

# Assay-Schulung: Xpert<sup>®</sup> Norovirus

Technischer Kundendienst von Cepheid  
CE-IVD



**Cepheid**<sup>®</sup>  
*A better way.*

# Schulungsprogramm

- **Xpert Norovirus-Schulung**
  - Reagenzien
  - Probenentnahme
  - Lagerung und Handhabung des Kits
  - Vorsichtsmaßnahmen
  - Vorbereitung der Kartusche
- **Qualitätskontrolle**
- **Ergebnisanalyse**
- **Diskussion und Fragen**



# Ziele der Xpert Norovirus Schulung

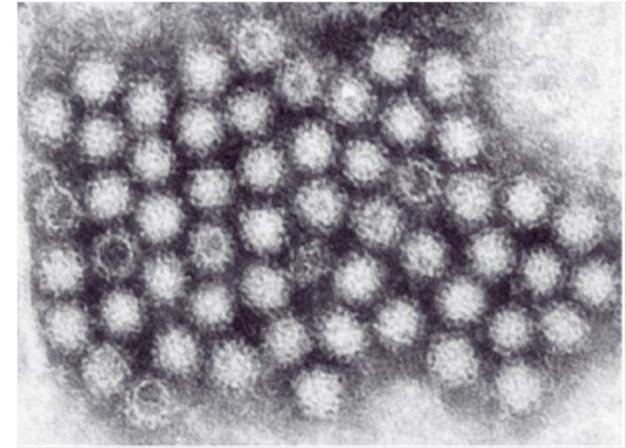
**Am Ende der Schulung haben die Anwender folgende Kenntnisse erworben:**

- **Richtige Lagerung und Handhabung der Xpert Norovirus Kartusche und des Assay-Kits.**
- **Korrekte Befolgung der Vorsichtsmaßnahmen zur Sicherheit im Labor.**
- **Entnahme geeigneter Proben und Probentransport.**
- **Vorbereitung der Kartusche und Durchführung des Assays.**
- **Weitergabe der verschiedenen von der Software ausgegebenen Ergebnisse.**
- **Verstehen der Assaykontrollen-Strategie.**

# Vorstellung des Krankheitsbilds

## *Was ist ein Norovirus?*

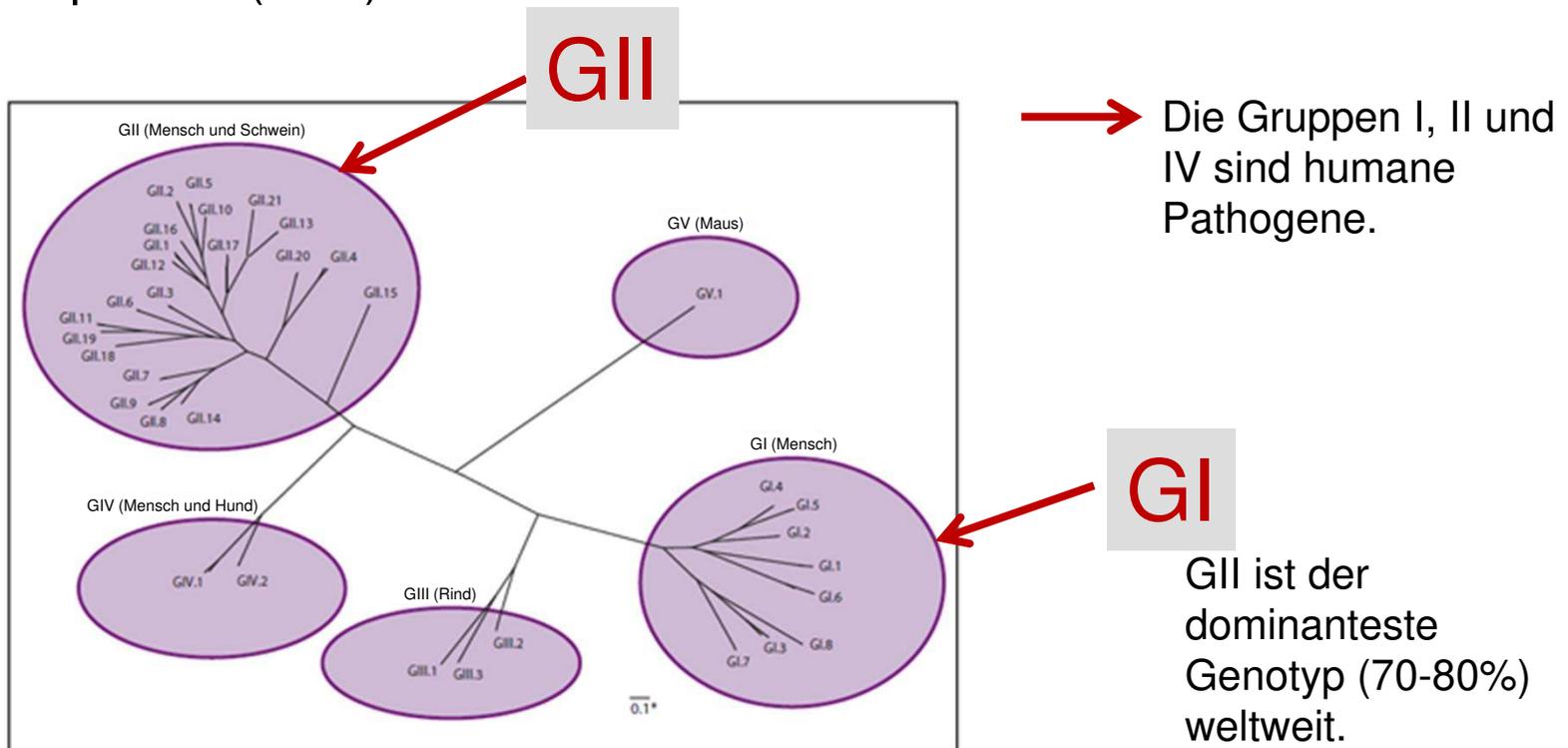
- Das Norovirus ist die häufigste Ursache einer infektiösen Gastroenteritis (Diarrhö und Erbrechen) und ist für 50% der viralen Gastroenteritiden weltweit verantwortlich.<sup>1</sup>
- Es handelt sich um ein hochinfektiöses RNA-Virus, das durch mit Stuhl kontaminierte Speisen oder kontaminiertes Wasser, durch Kontakt von Person zu Person oder durch Tröpfcheninfektion übertragen werden kann.
- Das größte Risiko besteht bei Patienten mit geschwächtem Immunsystem, einschließlich älteren Personen und Kindern.
- Ein Ausbruch einer Norovirus-Infektion im klinischen Umfeld erfordert sofortige Maßnahmen zur Infektionskontrolle und ein Schließen der Abteilung.
- Patienten mit Verdacht auf eine Infektion können auf einer Isolierstation aufgenommen werden, bis die Untersuchungsergebnisse bekannt sind.
- Norovirus Genogruppe I (GI) und Norovirus Genogruppe II (GII) sind für die Mehrzahl der Infektionen beim Menschen verantwortlich.



<sup>1</sup> CDC MMWR 2011.60 (3)

# Klassifikation der Noroviren

Noroviren werden in 5 Genogruppen (I – V) und 32 Genotypen klassifiziert, basierend auf Sequenzdiversität im vollständigen Kapsidprotein (VP1).



# Die Cepheid-Lösung



- **Simultaner Nachweis**
  - GI und GII
- **Zwei Kontrollen für jede einzelne Probe**
  - Probenverarbeitungskontrolle (Sample Processing Control, SPC)
  - Sondenprüfungskontrolle
- **Hohe Sensitivität und Spezifität**
- **Unkomplizierte Anwendung**
  - Geschlossenes Kartuschensystem
- **Ergebnisse in ca. 90 Minuten**
  - Schneller Assay-Abschluss (Early Assay Termination, EAT)
- **Ergebnisse auf Nachfrage rund um die Uhr**
- **Direktzugriff**

# Verwendungszweck

Der Xpert Norovirus Assay zur Durchführung auf den Cepheid GeneXpert®-Instrumentensystemen ist ein qualitativer Test für die *In-vitro*-Diagnostik für den schnellen Nachweis und die Differenzierung von Norovirus Genogruppe I und Genogruppe II in frischen bzw. nicht konservierten ungeformten Stuhlproben von Personen mit Symptomen einer akuten Gastroenteritis. Zum Nachweis der Norovirus-RNA verwendet der Test eine automatisierte Echtzeit-Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (rRT-PCR). Der Xpert Norovirus Assay ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Diagnostizierung von Norovirus-Infektionen bestimmt.

# System- und Reagenzienvoraussetzungen

## GeneXpert Systeme

- **GX DX Software v4.3 oder höher**

## Testkits (CE-IVD)

- **GXNOV-CE-10**

## Erforderliches, nicht mitgeliefertes Material

- Einweg-Trockentupfer (SDPS-120)
- Einweg-Transferpipetten
- Vortex-Mixer

# Xpert Norovirus-Kit

	Xpert Norovirus Assay
<b>Bestellnummer</b>	<b>GXNOV-CE-10</b>
<b>Tests pro Kit</b>	10
<b>Fläschchen mit Probenreagenz pro Kit</b>	10
<b>Inhalt pro Testkartusche</b>	Reagenzkügelchen
	Flüssige Reagenzien
	Assay-Definitionsdatei (Assay Definition File, ADF)
<b>IT</b>	Anleitungen zum Importieren der ADF
	Packungsbeilage (PDF)
<b>Lagerung</b>	2-8 ° C



# Entnahme, Transport und Lagerung von Proben für den Xpert Norovirus Assay

- **Probentyp:**
  - Frische bzw. nicht konservierte ungeformte Stuhlprobe in sauberem Behälter
- **Probenentnahme:**
  - Die Richtlinien der jeweiligen Einrichtung zur Entnahme von Proben zum Test auf Norovirus befolgen
- **Transport und Aufbewahrung von Proben:**
  - Transport bei 2 °C – 8 °C
  - Aufbewahrung ab dem Zeitpunkt der Entnahme bis zu 2 Tage lang bei 2 °C – 8 °C möglich

# Gute Laborpraxis

## Labora Aufbau für PCR

- Kartuschen-/Reagenz-Vorbereitung → Probenzugabe → Nachweis

## Aufbewahrung von Proben und Reagenzien

- Die Proben getrennt von den Reagenzien aufbewahren, um eine Kontamination der Reagenzien zu vermeiden.

## Ausrüstung

- Falls nötig, für QK-Verdünnungen Pipettenspitzen mit Filter verwenden.
- Die Empfehlungen des Herstellers zur Kalibrierung und Wartung der Laborgeräte befolgen.

# Gute Laborpraxis, Forts.

## Sauberkeit

- Arbeitsflächen zuerst mit verdünnter Haushaltsbleiche bei einer Endkonzentration von 1:10 und anschließend mit einer 70%igen Ethanol- oder 70%igen Isopropanollösung reinigen. Die Arbeitsflächen trocken wischen.
- Sollte es zu einer Kontamination kommen, den kontaminierten Bereich sorgfältig mit 1:10 verdünnter Haushaltsbleiche, DNA AWAY oder 3%igem (Gew./Vol.) Wasserstoffperoxid reinigen und gründlich mit Wasser spülen. Die Arbeitsflächen trocken wischen.

## Personal

- Sauberen Laborkittel und Handschuhe tragen.
- Nach Analyse jeder Probe Handschuhe wechseln.

## Labortischbereich

- Den Labortischbereich routinemäßig reinigen.
- Die Rückwand des Instruments darf keinen Staub aufweisen.

# Lagerung und Handhabung des Xpert Norovirus-Kits



- Testkits bei 2 °C – 8 °C lagern. Kartuschen nicht nach dem Verfallsdatum verwenden.
- Jede Einwegkartusche wird für die Bearbeitung eines Einzeltests verwendet. Verbrauchte Kartuschen nicht wiederverwenden.
- Kartuschen erst unmittelbar vor der Verwendung öffnen.
  - Die Kartusche sollte innerhalb von 30 Minuten nach dem Öffnen des Verschlusses gebraucht werden.
- Beim Umgang mit den Proben Kreuzkontaminationen vermeiden.
  - Die Handschuhe sind zu wechseln, wenn sie in Kontakt mit Patientenproben gekommen sind oder augenscheinlich nass geworden sind.
  - Die Handschuhe sind beim Verlassen bzw. Betreten des Arbeitsbereichs zu wechseln.
- Die Kartusche darf nicht verwendet werden, wenn sie fallen gelassen oder geschüttelt wurde, nachdem die Probe in die Kartusche übertragen wurde.
- Kartuschen mit beschädigtem Reaktionsbehälter dürfen nicht verwendet werden.

# Norovirus Probenverarbeitungstupfer



SOLLBRUCHSTELLE

**Cepheid Einwegtupfer, Teilenummer SDPS-120**

# Xpert Norovirus – Richtige Probenmenge



Probenmenge zu klein



**Richtige Menge**



Probenmenge zu groß

# Testablauf beim Xpert Norovirus Assay

## Präparation der Xpert® Kartusche

- Xpert MRSA
- Xpert MRSA/SA SSTI
- Xpert C. difficile
- Xpert SA Nasal Complete
- Xpert vanA/vanB
- Xpert Norovirus

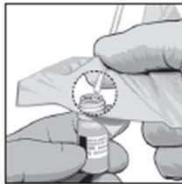
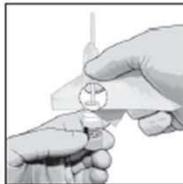
Ausführliche Anleitung,  
Vorsichtsmaßnahmen und  
Warnhinweise sind der  
Packungsbeilage zu entnehmen.

Ein Exemplar des Sicherheitsdatenblatts  
ist erhältlich unter [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com)  
oder [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com)

Technischer Kundendienst von Cepheid  
Büro USA  
(888) 838-3222, Option 2  
[techsupport@cepheid.com](mailto:techsupport@cepheid.com)  
Büro Europa  
+33 563 82 53 19  
[support@cepheideurope.com](mailto:support@cepheideurope.com)



- 1 Für jede Probe eine Xpert Kartusche und ein Fläschchen mit Elutionsreagenz bereitstellen.
- 2 Den Tupfer in das Fläschchen mit Probenreagenz überführen.
- 3 Den Tupfer an der Sollbruchstelle über dem Rand des Fläschchens abbrechen.
- 4 Das Fläschchen mit Probenreagenz wieder verschließen und 10 Sekunden lang vortexen.
- 5 Den Xpert Kartuschendeckel öffnen.
- 6 Den gesamten Inhalt des Fläschchens mit einer Einweg-Transferpipette aufnehmen.
- 7 Die Pipette in die Probenkammer entleeren.
- 8 Den Xpert Kartuschendeckel schließen.
- 9 Den Test innerhalb des in der Packungsbeilage angegebenen Zeitrahmens starten.



*Hinweis: Die Tupfer oberhalb der Sollbruchstelle halten. Zur Minimierung des Kontaminationsrisikos Gaze oder Ähnliches verwenden.*

© 2014 Cepheid

301-1049G, Rev. B März 2014

# Ablauf des Xpert Norovirus Assays im Überblick



# Schneller Assay-Abschluss (Early Assay Termination, EAT)

- **Worum handelt es sich?**
  - Echtzeit-Überwachung des Reaktionsvorgangs
  - Beenden der Reaktion, wenn die Zyklusschwelle einer bestimmten Reaktion überschritten wird
- **Worin bestehen die Vorteile?**
  - Positive Ergebnisse werden unverzüglich berichtet
  - Für zeitkritische Interventionen werden wertvolle Minuten für bedürftige Patienten eingespart

# Qualitätskontrolle

Weitere Details finden Sie in der Packungsbeilage



 **Cepheid**<sup>®</sup>  
*A better way.*

# Die Assay-Kontrollenstrategie von Cepheid

- **Jede Xpert Kartusche ist ein in sich geschlossenes Testgerät.**
  - **Cepheid hat spezielle molekulare Methoden entwickelt, um interne Kontrollen ins Verfahren aufzunehmen, mit denen das System in jeder Kartusche bestimmte Fehlermodi erkennen kann.**
    - **Instrumentensystemkontrolle: Status prüfen**
    - **Reagenzienkontrolle: Sondenprüfung**
    - **Probenverarbeitungskontrolle: SPC und/oder SAC**
    - **Amplifikationskontrolle: SPC und/oder SAC und/oder IC**

# Instrumentensystemkontrolle – Status prüfen

- **Die Systemkontrolle prüft die Optik, die Temperatur des Moduls und die mechanische Integrität jeder Kartusche.**
  - Schlagen die Systemkontrollen fehl, wird als Testergebnis FEHLER ausgegeben.**

# Reagenzienkontrolle – PCC

- Nach der Vorbereitung der Probe, der Rekonstitution der Kügelchen und der Füllung des Reaktionsbehälters (vor dem Wärmezyklus) werden bei verschiedenen Temperaturen mehrere Fluoreszenz-Messwerte erfasst.
- Die Messwerte werden mit den von Cepheid festgelegten Standardeinstellungen verglichen.
- Die Sondenprüfung erkennt:
  - fehlende Kügelchen für Target-spezifische Reagenzien (Target Specific Reagent, TSR) und/oder Enzymreagenzien, die alle Primer, Sonden und die Vorlage für die internen Kontrollen enthalten
  - die unvollständige Rekonstitution von Reagenzien
  - nicht ausreichend gefüllte Reaktionsbehälter
  - Sondenverderb
- Sollte die Sondenprüfung fehlschlagen wird FEHLER als Testergebnis ausgegeben.

# Probenbearbeitungskontrolle – SPC

- Die Probenbearbeitungskontrolle (Sample Processing Control, SPC) beurteilt die Wirksamkeit der Probenbearbeitungsschritte einschließlich der Füllung des Reaktionsbehälters.
- Die SPC ist eine geschützte RNA (Armored RNA).
- Die SPC erkennt:
  - fehlender Primer/fehlende Sonde oder fehlende Enzymkügelchen
  - die unvollständige Rekonstitution von Reagenzien
  - nicht ausreichend gefüllte Reaktionsbehälter
  - Enzymverderb
  - Probenlyse, Nukleinsäureextraktion und Integrität der Nukleinsäure
  - Probenhemmung
- Die SPC kann in einer Analyt-positiven Probe negativ oder positiv sein.
- Sollte die SPC in einer Analyt-negativen Probe fehlschlagen, wird als Testergebnis UNGÜLTIG ausgegeben.

# Kommerziell erhältliche externe Kontrollen

ZeptoMetrix Teilenummer	Beschreibung	Konfiguration
NATNOVI-ST	• Norovirus GI (positiv)	1 mL
NATNOVII-ST	• Norovirus GII (positiv)	1 mL
NATROTA-ST	• Rotavirus Wa (negativ)	1 mL

<http://www.zeptoMetrix.com>

## •Andere Optionen:

- Bekannte positive und negative Proben

•Externe Kontrollen müssen in Übereinstimmung mit lokalen, bundesstaatlichen und bundesweiten Akkreditierungsvorschriften verwendet werden.

# Ergebnisanalyse

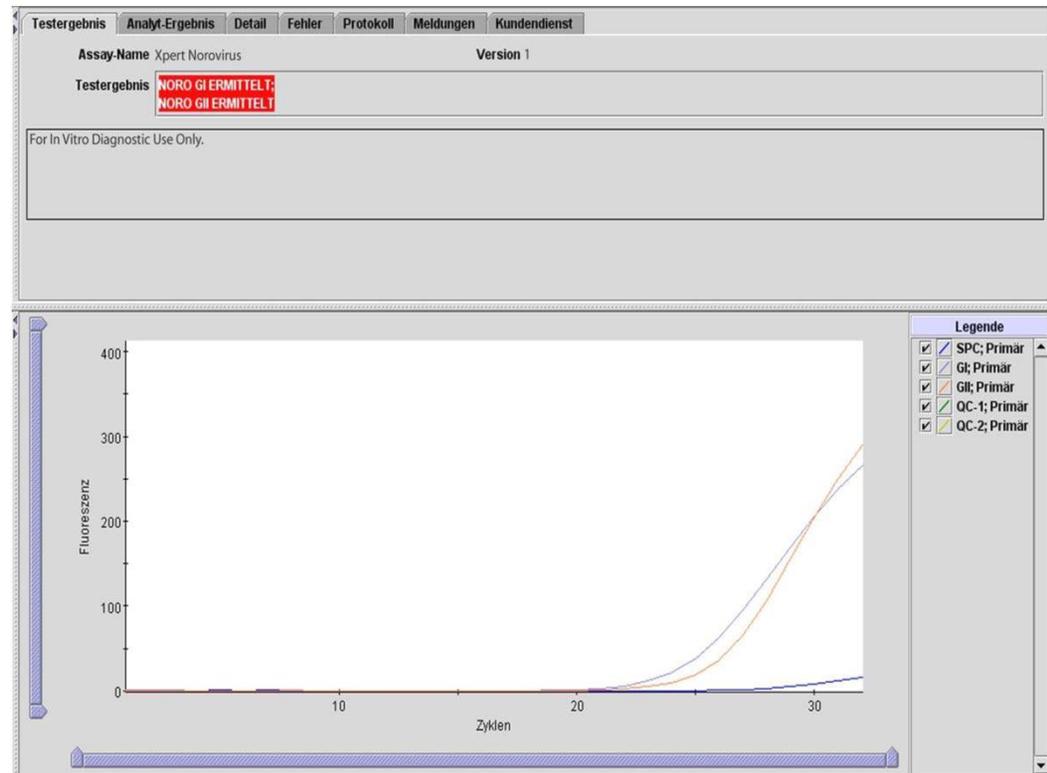
Weitere Details finden Sie in der Packungsbeilage



 **Cepheid**<sup>®</sup>  
*A better way.*

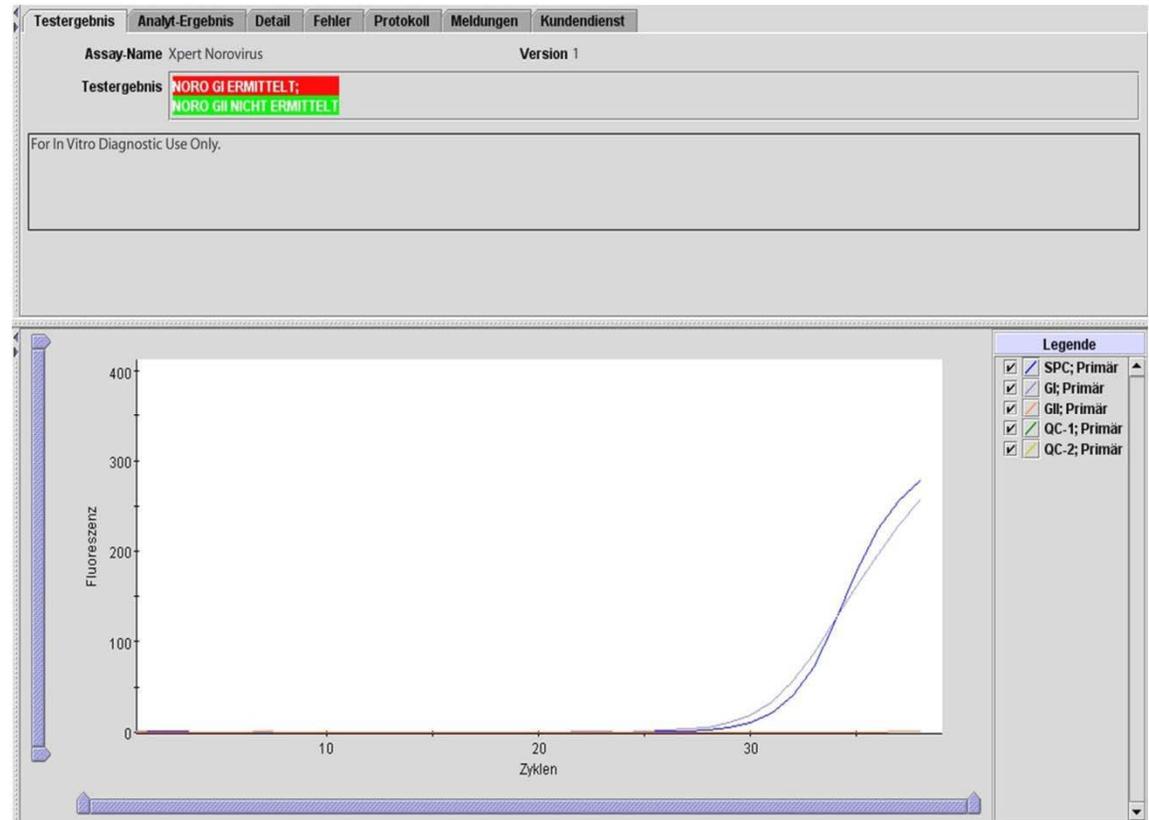
# Xpert Norovirus-Ergebnisse: Noro GI ermittelt, Noro GII ermittelt

- Ziel-RNA-Sequenzen für Norovirus GI und GII wurden nachgewiesen.
- SPC: Nicht zutreffend. Die SPC wird ignoriert, da die Amplifikation der Norovirus-Zielsequenz mit dieser Kontrolle konkurrieren kann.
- PCC: ERFOLGREICH; alle Sondenprüfungsergebnisse waren erfolgreich.



# Xpert Norovirus-Ergebnisse: Noro GI ermittelt, Noro GII nicht ermittelt

- Die Ziel-RNA-Sequenzen für das Norovirus GI wurden nachgewiesen.
- Die RNA-Sequenzen für das Norovirus GII wurden nicht nachgewiesen.
- SPC: Erfolgreich; die SPC weist einen Ct-Wert innerhalb des gültigen Bereichs sowie einen Endpunkt oberhalb der Minimumeinstellung auf.
- PCC: ERFOLGREICH; alle Sondenprüfungsergebnisse waren erfolgreich.

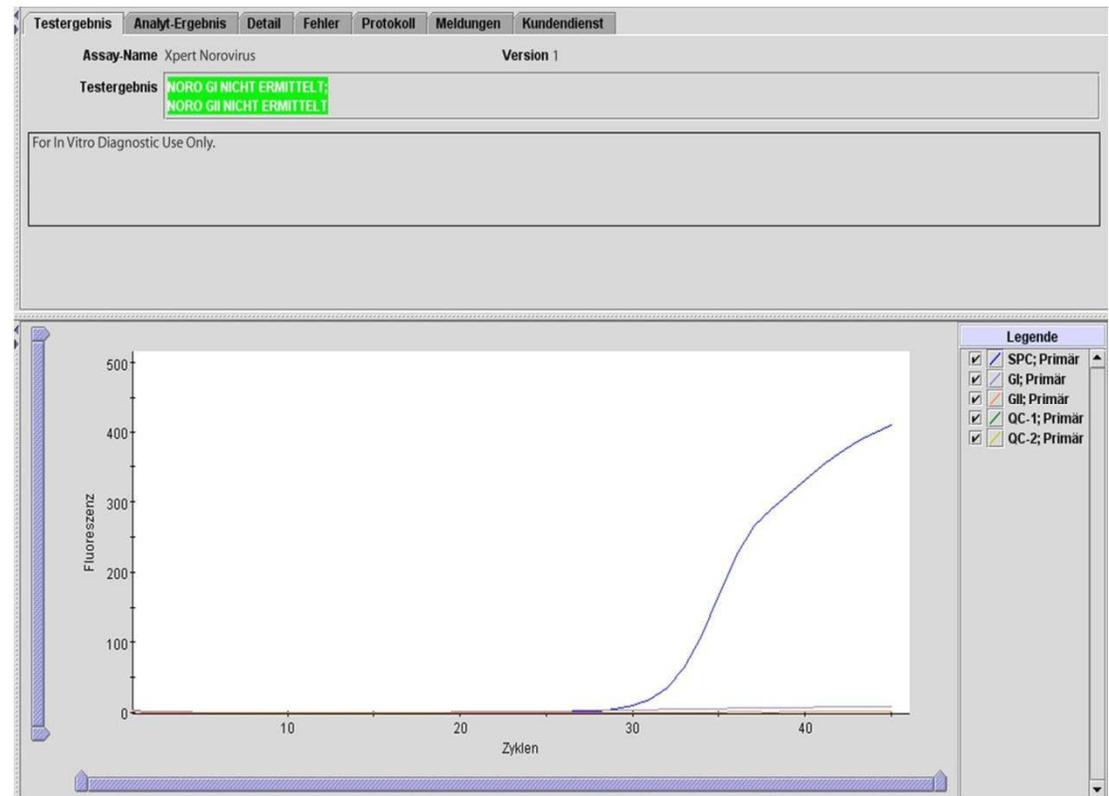


# Xpert Norovirus-Ergebnisse: Noro GI nicht ermittelt, Noro GII nicht ermittelt

•RNA-Sequenzen für Norovirus GI und GII wurden nicht nachgewiesen.

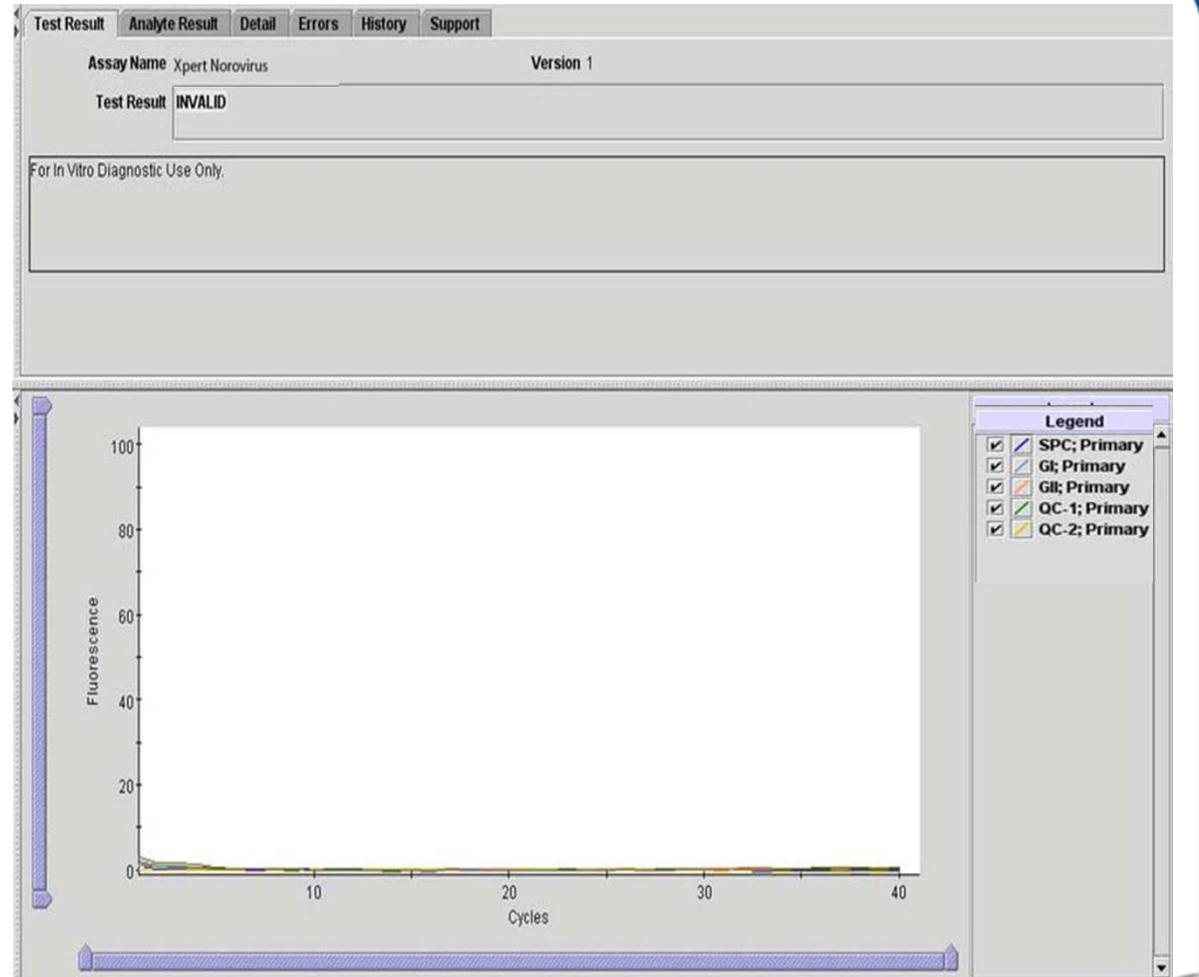
•SPC: Erfolgreich; die SPC weist einen Ct-Wert innerhalb des gültigen Bereichs sowie einen Endpunkt oberhalb der Minimumeinstellung auf.

•PCC: ERFOLGREICH; alle Sondenprüfungsergebnisse waren erfolgreich.



# Xpert Norovirus-Ergebnisse: UNGÜLTIG

- Vorliegen oder Abwesenheit der RNA-Zielsequenz für Norovirus ist nicht zu bestimmen. Der Test ist gemäß den Anweisungen in Abschnitt 14 der Packungsbeilage, „Testwiederholung“, zu wiederholen.
- Das Ergebnis für die SPC-Zielsequenz ist negativ. Der SAC-Ct-Wert liegt nicht innerhalb des gültigen Bereichs und der Fluoreszenzendpunkt liegt unterhalb des eingestellten Minimums.
- PCC: ERFOLGREICH; alle Sondenprüfungsergebnisse waren erfolgreich.



# Xpert Norovirus-Ergebnis: FEHLER

- Vorliegen oder Abwesenheit der RNA-Zielsequenz für Norovirus ist nicht zu bestimmen. Der Test ist gemäß den Anweisungen in Abschnitt 14 der Packungsbeilage, „Testwiederholung“, zu wiederholen.
- SPC: KEIN ERGEBNIS
- PCC: FEHLGESCHLAGEN\*; ein oder alle Ergebnisse der Sondenprüfung waren nicht erfolgreich. Die PCC ist wahrscheinlich fehlgeschlagen, weil der Reaktionsbehälter unsachgemäß gefüllt wurde oder ein Problem mit der Unversehrtheit einer Sonde festgestellt wurde.
- \* Bei erfolgreicher Sondenprüfung geht der Fehler auf den Ausfall einer Systemkomponente zurück.

The screenshot displays the Xpert Norovirus test result interface. At the top, there are tabs for Test Result, Analyte Result, Detail, Errors, History, Messages, and Support. The Assay Name is Xpert Norovirus, and the Version is 1. The Test Result is displayed as ERROR in a yellow box. Below this, there is a section for 'For In Vitro Diagnostic Use Only.' The bottom part of the screenshot shows a Troubleshoot section with a table of errors.

#	Description	Detail	Time
1	Post-run analysis error	Error 5006: [GII] probe check failed. Probe check value of 55.4 for reading number 1 was above the maximum of 54.0	03/18/14 09:50:56
2	Post-run analysis error	Error 5006: [GII] probe check failed. Probe check value of 55.0 for reading number 3 was above the maximum of 54.0	03/18/14 09:50:56

# Kein Ergebnis

**Es wurden nicht genügend Daten gesammelt, um ein Testergebnis zu erzielen  
(zum Beispiel hat der Benutzer einen laufenden Test abgebrochen).**

# Gründe für eine Wiederholung des Assays

- Das Ergebnis **UNGÜLTIG** weist darauf hin, dass die Probe nicht ordnungsgemäß bearbeitet wurde, die PCR gehemmt wurde oder die Probe ungeeignet war. Die Probe wurde nicht ordnungsgemäß bearbeitet, die PCR wurde gehemmt oder die Probe war ungeeignet.
- Das Ergebnis **FEHLER** bedeutet, dass die Sondenprüfungskontrolle fehlgeschlagen ist oder die obere Druckgrenze überschritten wurde.
- **KEIN ERGEBNIS** bedeutet, dass nicht genügend Daten erfasst wurden. Zum Beispiel hat der Anwender einen laufenden Test unterbrochen, ein Ladefehler ist aufgetreten oder die Software wurde vorzeitig geschlossen.

# Norovirus-Testwiederholung

1	<b>Die gebrauchte Kartusche entsorgen.</b>	
2	Die verbliebene Probe überprüfen. Ist die Menge der verbliebenen Probe nicht ausreichend oder gibt Testwiederholung weiterhin das Ergebnis <b>UNGÜLTIG</b> , <b>FEHLER</b> oder <b>KEIN ERGEBNIS</b> aus, eine neue Probe entnehmen.	
3	<b>Den Test mit einer neuen Kartusche und einem neuen Probenreagenz wiederholen.</b>	
4	<b>Bei der Durchführung des Tests die Packungsbeilage befolgen.</b>	

# Faktoren, die die Ergebnisse negativ beeinflussen

- **Unsachgemäße Probenentnahme**
  - Die Leistung mit anderen Entnahmevorrichtungen und Probenarten wurde nicht beurteilt.
  - Bei Assays, die eine SAC-Kontrolle enthalten, ergibt eine Probe, die keine humanen Zellen enthält, ein ungültiges Testergebnis.
- **Unsachgemäßer Transport oder unsachgemäße Lagerung der entnommenen Probe**
  - Lagerungs- und Transportbedingungen sind probenspezifisch.
  - Entsprechende Handhabungsanleitungen finden Sie in der Packungsbeilage.
- **Unsachgemäße Testvorgehensweise**
  - Änderungen an diesen Vorgehensweisen können die Leistung des Tests beeinträchtigen.
  - Ein technischer Fehler oder verwechselte Proben können die Testergebnisse beeinträchtigen.
  - Die Packungsbeilage ist sorgfältig zu befolgen, um fehlerhafte Testergebnisse zu vermeiden.
- **Störsubstanzen**
  - Bei Vorliegen von Störsubstanzen kann es zu falsch negativen oder ungültigen Testergebnissen kommen.
- **Die Anzahl der Organismen in der Probe liegt unter der Nachweisgrenze dieses Tests**
- **Die Quote der unbestimmten Proben ist der Packungsbeilage zu entnehmen**

# Störsubstanzen

- Eine Störung des Assays kann in Anwesenheit folgender Substanzen beobachtet werden:
  - Benzalkonium (antiseptische Tücher) 0,2 Gew.-% oder höher
  - Bismut in Konzentrationen über 5 Gew.-%
- Daten zu Störsubstanzen finden Sie in der Packungsbeilage des Xpert Norovirus.

# Diskussion und Fragen



 **Cepheid**<sup>®</sup>  
*A better way.*

# Technischer Kundendienst

- **Cepheid bietet einen technischen Kundendienst vor Ort, telefonisch, per Fax und E-Mail.**
- **Nordamerika:**
  - **Telefon: +1 (888) 838-3222**
  - **Fax: +1 (408) 716-2550**
  - **E-Mail: [techsupport@cepheid.com](mailto:techsupport@cepheid.com)**
- **Europa, Afrika, Naher Osten, indischer Subkontinent:**
  - **Telefon:**
    - Frankreich: + 33 5 63 82 53 19**
    - Deutschland: + 49 69 710 480 480**
    - Großbritannien: + 44 3303 332533**
    - Südafrika: +27 11 234 9636**
    - Australien, Neuseeland: +61 1800 107 884**
  - **Fax: +33 563 82 53 01**
  - **E-Mail: [support@cepheideurope.com](mailto:support@cepheideurope.com)**

# Diskussion und Fragen

