

Assay-Schulung: Xpert[®] EV

Nur zur Verwendung als CE-IVD und US-IVD



Schulungsprogramm

- Xpert EV-Schulung
 - Reagenzien
 - Probenentnahme
 - Lagerung und Handhabung der Kits
 - Vorbereitung der Kartusche
 - Qualitätskontrolle
 - Ergebnisanalyse
- Diskussion



Ziele der Xpert EV-Schulung

Am Ende der Schulung haben die Anwender folgende Kenntnisse erworben:

- Fachgerechte Lagerung und Handhabung des Xpert EV Kartuschen-Kits
- Korrekte Befolgung der Vorsichtsmaßnahmen zur Sicherheit im Labor
- Identifikation geeigneter Probenotypen und Transport von Patientenproben
- Vorbereitung der Kartusche und Durchführung des Assays.
- Weitergabe und Verständnis der diversen von der Software ausgegebenen Ergebnisse.
- Verständnis der Assay-Kontrollstrategie

Xpert® EV



Die Lösung von Cepheid



- Nachweis von Enterovirus (EV)-RNA in Zerebrospinalflüssigkeit (ZSF)
- Eingebaute Kontrollen für jede einzelne Probe
 - Sondenprüfungskontrolle (Probe Check Control, PCC)
 - Probenbearbeitungskontrolle (Sample Processing Control, SPC)
- System mit geschlossenen Kartuschen minimiert das Kontaminationsrisiko
- Ergebnisse „on-demand“
- Wahlfreier Zugriff

Verwendungszweck

Der Cepheid Xpert EV Assay auf dem GeneXpert® Dx System ist ein Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktions(RT-PCR)-Assay für den **vorläufigen qualitativen Nachweis von Enterovirus(EV)-RNA in Zerebrospinalflüssigkeit (ZSF) von Personen, die Anzeichen und Symptome von Meningitis zeigen**. Dieser Test kann in Verbindung mit anderen Laborbefunden und dem klinischen Bild als Hilfsmittel zur Diagnose von Enterovirusinfektionen bei Patienten verwendet werden, bei denen ein klinischer Verdacht auf Meningitis oder Meningoenzephalitis besteht. Die Leistungsmerkmale dieses Assays für immungeschwächte oder immunsupprimierte Patienten wurden nicht ermittelt.

VORSICHT: Die mit dem Xpert EV Assay erzielten Ergebnisse sollten nur zusammen mit klinischen Beobachtungen sowie anderen dem Arzt vorliegenden Informationen verwendet werden. Ein positives Ergebnis mit dem Xpert EV schließt andere Ursachen einer Meningitis wie Bakterien, Mykobakterien, andere Viren (z. B. Viren der Herpesfamilie, Arboviren, Mumpsvirus usw.) und Pilze nicht aus.

Anforderungen an System und Reagenzien

GeneXpert-Systeme

- GeneXpert-Software ab Version 2.1

Testkits (US-IVD und CE-IVD)

- GXEV-100N-10

Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

- 200- μ l-Pipette
- Sterile 200- μ l-Pipettenspitzen mit Filterbarriere
- Persönliche Schutzausrüstung (PSA)
- 1:10 verdünnte Chlorbleiche
- 70%iges Ethanol oder denaturiertes Ethanol

Optional

- Unterbrechungsfreie Stromversorgung/Überspannungsschutz
- Drucker

Gute Laborpraxis

Persönliche Schutzausrüstung (PSA)

- Saubere Laborkittel und Handschuhe verwenden
- Nach der Bearbeitung jeder einzelnen Probe die Handschuhe wechseln

Labortischbereich

- Arbeitsflächen routinemäßig reinigen mit:
 - ✓ 1:10 verdünnte haushaltsübliche Chlorbleiche
 - ✓ 70%iges Ethanol
- Nach der Reinigung dafür sorgen, dass die Oberflächen trocken sind

Lagerung von Patienten- und sonstigen Proben sowie Kits

- Patienten- und sonstige Proben getrennt vom Kit lagern, um Kontaminationen zu vermeiden

Gerät(e)

- Filterspitzen verwenden, wo diese empfohlen werden
- Vorgaben des jeweiligen Herstellers zu Kalibrierung und Wartung der Geräte befolgen

Handhabung des Kits



Inhalt des Xpert EV Kits

Xpert EV

Bestellnummer	GXEV-100N-10
Kartuschen pro Kit	10
Reagenzienfläschchen	Bindungsreagenz
	Waschreagenz
	Elutionsreagenz
	Lysereagenz
Kit-CD	Assay-Definitionsdatei (ADF)
	Anleitung für den Import des Assays
	Packungsbeilage (PDF)
Lagerung	2-28 °C



Lagerung und Handhabung des Xpert EV Kits

- Xpert EV Kartuschen und Reagenzien bei 2–28 °C lagern.
- Es sind die Sicherheitsverfahren der jeweiligen Institution für den Umgang mit Chemikalien und die Handhabung von biologischen Proben zu beachten.
- Den Deckel der Kartusche nur für die Zugabe der Probe öffnen, dann den Deckel schließen und mit der Bearbeitung fortfahren.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Die Kartusche nicht schütteln.
- Keine Kartuschen verwenden, die...
 - nass aussehen, undicht sind oder deren Deckelversiegelung aufgebrochen zu sein scheint.
 - sichtbare Schäden aufweisen.
 - nach der Entnahme aus der Verpackung fallen gelassen wurden.
 - nach der Zugabe der Probe fallen gelassen oder geschüttelt wurden.
 - einen beschädigten Reaktionsbehälter aufweisen.
 - bereits benutzt wurden. Jede Einweg-Kartusche dient zur Durchführung eines einzigen Tests.
 - abgelaufen sind.
- Pipetten nicht wiederverwenden.



Abfallentsorgung

- Biologische Proben, Transfervorrichtungen und gebrauchte Kartuschen sind als infektiös anzusehen und gemäß den üblichen Vorsichtsmaßnahmen zu handhaben.
- Bezüglich der angemessenen Entsorgung gebrauchter Kartuschen und nicht verwendeter Reagenzien die Umweltschutzvorschriften der jeweiligen Einrichtung einhalten. 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 Entsorgung enthalten, sollten biologische Proben und gebrauchte Kartuschen gemäß den Richtlinien zur Handhabung und Entsorgung von medizinischen Abfällen der WHO (Weltgesundheitsorganisation) entsorgt werden.

Lagerung und Transport von Proben



Probenhandhabung

Probe	Lagerung
Zerebrospinalflüssigkeit (ZSF) in einem sterilen Behälter	Bis zu 72 Stunden bei 2–8 °C nach der Probenentnahme
	Falls der Test nicht innerhalb von 72 Stunden durchgeführt wird, kann die Probe gefroren bei -20 oder -80 °C gelagert werden. *Proben nicht mehr als zwei Mal einfrieren und auftauen.



Das Zentrifugieren der Proben wird nicht empfohlen.

Testablauf beim Xpert EV

Präparation der Xpert EV-Kartusche

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

Ein Exemplar des Sicherheitsdatenblatts ist erhältlich unter www.cepheid.com oder www.cepheidinternational.com

Technischer Kundendienst von Cepheid

Büro USA
(888) 838-3222, Option 2
techsupport@cepheid.com

Büro Europa
+33 563 82 53 19
support@cepheideurope.com



1 Für jede Probe eine Kartusche, drei Ampullen und ein Fläschchen besorgen.

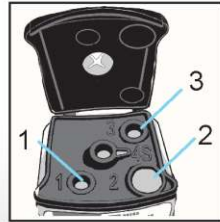


© 2012 Cepheid

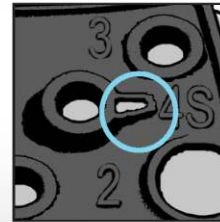
2 Den Kartuschendeckel öffnen.



3 Die Ampullen öffnen und anschließend Ampulle 1 in Öffnung 1, Ampulle 2 in Öffnung 2 und Ampulle 3 in Öffnung 3 geben.



4 140 µl des Lysereagens in Kammer 4S pipettieren und anschließend 140 µl der Probe in Kammer 4S pipettieren.



5 Den Kartuschendeckel schließen.



6 Den Test innerhalb des in der Packungsbeilage angegebenen Zeitrahmens starten.

301-0070G Rev. A Januar 2012

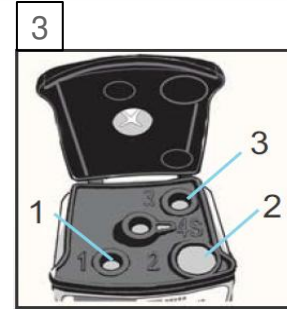
Vorbereitung der EV Kartusche



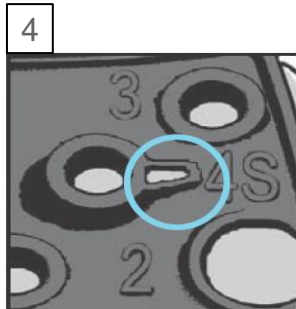
Für jede Probe eine Kartusche, drei Ampullen und ein Fläschchen besorgen.



Den Kartuschendeckel öffnen.



Die Ampullen öffnen und anschließend Ampulle 1 in Öffnung 1, Ampulle 2 in Öffnung 2 und Ampulle 3 in Öffnung 3 geben.



140 μ l des Lysereagens in Kammer 4S pipettieren und anschließend 140 μ l der Probe in Kammer 4S pipettieren.



Den Kartuschendeckel schließen.

6
Den Test innerhalb des in der Packungsbeilage angegebenen Zeitrahmens beginnen.

Einen Test durchführen

1 Test erstellen.

GeneXpert



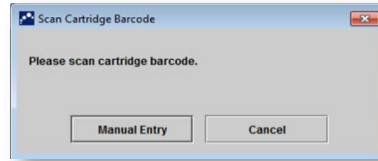
Der Test muss innerhalb von **30 Minuten** nach Zugabe der Probe in die Kartusche begonnen werden.

GeneXpert
Infinity



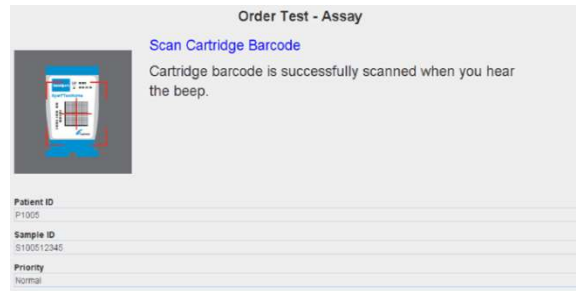
Die Kartusche innerhalb von **30 Minuten** nach Zugabe der Probe auf das Transportband stellen.

2 Barcodes scannen: Kartuschen-/ Patienten- und/oder Proben-ID.



*Standardmäßig nicht auf **Manuelle Eingabe (Manual Entry)** oder **Abbrechen (Cancel)** klicken.*

3 Kartusche scannen.



Ausführliche Anweisungen zur Testdurchführung bitte der Packungsbeilage und dem Benutzerhandbuch für GeneXpert Dx bzw. Xpertise entnehmen.

Einen Test in der GeneXpert Dx Software erstellen

4 Erforderliche Felder ausfüllen.

5 Das Assayprotokoll wird automatisch ausgewählt.

6 Das Modul wird automatisch ausgewählt.

7 Auf „Test starten“ (Start Test) klicken.

8 Am Modul blinkt eine grüne Leuchte. Kartusche in das Modul laden und Klappe schließen.

The screenshot shows the 'Create Test' window with the following fields and values:

- Patient ID: [Empty]
- Sample ID: [Empty]
- Patient ID 2: [Empty]
- Last Name: [Empty]
- Select Assay: Xpert Assayname
- Select Module: A3
- Reagent Lot ID*: 16119
- Expiration Date*: 2016/1/17
- Test Type: Specimen
- Sample Type: Other
- Notes: [Empty]

The 'Start Test' button is highlighted with an orange box and a mouse cursor. The 'Scan Cartridge Barcode' button is also visible.



Einen Test in der Xpertise Software erstellen

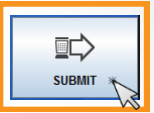
4 Erforderliche Felder ausfüllen.

Order Test - Test Information

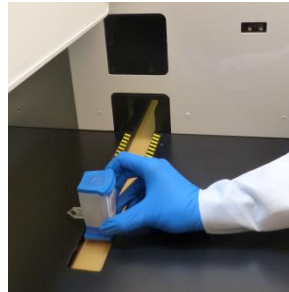
Patient ID patientid	
Sample ID sampleid	
Last Name patient	First Name id
Assay* Xpert Assay	
Reagent Lot ID* 12102	Cartridge S/N* 282769448
Expiration Date* 2018/11/04	Priority Normal
Test Type Specimen	
Sample Type Other	Other Sample Type
Notes	

5 Das Assayprotokoll wird automatisch ausgewählt.

6 Auf „EINREICHEN“ (SUBMIT) klicken.



7 Kartusche auf das Transportband stellen.



Automatisiertes Xpert Protokoll



Qualitätskontrollen

Vollständige Einzelheiten sind der Packungsbeilage zu entnehmen.



Die Assay-Kontrollstrategie von Cepheid

CONTROL

- Jede Xpert-Kartusche ist eine abgeschlossene Testeinheit.
- Cepheid hat spezielle molekulare Methoden entwickelt, um interne Kontrollen ins Verfahren aufzunehmen, mit denen das System in jeder Kartusche bestimmte Fehlermodi erkennen kann.
 - Sondenprüfungskontrolle (Probe Check Control, PCC)
 - Probenbearbeitungskontrolle (Sample Processing Control, SPC)

- **Sondenprüfungskontrollen (PCC)**

- Vor dem PCR-Schritt wird das Fluoreszenzsignal aller Sonden gemessen und mit den werksseitigen Standardeinstellungen verglichen, um Folgendes zu überwachen
 - Rehydrierung der Kügelchen
 - Unversehrtheit der Sonden
 - Füllung des Reaktionsbehälters
 - Stabilität des Farbstoffs

- **Probenbearbeitungskontrolle (SPC) – angezeigt als CIC**

- Verifiziert die adäquate Bearbeitung der Probe
- Verifiziert die Lyse und die Anwesenheit des Organismus und stellt fest, ob die PCR gehemmt wurde
- Sollte bei einer Probe mit negativem Ergebnis positiv sein
- Kann bei einer positiven Probe positiv oder negativ sein

Ergebnisanalyse

Vollständige Einzelheiten sind der Packungsbeilage zu entnehmen.



Übersicht der Ergebnisse

Angezeigtes Ergebnis	EV	CIC
POSITIV (POSITIVE)	+	+/-
NEGATIV (NEGATIVE)	-	+
UNGÜLTIG (INVALID)	-	-
FEHLER (ERROR)	KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)	KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)
KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)	KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)	KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)

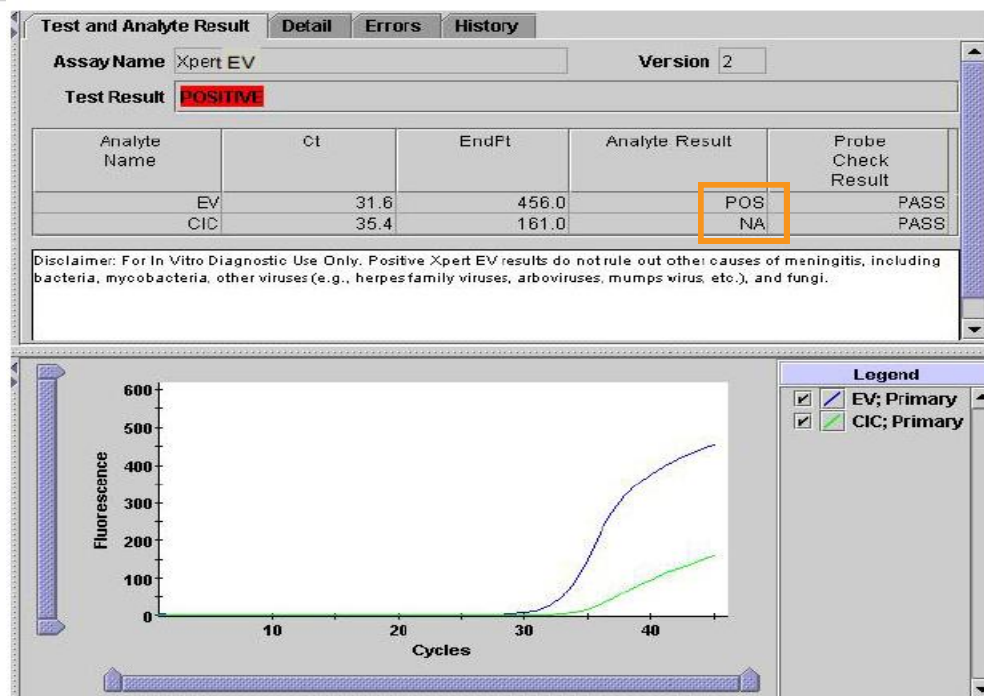
EV-positiv

Test Result **POSITIVE**

Nukleinsäure der EV-Zielsequenz wurde nachgewiesen.

- CIC (SPC/IC) – KA
(CIC (SPC/IC) – NA)
- Sondentest – BEST
(Probe Check – PASS)
Alle Sondentestergebnisse waren erfolgreich.

Ein positives Ergebnis mit dem Xpert EV schließt andere Ursachen einer Meningitis wie Bakterien, Mykobakterien, andere Viren und Pilze nicht aus.



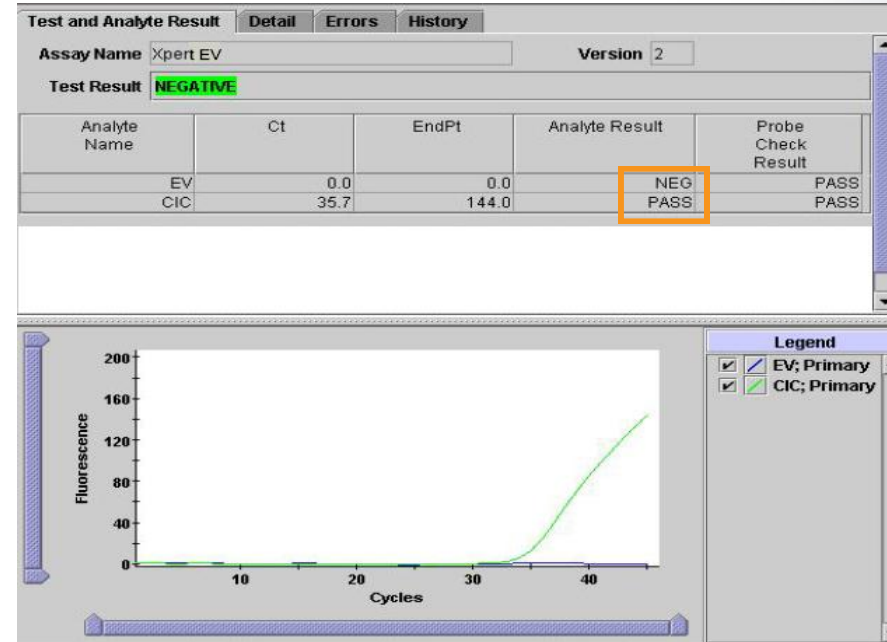
EV-negativ

Test Result **NEGATIVE**

Nukleinsäure der EV-Zielssequenz wurde nicht nachgewiesen. EV – NEG

- CIC (SPC/IC) – BEST (CIC (SPC/IC) – PASS);
Die Probenbearbeitungskontrolle (SPC) verfügt über einen Ct innerhalb des gültigen Bereichs und einen Endpunkt über dem Minimalgrenzwert des Endpunkts.
- Sondentest – BEST (Probe Check – PASS);
alle Sondentestergebnisse waren erfolgreich.

Negative Ergebnisse mit dem Xpert EV schließen Enterovirus als Ursache von Meningitis nicht aus, sondern bedeuten, dass Enterovirus in der Probe nicht nachgewiesen wurde.



Fehlerbehebung



Faktoren mit negativem Einfluss auf die Ergebnisse

- Unsachgemäße Probenentnahme
 - Die Viruslast in der Probe liegt unterhalb der Nachweisgrenze des Tests.
 - Die Leistung des Tests unter Verwendung anderer Probentypen wurde nicht beurteilt.
- Unsachgemäßer Transport oder unsachgemäße Lagerung der entnommenen Patientenprobe
 - Lagerungs- und Transportbedingungen sind probenspezifisch.
 - Anweisungen zur sachgemäßen Handhabung sind der Packungsbeilage zu entnehmen.
- Unsachgemäßes Testverfahren
 - Änderungen an den Testverfahren können die Leistung des Tests beeinträchtigen.
 - Die Packungsbeilage ist sorgfältig zu befolgen, um fehlerhafte Ergebnisse zu vermeiden.

UNGÜLTIG (INVALID)

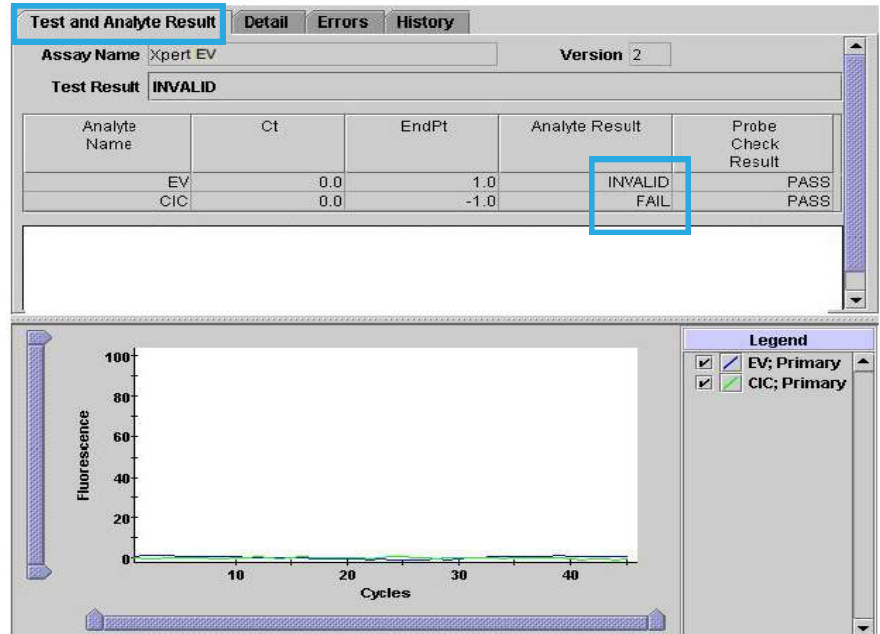
Test Result INVALID

An- oder Abwesenheit von EV kann nicht ermittelt werden.

SPC/IC erfüllt nicht die Akzeptanzkriterien, die Probe wurde nicht sachgemäß bearbeitet oder die PCR wurde gehemmt.

- EV – UNGÜLTIG
(EV – INVALID)
- CIC (SPC/IC) – DEFEKT
(CIC (SPC/IC) – FAIL)
- Sondentest – BEST
(Probe Check – PASS)

Den Test gemäß den Anweisungen zur Testwiederholung in der Packungsbeilage wiederholen.



FEHLER (ERROR)

Test Result **ERROR**

An- oder Abwesenheit von EV kann nicht ermittelt werden.

- EV – KEIN ERGEBNIS (EV – NO RESULT)
- CIC (SPC/IC) – KEIN ERGEBNIS (CIC (SPC/IC) – NO RESULT)
- Sondentest – DEFEKT (Probe Check – FAIL)

Den Test gemäß den Anweisungen zur Testwiederholung in der Packungsbeilage wiederholen.

The screenshot displays a software interface for test results. At the top, there are tabs for 'Test and Analyte Result', 'Detail', 'Errors', and 'History'. Below these, a 'Troubleshoot' section contains a table with one entry:

#	Description	Detail	Time
1	Post-run analysis error	Error 5007 - [EV] probe check failed. Probe check value of 84.19999694824219 for reading number 2 was below the minimum of 98.0	7/6/2007 15:34:50

Below the troubleshooting section, there is another 'Test and Analyte Result' section with tabs for 'Detail', 'Errors', and 'History'. It shows 'Assay Name' as 'xpert EV' and 'Version' as '2'. The 'Test Result' is highlighted as 'ERROR'. Below this, a table lists analyte results:

Analyte Name	Ct	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result
EV	0.0	0.0	NO RESULT	FAIL
CIC	0.0	0.0	NO RESULT	PASS

Kein Ergebnis (No Result)

Test Result **NO RESULT**

An- oder Abwesenheit von EV kann nicht ermittelt werden.

- EV – KEIN ERGEBNIS
(EV – NO RESULT)
- CIC (SPC/IC) – KEIN ERGEBNIS
(CIC (SPC/IC) – NO RESULT)
- Sondentest – KA
(Probe Check – NA)

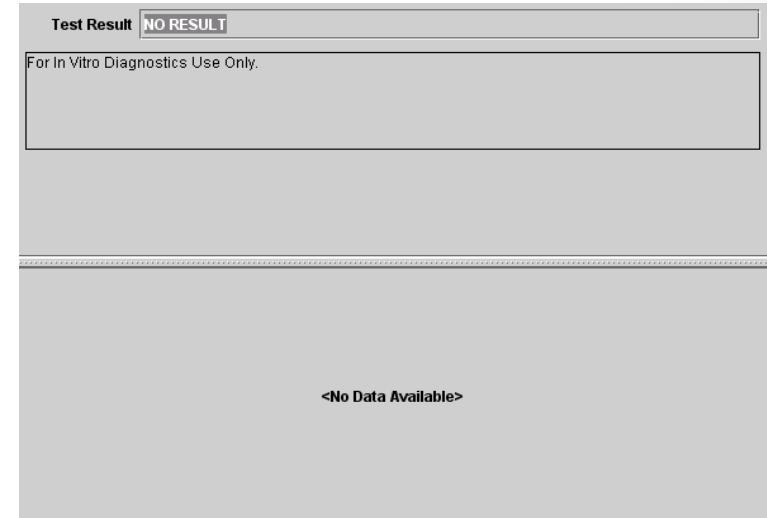
Mögliche Ursachen

KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) bedeutet, dass nicht genügend Daten erfasst wurden.

- Der Test wurde mit der Schaltfläche „Test stoppen“ („Stop Test“) angehalten.
- Stromausfall

Lösung

- Stromzufuhr wieder herstellen.
- Den Test mit einer neuen Kartusche wiederholen.



EV-Testwiederholung

1

Die gebrauchte Kartusche entsorgen.

Zur Entsorgung der Kartuschen die Sicherheitsvorschriften der jeweiligen Einrichtung befolgen.

2



Eine frische Probe beschaffen.

3



Eine neue Kartusche beschaffen.

Die Probe gemäß Packungsbeilage bearbeiten.

4



Den Test auf dem System durchführen.



Störsubstanzen

Positive Enterovirus-Ergebnisse wurden erzielt, selbst wenn höchste Konzentrationen potenzieller Störsubstanzen in den Assay gegeben wurden.

Störsubstanzen	Konzentration	EV C_t
Keine (Kontrolle n = 8)	Nicht zutreffend	36,1
Protein (n = 4)	1071 mg/dl	38,2
LEU (n = 4)	7,140 Zellen/mm ³	37,2
Blutige Lumbalpunktion, Probe 1	2,5 Vol.-% Blut	35,9
Blutige Lumbalpunktion, Probe 2	2,5 Vol.-% Blut	35,0
Blutige Lumbalpunktion, Probe 3	2,5 Vol.-% Blut	35,3
Hämoglobin (n = 4)	3,6 g/dl	36,9

Technische Unterstützung

- Halten Sie bitte die folgenden Informationen bereit, wenn Sie den technischen Kundendienst von Cepheid kontaktieren:
 - Produktname
 - Chargenbezeichnung
 - Seriennummer des Systems
 - Fehlermeldungen (falls vorhanden)
 - Software-Version und gegebenenfalls „Service Tag“ (Service-Kennnummer) des Computers
- Beschwerden können online unter dem folgenden Link vorgebracht werden: <http://www.cepheid.com/us/support> :
Supportfall erstellen (Create a Support Case)

Region	Telefon	Technischer Kundendienst – E-Mail:
USA	+1 888 838-3222	techsupport@cepheid.com
Australien und Neuseeland	+ 1800 130 821	techsupportANZ@cepheid.com
Brasilien und Lateinamerika	+ 55 11 3524 8373	latamsupport@cepheid.com
China	+ 86 021 5406 5387	techsupportchina@cepheid.com
Frankreich	+ 33 563 825 319	support@cepheideurope.com
Deutschland	+ 49 69 710 480 480	support@cepheideurope.com
Indien, Bangladesch, Bhutan, Nepal und Sri Lanka	+ 91 11 48353010	techsupportindia@cepheid.com
Italien	+ 39 800 902 567	support@cepheideurope.com
Japan	+ 0120 95 4886	support@japan.cepheid.com
Südafrika	+ 27 861 22 76 35	support@cepheideurope.com
Großbritannien	+ 44 3303 332 533	support@cepheideurope.com
Belgien und Niederlande	+33 563 825 3319	support@cepheideurope.com
Andere Länder in Europa, im Nahen Osten und in Afrika	+ 33 563 825 319 + 971 4 253 3218	support@cepheideurope.com



Vielen Dank.



www.Cepheid.com