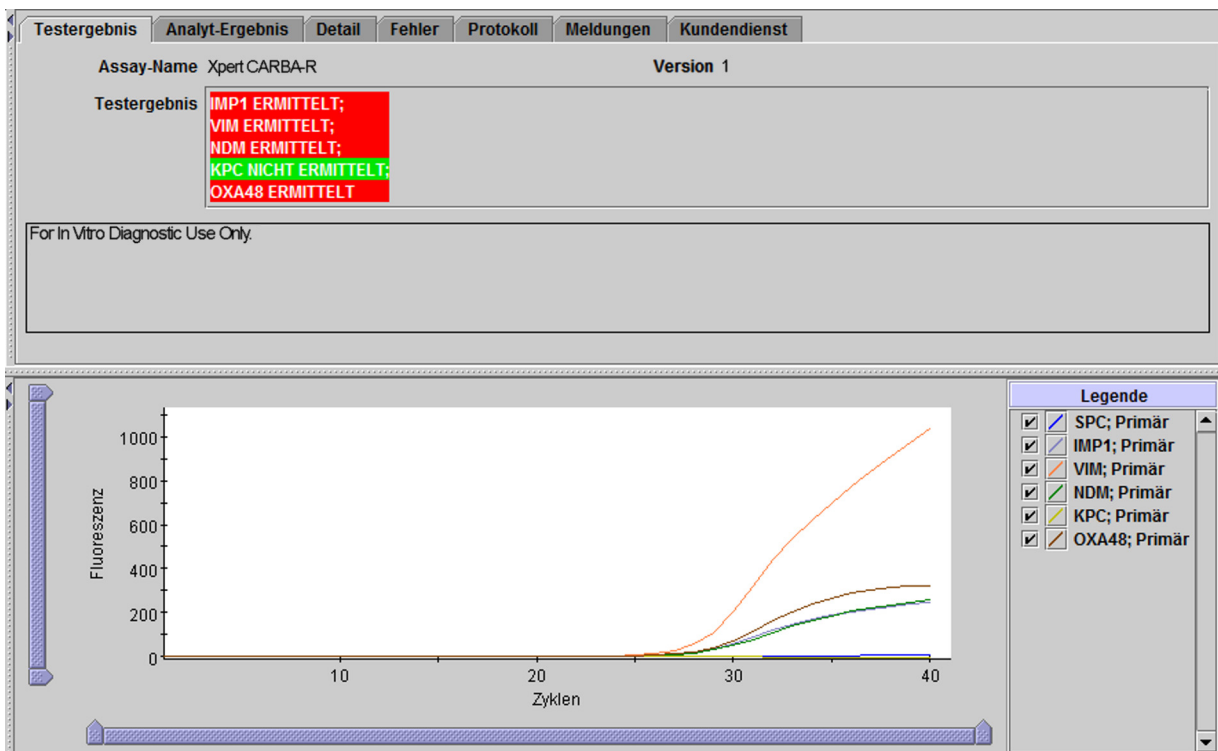


Abbildung 10. Carba-R Assay – IMP, VIM, NDM und OXA-48 ermittelt

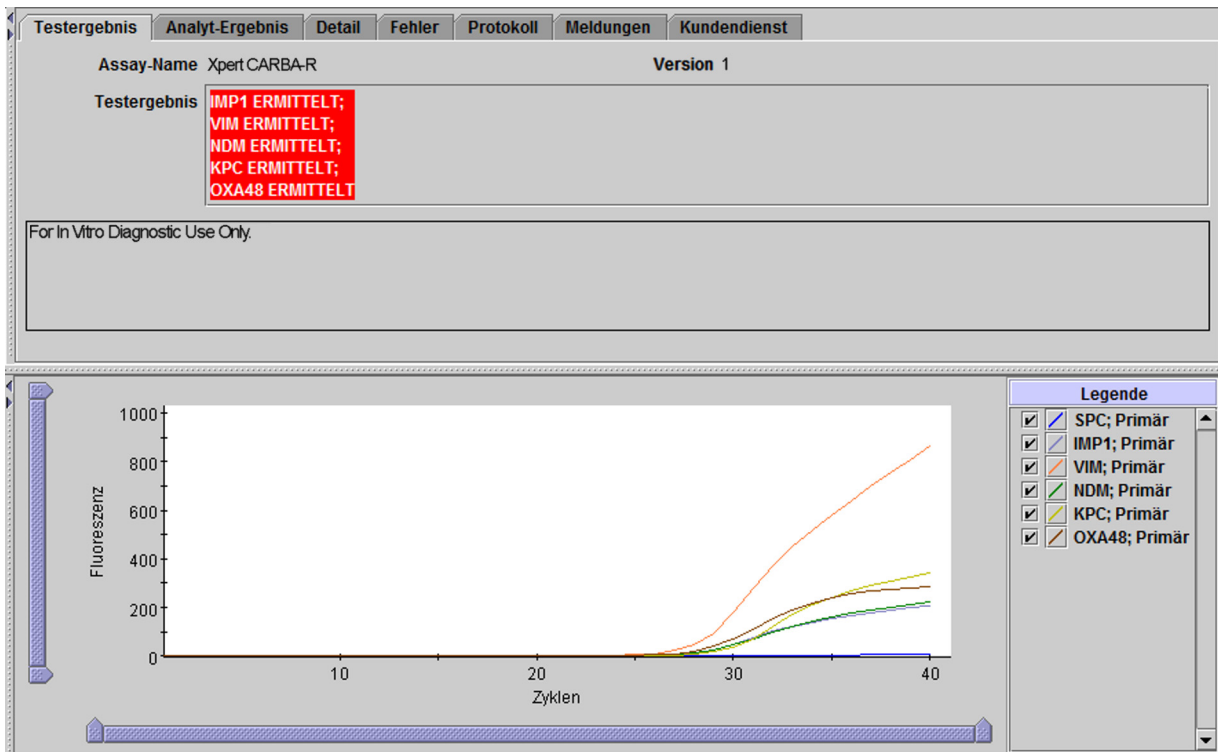


Abbildung 11. Carba-R Assay – IMP, VIM, NDM, KPC und OXA-48 ermittelt

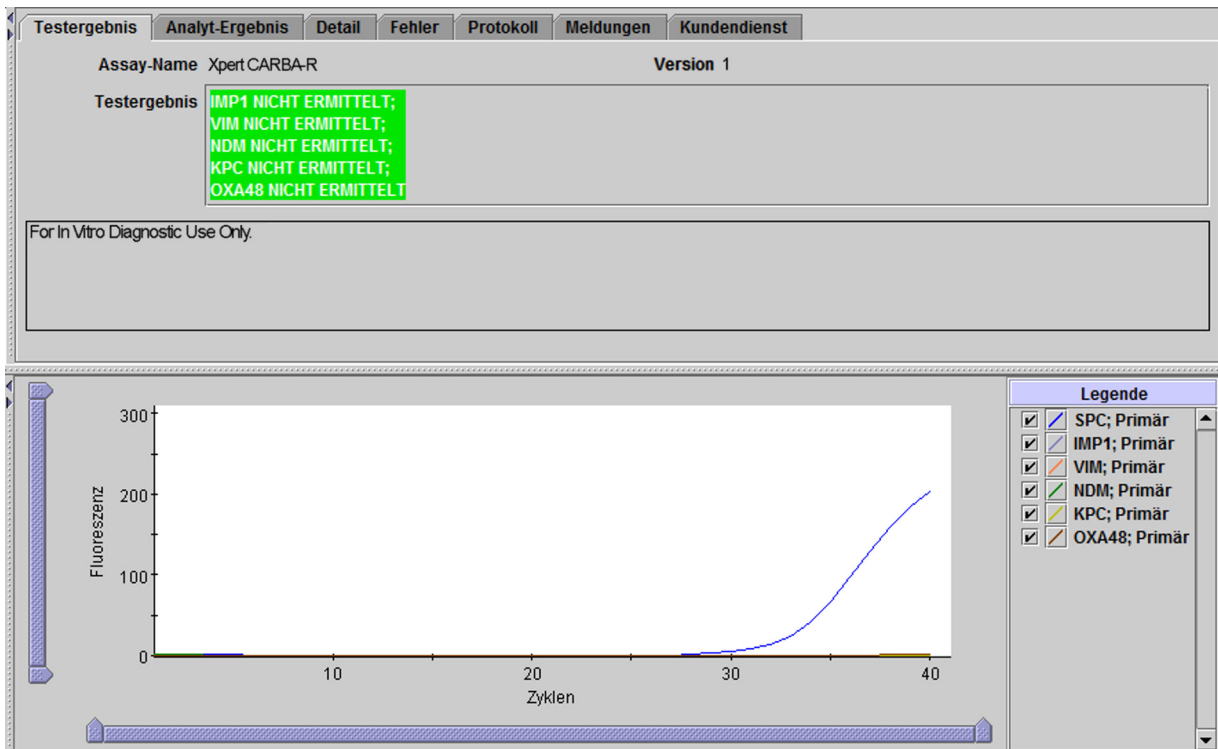


Abbildung 12. Carba-R Assay – IMP, VIM, NDM, KPC und OXA-48 nicht ermittelt

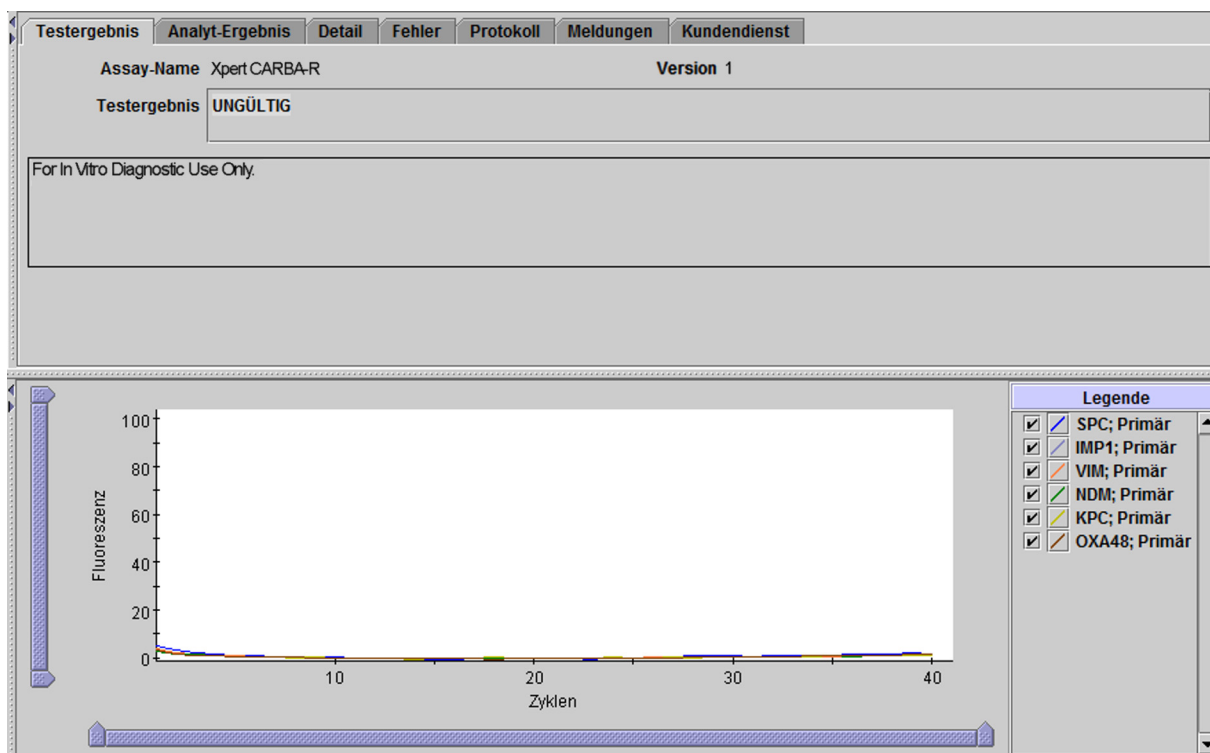


Abbildung 13. Carba-R Assay – Ungültig

13 Gründe für eine Testwiederholung

Der Test ist mit einer neuen Kartusche (Kartusche nicht wiederverwenden) und einem neuen Probenreagenzfläschchen zu wiederholen. Das Vorgehen zur Testwiederholung wird in Abschnitt 14, Testwiederholung erläutert.

- Das Ergebnis **UNGÜLTIG (INVALID)** bedeutet, dass die PVK-Kontrolle fehlgeschlagen ist. Die Probe wurde nicht sachgemäß verarbeitet, die PCR wurde gehemmt oder die zugegebene Probenmenge war nicht ausreichend.
- 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 einer Reagenzsonde, Überschreitung der maximalen Druckgrenzwerte, Fehler bei der Ventilpositionierung.
- **KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)** bedeutet, dass nicht genügend Daten erfasst wurden. Zum Beispiel hat der Benutzer einen laufenden Test abgebrochen oder es ist zu einem Stromausfall gekommen.
- Falls eine externe Kontrolle nicht wie erwartet ausfällt, den Test mit der externen Kontrolle wiederholen und/oder Technischer Kundendienst von Cepheid um Unterstützung bitten.

14 Testwiederholung

14.1 Testwiederholung bei rektalen oder perirektalen Abstrichproben

1. Eine neue Kartusche, ein neues Probenreagenzfläschchen und eine neue Transferpipette aus dem Kit entnehmen.
2. Den übrig gebliebenen Tupfer aus dem Transportröhrchen nehmen.
3. Den Tupfer in ein neues Probenreagenzfläschchen stecken. Den Tupfer am Stiel nahe dem Flaschenrand fassen, den Tupfer einige Millimeter vom Behälterboden anheben und den Stiel über die Flaschenkante biegen, um ihn an der Kerbmarkierung abzubreaken. Der restliche Tupfer muss kurz genug sein, um in die Flasche zu passen und den Deckel fest verschließen zu können.
4. Das neue Probenreagenzfläschchen mit dem Deckel fest verschließen und 10 Sekunden lang bei hoher Geschwindigkeit im Vortexer mischen.
5. Den Kartuschendeckel öffnen. Mit der mitgelieferten Transferpipette Probenreagenz bis zur Markierung an der Pipette aufnehmen und das Material in die Probenkammer der Xpert Carba-R Assay-Kartusche überführen.
6. Den Kartuschendeckel schließen und die Kartusche innerhalb von 30 Minuten in das GeneXpert-Instrument stellen. Abschnitt 10.2, Testbeginn befolgen.

14.2 Testwiederholung bei Bakterienisolatproben

1. Eine neue Kartusche, ein neues Probenreagenzfläschchen und eine neue Transferpipette aus dem Kit entnehmen.
2. Die gesamte Restmenge der Probe aus dem Probenreagenzfläschchen in ein neues Probenreagenzfläschchen überführen.
3. Das neue Probenreagenzfläschchen mit dem Deckel fest verschließen und 10 Sekunden lang bei hoher Geschwindigkeit im Vortexer mischen.
4. Den Kartuschendeckel öffnen. Mit der mitgelieferten Transferpipette Probenreagenz bis zur Markierung an der Pipette aufnehmen und das Material in die Probenkammer der Xpert Carba-R Assay-Kartusche überführen.
5. Den Kartuschendeckel schließen und die Kartusche innerhalb von 30 Minuten in das GeneXpert-Instrument stellen. Abschnitt 10.2, Testbeginn befolgen.

Hinweis Bei Bakterienisolaten nicht mehr als einen Wiederholungstest durchführen, da wiederholte Verdünnungen zu falsch negativen Ergebnissen führen können.

15 Einschränkungen

15.1 Allgemeine Einschränkungen

- Der Xpert Carba-R Assay dient zum Nachweis von *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} und *bla*_{IMP} in rektalen und perirektalen Abstrichproben und reinen Kolonien. Er dient nicht zur Identifizierung von Bakterien. Der Nachweis dieser Gensequenzen weist nicht zwingend auf das Vorhandensein lebensfähiger Organismen hin.
- Der Xpert Carba-R Assay ist kein Subtypisierungs-Tool und gibt keine Varianten der *bla*_{IMP}-, *bla*_{VIM}-, *bla*_{NDM}-, *bla*_{KPC}- oder *bla*_{OXA-48}-Gene aus.
- Bestimmte Bakterienspezies, wie z. B. *Pseudomonas aeruginosa* und *Acinetobacter baumannii* haben aufgrund intrinsischer Resistenzmechanismen eine Resistenz gegen Carbapeneme gezeigt.
- Der Nachweis anderer OXA-Carbapenemase-Gene, außer *bla*_{OXA-48} und *bla*_{OXA-181}, wurde in der Studie nicht untersucht.
- Die *In-silico*-Analysen, die zur Vorhersage der mit diesem Assay nachgewiesenen Varianten verwendet wurden, beruhten auf einem Vergleich von in GenBank vorhandenen Zielsequenzen mit Primer-/Sonden-Oligonukleotiden des Xpert Carba-R Assay und der Amplikonsequenz für die Zielsequenz jeden Gens. BLAST-Suchen nach *In-silico*-Analysen wurden 2014–2015 durchgeführt. *In-silico*-Analysen mit neuen Varianten der Zielsequenzen für die fünf Zielgene, die nach 2015 in die Datenbank aufgenommen wurden, wurden nicht durchgeführt.
- Mutationen oder Polymorphismen in Primer- oder Sonden-bindenden Regionen können sich auf den Nachweis von aktuellen, neuen oder unbekanntenen *bla*_{KPC}-, *bla*_{NDM}-, *bla*_{VIM}-, *bla*_{OXA-48}- und *bla*_{IMP}-Varianten auswirken und falsch negative Ergebnisse zur Folge haben.
- Der Xpert Carba-R Assay gibt ein negatives IMP-Ergebnis aus, wenn die getesteten Proben IMP-7-, IMP-13- oder IMP-14-Gensequenzen enthalten.
- Die Leistung des Xpert Carba-R Assay mit anderen Zielsequenzen des Carbapenemase-Gens außer *bla*_{SPM}, *bla*_{SME} und *bla*_{IMI} ist unbekannt.
- Da der Nachweis von *bla*_{KPC}-, *bla*_{NDM}-, *bla*_{VIM}-, *bla*_{OXA-48}- und *bla*_{IMP}-Gensequenzen von der Anzahl der in der Probe vorhandenen Organismen abhängt, ist die Zuverlässigkeit der Ergebnisse von der sachgemäßen Handhabung und Aufbewahrung der Proben abhängig.
- Der Xpert Carba-R Assay sollte als unterstützender Test neben anderen verfügbaren Methoden benutzt werden.
- Die Ergebnisse mit dem Xpert Carba-R Assay können bisweilen aufgrund einer fehlgeschlagenen PVK-Kontrolle **UNGÜLTIG (INVALID)** sein, oder es kann ein **FEHLER (ERROR)** oder **KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)**, gemeldet werden, sodass eine Testwiederholung erforderlich ist, was die endgültigen Ergebnisse verzögern kann.

15.2 Einschränkungen bei rektalen und perirektalen Proben

- Die Leistung des Xpert Carba-R Assays wurde nicht mit rektalen oder perirektalen Abstrichproben von pädiatrischen Patienten geprüft.
- Analytische Untersuchungen unter Verwendung von Kombinationen von zwei Bakterienpopulationen an simulierten Abstrichproben zeigen, dass wenn eine Carbapenemase-produzierende Bakterienspezies nahe der Nachweisgrenze inokuliert wird und eine andere Carbapenemase-produzierende Bakterienspezies in Konzentrationen $\geq 5 \times 10^6$ CFU/Tupfer vorhanden ist, die in niedriger Konzentration vorhandene Zielsequenz möglicherweise nicht nachgewiesen wird. Eine Co-Besiedlung mit zwei oder mehr Carbapenemase-produzierenden Organismen wurde mit dem Xpert Carba-R Assay berichtet, ist jedoch selten. Der Nicht-Nachweis einer zweiten Zielsequenz sollte nur minimale Auswirkungen auf das Patientenmanagement haben, da für Patienten mit positivem Ergebnis für einen Carbapenemase-produzierenden Organismus stets Isoliermaßnahmen eingeleitet werden.
- Beim Testen von rektalen Abstrichmatrixproben ist bei Vorhandensein von Bariumsulfat bei $> 0,1$ Gew.-% und Pepto-Bismol bei $> 0,01$ Gew.-% eine Störung des Xpert Carba-R Assays möglich.
- Beim Testen von perirektalen Abstrichmatrixproben ist bei Vorhandensein von Bariumsulfat bei $> 0,1$ Gew.-% und Pepto-Bismol bei $> 0,025$ Gew.-% eine Störung des Xpert Carba-R Assays möglich.
- Bei rektalen Abstrichproben, die die VIM-Zielsequenz enthalten, ist bei Vorhandensein von Fäkal Fett in Konzentrationen von $0,25$ Gew.-% eine Störung möglich, was zu verzögerten Zyklusschwellenwerten führt.
- Zusätzlich zu den *Pseudomonas aeruginosa*- und *Acinetobacter baumannii*-Gruppen, die in dieser simulierten Studie getestet wurden, wurden auch andere Nicht-Enterobakterien untersucht: *Pseudomonas stutzeri* (1), *Pseudomonas oryzihabitans* (1), *Pseudomonas putida* (2) und *Empedobacter brevis* (1). Die Leistung des Xpert Carba-R Assays mit anderen Nicht-Enterobakterien außer diesen sechs Spezies wurde noch nicht untersucht und ist deshalb unbekannt.
- Bei rektalen Abstrichproben zeigte der Xpert Carba-R Assay eine geringere positive prozentuale Übereinstimmung (PPA von $55,6$ %) für den Nachweis der bla_{VIM} -Gensequenz in *Pseudomonas aeruginosa*. Das Assay lieferte vier (4) falsch negative Ergebnisse bei Proben, bei denen die Referenzmethode *Pseudomonas aeruginosa* mit bla_{VIM} -Sequenz nachwies.
- Während der simulierten Studie zeigte der Xpert Carba-R Assay bei rektalen Abstrichproben eine geringere positive prozentuale Übereinstimmung (PPA von $85,7$ %) für den Nachweis der bla_{IMP} -Gensequenz in *Acinetobacter baumannii*. Darüber hinaus wurde eine niedrige prozentuale Gesamtübereinstimmung ($86,1$ %) zwischen den Zentren für die Reproduzierbarkeitsstudie bei Proben beobachtet, die niedrige Konzentrationen des Organismus mit der bla_{IMP} -Gensequenz enthielten.
- Carbapenem-resistente Anaerobier die möglicherweise in Stuhlproben vorhanden sind, wurden mit dem Xpert Carba-R Assay nicht untersucht.
- Der Nachweis von bla_{KPC} , bla_{NDM} , bla_{VIM} , bla_{OXA-48} und/oder bla_{IMP} in rektalen und perirektalen Abstrichproben kann u. U. aus anderen Organismen als *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Acinetobacter baumannii* stammen.
- Die Leistung des Xpert Carba-R Assay mit empfindlichen Isolaten, die bla_{KPC} -, bla_{NDM} -, bla_{VIM} -, bla_{OXA-48} - und/oder bla_{IMP} -Gensequenzen, enthalten, wurde noch nicht vollständig untersucht.

15.3 Einschränkungen bei reinen Kolonien

- Die Leistung des Xpert Carba-R Assays mit reinen Kolonien anderer Bakterien außer Enterobakterien, *Pseudomonas aeruginosa* und *Acinetobacter baumannii* wurde noch nicht untersucht. Vor dem Testen mit dem Xpert Carba-R Assay sollten die Organismen identifiziert werden und deren Carbapenem-Resistenzstatus bestimmt werden.
- Falsche Testergebnisse können durch unsachgemäße Kulturtechniken, Nichtbefolgung der empfohlenen Vorgehensweisen zur Herstellung der 0,5-McFarland-Suspension, der 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.

16 Erwartete Werte

Für die klinische Studie zum Xpert Carba-R Assay wurden insgesamt 2543 Proben (rektale bzw. perirektale Abstrichproben und simulierte Proben) an 8 Studienzentren in und außerhalb der USA untersucht. Die Xpert Carba-R Assayergebnisse im Vergleich zu Kultur- und bidirektionalen DNA-Sequenzanalysen nach Genzielsequenz für jede der prospektiven kombinierten und simulierten Proben sind in Tabelle 2 dargestellt.

In einer separaten klinischen Studie zum Xpert Carba-R Assay wurden insgesamt 467 Bakterienisolate an 4 Studienzentren in und außerhalb der USA untersucht. Die Xpert Carba-R Assayergebnisse im Vergleich zu bidirektionalen DNA-Sequenzanalysen nach Genzielsequenz für die beiden Agararten sind in Tabelle 8, Tabelle 9, Tabelle 10, Tabelle 11 und Tabelle 12 dargestellt.

17 Leistungsmerkmale

17.1 Klinische Leistung – rektale und perirektale Abstrichproben

Die Leistungsmerkmale des Xpert Carba-R Assays mit rektalen und perirektalen Abstrichproben wurden im Rahmen einer multizentrischen Forschungsstudie ermittelt. Die positive prozentuale Übereinstimmung (PPA) und die negative prozentuale Übereinstimmung (NPA) des Xpert Carba-R Assays wurde relativ zu einer Referenzmethode mittels Kultur (MacConkey-Anreicherungsbouillon) und PCR/bidirektionaler DNA-Sequenzanalyse beurteilt.

An acht geografisch unterschiedlichen Zentren (sechs in den USA und zwei in Europa) wurden prospektiv gepaarte rektale bzw. perirektale Abstrichproben von Probanden entnommen, die in Krankenhäusern oder Einrichtungen für die Langzeitpflege eingewiesen waren. Stark behaftete rektale bzw. perirektale Abstrichproben (siehe Anleitungen in Abschnitt 9 – Probenvorbereitung und -aufbewahrung) wurden von der Studie ausgeschlossen. Aufgrund der geringen Prävalenz der Zielgene des Xpert Carba-R Assays ohne erfolgten Ausbruch wurden simulierte Proben ebenfalls in die Studie eingeschlossen.

Ein Tupfer des Paares wurde zum Testen mit dem Xpert Carba-R Assay verwendet. Der zweite Tupfer wurde in MacConkey-Anreicherungsbouillon inokuliert und zum Testen mit der Referenzmethode verwendet. Ein Referenzkulturlabor bestimmte das Vorhandensein von Carbapenem-nichtempfindlichen Organismen durch Kultivieren der MacConkey-Anreicherungsbouillon von jeder der Proben. Die MacConkey-Anreicherungsbouillon wurde auf das Vorhandensein von Carbapenem-nichtempfindlichen Organismen getestet, indem die Bouillon auf MacConkey-Agarplatten übertragen und ein Meropenem-Blättchen aufgelegt wurde. Bei Proben, die ein Wachstum gramnegativer Bakterien um das Meropenem-Blättchen aufwiesen, wurde die Carbapenem-Resistenz an isolierten Kolonien unter Verwendung der Blättchendiffusionsmethode (gemäß CLSI-Dokument M02) sowie von CLSI-Dokument M100²⁰ bestätigt. Die aus den Carbapenem-nichtempfindlichen Isolaten extrahierte DNA wurde unter Verwendung von Primern, die für alle fünf Zielgene spezifisch sind, gereinigt, quantifiziert und amplifiziert; die amplifizierten Regionen enthielten mehr Basen als die mit dem Xpert Carba-R Assay amplifizierten Regionen. Die Erzeugung des entsprechend großen Amplifikationsprodukts wurde mithilfe des Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) bestätigt.

Wenn die auf dem Bioanalyzer angezeigten Streifen der erwarteten Größe des Amplikons für ein beliebiges der fünf mit dem Xpert Carba-R Assay nachgewiesenen Zielgene entsprachen, wurde das Amplikon des Isolats an ein unabhängiges Labor zur bidirektionalen Referenz-Sequenzanalyse geschickt, um den Nachweis der fünf Zielsequenzen des Xpert Carba-R Assays zu validieren. Wenn auf dem Bioanalyzer keine Streifen für die fünf Zielgene angezeigt wurden, wurde das Isolat nicht zur Sequenzanalyse eingeschickt, und die Referenzmethode galt als negativ für die fünf Zielgene.

Mit dem Xpert Carba-R Assay erzielte Ergebnisse bei prospektiven Proben im Vergleich zur Referenzmethode

Insgesamt wurden 802 prospektive rektale Abstrichproben in die klinische Studie aufgenommen. Von diesen erfüllten 785 die Einschlusskriterien. Von diesen 785 Proben wurden nach Ausschluss aufgrund von Protokollabweichungen (einschließlich 16 *Stenotrophomonas maltophilia*-Organismen, die aufgrund ihrer intrinsischen Resistenz gegenüber der getesteten Carbapeneme ausgeschlossen wurden) 755 Proben in den endgültigen Datensatz aufgenommen.

Insgesamt wurden 963 prospektive perirektale Abstrichproben in die klinische Studie aufgenommen. Von diesen erfüllten 947 die Einschlusskriterien. Von diesen 947 Proben wurden nach Ausschluss aufgrund von Protokollabweichungen (einschließlich 10 *Stenotrophomonas maltophilia*-Organismen, einem *Pseudomonas putida*- und einem *Pseudomonas stutzeri*-Organismus, die aufgrund von Studiendesignkriterien ausgeschlossen wurden) 924 Proben in den endgültigen Datensatz aufgenommen.

Beim Testen mit prospektiven rektalen Abstrichproben zeigte der Xpert Carba-R Assay einen PPA-Bereich von 60,0 % bis 100 % für die vier Zielsequenzen des Assays (bla_{KPC} , bla_{NDM} , bla_{VIM} und bla_{OXA-48}) im Vergleich zur Referenzmethode (Tabelle 2). Die NPA für die bla_{KPC} -, bla_{NDM} -, bla_{VIM} -, bla_{OXA-48} - und bla_{IMP} -Genzielsequenzen betrug zwischen 98,6 % und 99,9 % im Vergleich zur Referenzmethode (Tabelle 2).

Beim Testen mit prospektiven perirektalen Abstrichproben zeigte der Xpert Carba-R Assay eine PPA von 100 % für die drei Zielsequenzen (bla_{NDM} , bla_{KPC} und bla_{OXA-48}) im Vergleich zur Referenzmethode. Die NPA für die bla_{KPC} -, bla_{NDM} -, bla_{VIM} -, bla_{OXA-48} - und bla_{IMP} -Genzielsequenzen betrug zwischen 99,6 % und 100 % im Vergleich zur Referenzmethode (Tabelle 2).

Beim Testen sowohl mit prospektiven rektalen als auch mit prospektiven perirektalen Abstrichproben zeigte der Xpert Carba-R Assay einen PPA-Bereich von 60,0 % bis 100 % für die vier Zielsequenzen des Assays (bla_{KPC} , bla_{NDM} , bla_{VIM} und bla_{OXA-48}) im Vergleich zur Referenzmethode (Tabelle 2). Die NPA für die bla_{KPC} -, bla_{NDM} -, bla_{VIM} -, bla_{OXA-48} - und bla_{IMP} -Genzielsequenzen betrug zwischen 99,3 % und 99,9 % im Vergleich zur Referenzmethode (Tabelle 2).

Für Proben mit nicht übereinstimmenden Ergebnissen (der Xpert Carba-R Assay war positiv für ein Zielgen, aber es wurde kein Carbapenem-nichtempfindlicher Organismus mit der Referenzkultur isoliert), wurde eine Analyse der nicht übereinstimmenden Ergebnisse anhand bidirektionaler Sequenzierung von direkt aus dem MacConkey-Anreicherungsbouillon extrahierter DNA durchgeführt. Nicht übereinstimmende Testergebnisse sind unter Tabelle 2 aufgeführt.

Tabelle 2. Leistung des Xpert Carba-R gegenüber Referenzkultur + Sequenzierung – prospektive Proben

Probentyp	Zielsequenz	N	RP	FP	RN	FN	PPA (95 % KI)	NPA (95 % KI)
Rektal ^a	IMP	755	0	1 ^b	754	0	N. zutr.	99,9 % (99,3-100)
	VIM	755	6	8 ^c	737	4	60,0 % (31,3-83,2)	98,9 % (97,9-99,5)
	NDM	755	7	3 ^d	745	0	100 % (64,6-100)	99,6 % (98,8-99,9)
	KPC	755	29	6 ^{e,f}	720	0	100 % (88,3-100)	99,2 % (98,2-99,6)
	OXA-48	755	29	10 ^g	715	1	96,7 % (83,3-99,4)	98,6 % (97,5-99,2)
Perirektal ^h	IMP	924	0	0	924	0	N. zutr.	100 % (99,6-100)
	VIM	924	0	0	924	0	N. zutr.	100 % (99,6-100)
	NDM	924	1	0	923	0	100 % (20,7-100)	100 % (99,6-100)
	KPC	924	2	4 ⁱ	918	0	100 % (34,2-100)	99,6 % (98,9-99,8)
	OXA-48	924	1	1 ^j	922	0	100 % (20,7-100)	99,9 % (99,4-100)
Kombiniert ^{a,h}	IMP	1679	0	1 ^b	1678	0	N. zutr.	99,9 % (99,7-100)
	VIM	1679	6	8 ^c	1661	4	60,0 % (31,3-83,2)	99,5 % (99,1-99,8)
	NDM	1679	8	3 ^d	1668	0	100 % (67,6-100)	99,8 % (99,5-99,9)
	KPC	1679	31	10 ^k	1638	0	100 % (89,0-100)	99,4 % (98,9-99,7)
	OXA-48	1679	30	11 ^l	1637	1	96,8 % (83,8-99,4)	99,3 % (98,8-99,6)

N = Anzahl, RP = richtig positiv, FP = falsch positiv, RN = richtig negativ, FN = falsch negativ

- Von den 755 prospektiven rektalen Abstrichproben, die in der Studie untersucht wurden, ergaben 636 Proben kein Kulturerisolat. Mit der Referenzmethode wurden aus den verbleibenden 119 Proben 112 Carbapenem-nichtempfindliche Organismen gewonnen, zusätzlich zu 7 Carbapenem-empfindlichen Organismen [*Pseudomonas aeruginosa* (5); *Escherichia coli* (1) und *Enterobacter cloacae* (1)].
- Überprüfung der Ergebnisse mittels Sequenzierung: 1 von 1 war IMP-negativ.
- Überprüfung der Ergebnisse mittels Sequenzierung: 2 von 8 waren VIM-positiv; 6 von 8 waren VIM-negativ.
- Überprüfung der Ergebnisse mittels Sequenzierung: 1 von 3 waren NDM-positiv; 2 von 3 waren NDM-negativ.
- Überprüfung der Ergebnisse mittels Sequenzierung: 1 von 6 waren KPC-positiv; 5 von 6 waren KPC-negativ.
- Das Zentrum berichtete, dass der Proband zum Zeitpunkt der Probenentnahme Ertapenem einnahm.
- Überprüfung der Ergebnisse mittels Sequenzierung: 3 von 10 waren OXA-48-positiv; 7 von 10 waren OXA-48-negativ.
- Von den 924 prospektiven perirektalen Abstrichproben, die in der Studie untersucht wurden, ergaben 891 Proben kein Kulturerisolat. Mit der Referenzmethode wurden aus den verbleibenden 33 Proben 31 Carbapenem-nichtempfindliche Organismen gewonnen, zusätzlich zu zwei Carbapenem-empfindlichen Organismen (*Pseudomonas aeruginosa*).
- Überprüfung der Ergebnisse mittels Sequenzierung: 4 von 4 waren KPC-negativ.
- Überprüfung der Ergebnisse mittels Sequenzierung: 1 von 1 war OXA-48-negativ.
- Überprüfung der Ergebnisse mittels Sequenzierung: 1 von 10 waren KPC-positiv; 9 von 10 waren KPC-negativ.
- Überprüfung der Ergebnisse mittels Sequenzierung: 3 von 11 waren OXA-48-positiv; 8 von 11 waren OXA-48-negativ.

Die Leistung des Xpert Carba-R Assays mit sowohl prospektiven rektalen als auch perirektalen Proben ist in Tabelle 3 nach Spezies dargestellt. Nur Organismen, für die mindestens eine positive Probe entnommen wurde, sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Tabelle 3. Leistung des Xpert Carba-R gegenüber Referenzkultur + Sequenzierung nach Organismustyp – prospektive rektale bzw. perirektale Proben

Spezies ^a	Zielsequenz	N	RP	FP	RN	FN	PPA (95 % KI)	NPA (95 % KI)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	IMP	1	0	0	1	0	N. zutr.	100 % (20,7-100)
	VIM	1	0	0	1	0	N. zutr.	100 % (20,7-100)
	NDM	1	0	0	1	0	N. zutr.	100 % (20,7-100)
	KPC	1	1	0	0	0	100 % (20,7-100)	N. zutr.
	OXA-48	1	0	0	1	0	N. zutr.	100 % (20,7-100)
<i>Enterobacter cloacae</i>	IMP	4	0	0	4	0	N. zutr.	100 % (51,0-100)
	VIM	4	1	0	3	0	100 % (20,7-100)	100 % (43,9-100)
	NDM	4	0	0	4	0	N. zutr.	100 % (51,0-100)
	KPC	4	0	0	4	0	N. zutr.	100 % (51,0-100)
	OXA-48	4	1	0	3	0	100 % (20,7-100)	100 % (43,9-100)
<i>E. coli</i>	IMP	10	0	0	10	0	N. zutr.	100 % (72,3-100)
	VIM	10	0	0	10	0	N. zutr.	100 % (72,3-100)
	NDM	10	3	0	7	0	100 % (43,9-100)	100 % (67,6-100)
	KPC	10	2	0	8	0	100 % (34,2-100)	100 % (64,6-100)
	OXA-48	10	3	0	7	0	100 % (43,9-100)	100 % (64,6-100)

Tabelle 3. Leistung des Xpert Carba-R gegenüber Referenzkultur + Sequenzierung nach Organismustyp – prospektive rektale bzw. perirektale Proben (Fortsetzung)

Spezies ^a	Zielsequenz	N	RP	FP	RN	FN	PPA (95 % KI)	NPA (95 % KI)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	IMP	1	0	0	1	0	N. zutr.	100 % (20,7-100)
	VIM	1	0	0	1	0	N. zutr.	100 % (20,7-100)
	NDM	1	0	0	1	0	N. zutr.	100 % (20,7-100)
	KPC	1	0	0	1	0	N. zutr.	100 % (20,7-100)
	OXA-48	1	1	0	0	0	100 % (20,7-100)	N. zutr.
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP	63	0	1	62	0	N. zutr.	98,4 % (91,5-99,7)
	VIM	63	0	1	62	0	N. zutr.	98,4 % (91,5-99,7)
	NDM	63	5	1	57	0	100 % (56,6-100)	98,3 % (90,9-99,7)
	KPC	63	28	1	34	0	100 % (87,9-100)	97,1 % (85,5-99,5)
	OXA-48	63	25	3	34	1	96,2 % (81,1-99,3)	91,9 % (78,7-97,2)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP	58	0	0	58	0	N. zutr.	100 % (93,8-100)
	VIM	58	5	0	49	4	55,6 % (26,7-81,1)	100 % (92,7-100)
	NDM	58	0	1	57	0	N. zutr.	98,3 % (90,9-99,7)
	KPC	58	0	2	56	0	N. zutr.	96,6 % (88,3-99,1)
	OXA-48	58	0	0	58	0	N. zutr.	100 % (93,8-100)

a. *Acinetobacter baumannii* (14) und *Enterobacter amnigenus* (1) wurden gewonnen, es wurden jedoch weder mit der Referenzmethode noch mit dem Xpert Carba-R Assay Zielsequenzen nachgewiesen.

In neun prospektiven Proben wurden mehrere Zielsequenzen mithilfe des Xpert Carba-R Assays nachgewiesen. Einzelheiten sind in Tabelle 4 aufgeführt, zusammen mit nicht übereinstimmenden Ergebnissen anhand der Sequenzierung.

Tabelle 4. Prospektive rektale und perirektale Proben mit mehreren nachgewiesenen Zielsequenzen

Probe	Mit dem Xpert Carba-R Assay nachgewiesene Zielsequenzen	Mit Referenzsequenzierung nachgewiesene Zielsequenzen	Nicht übereinstimmende Testergebnisse – mit Referenzsequenzierung nachgewiesene Zielsequenzen
1	KPC, OXA-48	NEG	NEG
2	VIM, KPC	NEG ^a	NEG ^a
3	VIM, OXA-48	OXA-48	OXA-48
4	KPC, OXA-48	KPC	KPC, OXA-48
5	NDM, OXA-48	NDM	NDM, OXA-48
6	VIM, NDM	NEG ^a	NEG
7	NDM, KPC	KPC	NDM, KPC
8	VIM, KPC	VIM	VIM, KPC
9	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48	N. zutr.

a. Mit der Referenzkultur wurde kein Organismus isoliert, deshalb wurde keine Referenzsequenzierung durchgeführt.

Mit dem Xpert Carba-R Assay erzielte Ergebnisse bei simulierten Proben im Vergleich zur Referenzmethode

Im Rahmen der klinischen Studie wurden außerdem insgesamt 864 simulierte Proben untersucht (432 in rektaler Abstrichmatrix und 432 in perirektaler Abstrichmatrix vorbereitet).

Zusätzlich zu den Enterobakterien-, *Pseudomonas aeruginosa*- und *Acinetobacter baumannii*-Gruppen, die in dieser simulierten Studie getestet wurden, wurden auch 5 weitere Nicht-Enterobakterien-Stämme untersucht: *Pseudomonas stutzeri* (1), *Pseudomonas oryzihabitans* (1), *Pseudomonas putida* (2) und *Empedobacter brevis* (1).

Beim Testen mit simulierten Proben zeigte der Xpert Carba-R Assay einen PPA-Bereich von 95 % bis 100 % für die Zielsequenzen des Assays (bla_{KPC} , bla_{NDM} , bla_{VIM} , bla_{OXA-48} und bla_{IMP}). Die NPA für die bla_{KPC} -, bla_{NDM} -, bla_{VIM} -, bla_{OXA-48} - und bla_{IMP} -Genzielsequenzen betrug 100 % im Vergleich zur Referenzmethode (Tabelle 5).

Tabelle 5. Leistung des Xpert Carba-R gegenüber Referenzmethode – simulierte Proben

Matrix	Zielsequenz	N	RP	FP	RN	FN	PPA (95 % KI)	NPA (95 % KI)
Rektal	IMP	432	76	0	352	4	95,0 % (87,8-98,0)	100 % (98,9-100)
	VIM	432	81	0	350	1	98,8 % (93,4-99,8)	100 % (98,9-100)
	NDM	432	80	0	352	0	100 % (95,4-100)	100 % (98,9-100)
	KPC	432	80	0	352	0	100 % (95,4-100)	100 % (98,9-100)
	OXA-48	432	79	0	352	1	98,8 % (93,3-99,8)	100 % (98,9-100)

Tabelle 5. Leistung des Xpert Carba-R gegenüber Referenzmethode – simulierte Proben (Fortsetzung)

Matrix	Zielsequenz	N	RP	FP	RN	FN	PPA (95 % KI)	NPA (95 % KI)
Perirektal	IMP	432	80	0	352	0	100 % (95,4-100)	100 % (98,9-100)
	VIM	432	82	0	350	0	100 % (95,5-100)	100 % (98,9-100)
	NDM	432	80	0	352	0	100 % (95,4-100)	100 % (98,9-100)
	KPC	432	80	0	352	0	100 % (95,4-100)	100 % (98,9-100)
	OXA-48	432	80	0	352	0	100 % (95,4-100)	100 % (98,9-100)
Kombiniert	IMP	864	156	0	704	4	97,5 % (93,7-99,0)	100 % (99,5-100)
	VIM	864	163	0	700	1	99,4 % (96,6-99,9)	100 % (99,5-100)
	NDM	864	160	0	704	0	100 % (97,7-100)	100 % (99,5-100)
	KPC	864	160	0	704	0	100 % (97,7-100)	100 % (99,5-100)
	OXA-48	864	159	0	704	1	99,4 % (96,5-99,9)	100 % (99,5-100)

Gleichwertigkeitsstudie zu perirektalen und rektalen Abstrichen

Um die Gleichwertigkeit von perirektalen Abstrichproben und rektalen Abstrichproben nachzuweisen, wurde eine Studie in einem Zentrum durchgeführt, in der frisch entnommene prospektive rektale und perirektale Abstrichproben von Probanden, die stationär im Krankenhaus behandelt wurden, nach Einwilligung entnommen wurden.

Gepaarte Tupfersets in Cepheid Probenentnahmeprodukten wurden zur Entnahme der Proben von jedem Probanden verwendet. Ein gepaartes Tupferset wurde zur Entnahme der perirektalen Abstrichprobe verwendet; ein zweites gepaartes Tupferset zur Entnahme der rektalen Abstrichprobe. Die perirektale Abstrichprobe wurde zuerst entnommen, gefolgt von der rektalen Abstrichprobe – vom selben Probanden. Ein Tupfer jedes gepaarten Tupfersets wurde zum Testen mit dem Xpert Carba-R Assay verwendet. Der zweite Tupfer jedes gepaarten Tupfersets wurde für Kultur- und Empfindlichkeitstest verwendet, wenn entweder die perirektale oder rektale Abstrichprobe oder beide für mindestens eine Zielsequenz des Xpert Carba-R Assays ein positives Ergebnis lieferten. Wenn sowohl die perirektale als auch die rektale Abstrichprobe im Xpert Assay negativ waren, wurde keine Kultur angelegt.

Für Proben, bei denen das Kulturergebnis negativ, das Xpert Carba-R Assay jedoch positiv war, wurde eine bidirektionale Sequenzierung der aus isolierten Kolonien extrahierten DNA durchgeführt. Die Carbapenem-Resistenz dieser Kolonien wurde durch den CLSI Blättchendiffusionstest oder durch die Verwendung von MacConkey-Bouillon mit aufgelegten Meropenem-Blättchen belegt. Die Ergebnisse der Referenzmethode wurden nicht zur Änderung der Leistungsdaten der Gleichwertigkeitsstudie von Tupfern verwendet.

Insgesamt wurden anfänglich 207 Proben in die klinische Studie aufgenommen, von denen alle die Einschlusskriterien erfüllten. Von diesen 207 Proben gingen 201 Proben in den endgültigen Datensatz, der zur Analyse verwendet wurde, ein. Sechs Abstrichproben (4 perirektale und 2 rektale Abstrichproben) wurden aufgrund von unbestimmten Ergebnissen mit dem Xpert Carba-R Assay ausgeschlossen.

Von den 201 in der Datenanalyse aufgenommenen Proben stammten 92 (45,8 %) von Frauen und 109 (54,2 %) von Männern. Insgesamt wurden 45,8 % (92/201) von Probanden im Alter zwischen 21 und 65 Jahren und 54,2 % (109/201) von Probanden >65 Jahren entnommen.

Die Leistung (PPA und NPA) des Xpert Carba-R Assays unter Verwendung von perirektalen Abstrichproben wurde im Vergleich zu den Ergebnissen des Xpert Carba-R Assays unter Verwendung von rektalen Abstrichproben vom gleichen Probanden ermittelt. Die PPA- und NPA-Schätzungen gehen aus Tabelle 6 hervor. Im Verhältnis zu den Ergebnissen von rektalen Abstrichproben im Xpert Carba-R Assay zeigten perirektale Abstrichproben eine insgesamt PPA und NPA von 94,7 % (95 %-KI: 75,4–99,1) bzw. 97,8 % (95 %-KI: 94,5–99,1).

Tabelle 6. Xpert Carba-R Assay – perirektale Abstrichproben gegenüber rektalen Abstrichproben

Xpert Carba-R Assay – rektale Abstrichproben				
Xpert Carba-R Assay – Perirektale Abstrichproben		Pos	Neg	Insgesamt
	Pos	18 ^a	4 ^b	22
	Neg	1 ^c	178	179
	Insgesamt	19	182	201
PPA			94,7 % (95 %-KI: 75,4-99,1)	
NPA			97,8 % (95 %-KI: 94,5-99,1)	

- Bei einer Probe lieferte der Xpert Assay beim rektalen Abstrich ein positives Ergebnis für KPC und OXA-48 und beim perirektalen Abstrich nur ein OXA-48 positives Ergebnis. Die Kulturergebnisse sowohl der rektalen als auch der perirektalen Abstrichprobe waren negativ. Die Sequenzierungsergebnisse von MacConkey-Bouillons waren beim perirektalen Abstrich negativ und beim rektalen Abstrich positiv für OXA-48.
- 2 von 4 lieferten positive Kulturergebnisse sowohl für rektale als auch für perirektale Abstriche; Sequenzierungsergebnisse von Isolaten waren beide positiv für OXA-48; 1 von 4 lieferte ein negatives Kulturergebnis sowohl für rektale als auch für perirektale Abstriche; ein rektales Sequenzierungsergebnis war nicht verfügbar, da das Isolat nicht aufbewahrt wurde; das perirektale Isolat wurde als Carbapenem-empfindlich interpretiert und deshalb war nach Protokoll keine Sequenzierung erforderlich.
- Sowohl die rektalen als auch die perirektalen Kulturergebnisse waren negativ; die Sequenzierungsergebnisse von MacConkey-Bouillons waren bei beiden positiv für OXA-48.

17.2 Klinische Leistungsfähigkeit – Bakterienisolate

Die Leistungsmerkmale des Xpert Carba-R Assays mit Bakterienisolaten wurden im Rahmen einer multizentrischen Forschungsstudie anhand eines Vergleichs des Xpert Carba-R Assays mit bidirektionaler Referenzsequenzierung der amplifizierten DNA-Zielsequenz bestimmt. In der Studie wurden Proben von Bakterienisolaten, die auf Blutagar und auf MacConkey-Agar kultiviert wurden, eingeschlossen.

Um in die Studie aufgenommen zu werden, mussten die Isolate zuvor als Enterobakterien, *Pseudomonas aeruginosa*, oder *Acinetobacter baumannii* identifiziert worden sein. Zur Bestimmung der Empfindlichkeit mussten die Isolate gemäß CLSI M100-S24²² entweder intermediär oder resistent gegenüber Meropenem, Ertapenem und/oder Imipenem sein. *Pseudomonas aeruginosa*- oder *Acinetobacter baumannii*-Isolate mussten entweder intermediär oder resistent gegenüber Imipenem oder Meropenem sein. Diese Organismen sind intrinsisch resistent gegen Ertapenem. Zur Bestimmung der Spezifität konnten die Isolate gemäß CLSI M100-S24²² entweder empfindlich oder resistent gegenüber Meropenem, Ertapenem und Imipenem sein. *Pseudomonas aeruginosa*- und *Acinetobacter baumannii*-Isolate mussten sowohl gegenüber Imipenem als auch Meropenem empfindlich sein. Die Isolate wurden in der Studie nur einmal getestet.

Insgesamt wurden anfänglich 489 Bakterienisolate (431 klinische Stammsisolate und 58 frische Isolate) in die klinische Studie aufgenommen. Von diesen erfüllten 485 die Einschlusskriterien. Vier der ausgeschlossenen Isolate waren zuvor in die Studie aufgenommen worden.

Von diesen 485 Isolaten wurden 467 Isolate (410 klinische Stammsisolate und 57 frische Isolate) in den endgültigen Datensatz, der zur Analyse in diesem Bericht verwendet wurde, aufgenommen. Zwei Isolate wurden ausgeschlossen, weil kein Referenztest durchgeführt wurde; sechzehn Isolate wurden ausgeschlossen, da sie nicht als Enterobakterien, *A. baumannii*, oder *P. aeruginosa* identifiziert wurden.

Zum Testen mit dem Xpert Carba-R Assay wurden gut isolierte Kolonien, die auf jedem der Agararten wuchsen, verdünnt und die Suspension mithilfe der direkten Kolonie-Suspensionsmethode gemäß CLSI M07-A9 auf einen 0,5-McFarland-Trübungsstandard eingestellt.²³

Zur Referenzsequenzierung wurde DNA aus Kulturisolaten unter Verwendung von Primern, die für alle fünf Zielgene spezifisch sind, gereinigt, quantifiziert und amplifiziert; diese Primer waren so konzipiert, dass sie größere Regionen von den Assay-Zielsequenzen amplifizierten als die Primer, die im Xpert Carba-R Assay enthalten sind. Die Erzeugung eines entsprechend großen Amplifikationsprodukts wurde mithilfe des Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) bestätigt.

Wenn die auf dem Bioanalyzer angezeigten Streifen der erwarteten Größe des Amplikons für ein beliebiges der fünf mit dem Xpert Carba-R Assay nachgewiesenen Zielgene entsprachen, wurde das Amplikon des Isolats an ein unabhängiges Labor zur bidirektionalen Referenz-Sequenzanalyse geschickt, um den Nachweis der fünf Zielsequenzen des Xpert Carba-R Assays zu validieren. Wenn auf dem Bioanalyzer keine Streifen für die fünf Zielgene angezeigt wurden, wurde das Isolat nicht zur Sequenzanalyse eingeschickt, und die Referenzmethode galt als negativ für die fünf Zielgene.

Mit dem Xpert Carba-R Assay wurden in Proben von zehn Isolaten mehrere Zielsequenzen nachgewiesen. Einzelheiten sind in Tabelle 7 aufgeführt, zusammen mit Ergebnissen der Referenzsequenzierung.

Tabelle 7. Isolate mit mehreren nachgewiesenen Zielsequenzen

Isolat	Agarart ^a	Mit dem Xpert Carba-R Assay nachgewiesene Zielsequenzen	Mit Referenzsequenzierung nachgewiesene Zielsequenzen
1	BA, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
2	BA	VIM, KPC	VIM
3	BA, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
4	BA, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
5	BA, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
6	BA, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
7	BA, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
8	BA, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
9	BA, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
10	BA, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48

a. BA = Blutagar; MC = MacConkey-Agar

Beim Testen mit Isolaten aus Blutagar zeigte der Xpert Carba-R Assay eine Gesamtsensitivität und -spezifität von 100,0 % (95 %-KI: 99,0–100) bzw. 98,1 % (95 %-KI: 93,2–99,5), im Vergleich zur Referenzsequenzierung anhand von Isolaten aus Blutagar (Tabelle 8). Das kombinierte Ergebnis wurde definiert als positiv für den Xpert Carba-R Assay, wenn mindestens ein Zielsequenz positiv war, und als negativ für den Xpert Carba-R Assay, wenn alle Zielsequenzen negativ waren.

Tabelle 8. Xpert Carba-R (Blutagar) gegenüber Referenzsequenzierung (auf Blutagar kultivierte Isolate) – kombiniert

Zielsequenz	N	RP	FP	RN	FN	Sensitivität (95 %-KI)	Spezifität (95 %-KI)
Kombiniert	467	364 ^a	2 ^a	101	0	100 % (99,0-100)	98,1 % (93,2-99,5)

a. Kombinierte Ergebnisse stellen Ergebnisse nach Isolat dar. In manchen Isolaten wurden Ergebnisse mit mehreren Zielsequenzen beobachtet.

Beim Testen mit Isolaten aus Blutagar zeigte der Xpert Carba-R Assay eine Sensitivität und Spezifität von >99 % für jede einzelne der fünf Assay-Zielsequenzen, im Vergleich zur Referenzsequenzierung anhand von Blutagar-Isolaten (Tabelle 9).

Isolate mit nicht übereinstimmenden Ergebnissen zwischen dem Xpert Carba-R Assay und der Referenzsequenzierung wurden anhand bidirektionaler Sequenzierung mit Isolat von MacConkey-Agarplatten zur Klärung nochmals getestet. Nicht übereinstimmende Testergebnisse sind unter Tabelle 9 und Tabelle 11 aufgeführt.

Tabelle 9. Xpert Carba-R (Blutagar) gegenüber Referenzsequenzierung (auf Blutagar kultivierte Isolate) – nach Zielsequenz

Zielsequenz	N	RP	FP	RN	FN	Sensitivität (95 %-KI)	Spezifität (95 %-KI)
IMP	467	40	1 ^a	426	0	100 % (91,2-100)	99,8 % (98,7-100)
VIM	467	82	1 ^b	384	0	100 % (95,5-100)	99,7 % (98,5-100)
NDM	467	78	0	389	0	100 % (95,3-100)	100 % (99,0-100)
KPC	467	84	1 ^c	382	0	100 % (95,6-100)	99,7 % (98,5-100)
OXA-48	467	89	0	378	0	100 % (95,9-100)	100 % (99,0-100)

- Das bidirektionale DNA-Sequenzierungsergebnis dieses falsch-positiven IMP-Isolats wies eine 92,95 %ige Sequenzierungshomologie auf, was geringfügig unter dem Cutoff-Kriterium von 95 % liegt. Es wurden keine Tests zur Klärung des nicht übereinstimmenden Ergebnisses durchgeführt.
- Nicht übereinstimmende Testergebnisse: 1 von 1 war VIM-positiv.
- Dieses falsch-positive Isolat ist wahrscheinlich auf eine Kreuzkontamination mit KPC während der Probenvorbereitung zurückzuführen. Tests zur Klärung des nicht übereinstimmenden Ergebnisses ergaben keine Übereinstimmung der Sequenz für die KPC-Zielsequenz. Tests zur Klärung des nicht übereinstimmenden Ergebnisses ergaben eine Übereinstimmung der Sequenz für die VIM-Zielsequenz, deshalb ist dieses Isolat als RP in der „kombinierten“ Beurteilung in Tabelle 8 oben klassifiziert.

Beim Testen mit Isolat aus MacConkey-Agar zeigte der Xpert Carba-R Assay eine Gesamtsensitivität und -spezifität von 100 % (95 %-KI: 99,0–100) bzw. 97,1 % (95 %-KI: 91,8–99,0), im Vergleich zur Referenzsequenzierung anhand von Isolat aus Blutagar (Tabelle 10). Das kombinierte Ergebnis wurde definiert als positiv für den Xpert Carba-R Assay, wenn mindestens ein Zielsequenz positiv war, und als negativ für den Xpert Carba-R Assay, wenn alle Zielsequenzen negativ waren.

Tabelle 10. Xpert Carba-R (MacConkey-Agar) gegenüber Referenzsequenzierung (auf Blutagar kultivierte Isolate) – kombiniert

Zielsequenz	N	RP	FP	RN	FN	Sensitivität (95 %-KI)	Spezifität (95 %-KI)
Kombiniert	467	364 ^a	3	100	0	100 % (99,0-100)	97,1 % (91,8-99,0)

- Kombinierte Ergebnisse stellen Ergebnisse nach Isolat dar. In manchen Isolat wurden Ergebnisse mit mehreren Zielsequenzen beobachtet.

Beim Testen mit Isolaten aus MacConkey-Agar zeigte der Xpert Carba-R Assay eine Sensitivität und Spezifität von >99 % für die einzelnen fünf Assay-Zielsequenzen, im Vergleich zur Referenzsequenzierung anhand von Blutagar-Isolaten (Tabelle 11).

Tabelle 11. Xpert Carba-R (MacConkey-Agar) gegenüber Referenzsequenzierung (auf Blutagar kultivierte Isolate) – nach Zielsequenz

Zielsequenz	N	RP	FP	RN	FN	Sensitivität (95 %-KI)	Spezifität (95 %-KI)
IMP	467	40	1 ^a	426	0	100 % (91,2-100)	99,8 % (98,7-100)
VIM	467	82	1 ^b	384	0	100 % (95,5-100)	99,7 % (98,5-100)
NDM	467	78	1 ^c	388	0	100 % (95,3-100)	99,7 % (98,6-100)
KPC	467	84	0	383	0	100 % (95,6-100)	100 % (99,0-100)
OXA-48	467	89	0	378	0	100 % (95,9-100)	100 % (99,0-100)

- Das bidirektionale DNA-Sequenzierungsergebnis dieses falsch-positiven IMP-Isolats wies eine 92,95 %ige Sequenzierungshomologie auf, was geringfügig unter dem Cutoff-Kriterium von 95 % liegt. Es wurden keine Tests zur Klärung des nicht übereinstimmenden Ergebnisses durchgeführt.
- Nicht übereinstimmende Testergebnisse: 1 von 1 war VIM-positiv.
- Das klinische Zentrum berichtete, dass die interne Charakterisierung dieses falsch-positiven Isolats vor dem Studientest eine positive NDM-Genzielsequenz ergab. Tests zur Klärung des nicht übereinstimmenden Ergebnisses ergaben keine Übereinstimmung der Sequenz für eine der 5 Genzielsequenzen.

Die Leistung des Xpert Carba-R Assays nach spezifischer Organismusgruppe ist in Tabelle 12 sowohl für Blutagar- als auch für MacConkey-Agarmedien dargestellt. Das Gesamtergebnis wurde definiert als positiv für den Xpert Carba-R Assay, wenn mindestens eine Zielsequenz positiv war, und als negativ für den Xpert Carba-R Assay, wenn alle Zielsequenzen negativ waren.

Tabelle 12. Xpert Carba-R gegenüber Referenzsequenzierung

Medium	Organismen	Ziel-sequenz	N	RP	FP	RN	FN	Sensitivität (95 %-KI)	Spezifität (95 %-KI)	
	Enterobakterien	IMP	343	4	0	339	0	100 % (51,0-100)	100 % (98,9-100)	
		VIM	343	51	1	291	0	100 % (93,0-100)	99,7 % (98,1-99,9)	
		NDM	343	73	0	270	0	100 % (95,0-100)	100 % (98,6-100)	
		KPC	343	83	1	259	0	100 % (95,6-100)	99,6 % (97,9-99,9)	
		OXA-48	343	89	0	254	0	100 % (95,9-100)	100 % (98,5-100)	
		Gesamt	343	291 ^a	1 ^a	51	0	100 % (98,7-100)	98,1 % (89,9-99,7)	
			IMP	80	16	1	63	0	100 % (80,6-100)	98,4 % (91,7-99,7)
			VIM	80	31	0	49	0	100 % (89,0-100)	100 % (92,7-100)

Tabelle 12. Xpert Carba-R gegenüber Referenzsequenzierung (Fortsetzung)

Medium	Organismen	Ziel-sequenz	N	RP	FP	RN	FN	Sensitivität (95 %-KI)	Spezifität (95 %-KI)
MacConkey-Agar	Enterobakterien	IMP	343	4	0	339	0	100 % (51,0-100)	100 % (98,9-100)
		VIM	343	51	1	291	0	100 % (93,0-100)	99,7 % (98,1-99,9)
		NDM	343	73	1	269	0	100 % (95,0-100)	99,6 % (97,9-99,9)
		KPC	343	83	0	260	0	100 % (95,6-100)	100 % (98,5-100)
		OXA-48	343	89	0	254	0	100 % (95,9-100)	100 % (98,5-100)
		Gesamt	343	291 ^a	2	50	0	100 % (98,7-100)	96,2 % (87,0-98,9)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP	80	16	1	63	0	100 % (80,6-100)	98,4 % (91,7-99,7)
		VIM	80	31	0	49	0	100 % (89,0-100)	100 % (92,7-100)
		NDM	80	0	0	80	0	N. zutr.	100 % (95,4-100)
		KPC	80	1	0	79	0	100 % (20,7-100)	100 % (95,4-100)
		OXA-48	80	0	0	80	0	N. zutr.	100 % (95,4-100)
		Gesamt	80	48	1	31	0	100 % (92,6-100)	96,9 % (84,3-99,5)
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP	44	20	0	24	0	100 % (83,9-100)	100 % (86,2-100)
		VIM	44	0	0	44	0	N. zutr.	100 % (92,0-100)
		NDM	44	5	0	39	0	100 % (56,6-100)	100 % (91,0-100)
		KPC	44	0	0	44	0	N. zutr.	100 % (92,0-100)
		OXA-48	44	0	0	44	0	N. zutr.	100 % (92,0-100)
		Gesamt	44	25	0	19	0	100 % (86,7-100)	100 % (83,2-100)

a. Gesamtergebnisse stellen Ergebnisse nach Isolat dar. In manchen Isolaten wurden Ergebnisse mit mehreren Zielsequenzen beobachtet.

Die Xpert Carba-R Assayergebnisse nach Phänotyp sind in Tabelle 13 und Tabelle 14 unten dargestellt. Die Phänotypergebnisse basierten auf der Organismenidentifikation und des Empfindlichkeitsergebnisses für jedes der Isolate. Das kombinierte Ergebnis wurde definiert als positiv für den Xpert Carba-R Assay, wenn mindestens eine der fünf Zielsequenzen des Assays positiv war, und als negativ für den Xpert Carba-R Assay, wenn alle fünf Zielsequenzen des Assays negativ waren. Ein nicht-empfindlicher Phänotyp bedeutet, dass das Isolat gegen mindestens ein Carbapenem intermediär oder resistent war. Ein empfindlicher Phänotyp bedeutet, dass das Isolat gegen Imipenem, Meropenem und Ertapenem empfindlich war.

Tabelle 13. Xpert Carba-R (Blutagar) gegenüber Phänotyp – kombiniert

		Phänotypergebnisse		
Xpert Carba-R		Nicht empfindlich	Empfindlich	Insgesamt
	Gen nachgewiesen	356	10	366
	Gen nicht nachgewiesen	95	6	101
	Insgesamt	451	16	467

Tabelle 14. Xpert Carba-R (MacConkey-Agar) gegenüber Phänotyp – kombiniert

		Phänotypergebnisse		
Xpert Carba-R		Nicht empfindlich	Empfindlich	Insgesamt
	Gen nachgewiesen	357	10 ^a	367
	Gen nicht nachgewiesen	94 ^b	6	100
	Insgesamt	451	16	467

- a. Die 10 Isolate, die phänotypisch Carbapenem-empfindlich sind, aber im Xpert Carba-R Assay positiv waren, enthalten u. U. Mutationen, die die Expression des Carbapenem-Resistenzgens, das im Xpert Carba-R Assay nachgewiesen wird, inaktivieren oder reduzieren.
- b. Die 94 Isolate, die phänotypisch Carbapenem-nichtempfindlich sind, aber im Xpert Carba-R Assay negativ waren, enthalten u. U. andere Carbapenem-Resistenzmechanismen, wie z. B. AmpC Beta-Lactamasen bzw. Beta-Lactamasen mit breitem Wirkungsspektrum zusammen mit Porinmutationen oder potenziell andere Carbapenem-Resistenzgene, die im Xpert Carba-R Assay nicht nachgewiesen werden.

Von den 934 durchgeführten Tests (467 Isolate x 2 Agararten) wurde für einen Test als erstes Ergebnis **F KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)** erzielt (0,10 %, 95 %-KI 0,00-0,58). Das Isolat ergab im Wiederholungstest gültige Ergebnisse. Insgesamt betrug die Rate der gültigen weitergegebenen Ergebnisse des Assays 100 % (934/934).

18 Analytische Leistungsdaten

18.1 Analytische Sensitivität (Nachweisgrenze) – rektale und perirektale Abstriche

Zur Bestimmung der analytischen Sensitivität oder Nachweisgrenze (LoD) des Xpert Carba-R Assays wurden Carbapenemase-produzierende Organismen verwendet, die einer humanen gepoolten negativen rektalen Abstrichmatrix und einer humanen gepoolten negativen perirektalen Abstrichmatrix zugesetzt wurden. Die LoD wurde für zwei Carbapenemase-produzierende Bakterien für jedes Genanalyt, d. h. für die KPC, NDM, VIM, OXA-48 und IMP kodierenden Gene, bestimmt. Bakterien wurden durch Plattenzählungen titriert und mit sauberen Tupfern aufgenommen. Die Abstriche wurden in eine gepoolte negative rektale Abstrichmatrix oder eine gepoolte negative perirektale Abstrichmatrix gegeben und 20 Replikate wurden bei mindestens fünf verschiedenen Konzentrationen über vier Tage ausgewertet. Die LoD für jeden der zehn Carbapenemase-produzierenden Organismus wurde mittels Probit-Analyse geschätzt. Die LoD ist definiert als die niedrigste Konzentration von Zielzellen (CFU/Abstrich), die mit einem Konfidenzintervall von 95 % reproduzierbar von negativen Proben unterschieden werden kann. Die Studie wurde mit zwei verschiedenen Chargen von Xpert Carba-R Reagenzien durchgeführt und die angegebene LoD ist der höhere der beiden ermittelten Werte. Die ermittelten LoDs wurden mittels Vorbereitung und Testung von 10 Replikaten aus zwei unabhängigen Verdünnungen jedes Bakteriums bei den einzelnen ermittelten LoDs verifiziert.

Die LoD-Angabe für jedes Paar Carbapenemase-produzierender Organismen in rektalen und perirektalen Abstrichmatrizen ist in Tabelle 15 und Tabelle 16 dargestellt.

Tabelle 15. LoD-Schätzwerte und Verifikation für Organismen, die Carbapenemase-Gene enthalten, unter Verwendung des Xpert Carba-R Assays in rektaler Abstrichmatrix

Zielgen und Organismus	LoD-Schätzwert (Probit) CFU/Abstrich		LoD-Angabe CFU/Abstrich	Geschätzte LoD in Probenreagenz (CFU/ml)	Verifikation (Positive/20)
	Charge 1	Charge 2			
IMP-1 <i>Acinetobacter baumannii</i>	174	141	174	35	20/20
IMP-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	303	306	306	61	20/20
VIM-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	247	305	305	61	20/20
VIM-4 <i>Escherichia coli</i>	815	468	815	163	20/20
NDM-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC BAA-2146	117	251	251	50	20/20
NDM <i>Klebsiella pneumoniae</i>	74	57	74	15	19/20
KPC-3 <i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 13438	373	292	373	75	20/20
KPC <i>Enterobacter cloacae</i>	779	537	779	156	20/20
OXA-48 <i>Enterobacter cloacae</i>	154	109	154	31	20/20
OXA-48 <i>Escherichia coli</i>	104	99	104	21	20/20

Tabelle 16. LoD-Schätzwerte und Verifikation für Organismen, die Carbapenemase-Gene enthalten, unter Verwendung des Xpert Carba-R Assays in perirektaler Abstrichmatrix

Zielgen und Organismus	LoD-Schätzwert (Probit) CFU/Tupfer		LoD-Angabe CFU/Abstrich	Geschätzte LoD in Probenreagenz CFU/ml	Verifikation (Positive/20)
	Charge 1	Charge 2			
IMP-1 <i>Acinetobacter baumannii</i>	90	118	118	24	19/20
IMP-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	269	635	635	127	20/20
VIM-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	901	514	901	180	20/20
VIM-4 <i>Escherichia coli</i>	446	403	446	89	20/20
NDM-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC BAA-2146	133	113	133	27	20/20
NDM <i>Klebsiella pneumoniae</i>	56	54	56	11	20/20
KPC-3 <i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 13438	358	292	358	72	20/20
KPC <i>Enterobacter cloacae</i>	1259	1303	1303	261	20/20
OXA-48 <i>Enterobacter cloacae</i>	223	166	223	45	20/20
OXA-48 <i>Escherichia coli</i>	126	137	137	27	20/20

18.2 Analytische Reaktivität (Inklusivität)

18.2.1 Studie mit rektalen und perirektalen Abstrichmatrizen

Die analytische Reaktivität des Xpert Carba-R Assays mit rektalen oder perirektalen Abstrichmatrizen wurde mittels Testung eines Panels mit 72 Proben untersucht. Dieses Panel bestand aus 11 *bla*_{KPC} (KPC), 11 *bla*_{VIM} (VIM), 8 *bla*_{OXA-48} (OXA-48), 5 *bla*_{NDM/bla}_{OXA-181} (NDM/OXA-181), 6 *bla*_{OXA-181} (OXA-181), 17 *bla*_{IMP} (IMP) und einem *bla*_{KPC/bla}_{VIM} (KPC/VIM) gut beschriebenen Bakterienstämmen. Die Stämme wurden in rektaler und perirektaler Abstrichmatrix getestet; ihre Konzentrationen sind in Tabelle 17 angegeben.

Zum Testen in rektalen und perirektalen Abstrichmatrizen wurden die Organismen einer gepoolten, negativen rektalen Abstrichmatrix oder einer gepoolten negativen perirektalen Abstrichmatrix zugesetzt. Alle Bakterienstämme wurden für beide Abstrichmatrizen dreifach getestet. Die Xpert Carba-R Assay Zielgene wurden in 69 von 72 Carbapenemase-produzierenden Bakterienstämmen nachgewiesen; IMP-4 wurde jedoch nur bei höheren Konzentrationen nachgewiesen (Tabelle 17). Die Xpert Carba-R Assay DNA-Zielsequenzen wurden in drei Bakterienstämmen nicht nachgewiesen (siehe Tabelle 17). Bei einem der drei Bakterienstämme wurde das IMP-13-Gen vom Assay nicht nachgewiesen, obwohl eine *In-silico*-Analyse den Nachweis vorhersagte. Bei zwei der anderen drei Bakterienstämme wurden die IMP-7- und IMP-14-Gene vom Assay nicht nachgewiesen, was mit der Vorhersage einer *In-silico*-Analyse übereinstimmte. Siehe Abschnitt 15, Einschränkungen in der Packungsbeilage.

Tabelle 17. Analytische Reaktivität des Xpert Carba-R Assays in rektalen oder perirektalen Abstrichmatrizen

Stamm-ID	Organismus	Resistenzmarker mit Varianten-Informationen	In rektalen und perirektalen Abstrichmatrizen getestete Konzentrationen (CFU/ml)
NCTC 13438	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-3	153
31551	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-4	50
ATCC BAA-1705	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2	130
PA-Col	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC-2	250
KBM18	<i>Enterobacter aerogenes</i>	KPC-2	250
BM9	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-3	330
PA3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2	100
CGNC	<i>Serratia marcescens</i>	KPC-2	300
CFVL	<i>Enterobacter cloacae</i>	KPC-2	160
COL	<i>Escherichia coli</i>	KPC-2	147
GR-04/KP-69	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2, VIM	80
164-3	<i>Klebsiella oxytoca</i>	KPC	70
NCTC 13437	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM-10	500
NCTC 13439	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-1	130
NCTC 13440	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-1	70
758	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM	250
PA-87	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM	200
B92A	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM	2000
Col1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM-2	500

Tabelle 17. Analytische Reaktivität des Xpert Carba-R Assays in rektalen oder perirektalen Abstrichmatrizen (Fortsetzung)

Stamm-ID	Organismus	Resistenzmarker mit Varianten-Informationen	In rektalen und perirektalen Abstrichmatrizen getestete Konzentrationen (CFU/ml)
BM19	<i>Serratia marcescens</i>	VIM-2	250
KOW7	<i>Escherichia coli</i>	VIM-4	250
DIH	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-19	250
MSH2014-3	<i>Enterobacter cloacae</i>	VIM	500
NCTC 13443	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM-1	80
ATCC BAA-2146	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM-1	80
34262	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM	80
GEN	<i>Acinetobacter baumannii</i>	NDM-1	130
3047	<i>Enterobacter cloacae</i>	NDM-1	70
7892	<i>Proteus mirabilis</i>	NDM-1	30
CAN	<i>Salmonella spp.</i>	NDM-1	70
EGY	<i>Acinetobacter baumannii</i>	NDM-2	40
I5	<i>Escherichia coli</i>	NDM-4	30
405	<i>Escherichia coli</i>	NDM-5	30
CF-ABE	<i>Citrobacter freundii</i>	NDM	30
73999	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NDM	50
39365	<i>Providencia rettgeri</i>	NDM-1	70
NCTC 13442	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48	40
OM11	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48	60
501	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48	80
DUW	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48	120
OM22	<i>Escherichia coli</i>	OXA-48	80
BOU	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48	80
TUR	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48	120
11670	<i>Escherichia coli</i>	OXA-48	100
166643	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181	20
42194	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181	20
MSH2014-64	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181	280
MSH2014-72	<i>Escherichia coli</i>	OXA-181	100
74	<i>Escherichia coli</i>	OXA-181	100
CDC0051	<i>Klebsiella ozaenae</i> ^a	OXA-181	250
B108A	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181	10
C10192-DISCS	<i>Enterobacter aerogenes</i>	NDM, OXA-181	10

Tabelle 17. Analytische Reaktivität des Xpert Carba-R Assays in rektalen oder perirektalen Abstrichmatrizen (Fortsetzung)

Stamm-ID	Organismus	Resistenzmarker mit Varianten-Informationen	In rektalen und perirektalen Abstrichmatrizen getestete Konzentrationen (CFU/ml)
KP-OMA3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181	60
1300920	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181	15
MSH2014-69	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181	20
NCTC 13476	<i>Escherichia coli</i>	IMP-1	250
695	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1	1720
2340	<i>Enterobacter cloacae</i>	IMP-1	250
IMPBMI	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-1	100
Yonsei_1	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1	1000
Yonsei_2	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1	500
6852	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-1	100
MKAM	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-1	500
70450-1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-1	250
3994	<i>Pseudomonas spp.</i>	IMP-10	250
CDC0161	<i>Enterobacter aerogenes</i> ^a	IMP-4	5,00E+04
5344	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-2	60
3985	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-11	2000
4032	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-6	80
3424	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-7 ^{b,c}	1,00E+06
32443	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-13 ^c	1,00E+06
92	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-14 ^{b,c}	1,00E+06

a. Diese Organismen wurden nicht als Bakterienisolate getestet.

b. Die IMP-7- und IMP-14-Gene (*Pseudomonas aeruginosa*) wurden vom Assay nicht nachgewiesen, was mit der Vorhersage einer *In-silico*-Analyse übereinstimmte (siehe Abschnitt 15, Einschränkungen).

c. IMP-13-Gen (*Klebsiella pneumoniae*): Das IMP-13-Gen wurde vom Assay nicht nachgewiesen, obwohl eine *In-silico*-Analyse den Nachweis vorhersagte (siehe Abschnitt 15, Einschränkungen).

18.2.2 Studie zu Bakterienisolaten

Die analytische Sensitivität des Xpert Carba-R Assays mit Bakterienisolaten wurde durch Testen eines Panels mit 71 Proben beurteilt, das aus 11 gut beschriebenen *bla*_{KPC} (KPC)-, 13 *bla*_{NDM} (NDM)-, 11 *bla*_{VIM} (VIM)-, 8 *bla*_{OXA-48} (OXA-48)-, 5 *bla*_{NDM/bla}_{OXA-181} (NDM/OXA-181)-, 5 *bla*_{OXA-181} (OXA-181), 17 *bla*_{IMP} (IMP)- und einem *bla*_{KPC/bla}_{VIM} (KPC/VIM)-Bakterienstämmen bestand. Die als Bakterienisolate getesteten Stämme sind in Tabelle 18 angegeben.

Zum Testen der Bakterienisolate wurden die vier Replikate der Organismen getestet, die durch Verdünnen von 10 µl einer 0,5-McFarland-Zellsuspension für jeden Bakterienstamm in 5 ml Probenreagenz hergestellt wurden. Der Test wurde sowohl mit Blutagar- als auch MacConkey-Agarplatten durchgeführt. Die Xpert Carba-R Assay-Zielgene wurden in 68 von 71 Bakterienstämmen von beiden Plattentypen nachgewiesen. Die Xpert Carba-R Assay DNA-Zielsequenzen wurden in drei Bakterienstämmen nicht nachgewiesen (siehe Fußnote nach Tabelle 18). Bei einem der drei Bakterienstämme wurde das IMP-13-Gen vom Assay nicht nachgewiesen, obwohl eine *In-silico*-Analyse den Nachweis vorhersagte. Bei zwei der drei Bakterienstämme wurden die IMP-7- und IMP-14-Gene vom Assay nicht nachgewiesen, was mit der Vorhersage einer *In-silico*-Analyse übereinstimmte. Siehe Abschnitt „Einschränkungen“ in der Packungsbeilage.

Tabelle 18. Analytische Reaktivität des Xpert Carba-R Assays – Bakterienisolate

Stamm-ID	Organismus	Resistenzmarker mit Varianten-Informationen
NCTC 13438	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-3
31551	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-4
ATCC BAA-1705	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2
PA-Col	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC-2
KBM18	<i>Enterobacter aerogenes</i>	KPC-2
BM9	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-3
PA3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2
CGNC	<i>Serratia marcescens</i>	KPC-2
CFVL	<i>Enterobacter cloacae</i>	KPC-2
COL	<i>Escherichia coli</i>	KPC-2
GR-04/KP-69	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2, VIM
164-3	<i>Klebsiella oxytoca</i>	KPC
NCTC 13437	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM-10
NCTC 13439	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-1
NCTC 13440	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-1
758	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM
PA-87	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM
B92A	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM
Col1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM-2
BM19	<i>Serratia marcescens</i>	VIM-2
KOW7	<i>Escherichia coli</i>	VIM-4
DIH	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-19
MSH2014-3	<i>Enterobacter cloacae</i>	VIM
NCTC 13443	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM-1
ATCC BAA-2146	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM-1
34262	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM
GEN	<i>Acinetobacter baumannii</i>	NDM-1

Tabelle 18. Analytische Reaktivität des Xpert Carba-R Assays – Bakterienisolate (Fortsetzung)

Stamm-ID	Organismus	Resistenzmarker mit Varianten-Informationen
3047	<i>Enterobacter cloacae</i>	NDM-1
7892	<i>Proteus mirabilis</i>	NDM-1
CAN	<i>Salmonella spp.</i>	NDM-1
EGY	<i>Acinetobacter baumannii</i>	NDM-2
I5	<i>Escherichia coli</i>	NDM-4
405	<i>Escherichia coli</i>	NDM-5
CF-ABE	<i>Citrobacter freundii</i>	NDM
73999	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NDM
39365	<i>Providencia rettgeri</i>	NDM-1
NCTC 13442	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48
OM11	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48
501	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48
DUW	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48
OM22	<i>Escherichia coli</i>	OXA-48
BOU	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48
TUR	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48
11670	<i>Escherichia coli</i>	OXA-48
MSH2014-64	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181
MSH2014-72	<i>Escherichia coli</i>	OXA-181
B108A	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181
C10192-DISCS	<i>Enterobacter aerogenes</i>	NDM, OXA-181
KP-OMA3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM-1, OXA-181
166643	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181
42194	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181
1300920	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181
MSH2014-69	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181
74	<i>Escherichia coli</i>	OXA-181
NCTC 13476	<i>Escherichia coli</i>	IMP-1
695	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1
2340	<i>Enterobacter cloacae</i>	IMP-1
IMPBMI	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-1
6852	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-1
Yonsei_1	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1
Yonsei_2	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1
70450-1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-1
3994	<i>Pseudomonas spp.</i>	IMP-10
MKAM	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-1

Tabelle 18. Analytische Reaktivität des Xpert Carba-R Assays – Bakterienisolate (Fortsetzung)

Stamm-ID	Organismus	Resistenzmarker mit Varianten-Informationen
5344	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-2
G029	<i>Salmonella spp.</i>	IMP-4
3985	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-11
4032	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-6
3424	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-7 ^{a,b}
32443	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-13 ^a
92	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-14 ^{a,b}

- a. Vom Xpert Carba-R nicht nachgewiesen (siehe Abschnitt 15, Einschränkungen).
b. Die IMP-7- und IMP-14-Gene wurden vom Assay nicht nachgewiesen, was mit der Vorhersage der *In-silico*-Analyse übereinstimmte (siehe Abschnitt 15, Einschränkungen).

Die nachgewiesenen Varianten und die Vorhersage anderer Subtypen der jeweiligen Resistenzgene anhand einer *In-silico*-Analyse sind in Tabelle 19 dargestellt (sowohl Ergebnisse von der rektalen Abstrichmatrix als auch von der Bakterienisolatstudie sind aufgeführt).

Tabelle 19. Zusammenfassung der mit Labor-Tests nachgewiesenen oder durch *In-silico*-Analysen vorhergesagten Varianten

Marker (oder traditionelle Subgruppe)	Labor-Tests			Nicht getestet, jedoch mit <i>In-silico</i> -Analysen vorhergesagter Nachweis
	Anzahl an Proben	Nachgewiesene(r) Typ(en)	Nicht nachgewiesene(r) Typ(en)	
KPC	12	KPC-2,3,4	--	KPC-5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16
NDM	18	NDM-1,2,4,5	--	NDM-3, 6, 7, 8, 9
VIM	12	VIM-1,2,4,10,19	--	VIM-5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38
OXA-48	18	OXA-48, 181 (OXA-48-Variante)	--	OXA-162, 163, 204, 232, 244, 245, 247
IMP	17	IMP-1 (9 Stämme), IMP-2, 4, 6, 10, 11	IMP-7 ^a , 13 ^b , 14 ^a	IMP-3, 8, 9, 13 ^b , 19, 20, 21, 22, 24, 25, 27, 28, 30, 31, 33, 37, 40, 42

- a. Die IMP-7- und IMP-14-Gene (*Pseudomonas aeruginosa*) wurden vom Assay nicht nachgewiesen, was mit der Vorhersage einer *In-silico*-Analyse übereinstimmte (siehe Abschnitt 15, Einschränkungen).
b. IMP-13-Gen (*Klebsiella pneumoniae*) wurde getestet: Das IMP-13-Gen wurde vom Assay nicht nachgewiesen, obwohl eine *In-silico*-Analyse den Nachweis vorhergesagte (siehe Abschnitt 15, Einschränkungen).

18.3 Analytische Spezifität (Kreuzreaktivität)

Die analytische Reaktivität des Xpert Carba-R Assays wurde für Bakterienisolate, Organismen, die einer rektalen Abstrichmatrix zugesetzt wurden und Organismen, die einer perirektalen Abstrichmatrix zugesetzt wurden, beurteilt. Im Rahmen der Studie wurde für alle drei Probenarten ein Panel mit 62 gut charakterisierten Bakterienstämmen Carbapenem-empfindlicher Bakterien oder Bakterien mit Carbapenem-Nichtempfindlichkeit aufgrund von Genen oder Mechanismen außer den Xpert Carba-R-Zielgenen (Tabelle 20 und Tabelle 21) und 24 symbiotisch zusammenlebenden Bakterienstämmen und anderen im Darm vorkommenden Mikroorganismen (Tabelle 22) bewertet. Humane Zellen wurden außerdem in rektalen und perirektalen Abstrichmatrizen getestet (Tabelle 23). Resistenzmechanismen wurden durch individuelle PCR-Assays, DNA-Sequenzanalyse oder Check-Points Array Version CT102 bestimmt.

Für rektale Abstrichmatrix- und perirektale Abstrichmatrixproben wurden 62 Stämme mit Konzentrationen von $>1 \times 10^6$ CFU/ml getestet, mit Ausnahme von *Peptostreptococcus anaerobius*, welcher mit 5×10^5 CFU/ml getestet wurde. Viren wurden bei $>1 \times 10^5$ TCID₅₀/ml bzw. Die Organismen wurden in gepoolter negativer rektaler Abstrichmatrix oder gepoolter negativer perirektaler Abstrichmatrix verdünnt und dreifach getestet. Keiner/keine der 94 getesteten, potenziell kreuzreaktiven Organismen und Nukleinsäuren wurden mit dem Xpert Carba-R Assay nachgewiesen.

Für Bakterienisolate wurden die Organismen aerobisch auf Blutagar- und auf MacConkey-Agarplatten kultiviert. Zwei Zellsuspension, die einer 0,5-McFarland-Zellsuspension entsprachen, wurden von isolierten Kolonien von jeder Agarplattenart hergestellt. Jeder Organismus wurde insgesamt vier Mal von jeder Platte getestet (zwei Replikate der zwei 0,5-McFarland-Zellsuspensionen pro Organismus).

Der Xpert Carba-R Assay wies keine Kreuzreaktivität mit den getesteten Organismen auf (Tabelle 20, Tabelle 21, Tabelle 22 und Tabelle 23). Die analytische Spezifität des Assays betrug 100 %.

Tabelle 20. Anzahl Carbapenem-empfindlicher und nichtempfindlicher Organismen für das jeweilige Antibiotikum

	Ertapenem	Imipenem	Meropenem
Empfindlich	19	30	24
Intermediär	0	8	4
Resistent	43	24	34

Tabelle 21. Kreuzreaktivitätspanel

Organismus	Stamm-ID	Bestätigter Resistenzmechanismus	Carbapenem-Empfindlichkeit (S/I/R) ^a		
			ETP ^a	IMP ^a	MEM ^a
<i>Escherichia coli</i>	NCTC 13441	CTX-M (-1, -typ 15 ähnlich); TEM	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NCTC 13465	CTX-M (25)	S	S	S
<i>Enterobacter aerogenes</i>	810	OmpC/OmpF-defizient; TEM	R	R	R
<i>Citrobacter freundii</i>	1698	TEM (WT+164S)	S	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	5557	AmpC (ACT/MIR)	R	R	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	kpn5	CTX-M-2	R	S	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	kpn12	TEM; SHV; CTX-M	R	R	R
<i>Escherichia coli</i>	eco1	TEM; CTX-M-2	R	R	R
<i>Escherichia coli</i>	eco2	CTX-M (2); TEM; OXA-2	R	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	cor1	CTX-M (2); TEM	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	hpp21	CTX-M (2); TEM	S	S	S
<i>Morganella morganii</i>	fer29	CTX-M (2); TEM	S	R	S
<i>Proteus mirabilis</i>	gut25	CTX-M (2); TEM	S	R	S
<i>Salmonella spp.</i>	3209	CTX-M (2); TEM	S	S	S

Tabelle 21. Kreuzreaktivitätspanel (Fortsetzung)

Organismus	Stamm-ID	Bestätigter Resistenzmechanismus	Carbapenem-Empfindlichkeit (S/I/R) ^a		
			ETP ^a	IMP ^a	MEM ^a
<i>Shigella flexnerii</i>	3331	CTX-M (2); TEM	S	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	PA_3	AmpC; CTX-M-15; TEM	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	32189	SHV	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	32443	CTX-M (1, -typ 15 ähnlich); SHV	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	32598	CTX-M (-1, -typ 15 ähnlich); SHV; TEM	R	I	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33560	CTX-M (15); SHV-11; TEM-1	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33603	SHV-2	R	I	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33617	SHV-27	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33643	SHV (-5, -55); TEM	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	34430	SHV; TEM; CTX-M-15	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	34680	TEM; CTX-M-2	R	S	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	34732	CTX-M (15); SHV; TEM	R	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	PA_174	GX-/Kultur+; SHV; TEM	S	S	S
<i>Enterobacter aerogenes</i>	STU 645	SHV (WT+238S+240K)	R	S	R
<i>Enterobacter aerogenes</i>	STU 669	SHV (WT+238S+240K)	R	R	R
<i>Escherichia coli</i>	C3015	AmpC (CMY II); TEM	R	R	R
<i>Enterobacter aerogenes</i>	RI_100	AmpC (DHA); SHV	R	R	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	B4A	SHV (WT + 238S +240K)	R	R	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	B13A	SHV (WT + 238S +240K)	R	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	RI_474	AmpC (ACT/MIR)	R	I	I
<i>Enterobacter amnigenus</i>	B71	AmpC (ACT/MIR)	R	R	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	DD82A	SHV (WT + 238S + 240K)	R	S	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	B100	CTX-M (-1, typ-15 ähnlich); SHV (WT+238S); TEM	R	S	R
<i>Enterobacter cloacae</i>	135B	TEM	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	B157	SHV; TEM	R	R	R
<i>Escherichia coli</i>	T2914280	CTX-M (-1, -15); TEM	R	S	R
<i>Providencia stuartii</i>	DD188	TEM (104K + 164S)	R	I	I
<i>Enterobacter cloacae</i>	DD189	AmpC (ACT/MIR)	R	S	S
<i>Escherichia coli</i>	B198B	CTX-M (-1, typ -15 ähnlich); TEM	R	S	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	T3019989-1	CTX-M (-1, typ-15 ähnlich); SHV	R	I	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	T3019989-2	CTX-M (-1, typ-15 ähnlich); SHV	R	S	R
<i>Enterobacter cloacae</i>	ENC-THAI14	VEB-1, TEM	S	S	S
<i>Escherichia coli</i>	CB154006	CTX-M (9); TEM	R	I	I
<i>Enterobacter cloacae</i>	S35766	AmpC (ACT/MIR)	S	S	S

Tabelle 21. Kreuzreaktivitätspanel (Fortsetzung)

Organismus	Stamm-ID	Bestätigter Resistenzmechanismus	Carbapenem-Empfindlichkeit (S/I/R) ^a		
			ETP ^a	IMP ^a	MEM ^a
<i>Enterobacter cloacae</i>	X1856910	AmpC (ACT/MIR); TEM	R	I	I
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	W3758164	CTX-M (-1, -15 ähnlich); SHV; TEM	R	I	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	X2135758	CTX-M (-1, -15 ähnlich); SHV	R	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	W3809535	CTX-M (-1, -15 ähnlich); SHV	R	R	R
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CDC0064	SPM	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0099	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0121	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0122	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0123	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0124	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0130	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0131	SME	R	R	R
<i>Enterobacter cloacae</i> -Gruppe	CDC0132	IMI	R	R	R
<i>Enterobacter cloacae</i> -Komplex	CDC0164	IMI	R	R	R

a. S/I/R = Empfindlich/Intermediär/Resistent, ETP = Ertapenem, IMP = Imipenem, MEM = Meropenem

Tabelle 22. Kreuzreaktivitätspanel (Symbiotisch zusammenlebende und andere im Darm vorkommende Mikroorganismen)

Stamm-ID	Organismus	Testkonzentration (CFU/ml, sofern nicht anders angegeben)
ATCC 25922	<i>Escherichia coli</i>	2,67E+06
ATCC 29212	<i>Enterococcus faecalis</i>	3,15E+06
ATCC 700603	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5,20E+06
ATCC 35218	<i>Escherichia coli</i>	2,47E+06
ATCC 25923	<i>Staphylococcus aureus</i>	4,53E+06
ATCC 27853	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3,17E+06
ATCC 9689	<i>Clostridium difficile</i> ^a	1,80E+07
ATCC 700621	<i>Enterobacter cloacae</i>	8,95E+06
ATCC 9756	<i>Enterococcus faecium</i>	6,54E+06
ATCC 13182	<i>Klebsiella oxytoca</i>	4,76E+06
ATCC BAA-747	<i>Acinetobacter baumannii</i>	2,27E+06
ATCC 33128	<i>Citrobacter freundii</i>	2,01E+06
ATCC 49948	<i>Morganella morganii</i>	8,19E+06
ATCC 51331	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	3,15E+06
ATCC 27028	<i>Citrobacter koseri</i>	5,05E+06

Tabelle 22. Kreuzreaktivitätspanel (Symbiotisch zusammenlebende und andere im Darm vorkommende Mikroorganismen) (Fortsetzung)

Stamm-ID	Organismus	Testkonzentration (CFU/ml, sofern nicht anders angegeben)
ATCC 49809	<i>Providencia stuartii</i>	3,01E+06
ATCC 49037	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ^a	5,00E+05
CCUG 29780/ATCC 12401	<i>Streptococcus agalactiae</i>	5,21E+06
ATCC 15703	<i>Bifidobacterium adolescentis</i> ^a	1,10E+08
ATCC 51697	<i>Enterobacter aerogenes</i>	3,19E+06
ATCC 43071	<i>Proteus mirabilis</i>	1,78E+06
CCUG 34787	<i>Acinetobacter spp.</i>	2,40E+06
CCUG 418	<i>Citrobacter freundii</i>	2,95E+06
CCUG 33629	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	4,48E+06
CCUG 17874	<i>Helicobacter pylori</i>	1,61E+06
CCUG 33548	<i>Listeria monocytogenes</i>	4,77E+06
CCUG 6325	<i>Providencia alcalifaciens</i>	4,91E+06
CCUG 43594/ATCC 33560	<i>Campylobacter jejuni</i> ^a	3,27E+06
MRVP/ZepetoMetrix	Adenovirus B Typ 7A/NY ^a	1,40E+05 TCID ₅₀ /ml
MRVP/ZepetoMetrix	Enterovirus Typ 71/NY ^a	4,40E+05 TCID ₅₀ /ml
Klinische Probe – Cepheid	Norovirus GI ^a	2,5 x 10 ⁷ RNA-Kopien/ml

a. Diese Organismen wurden in rektaler und perirektaler Abstrichmatrix getestet.

Tabelle 23. Zelllinie als Vertreter humaner genomischer DNA

Organismenname	Quelle
Harnblasenkarzinom-Zellen (hgDNA)	ATCC HTB-4

18.4 Kompetitive Interferenz

Eine Studie zur kompetitiven Interferenz wurde durchgeführt, um zu untersuchen, ob ein hoher Titer eines oder mehrerer Carbapenemase-produzierender Organismen den Nachweis eines zweiten Carbapenemase-produzierenden Zielorganismus in niedrigem Titer stören würde. Die Proben mit hohem Titer wurden bei 5×10^6 CFU/Abstrich angesetzt und die Zielsequenzen in niedrigem Titer wurden bei ca. 2x LoD des jeweiligen Stammes angesetzt, entweder in rektaler oder perirektaler Abstrichmatrix. In der Studie wurde ein Carbapenemase-produzierender Bakterienstamm für jedes Genanalyt, d. h. für die KPC, NDM, VIM, OXA-48 und IMP kodierenden Gene, verwendet. Jede Carbapenemase-produzierende Bakterienstammart in niedrigem Titer wurde zusammen mit einem hohen Titer des einen bzw. der beiden anderen Carbapenemase-produzierende Bakterienstammarten getestet (Tabelle 24). Es wurden acht Replikate pro Probe getestet.

Bei drei der fünf Zielsequenzen (IMP, VIM und OXA-48) wurde eine Hemmwirkung beobachtet, wenn eine geringe Konzentration jeder Zielsequenz zusammen mit einer hohen Konzentration von einer oder zwei anderen Zielsequenzen in der rektalen Abstrichmatrix getesteten Probe vorhanden war. Die drei Zielsequenzen (IMP, VIM und OXA-48) wurden bei einer höheren Konzentration (4x LoD) zusammen mit einer hohen Konzentration von einer oder zwei anderen Zielsequenzen in der Probe in rektaler Abstrichmatrix getestet. Bei den drei Zielsequenzen (IMP, VIM und OXA-48) wurde keine Hemmwirkung bei 4 x LoD beobachtet, wenn klinisch relevante Koinfektionen für den Xpert Carba-R Assay vorhanden waren.

Bei zwei der fünf Zielsequenzen (NDM und IMP) wurde eine Hemmwirkung beobachtet, wenn eine geringe Konzentration jeder Zielsequenz zusammen mit einer hohen Konzentration von einer oder zwei anderen Zielsequenzen in der perirektalen Abstrichmatrix getesteten Probe vorhanden war. Die zwei Zielsequenzen (NDM und IMP) wurden bei einer höheren Konzentration (4x LoD) zusammen mit einer hohen Konzentration von einer oder zwei anderen Zielsequenzen in der Probe in perirektaler Abstrichmatrix getestet. Bei den beiden Zielsequenzen (NDM und IMP) wurde keine Hemmwirkung bei 4 x LoD beobachtet, wenn klinisch relevante Koinfektionen für den Xpert Carba-R Assay vorhanden waren.

Auf den kompetitiven Hemmeffekt auf die CarbaR-Zielsequenzen (NDM, IMP, VIM and OXA-48) wird in Abschnitt 15, Einschränkungen dieser Packungsbeilage hingewiesen.

Tabelle 24. Kombinationen von Carbapenemase-produzierenden Bakterien, die mit dem Xpert Carba-R Assay getestet wurden

Kombination
KPC hoch/NDM hoch/VIM niedrig
KPC hoch/NDM hoch/OXA niedrig
KPC hoch/NDM hoch/IMP niedrig
VIM hoch/OXA hoch/KPC niedrig
VIM hoch/OXA hoch/NDM niedrig
VIM hoch/OXA hoch/IMP niedrig
IMP hoch/KPC niedrig
IMP hoch/NDM niedrig
IMP hoch/VIM niedrig
IMP hoch/OXA niedrig
OXA hoch/VIM niedrig
VIM hoch/OXA niedrig
KPC hoch/NDM niedrig
Negativ

18.5 Potenzielle Störsubstanzen

Es wurde eine Evaluierung der Leistung des Xpert Carba-R Assays mit 24 potenziellen Störsubstanzen durchgeführt, die in rektalen und perirektalen Abstrichproben vorhanden sein können. Lösungen mit potenziellen Störsubstanzen (IS) wurden zubereitet und bei den in Tabelle 25 angegebenen Konzentrationen getestet. Es wurden positive und negative Proben in die Studie mit einbezogen. Positive Proben bestanden aus einer Mischung von fünf Carbapenemase-produzierenden Organismen, die KPC-, NDM-, VIM-, IMP-1- und OXA-48-Gensequenzen enthielten, die einer gepoolten negativen rektalen Abstrichmatrix oder einer gepoolten negativen perirektalen Abstrichmatrix bei etwa dem Dreifachen der LoD zugesetzt wurden. Pro Störsubstanz wurden acht Replikate-positive Proben getestet. Negative Proben bestanden aus einer gepoolten negativen rektalen Abstrichmatrix oder einer gepoolten negativen perirektalen Abstrichmatrix der keine Carbapenemase-produzierenden Organismen zugesetzt wurden. Pro Substanz wurden acht Replikate-negative Proben getestet, um den Einfluss auf die Leistung der Probenverarbeitungskontrolle (PVK) zu ermitteln. Die Kontrollen bestanden aus positiven und negativen Proben, denen keine Störsubstanzen hinzugefügt wurden. Der Einfluss der jeweiligen potenziellen Störsubstanz auf positive und negative Replikate wurde mittels Vergleich der Zyklusschwellenwerte (Ct-Werte) der Zielsequenz, die bei Vorhandensein der Störsubstanz erzielt wurden, mit den Ct-Werten aus den Kontrollen ohne der Störsubstanz beurteilt. Die positiven und negativen Replikate-Proben für 22 potenzielle Störsubstanzen wurden mit dem Xpert Carba-R Assay korrekt identifiziert. Beim Testen von rektalen Abstrichmatrixproben ist bei Vorhandensein von Bariumsulfat bei > 0,1 Gew.-% und Pepto-Bismol bei > 0,01 Gew.-% eine Störung des Xpert Carba-R Assays möglich. Siehe Abschnitt 15, Einschränkungen in der Packungsbeilage. Rektale Abstrichmatrixproben, die positiv für eine Mischung aus fünf Carbapenemase-produzierenden Organismen waren, die KPC-, NDM-, VIM-, IMP-1- und OXA-48-Gensequenzen enthielten, wurden mit Fäkal Fett bei 0,25 Gew.-% getestet. Sie ergaben keine falsch negativen Ergebnisse; für die VIM-Zielsequenz wurden jedoch verzögerte Zyklusschwellenwerte beobachtet. Diese potenzielle Störung, aufgrund der Anwesenheit von Fäkal Fett bei 0,25 Gew.-%, ist im Abschnitt „Einschränkungen“ der Packungsbeilage aufgeführt. Beim Testen von perirektalen Abstrichmatrixproben ist bei Vorhandensein von Bariumsulfat bei > 0,1 Gew.-% und Pepto-Bismol bei > 0,025 Gew.-% eine Störung des Xpert Carba-R Assays möglich. Siehe Abschnitt 15, Einschränkungen.

Tabelle 25. Getestete potenzielle Störsubstanzen

Substanz/Klasse	Wirkstoff	Getestete Konzentration
Nichtsteroidale Antirheumatika	Naproxen	0,25 Gew.-%
Kontrastmittel	Bariumsulfat	0,25 % und 0,1 Gew.-%
Antibiotikum (oral)	Cephalexin	0,25 Gew.-%
Antibiotikum (oral)	Ciprofloxacin	0,25 Gew.-%
Kondom mit Spermizid-Gleitmittel	Nonoxynol-9	1 Kondom ^a
Cremes/Salben/Zäpfchen	Hydrocortison	0,25 Gew.-%
Laxantien	Sennoside	0,25 Gew.-%
Lipide	Stearinsäure/Palmitinsäure/Cholesterin (Fäkalfett)	0,25 Gew.-%
Durchfallmittel	Loperamidhydrochlorid/Bismutsubsalicylat (Imodium)	0,25 Gew.-%
Durchfallmittel	Loperamidhydrochlorid/Bismutsubsalicylat (Kaopectate)	0,25 Gew.-%
Topische Creme	K-Y Jelly	0,25 Gew.-%
Antazida	Calciumcarbonat/Aluminiumhydroxid/Magnesiumhydroxid/Simethicon (Magnesiummilch)	0,25 Gew.-%
Einläufe	Mineralöl	0,25 Gew.-%
Antibiotikum (topisch)	Polymixin B/Neomycin/Bacitracin (Neosporin)	0,25 Gew.-%
Antimykotikum/juckreizstillende Mittel für den vaginalbereich	Nystatin	0,25 Gew.-%
Antazid	Famotidin (Pepcid)	0,25 Gew.-%
Durchfallmittel	Loperamidhydrochlorid/Bismutsubsalicylat (Pepto-Bismol)	0,25 %, 0,1 %, 0,05 %, 0,025 %, 0,01 Gew.-%
Topische Creme	Vaseline	0,25 Gew.-%
Hämorrhoidencremes/-salben	Phenylephrin (Preparation H)	0,25 Gew.-%
Säurehemmer; Antazid	Omeprazol (Prilosec)	0,25 Gew.-%
Einläufe	Einlauf mit Kochsalzlösung	0,25 Gew.-%
Antazid	Cimetidin (Tagamet)	0,25 Gew.-%
Antimykotikum/juckreizstillende Mittel für den vaginalbereich	Benzocain, Resorcinol (Vagisil)	0,25 Gew.-%
Erfrischungstücher	Benzalkoniumchlorid, Ethanol (Wet Ones)	1 Stück ^b

a. Ein Kondom zu 40 ml Abstrichmatrix zugegeben.

b. Ein Stück (12,7 x 19 cm) zu 40 ml Abstrichmatrix zugegeben.

18.6 Studie zur Kontamination durch Verschleppung

Es wurde eine Studie durchgeführt, um nachzuweisen, dass die geschlossenen GeneXpert-Einwegkartuschen eine Kontamination durch Verschleppung bei negativen Proben, die im Anschluss an stark positive Proben bearbeitet werden, verhindern. Die Studie bestand aus einer negativen Probe, die unmittelbar im Anschluss an eine sehr hoch positive Probe im gleichen GeneXpert-Modul bearbeitet wurde. Die hohe positive Probe besteht aus inaktivierten *E. coli*-Zellen mit einem Plasmid, in das ein synthetisches Oligonukleotid der Amplikonsequenzen aus fünf Xpert Carba-R Zielanalyt-Genen (KPC-, NDM-, VIM-, IMP- und OXA-48-Zielsequenzen) eingefügt wurde. Positive Zellen wurde in gepoolter, negativer rektaler Abstrichmatrix und perirektaler Abstrichmatrix bis zu einer Konzentration von 1×10^6 CFU/ml verdünnt. Für die rektale Abstrichmatrix und die perirektale Abstrichmatrix wurde das Testschema 25 Mal auf zwei GeneXpert-Modulen bei insgesamt 102 Tests wiederholt (25 hoch positive Proben pro Modul und 26 negative Proben pro Modul). Bei allen 50 positiven Proben wurden alle Xpert Carba-R-Zielsequenzen korrekt als **ERMITTELT (DETECTED)** ausgegeben und bei allen 52 negativen Proben wurden alle Xpert Carba-R-Zielsequenzen korrekt als **NICHT ERMITTELT (NOT DETECTED)** ausgegeben.

19 Reproduzierbarkeit

19.1 Studie mit rektalen und perirektalen Abstrichmatrizen

Die Reproduzierbarkeit des Xpert Carba-R Assays wurde anhand von zwei Panels mit 11 Proben beurteilt, bei denen ein Panel in gepoolter negativer rektaler Abstrichmatrix und ein Panel in gepoolter negativer perirektaler Abstrichmatrix vorbereitet wurde. Zwei Bediener an jedem der drei Prüfzentren testeten ein Panel aus 11 Proben in 4 Replikaten/Tag über sechs Testtage (11 Proben x 2 Replikate x 2 Mal/Tag x 6 Tage x 2 Bediener x 3 Prüfzentren). An jedem der 3 Testzentren wurden drei Chargen der Xpert Carba-R Assay-Kartuschen verwendet. Der Xpert Carba-R Assay wurde entsprechend dem Xpert Carba-R Assay-Verfahren durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 26 zusammengefasst.

Tabelle 26. Zusammenfassung der Ergebnisse der Reproduzierbarkeitsstudie – prozentuale Übereinstimmung, rektale und perirektale Abstrichmatrizen

Probe	Matrix ^a	Zentrum 1			Zentrum 2			Zentrum 3			Prozentuale Gesamtübereinstimmung (Proben)
		Bed. 1	Bed. 2	Zentrum	Bed. 1	Bed. 2	Zentrum	Bed. 1	Bed. 2	Zentrum	
Neg	R	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
IMP mäßig pos.	R	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
IMP schwach pos.	R	91,7 % (22/24)	87,5 % (21/24)	89,5 % (43/48)	83,3 % (20/24)	87,5 % (21/24)	85,4 % (41/48)	87,5 % (21/24)	79,2 % (19/24)	83,3 % (40/48)	86,1 % (124/144)
VIM mäßig pos.	R	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
VIM schwach pos.	R	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
NDM mäßig pos.	R	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
NDM schwach pos.	R	91,7 % (22/24)	95,8 % (23/24)	93,8 % (45/48)	95,8 % (23/24)	95,8 % (23/24)	95,8 % (46/48)	100 % (24/24)	91,7 % (22/24)	95,8 % (46/48)	95,1 % (137/144)
KPC mäßig pos.	R	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
KPC schwach pos.	R	95,8 % (23/24)	100 % (24/24)	97,9 % (47/48)	100 % (24/24)	91,7 % (22/24)	95,8 % (46/48)	95,8 % (23/24)	95,8 % (23/24)	95,8 % (46/48)	96,5 % (139/144)
OXA-48 mäßig pos.	R	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
OXA-48 schwach pos.	R	95,8 % (23/24)	100 % (24/24)	97,9 % (47/48)	95,8 % (23/24)	100 % (24/24)	97,9 % (47/48)	91,7 % (22/24)	100 % (24/24)	95,8 % (46/48)	97,2 % (140/144)

Tabelle 26. Zusammenfassung der Ergebnisse der Reproduzierbarkeitsstudie – prozentuale Übereinstimmung, rektale und perirektale Abstrichmatrizen (Fortsetzung)

Probe	Matrix ^a	Zentrum 1			Zentrum 2			Zentrum 3			Prozentuale Gesamtübereinstimmung (Proben)
		Bed. 1	Bed. 2	Zentrum	Bed. 1	Bed. 2	Zentrum	Bed. 1	Bed. 2	Zentrum	
Neg	PR	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
IMP mäßig pos.	PR	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
IMP schwach pos.	PR	95,8 % (23/24)	91,7 % (22/24)	93,8 % (45/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	91,7 % (22/24)	95,8 % (46/48)	96,5 % (139/144)
VIM mäßig pos.	PR	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
VIM schwach pos.	PR	100 % (24/24)	91,7 % (22/24)	95,8 % (46/48)	91,7 % (22/24)	91,7 % (22/24)	91,7 % (44/48)	95,8 % (23/24)	83,3 % (20/24)	89,6 % (43/48)	92,4 % (133/144)
NDM mäßig pos.	PR	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
NDM schwach pos.	PR	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	87,5 % (21/24)	100 % (24/24)	93,8 % (45/48)	97,9 % (141/144)
KPC mäßig pos.	PR	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
KPC schwach pos.	PR	91,7 % (22/24)	91,7 % (22/24)	91,7 % (44/48)	91,7 % (22/24)	95,8 % (23/24)	93,8 % (45/48)	100 % (24/24)	91,7 % (22/24)	95,8 % (46/48)	93,8 % (135/144)
OXA-48 mäßig pos.	PR	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
OXA-48 schwach pos.	PR	87,5 % (21/24)	87,5 % (21/24)	87,5 % (42/48)	100 % (24/24)	95,8 % (23/24)	97,9 % (47/48)	95,8 % (23/24)	95,8 % (23/24)	95,8 % (46/48)	93,8 % (135/144)

a. R=rektal, PR=perirektal

Die Reproduzierbarkeit des Xpert Carba-R Assays wurde außerdem in Bezug auf das Fluoreszenzsignal, ausgedrückt in Ct-Werten für jede ermittelte Zielsequenz, beurteilt. Mittelwert, Standardabweichung (SD) und Variationskoeffizient (VK) zwischen Zentren, zwischen Chargen, zwischen Tagen, zwischen Bedienern und innerhalb des Assays für jede Panelprobe gehen aus Tabelle 27 hervor.

Tabelle 27. Zusammenfassung der Daten der Reproduzierbarkeitsstudie, rektale und perirektale Abstrichmatrizen

Probe	Matrix ^a	Assaykanal (Analyt)	N ^b	Mittlerer Ct-Wert	Zwischen Zentren		Zwischen Chargen		Zwischen Tagen		Zwischen Benutzern		Innerhalb des Assays		Insgesamt	
					SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)
Neg	R	PVK	144	32,9	0,2	0,5	0,2	0,7	0,0	0,1	0,0	0	0,6	1,8	0,7	2,0
IMP mäßig pos.	R	IMP	144	34,5	0,0	0,0	0,2	0,5	0	0,0	0,1	0,2	0,7	2,0	0,7	2,1
IMP schwach pos.	R	IMP	140	36,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,5	0,0	0	1,2	3,3	1,2	3,4
VIM mäßig pos.	R	VIM	144	31,0	0,0	0,0	0,3	0,9	0	0,0	0,2	0,5	0,5	1,6	0,6	1,9

Tabelle 27. Zusammenfassung der Daten der Reproduzierbarkeitsstudie, rektale und perirektale Abstrichmatrizen (Fortsetzung)

Probe	Matrix ^a	Assaykanal (Analyt)	N ^b	Mittlerer Ct-Wert	Zwischen Zentren		Zwischen Chargen		Zwischen Tagen		Zwischen Benutzern		Innerhalb des Assays		Insgesamt	
					SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)
VIM schwach pos.	R	VIM	144	33,8	0,0	0,0	0,6	1,8	0,3	0,9	0,3	1,0	1,4	4,0	1,6	4,6
NDM mäßig pos.	R	NDM	144	33,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,6	1,7	0,6	1,7
NDM schwach pos.	R	NDM	143	36,2	0,2	0,7	0,0	0,0	0,3	0,7	0,0	0,0	0,8	2,3	0,9	2,5
KPC mäßig pos.	R	KPC	144	34,2	0,0	0,0	0,3	0,8	0,2	0,6	0,0	0,0	0,4	1,2	0,6	1,6
KPC schwach pos.	R	KPC	141	35,8	0,0	0,0	0,5	1,5	0,0	0,0	0,3	0,9	0,7	1,9	0,9	2,6
OXA-48 mäßig pos.	R	OXA-48	144	34,3	0,0	0,0	0,2	0,5	0,2	0,5	0,1	0,3	0,5	1,6	0,6	1,7
OXA-48 schwach pos.	R	OXA-48	143	36,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,6	0,0	0,0	0,8	2,3	0,9	2,4
Neg	PR	PVK	144	32,7	0,0	0,0	0,2	0,6	0,0	0,0	0,2	0,5	0,4	1,2	0,5	1,4
IMP mäßig pos.	PR	IMP	144	33,7	0,0	0,0	0,1	0,2	0,0	0,0	0,2	0,5	0,5	1,5	0,5	1,6
IMP schwach pos.	PR	IMP	142	36,0	0,2	0,5	0,0	0,0	0,1	0,3	0,2	0,5	0,8	2,1	0,8	2,3
VIM mäßig pos.	PR	VIM	144	31,2	0,1	0,2	0,1	0,3	0,0	0,1	0,2	0,5	0,4	1,3	0,5	1,5
VIM schwach pos.	PR	VIM	142	35,0	0,0	0,0	0,6	1,6	0,0	0,0	0,6	1,7	1,4	4,1	1,6	4,7
NDM mäßig pos.	PR	NDM	144	33,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,5	0,2	0,5	0,4	1,2	0,5	1,4
NDM schwach pos.	PR	NDM	143	35,7	0,2	0,5	0,0	0,0	0,2	0,6	0,0	0,0	0,9	2,4	0,9	2,5
KPC mäßig pos.	PR	KPC	144	34,6	0,0	0,0	0,3	1,0	0,0	0,0	0,2	0,5	0,4	1,3	0,6	1,7
KPC schwach pos.	PR	KPC	143	36,4	0,0	0,0	0,5	1,3	0,1	0,4	0,0	0,0	0,7	2,0	0,9	2,4
OXA-48 mäßig pos.	PR	OXA-48	144	34,4	0,1	0,2	0,2	0,6	0,0	0,0	0,2	0,5	0,5	1,5	0,6	1,7
OXA-48 schwach pos.	PR	OXA-48	144	36,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	1,2	0,0	0,0	1,0	2,7	1,1	2,9

a. R=rektal, PR=perirektal

b. Ergebnisse (von 144) mit Ct-Werten ungleich null.

19.2 Studie zu Bakterienisolaten

Die Reproduzierbarkeit des Xpert Carba-R Assays wurde anhand eines aus 13 Bakterienproben bestehenden Panels bewertet, einschließlich von: zwei verschiedenen Organismen für jede der fünf Resistenzgenzielsequenzen, die mit dem Xpert Carba-R Assay nachgewiesen werden; zwei Stammproben, die zwei Genzielsequenzen enthielten; und einer Stammprobe, die negativ für alle fünf Genzielsequenzen war. Zwei Bediener an jedem der drei Prüfzentren testeten ein Panel aus 13 Proben in 4 Replikaten/Tag. Aus jeder Probe wurden zwei Suspensionen hergestellt, die einem 0,5-McFarland-Trübungsstandard entsprachen. Davon wurden zwei Replikate über sechs Testtage getestet (13 Proben x 2 Replikate x 2 Mal/Tag x 6 Tage x 2 Bediener x 3 Prüfzentren). An jedem der 3 Testzentren wurden drei Chargen des Xpert Carba-R Assays verwendet. Der Xpert Carba-R Assay wurde entsprechend dem Xpert Carba-R Assay-Verfahren durchgeführt. Nach Abschluss der Tests wurden 25 Tests, die mit einem Instrumentenmodul durchgeführt wurden, ausgeschlossen, sodass insgesamt 1847 Proben in die Analysen einbezogen wurden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 28 zusammengefasst.

Tabelle 28. Zusammenfassung der Reproduzierbarkeitsergebnisse – Übereinstimmung in %, Bakterienisolate

Resistenzgen (Proben-Nr.)	Zentrum 1			Zentrum 2			Zentrum 3			Prozentuale Gesamtüber- einstimmung (Proben)
	Bed. 1	Bed. 2	Zentrum	Bed. 1	Bed. 2	Zentrum	Bed. 1	Bed. 2	Zentrum	
KPC (1)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
KPC (2)	100 % (23/23)	100 % (22/22)	100 % (45/45)	95,8 % (23/24)	100 % (24/24)	97,9 % (47/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	99,3 % (140/141)
VIM (1)	100 % (22/22)	100 % (23/23)	100 % (45/45)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (141/141)
VIM (2)	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (46/46)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (142/142)
IMP (1)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (47/47)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (143/143)
IMP (2)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (46/46)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (142/142)
OXA (1)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (46/46)	100 % (24/24)	91,7 % (22/24)	95,8 % (46/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	98,6 % (140/142)
OXA (2)	100 % (23/23)	100 % (22/22)	100 % (45/45)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (141/141)
NDM (1)	100 % (22/22)	100 % (21/21)	100 % (43/43)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (139/139)
NDM (2)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (46/46)	91,7 % (22/24)	100 % (24/24)	95,8 % (46/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	98,6 % (140/142)
OXA,NDM (1)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (47/47)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (143/143)
OXA,NDM (2)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (47/47)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (143/143)
NEG	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)

Die Reproduzierbarkeit des Xpert Carba-R Assays wurde außerdem in Bezug auf das Fluoreszenzsignal, ausgedrückt in Ct-Werten für jede ermittelte Zielsequenz, beurteilt. Mittelwert, Standardabweichung (SD) und Variationskoeffizient (VK) zwischen Zentren, zwischen Chargen, zwischen Tagen, zwischen Bedienern und innerhalb des Assays für jede Panelprobe gehen aus Tabelle 29 hervor.

Tabelle 29. Zusammenfassung der Reproduzierbarkeitsdaten – Bakterienisolate

Resistenzgen (Proben-Nr.)	Assaykanal (Analyt)	N ^a	Zwischen Zentren		Zwischen Chargen		Zwischen Tagen		Zwischen Benutzern		Innerhalb des Assays		Insgesamt	
			SD	VK	SD	VK	SD	VK	SD	VK	SD	VK	SD	VK
KPC (1)	KPC	144	1,1	4,4	0	0	0	0	0,6	2,6	0,6	2,6	1,4	5,8
KPC (2)	KPC	143	0,8	3,1	0,1	0,2	0,2	0,9	0,5	2,0	0,8	3,1	1,2	4,9
VIM (1)	VIM	141	1,1	5,1	0	0	0	0	0,5	2,3	0,8	3,7	1,5	6,7
VIM (2)	VIM	142	0,3	1,3	0,2	0,8	0	0	0,8	3,8	0,7	3,1	1,1	5,1
IMP (1)	IMP	143	0,3	1,0	0	0	0,3	1,2	0,6	2,3	0,8	3,1	1,0	4,2
IMP (2)	IMP	142	1,4	6,3	0,1	0,5	0	0	0,6	2,8	0,7	3,2	1,7	7,6
OXA (1)	OXA48	140	0,6	2,6	0	0	0	0	0,7	2,8	0,8	3,5	1,2	5,2
OXA (2)	OXA48	141	1,1	4,9	0,3	1,5	0	0	0,5	2,0	0,7	3,3	1,5	6,4
NDM (1)	NDM	139	1,2	5,3	0	0	0	0	0,6	2,4	0,7	3,1	1,5	6,6
NDM (2)	NDM	140	0,9	4,0	0,3	1,4	0	0	0,8	3,3	0,8	3,3	1,5	6,3
NDM/OXA (1)	NDM	143	1,3	5,4	0,2	0,8	0	0	0,6	2,5	0,7	3,1	1,6	6,8
	OXA48	143	1,2	6,2	0,3	1,4	0	0	0,5	2,4	0,7	3,7	1,5	7,7
NDM/OXA (2)	NDM	143	1,2	5,3	0,2	1,1	0	0	0,5	2,4	0,8	3,5	1,6	6,9
	OXA48	143	1,2	6,0	0,2	1,2	0	0	0,5	2,5	0,7	3,8	1,5	7,6
NEG	PVK	144	0,1	0,3	0,1	0,3	0	0	0,2	0,5	0,4	1,3	0,5	1,5

a. Ergebnisse (von 144) mit Ct-Werten ungleich null.

20 Literatur

1. Kallen AJ, et al. 2010. Current epidemiology of multidrug-resistant gram-negative bacilli in the United States. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 31 Suppl 1: S51–54.
2. Nordmann P, et al. 2012. Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*: a call for action! *Clin Microbiol Infect.* 18: 411–412.
3. Cornaglia G, et al. 2011. Metallo-beta-lactamases: a last frontier for beta-lactams? *Lancet Infect Dis.* 11: 381–393.
4. Kitchel B, et al. 2009. Molecular epidemiology of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* in the United States: Clonal expansion of MLST sequence type 258. *Antimicrob Agents Chemother.* 53:3365–3370.
5. Schwaber MJ, et al. 2011. Containment of a country-wide outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in Israeli hospitals via a nationally implemented intervention. *Clin Infect Dis.* 52: 848–855.
6. Kumarasamy KK, et al. 2010. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect Dis.* 10: 597–602.
7. Cuzon G, et al. 2008. Plasmid-encoded carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase OXA-48 in an imipenem-susceptible *Klebsiella pneumoniae* strain from Belgium. *Antimicrob Agents Chemother.* 52: 3463–3464.
8. Nordmann P, et al. 2011. Global spread of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerg Infect Dis.* 17: 1791–1798.
9. Grundmann H, et al. 2010. Carbapenem-non-susceptible *Enterobacteriaceae* in Europe: conclusions from a meeting of national experts. *Euro Surveill.* 15:1-13.
10. van Duin D, et al. 2016. Ceftazidime/avibactam and ceftolozane/tazobactam: second-generation β -lactam/ β -lactamase inhibitor combinations. *Clin Infect Dis.* 63(2):234-241.
11. Falcone M, Paterson D. 2016. Spotlight on ceftazidime/avibactam: a new option for MDR gram-negative infections. *J Antimicrob.* 71(10):2713-2722.
12. Navas, M and Jacobs M. 2016. Carbapenem Resistant *Enterobacteriaceae* - A review for laboratorians. American Association for Clinical Chemistry (AACC) Clinical Laboratory News.
13. Vasoo S, et al. 2015. In vitro activities of ceftazidime-avibactam, aztreonam-avibactam, and a panel of older and contemporary antimicrobial agents against carbapenemase-producing gram-negative bacilli. *Antimicrob Agents Chemother.* 59(12):7842-7846.
14. Avycaz package insert. Section 14.2 Microbiology.
15. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (refer to latest edition). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
16. Centers for Disease Control and Prevention. Accessed January 20, 2016. Healthcare-associated Infections (HAIs). <http://www.cdc.gov/hai/organisms/cre/cre-facilities.html>
17. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
18. 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).
19. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
20. CLSI M100. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA (refer to latest edition).
21. CLSI M07-A10. 2015. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically; Tenth Edition, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.
22. CLSI M100-S24. 2014. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Edition, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.
23. CLSI M07-A9. 2012. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically; Ninth Edition, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.

21 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

22 Technische Unterstützung

Halten Sie bitte die folgenden Informationen bereit, wenn Sie den Technischer 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 Kundendiensts von Cepheid finden Sie auf unserer Website: www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

23 Symbolerklärung

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



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA
Telefon: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe S.A.S.
Vira Soleih
81470 Maurens-Scopont
Frankreich
Tel.: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301



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



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



