

Xpert[®] HCV Viral Load

REF GXHCV-VL-CE-10
GXHCV-VL-IN-10

Trademark, Patents and Copyright Statements

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

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

© 2015-2022 Cepheid.

Marken-, Patent- und Urheberschutzangaben

Cepheid[®], das Cepheid-Logo, GeneXpert[®] und Xpert[®] sind Marken von Cepheid, die in den USA und anderen Ländern eingetragen sind.

Alle anderen Marken sind Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber.

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

© 2015-2022 Cepheid.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden

Xpert[®] HCV Viral Load

Nur zum Gebrauch als *In-vitro*-Diagnostikum.

1 Markenname

Xpert[®] HCV Viral Load

2 Gebräuchlicher oder üblicher Name

HCV VL

3 Verwendungszweck

Der HCV VL Assay zur Durchführung auf den GeneXpert[®] Instrumentensystemen ist für die schnelle Quantifizierung von RNA des Hepatitis-C-Virus (HCV) in humanem Serum oder Plasma (EDTA) von HCV-Infizierten vorgesehen. Der Test nutzt das Prinzip der automatisierten Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (reverse transcriptase polymerase chain reaction, RT-PCR) unter Verwendung von Fluoreszenz zum Nachweis der interessierenden RNA für die Quantifizierung von HCV.

Der HCV VL Assay kann die HCV-Genotypen 1–6 im Bereich von 10 bis 100.000.000 IE/mL quantifizieren. Der HCV VL Assay ist zur Verwendung als Hilfsmittel beim Management von HCV-Infizierten, die mit Virostatika behandelt werden, bestimmt. Der Test misst die HCV-RNA-Konzentration zum Anfangszeitpunkt und während der Behandlung und kann zur Vorhersage des anhaltenden und nicht anhaltenden virologischen Ansprechens auf die HCV-Therapie dienen.

Die Ergebnisse des HCV VL Assays können auch zur Bestätigung einer HCV-Infektion bei anti-HCV-positiven Personen verwendet werden. Bei anti-HCV-positiven Personen mit negativem Test auf HCV-RNA kann zur Unterscheidung zwischen echter HCV-Exposition und biologischer falscher Positivität die Verwendung eines anderen HCV-Antikörper-Assays in Betracht gezogen werden. In Fällen mit HCV-Exposition in den vorherigen 6 Monaten oder klinischen Anzeichen einer HCV-Erkrankung kann ein Wiederholungstest auf HCV-RNA indiziert sein.

Der Xpert HCV VL Assay ist zur Verwendung durch Laborfachkräfte oder speziell ausgebildete Mitarbeiter im Gesundheitswesen bestimmt.

Der Assay ist nicht für die Verwendung als Screeningtest auf HCV von Spendern bestimmt.

4 Zusammenfassung und Erklärung

Das HCV gehört zur Familie der Flaviviridae und gilt als der Haupterreger chronischer Lebererkrankungen einschließlich chronischer aktiver Hepatitis, Zirrhose und Leberzellkarzinom.¹ Das HCV-Genom ist ein Plus-Strang-RNA-Molekül von etwa 9500 Nukleotiden.¹ HCV wird gewöhnlich durch perkutanen Kontakt mit infiziertem Blut übertragen, hauptsächlich durch intravenösen Drogenkonsum und den Empfang von nicht gescreenten Blutspendeprodukten. In weniger häufigen Fällen wurde die Übertragung von HCV durch berufsbedingten, perinatalen und sexuellen Kontakt nachgewiesen.²

Schätzungen nach sind 185 Millionen Personen bzw. etwa 3% der Gesamtbevölkerung der Welt mit HCV infiziert, und über 80% leben in Ländern mit niedrigem oder mittlerem Einkommen (Low and Middle Income Countries, LMICs).³ Die Belastung durch diese Krankheit ist in den Entwicklungsländern am höchsten; die höchsten Prävalenzwerte werden für China (3,2%),⁴ Pakistan (4,8%),⁴ Nigeria (18,3%)⁵ und Ägypten (22%) gemeldet.⁴ Etwa 15 Millionen europäische Erwachsene sind mit HCV infiziert, und die meisten dieser Personen sind sich ihrer Infektion nicht bewusst.⁶ Jedes Jahr sterben 350.000 bis 500.000 Personen an HCV-bedingten Lebererkrankungen.⁷

HCV-Infektionen können mit antiviralen Arzneimitteln geheilt werden, doch der Zugang zu Diagnose und Behandlung ist gering.⁷ Bei den meisten Patienten kann eine HCV-Infektion jetzt mit überaus wirksamen, sicheren und verträglichen Kombinationen von oralen, direkt wirkenden antiviralen Substanzen (direct-acting antivirals, DAAs), die 8–24 Wochen lang eingenommen werden, geheilt werden.⁵ Zum ersten Mal ist von einer Ausmerzungen von HCV-Infektionen die Rede.⁵

Die Quantifizierung der HCV-RNA liefert eine nützliche Metrik für die Beurteilung der Wirksamkeit der antiviralen Reaktion auf die HCV-Behandlung. Die Richtlinien für die Behandlung von HCV-Erkrankungen empfehlen quantitative Tests auf HCV-RNA vor Beginn einer antiviralen Therapie, während der Therapie und nach Abschluss der Behandlung. Hauptziel der Behandlung ist die anhaltende virologische Reaktion (Sustained Virologic Response, SVR), definiert als mit einem empfindlichen Test nicht nachweisbare HCV-RNA 12 oder 24 Wochen nach Behandlungsende je nach Anti-HCV-Therapie.⁸

5 Verfahrensprinzip

Die GeneXpert-Instrumentensysteme bieten automatische, integrierte Probenreinigung, Nukleinsäureamplifikation und Nachweis der Zielsequenz in einfachen oder komplexen Proben unter Verwendung von RT-PCR mit Fluoreszenz zum Nachweis der interessierenden RNA. Die Systeme bestehen aus einem Instrument, einem Computer und einer vorinstallierten Software zur Durchführung der Tests und zum Anzeigen der Ergebnisse. Die Systeme arbeiten mit GeneXpert-Kartuschen (Einwegartikel), die die RT-PCR-Reagenzien enthalten und in denen die RT-PCR-Verfahren ablaufen. Da die Kartuschen abgeschlossene Einheiten darstellen, wird die Kreuzkontamination zwischen Proben minimiert. Eine vollständige Beschreibung der Systeme findet sich im zugehörigen *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Dx System* bzw. *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Infinity System*.

Der HCV VL Assay enthält Reagenzien für den Nachweis von HCV-RNA in Patientenproben sowie zwei interne Kontrollen, die zur Quantifizierung von HCV-RNA dienen. Die internen Kontrollen dienen zur Überwachung von Wiederfindung und Vorliegen von Hemmsubstanzen in der RT- und der PCR-Reaktion. Mit der Sondenprüfungskontrolle (SPK) werden die Rehydrierung der Reagenzien, die Befüllung des PCR-Gefäßes in der Kartusche, die Sondenintegrität und die Farbstoffstabilität überprüft.

6 Reagenzien

6.1 Enthaltene Materialien



Das HCV VL Assay-Kit enthält ausreichend Reagenzien zur Bearbeitung von 10 Patienten- oder Qualitätskontroll-Proben. Das Kit enthält die folgenden Materialien:

HCV VL Assay-Kartuschen mit integrierten Reaktionsbehältern	10
• Kügelchen 1, Kügelchen 2 und Kügelchen 3 (gefrieretrocknet)	je 1 pro Kartusche
• Lysereagenz (Guanidinthiocyanat)	2,0 mL pro Kartusche
• Spülreagenz	0,5 mL pro Kartusche
• Elutionsreagenz	1,5 mL pro Kartusche
• Bindungsreagenz	2,4 mL pro Kartusche
• Proteinase-K-Reagenz	0,48 mL pro Kartusche
Einweg-Transferpipetten (1 mL)	10 pro Kit
CD	1 pro Kit
• Assay-Definitionsdatei (Assay Definition File, ADF)	
• Anweisungen zum Importieren der ADF in die GeneXpert-Software	
• Gebrauchsanweisung (Packungsbeilage)	

Hinweis

Sicherheitsdatenblätter (Safety Data Sheets, SDS) sind auf der Website 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. Den Tieren wurde kein Protein von Wiederkäuern oder anderen Tieren verfüttert; die Tiere wurden vor und nach ihrem Tod untersucht. Bei der Verarbeitung wurde das Material nicht mit anderen Tiermaterialien vermischt.

7 Lagerung und Handhabung



- HCV VL Assay-Kartuschen und Reagenzien bei 2 °C - 28 °C lagern.
- Die Kartusche erst kurz vor der Durchführung des Assays öffnen.
- Keine leckenden Kartuschen verwenden.
- Keine HCV VL Assay-Kartuschen und Reagenzien verwenden, die zuvor eingefroren wurden.
- Reagenzien oder Kartuschen nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden.

8 Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

- GeneXpert Dx-System oder GeneXpert Infinity-Systeme (verschiedene Bestellnummern je nach Konfiguration): GeneXpert-Instrument, Computer mit proprietärer GeneXpert Dx-Software, Version 4.7b oder höher (GeneXpert Dx-Systeme); oder Xpertise 6.4b oder höher (Infinity-80/Infinity-48s), Strichcode-Scanner und Benutzerhandbuch.
- Drucker: Falls ein Drucker benötigt wird, wenden Sie sich bitte an den technischen Kundendienst von Cepheid, um einen empfohlenen Drucker zu erwerben.
- Bleichmittel oder Natriumhypochlorit

9 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen



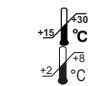
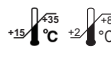


- Alle biologischen Patientenproben und auch die gebrauchten Kartuschen sind als potenziell infektiös zu behandeln. Da es oft unmöglich ist, potenziell infektiöse Proben zu erkennen, sind alle biologischen Proben gemäß den üblichen Vorsichtsmaßnahmen zu behandeln. Richtlinien für den Umgang mit Patientenproben sind von den U.S. Centers for Disease Control and Prevention⁹ und dem Clinical and Laboratory Standards Institute erhältlich.¹⁰
- Um eine Kontamination von Patientenproben oder Reagenzien zu vermeiden, werden die Einhaltung der Guten Laborpraxis und ein Handschuhwechsel nach jeder Patientenprobe empfohlen.
- Es sind die Sicherheitsverfahren der jeweiligen Institution für den Umgang mit Chemikalien und die Handhabung von biologischen Proben zu beachten.
- Keine HCV VL Assay-Reagenzien durch andere Reagenzien ersetzen.
- Öffnen Sie den Deckel der HCV VL Assay-Kartusche ausschließlich für das Hinzufügen der Probe.
- Keine Kartuschen verwenden, die nach der Entnahme aus der Verpackung fallen gelassen wurden.
- Die Kartusche nicht schütteln. Wenn die Kartusche nach dem Öffnen des Deckels geschüttelt oder fallen gelassen wird, werden möglicherweise ungültige Ergebnisse erhalten.
- Kartuschen mit beschädigtem Reaktionsbehälter dürfen nicht verwendet werden.
- Keine leckenden Kartuschen verwenden.
- ② • Jede HCV VL Assay-Kartusche dient zur Durchführung eines einzigen Tests (Einwegartikel). Kartuschen nicht mehrmals verwenden.
- ② • Die Einwegpipette dient zur Übertragung einer einzelnen Probe. Benutzte Einwegpipetten nicht wiederverwenden.
- Saubere Laborkittel und Handschuhe verwenden. Nach der Bearbeitung jeder einzelnen Probe die Handschuhe wechseln.
- Im Falle einer Kontamination des Arbeitsbereichs oder von Geräten mit Proben oder Kontrollen den kontaminierten Bereich gründlich mit 1:10 verdünnter haushaltsüblicher Chlorbleiche oder Natriumhypochlorit und anschließend mit 70%igem Ethanol oder 70%igem denaturiertem Ethanol reinigen. Die Arbeitsoberflächen abwischen, bis sie vollständig getrocknet sind, bevor fortgefahren wird.
- Befragen Sie bezüglich der angemessenen Entsorgung gebrauchter Kartuschen und nicht verwendeter Reagenzien das für Sondermüll zuständige Personal Ihrer Einrichtung. Überprüfen Sie die bundesstaatlichen, regionalen bzw. lokalen Vorschriften, da sich diese möglicherweise von den bundesweiten Entsorgungsrichtlinien unterscheiden. Dieses Material stellt möglicherweise gefährlichen Abfall dar, für den besondere Entsorgungsvorschriften gelten. Jede Einrichtung sollte die geltenden Vorschriften zur Entsorgung von gefährlichen Abfällen 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 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.

10 Chemische Gefahren^{11,12}

- Signalwort: ACHTUNG
- **UN-GHS-Gefahrenhinweise:**
 - Gesundheitsschädlich bei Verschlucken
 - Verursacht leichte Hautreizungen
 - Verursacht Augenreizungen
- **UN-GHS-Sicherheitshinweise:**
 - **Prävention:**
 - Nach Gebrauch gründlich waschen.
 - **Reaktion:**
 - Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.
 - 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.




11 Entnahme, Lagerung und Transport der Proben

Das Vollblut ist in K2-EDTA-Röhrchen, EDTA-PPT- oder Serum-Entnahmeröhrchen zu entnehmen und gemäß Herstelleranweisungen zu zentrifugieren, um das Plasma/Serum und die Erythrozyten abzutrennen.

- Für den HCV VL Assay ist eine Mindestmenge von 1 mL Plasma bzw. Serum erforderlich. Wenn die im Kit enthaltene Transferpipette verwendet wird, ist mindestens 1,2 mL Plasma oder Serum erforderlich. Andernfalls ist bei Verwendung einer Präzisionspipette mindestens 1 mL Plasma oder Serum erforderlich.
- 
 - Vollblut kann vor der Plasma- bzw. Serumvorbereitung bei 15–30 °C bis zu 24 Stunden oder bei 2–8 °C bis zu 3 Tage aufbewahrt werden. Das Zentrifugieren sollte gemäß den Anweisungen des Herstellers erfolgen.
- 
 - Nach dem Zentrifugieren und Trennen können Plasma und Serum vor der Testung bei 15–35 °C bis zu 24 Stunden oder bei 2–8 °C bis zu 3 Tage aufbewahrt werden.
- 
 - Plasma- und Serumproben sind eingefroren (-70 bis -18 °C) 6 Wochen stabil.
 - Plasma- und Serumproben bleiben maximal über drei Einfrier-Auftau-Zyklen stabil.
 - Plasma- und Serumproben müssen aufgetaut und auf Raumtemperatur äquilibriert werden, bevor sie in die Kartusche überführt werden.
- 
 - Vollblut-, Plasma- und Serumproben sind bei 2–8 °C zu transportieren.
 - Beim Transport von Vollblut-, Plasma- und Serumproben sind die landesspezifischen, bundesweiten, bundesstaatlichen und lokalen Vorschriften für den Transport ätiologischer Substanzen zu beachten.

12 Verfahren

12.1 Vorbereitung der Proben

1. Nach dem Zentrifugieren von Vollblutproben kann 1 mL Plasma direkt in die Kartusche pipettiert werden. Ein ausreichendes Volumen ist entscheidend für gültige Testergebnisse (siehe Anweisungen in Abschnitt 12.2, Vorbereitung der Kartusche, Option 1, weiter unten).
- 
 - 2. Eingefrorene Proben sind vor ihrer Verwendung vollständig bei Raumtemperatur (20–35 °C) aufzutauen und zu äquilibrieren.
- 
 - 3. Bei 2–8 °C gelagerte Plasma- und Serumproben sollten vor Gebrauch aus dem Kühlschrank genommen und auf Raumtemperatur äquilibriert werden.
- 
 - 4. Bei 2–8 °C oder gefroren gelagerte und dann aufgetaute Plasmaproben sollten vor Gebrauch 15 Sekunden lang im Vortexer gemischt werden. Trübe Proben durch kurzes Zentrifugieren klären.

12.2 Vorbereitung der Kartusche

1. Einweg-Schutzhandschuhe tragen.
 2. Die Testkartusche auf Beschädigungen überprüfen. Falls die Kartusche beschädigt ist, darf sie nicht verwendet werden.
 3. Den Deckel der Testkartusche öffnen.
- **Option 1:** Bei Verwendung der im Kit enthaltenen Transferpipette (Abbildung 1) die Pipette bis knapp unterhalb des Ballons, aber bis über die Linie füllen, um mindestens 1 mL Plasma oder Serum vom Entnahmeröhrchen in die Probenkammer der Testkartusche zu übertragen (Abbildung 2). Die Probe **NICHT** in die Kammer gießen!
 - **Option 2:** Bei Verwendung einer automatischen Pipette mindestens 1 mL Plasma oder Serum in die Probenkammer der Testkartusche übertragen (Abbildung 2). Die Probe **NICHT** in die Kammer gießen!

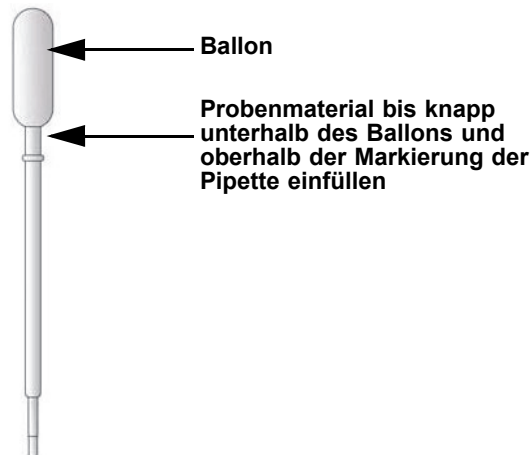


Abbildung 1. HCV VL Assay-Transferpipette

4. Den Kartuschendeckel schließen.
5. Die Kartusche in das GeneXpert Dx-Instrument oder Infinity-System einsetzen.

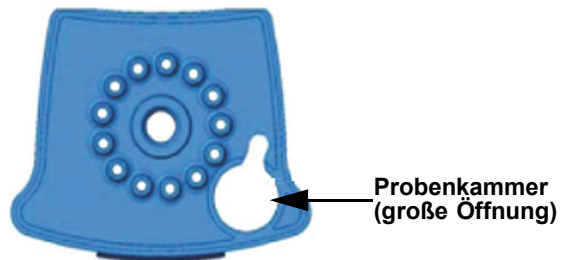


Abbildung 2. HCV VL Assay-Kartusche (Draufsicht)

12.3 Testbeginn

Wichtig Stellen Sie sicher, dass die Assay-Definitionsdatei (Assay Definition File, ADF) für den HCV VL Assay in die Software importiert wurde, bevor Sie den Test starten.

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

In diesem Abschnitt werden die grundlegenden Schritte der Testdurchführung beschrieben. Detaillierte Anweisungen finden Sie, abhängig vom benutzten Modell, im *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Dx System* oder im *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Infinity System*.

1. Schalten Sie das GeneXpert-Instrument ein:
 - Schalten Sie bei Verwendung des GeneXpert Dx-Instruments zuerst das Instrument und dann den Computer ein. Die GeneXpert-Software startet automatisch. Ist dies nicht der Fall, führen Sie einen Doppelklick auf das Verknüpfungssymbol für die GeneXpert Dx-Software auf dem Windows®-Desktop aus.
oder
 - Fahren Sie bei Verwendung des GeneXpert Infinity Instruments das Instrument hoch. Die GeneXpert-Software startet automatisch. Ist dies nicht der Fall, führen Sie einen Doppelklick auf das Verknüpfungssymbol für die Xpertise-Software auf dem Windows®-Desktop aus.
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** (GeneXpert Dx) bzw. **Orders** (Anforderungen) und **Order Test** (Test anfordern) (Infinity).
4. Scannen Sie die Patienten-ID ein (optional). Vermeiden Sie Tippfehler beim Eintippen der Patienten-ID. Die Patienten-ID ist mit den Testergebnissen verknüpft und erscheint im Fenster „View Results“ (Ergebnisse anzeigen).
5. Scannen oder tippen Sie die Proben-ID ein. Vermeiden Sie Tippfehler beim Eintippen der Proben-ID. Die Proben-ID ist mit den Testergebnissen verknüpft und erscheint im Fenster „View Results“ (Ergebnisse anzeigen) sowie in allen Berichten. Das Dialogfenster „Scan Cartridge“ (Kartuschen-Strichcode scannen) erscheint.
6. Scannen Sie den Barcode der HCV VL Assay-Kartusche ein. Das Fenster „Create Test“ (Test erstellen) erscheint. Anhand der über den Strichcode erhaltenen Informationen werden die folgenden Felder automatisch ausgefüllt: Select Assay (Assay auswählen), Reagent Lot ID (Reagenzchargen-ID), Cartridge SN (Kartuschen-Seriennr.) und Expiration Date (Verfallsdatum).
7. Klicken Sie auf **Test starten** (GeneXpert Dx) bzw. **Submit** (Einreichen) (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 ab, bis das System die Klappenverriegelung freigibt. Öffnen Sie anschließend die Modulklappe und entnehmen Sie die Kartusche.
- D. Die benutzten Kartuschen sind nach den üblichen Praktiken der jeweiligen Einrichtung in geeigneten Proben-Abfallbehältern zu entsorgen.

13 Anzeigen und Drucken der Ergebnisse

In diesem Abschnitt sind die grundsätzlichen Schritte für Anzeigen und Ausdrucken der Ergebnisse aufgelistet. Detailliertere Anweisungen zum Anzeigen und Ausdrucken der Ergebnisse finden Sie im *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Dx System* oder im *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Infinity System*, je nachdem, welches Instrument Sie verwenden.

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

14 Qualitätskontrolle

CONTROL

Jeder Test umfasst eine Probenvolumenkontrolle (Sample Volume Adequacy, SVA), einen internen quantitativen Standard, hoch und niedrig (IQS-H und IQS-L, fungiert auch als Probenverarbeitungskontrolle [Specimen Processing Control, SPC]) und eine Sondenprüfungskontrolle (SPK).

- **Probenvolumenkontrolle (Sample Volume Adequacy, SVA)** – Stellt sicher, dass die Probe korrekt in die Kartusche eingefüllt wurde. Mit der SVA wird überprüft, ob die korrekte Probenmenge in die Probenkammer gefüllt wurde. Die SVA ist erfolgreich, wenn sie die validierten Akzeptanzkriterien erfüllt. Bei nicht erfolgreicher SVA wird **ERROR 2096** (FEHLER 2096) angezeigt, wenn keine Probe vorhanden ist, bzw. **ERROR 2097** (FEHLER 2097), wenn nicht genügend Probenmaterial vorhanden ist. Das System verhindert, dass der Test weiter durchgeführt werden kann.
- **Interner quantitativer Standard, hoch und niedrig (IQS-H und IQS-L)** – IQS-H und IQS-L sind zwei Armored-RNA®-Konstrukte in der Form eines trockenen Kügelchens, das den gesamten Assay-Prozess durchläuft. Der IQS-H- und der IQS-L-Standard wurden gegen den 4. Internationalen Standard der WHO für HCV kalibriert. Sie dienen zur Quantifizierung unter Verwendung der chargenspezifischen Parameter für die Berechnung der HCV-RNA-Konzentration in der Probe. IQS-H und IQS-L stellen außerdem eine probenbedingte Hemmung der RT-PCR fest. IQS-H und IQS-L liefern ein erfolgreiches Ergebnis, wenn sie die validierten Akzeptanzkriterien erfüllen.
- **Sondenprüfungskontrolle (SPK)** – Vor Beginn der PCR-Reaktion verifiziert das GeneXpert-Instrumentensystem anhand des gemessenen Fluoreszenzsignals von den Sonden die Rehydrierung der Kügelchen, Füllung des Reaktionsbehälters, Unversehrtheit der Sonden und Stabilität des Farbstoffs. Die SPK ist erfolgreich, wenn sie die validierten Akzeptanzkriterien erfüllt.
- **Externe Kontrollen** – Gemäß der Guten Laborpraxis sollten externe Kontrollen, die nicht zum Kit gehören, gemäß den jeweils vor Ort geltenden Anforderungen von Akkreditierungsorganisationen verwendet werden.

15 Interpretation der Ergebnisse

Die Ergebnisse werden automatisch vom GeneXpert-Instrumentensystem anhand der gemessenen Fluoreszenzsignale und eingebauten Berechnungsalgorithmen ausgewertet und im Fenster „View Results“ (Ergebnisse anzeigen) angezeigt (Abbildung 3 und Abbildung 5). Mögliche Ergebnisse sind in Tabelle 1 zu sehen.

Tabelle 1. HCV VL Assay – Ergebnisse und Interpretation

Ergebnis	Interpretation
HCV DETECTED (HCV festgestellt) XX IU/mL (log X.XX) (XX IE/mL [log X,XX]) Siehe Abbildung 3.	Der festgestellte HCV-RNA-Wert beträgt XX IE/mL. <ul style="list-style-type: none"> • Der HCV-RNA-Titer liegt innerhalb des festgelegten linearen Bereichs des Assays und der Endpunkt liegt über dem Minimum. • IQS-H und IQS-L: PASS (BEST.). • Sondenprüfung: PASS (BEST.); alle Sondenprüfungsergebnisse waren erfolgreich.
HCV DETECTED (HCV festgestellt) > 1.00E08 IU/mL (> 1,00E08 IE/mL) Siehe Abbildung 4.	Der festgestellte HCV-RNA-Wert liegt über dem Quantifizierungsbereich des Assays. <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H und IQS-L: PASS (BEST.). • Sondenprüfung: PASS (BEST.); alle Sondenprüfungsergebnisse waren erfolgreich.
HCV DETECTED (HCV festgestellt) < 10 IU/mL (< 10 IE/mL) Siehe Abbildung 5.	Der festgestellte HCV-RNA-Wert liegt unter dem Quantifizierungsbereich des Assays. <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H und IQS-L: PASS (BEST.). • Sondenprüfung: PASS (BEST.); Alle Sondenprüfungsergebnisse waren erfolgreich.

Tabelle 1. HCV VL Assay – Ergebnisse und Interpretation

Ergebnis	Interpretation
HCV NOT DETECTED (Kein HCV festgestellt) Siehe Abbildung 6.	Die HCV-RNA wurde nicht festgestellt. <ul style="list-style-type: none"> • HCV-RNA wurde nicht festgestellt. • IQS-H und IQS-L: PASS (BEST.). • Sondenprüfung: PASS (BEST.); alle Sondenprüfungsergebnisse waren erfolgreich.
INVALID (UNGÜLTIG) Siehe Abbildung 7.	Es kann nicht ermittelt werden, ob HCV-RNA vorhanden ist oder nicht. Wiederholen Sie den Test gemäß den Anweisungen in Abschnitt 16.2, Testwiederholung. <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H und/oder IQS-L: FAIL (DEFEKT); die Zyklus-Schwellenwerte (Cycle thresholds, Cts) liegen nicht innerhalb des gültigen Bereichs und der Endpunkt liegt unterhalb des eingestellten Minimums. • Sondenprüfung: PASS (BEST.); alle Sondenprüfungsergebnisse waren erfolgreich.
ERROR (FEHLER) Siehe Abbildung 8.	Es kann nicht ermittelt werden, ob HCV-RNA vorhanden ist oder nicht. Wiederholen Sie den Test gemäß den Anweisungen in Abschnitt 16.2, Testwiederholung. <ul style="list-style-type: none"> • Sondenprüfung: FAIL (DEFEKT)*; ein oder alle Ergebnisse der Sondenprüfung waren nicht erfolgreich. <p>* Wenn die Sondenprüfung erfolgreich war, wurde der Fehler durch Überschreiten des maximalen Druckgrenzwerts oder den Ausfall einer Systemkomponente verursacht.</p>
NO RESULT (KEIN ERGEBNIS)	Es kann nicht ermittelt werden, ob HCV-RNA vorhanden ist oder nicht. Wiederholen Sie den Test gemäß den Anweisungen in Abschnitt 16.2, Testwiederholung. NO RESULT (KEIN ERGEBNIS) bedeutet, dass nicht genügend Daten erfasst wurden. Beispielsweise könnte der Bediener den Test abgebrochen haben, bevor er abgeschlossen war.

Hinweis

Die Assay-Bildschirmfotos dienen nur als Beispiel. Der Assay-Name und die Versionsnummer sind möglicherweise nicht dieselben wie in den Bildschirmfotos dieser Packungsbeilage.

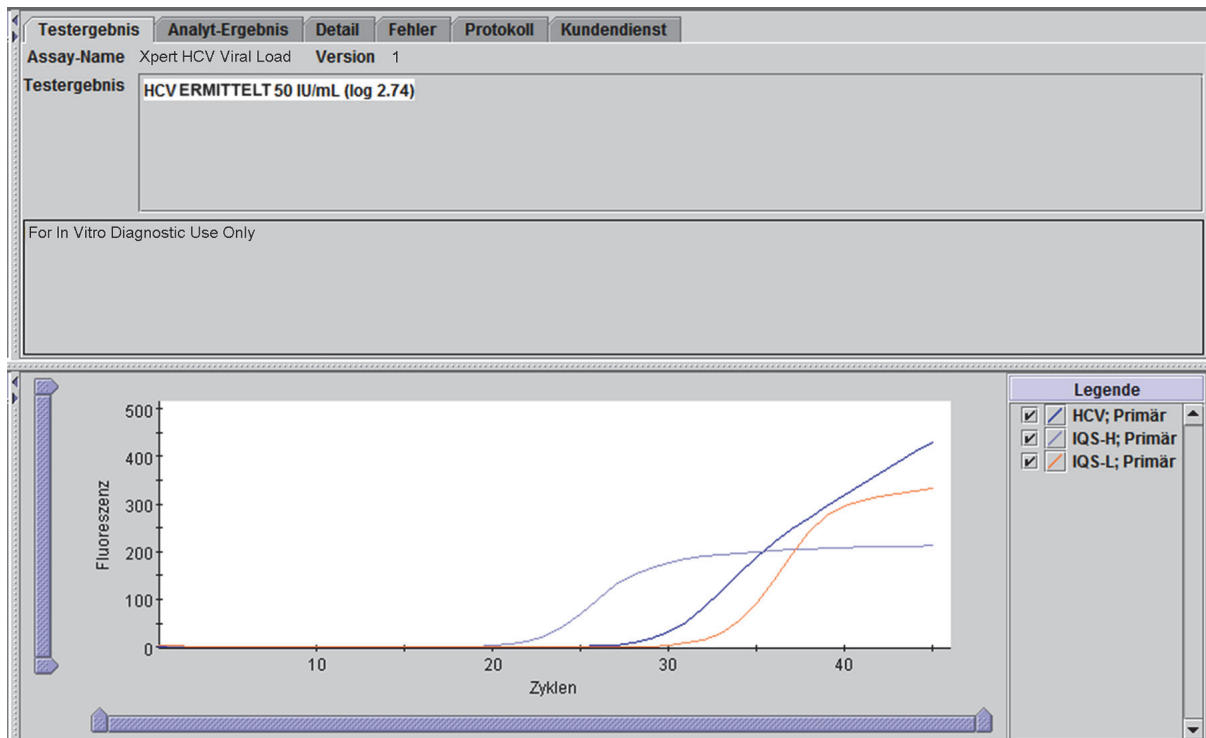


Abbildung 3. HCV festgestellt und quantifiziert

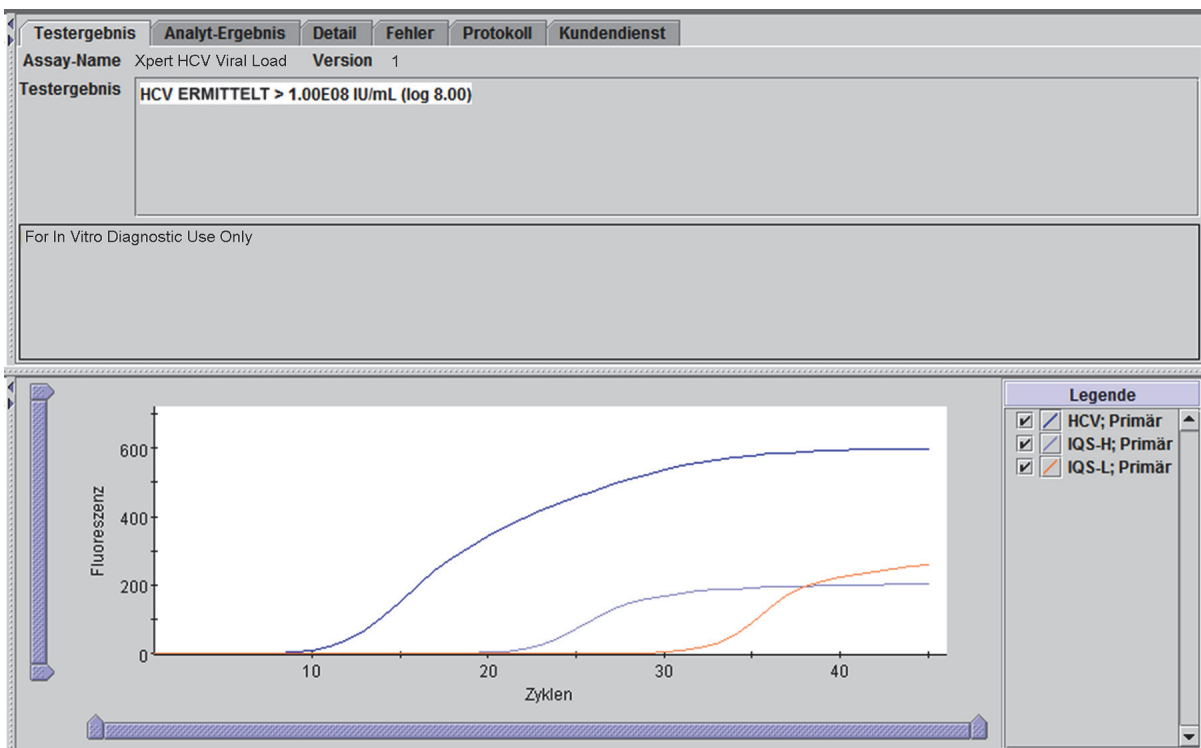


Abbildung 4. HCV festgestellt

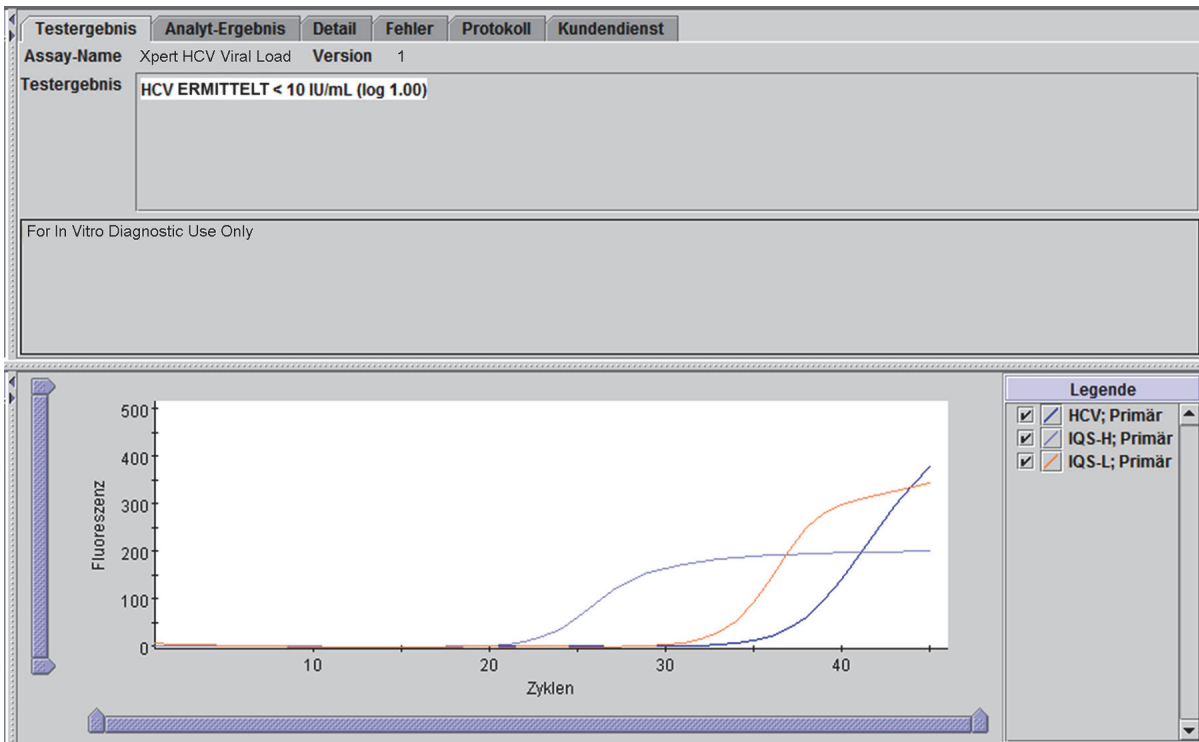


Abbildung 5. HCV festgestellt

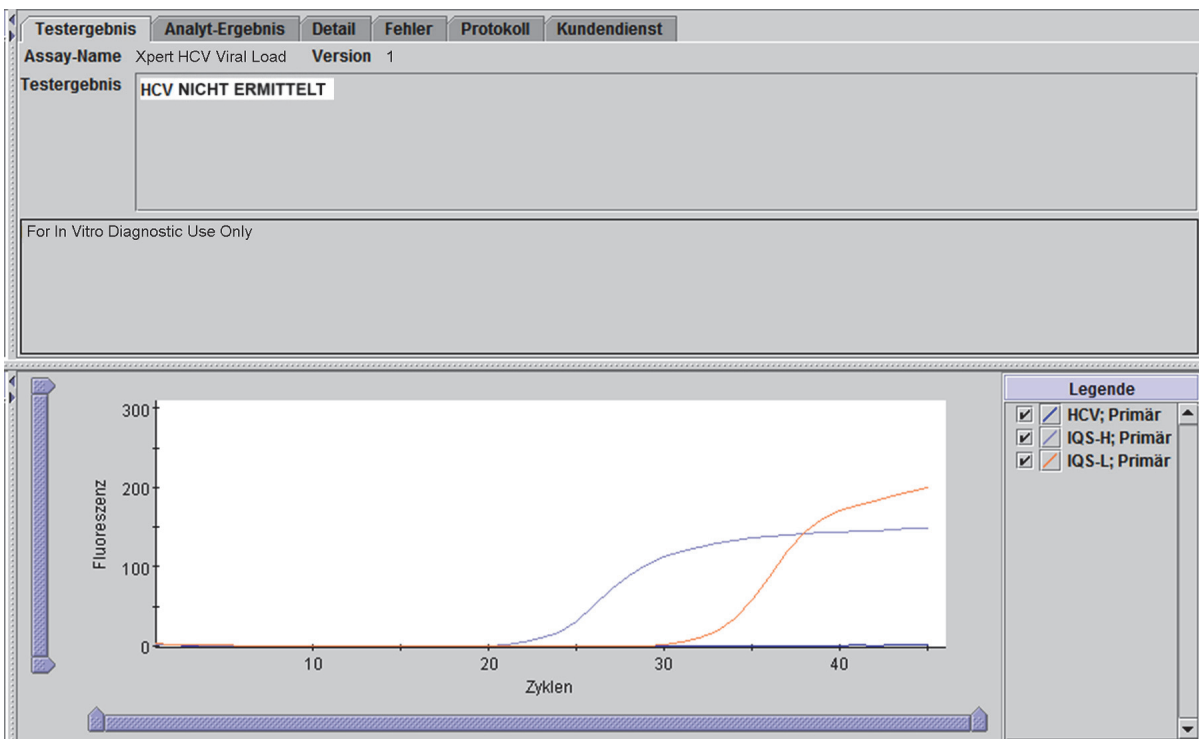


Abbildung 6. HCV nicht festgestellt

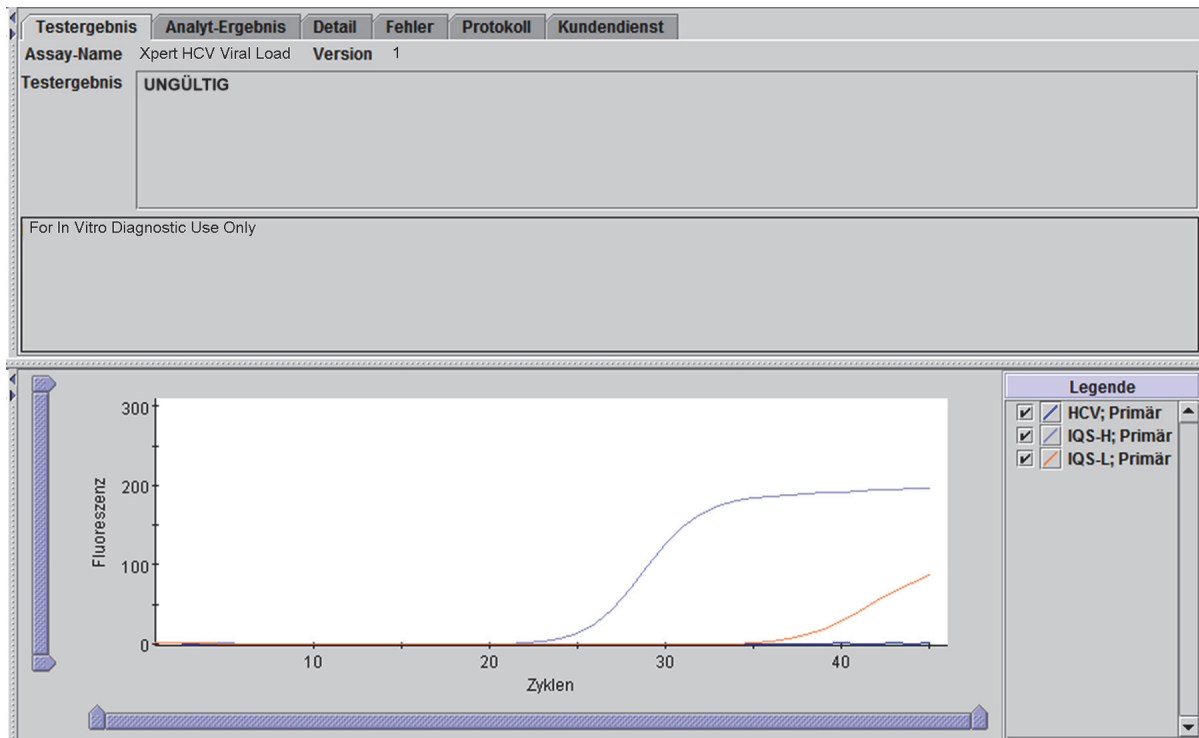


Abbildung 7. Ungültig

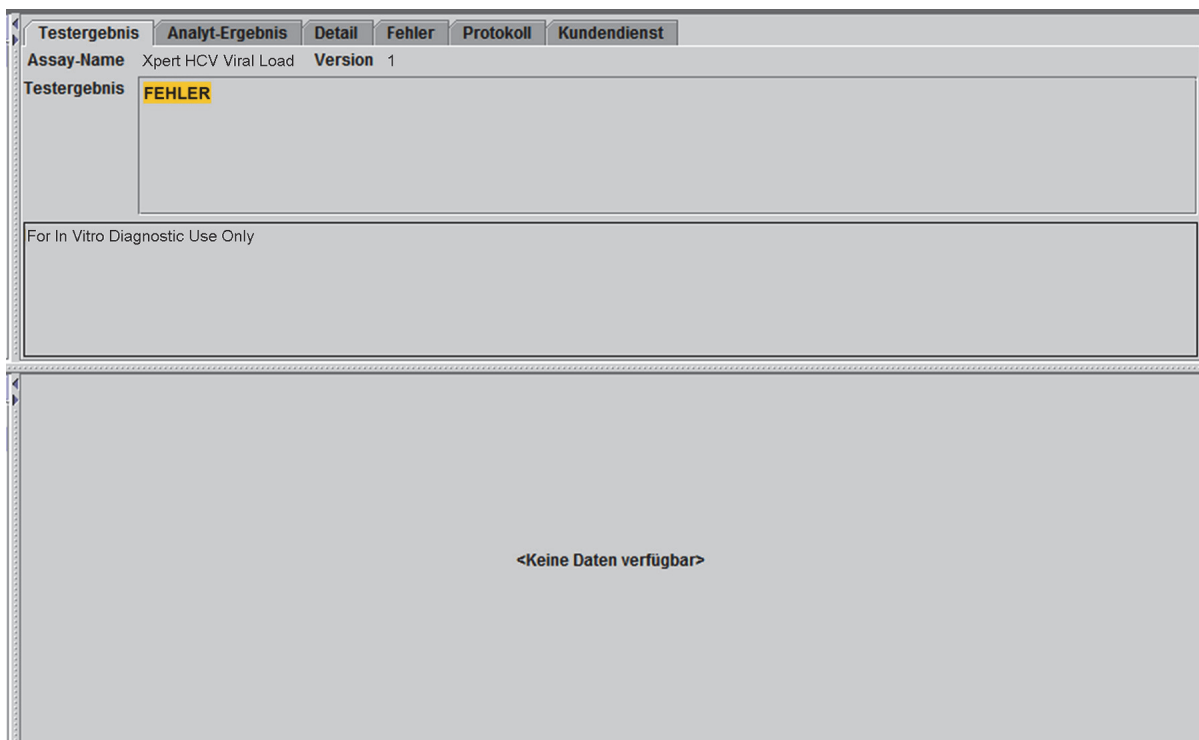


Abbildung 8. Fehler

16 Wiederholungstests

16.1 Gründe für eine Wiederholung des Assays

Falls eines der im Weiteren aufgeführten Ergebnisse erzielt wird, ist der Test gemäß den Anweisungen in Abschnitt 16.2, Testwiederholung, zu wiederholen.

- Für das Ergebnis **INVALID** (UNGÜLTIG) kann es einen oder mehrere der folgenden Gründe geben:
 - Die Zyklus-Schwellenwerte (Cts) von IQS-H und/oder IQS-L liegen nicht im gültigen Bereich.
 - Die Probe wurde nicht sachgemäß bearbeitet oder die PCR wurde gehemmt.
- Das Ergebnis **ERROR** (FEHLER) bedeutet, dass der Assay abgebrochen wurde. Mögliche Ursachen sind z. B.: Die eingefüllte Probenmenge war nicht ausreichend, das Reaktionsgefäß wurde unsachgemäß befüllt, es wurde ein Problem mit der Integrität der Reagenzsonde festgestellt oder das obere Drucklimit wurde überschritten.
- **NO RESULT** (KEIN ERGEBNIS) bedeutet, dass nicht genügend Daten erfasst wurden. Zum Beispiel hat der Benutzer einen laufenden Test abgebrochen oder es ist zu einem Stromausfall gekommen.

16.2 Testwiederholung

Wenn der Test wiederholt werden soll, weil das Ergebnis **NO RESULT** (KEIN ERGEBNIS), **INVALID** (UNGÜLTIG) oder **ERROR** (FEHLER) erhalten wurde, sind eine neue Kartusche und neue Reagenzien zu verwenden.

1. Nehmen Sie eine neue Kartusche aus dem Kit.
2. Siehe Abschnitt 12, Verfahren, einschließlich Abschnitt 12.1, Vorbereitung der Proben, Abschnitt 12.2, Vorbereitung der Kartusche und Abschnitt 12.3, Testbeginn.

17 Einschränkungen

Um eine Kontamination von Patientenproben zu vermeiden, werden die Einhaltung der Guten Laborpraxis ein und Handschuhwechsel nach jeder Patientenprobe empfohlen.

Mutationen oder Polymorphismen in Primer oder Sonden bindenden Regionen wirken sich eventuell auf den Nachweis von neuen oder unbekannt HCV-Varianten aus, sodass es zu falsch negativen Ergebnissen kommt.

18 Leistungsmerkmale

18.1 Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) des HCV VL Assays wurde ermittelt, indem acht verschiedene Verdünnungen aus einem HCV-Genotyp-1-Referenzstandard in HCV-negativem EDTA-Plasma und Serum angesetzt und getestet wurden. Bei dem in der LoD-Studie verwendeten Material des HCV-Genotyps 1 handelte es sich um den 4. Internationalen Standard der WHO, NIBSC-Code 06/102. Die Nachweisgrenze wurde für drei Reagenzchargen ermittelt, und insgesamt wurden 72 oder 73 Replikate jeder Konzentrationsstufe getestet. Nach dem ersten Testtag wurde für beide Probentypen eine zusätzliche niedrige Konzentrationsstufe hinzugefügt. Die Anzahl der getesteten Replikate war deshalb für diese Stufe niedriger (49 in Plasma und 53 in Serum). Die Auswertung erfolgt gemäß CLSI-Richtlinie E17-A2. Die HCV-RNA-Konzentration, die mit einer Positivitätsrate von mehr als 95% nachgewiesen werden kann, wurde mit einer Probit-Regressionsanalyse ermittelt; die Ergebnisse für die einzelnen Chargen und Proben sind in Tabelle 2 aufgeführt. Die höchste mittels Probit-Analyse beobachtete Nachweisgrenze für den HCV-Genotyp 1 in EDTA-Plasma beträgt 4,0 IE/mL (95%-KI 2,8–5,2). Die höchste mittels Probit-Analyse beobachtete Nachweisgrenze für den HCV-Genotyp 1 in Serum beträgt 6,1 IE/mL (95%-KI 4,2–7,9).

Tabelle 2. Geschätzte Nachweisgrenzen der HCV-Viruslast mit Probit-Regression und 95% oberem und unterem Konfidenzintervall für Proben mit HCV-Genotyp 1 in Plasma und Serum pro Kit-Charge

Patientenprobe	Charge	LoD 95% (IE/mL)	95%-KI (IE/mL)
WHO (Plasma)	1	3,3	2,4 - 4,2
	2	4,0	2,7 - 5,2
	3	4,0	2,8 - 5,2
WHO (Serum)	1	6,1	4,2 - 7,9
	2	2,6	1,9 - 3,3
	3	2,3	1,8 - 2,9

Die Analyse der Trefferquote ergibt eine Positivität von > 95% für das getestete Material mit HCV-Genotyp 1 bei 6 IE/mL, wie in Tabelle 3 zu sehen ist.

Tabelle 3. HCV VL LoD für HCV-Genotyp 1 in EDTA-Plasma und Serum

Patientenprobe	Konzentration (IE/mL)	Anzahl Replikate	Anzahl Positiv	Positivitätsrate (%)
WHO (Plasma)	0,5 ^a	49	24	49
	1	72	47	65
	2	72	61	85
	3	72	69	96
	4	72	67	93
	6	72	71	99
	8	73	73	100
	10	72	72	100
WHO (Serum)	0,5 ^a	53	21	40
	1	73	47	64
	2	73	64	88
	3	72	69	96
	4	73	71	97
	6	72	71	99
	8	72	70	97
	10	72	72	100

a. Aufgrund der hohen Positivitätsrate, die nach Tag 1 bei 1 IE/mL beobachtet wurde, wurde an Tag 2 0,5 IE/mL hinzugefügt

Zusätzlich wurden Verdünnungen von die HCV-Genotypen 1a, 2b, 3a, 4a, 5a und 6a repräsentierenden klinischen Proben in negativem humanem EDTA-Plasma mit einer Reagenzcharge und 24 Replikaten pro Konzentrationsstufe analysiert. Die Zuordnung der Nominalkonzentration der klinischen Proben wurde mit dem Abbott RealTime HCV™-Assay ermittelt. Die Analyse der Trefferquote ergibt eine Positivität von > 95% für alle Genotypen bei 10 IE/mL, wie in Tabelle 4 zu sehen ist. Die ermittelte Nachweisgrenze für den HCV VL Assay beträgt 10 IE/mL für die HCV-Genotypen 1–6 in EDTA-Plasma und Serum.

Tabelle 4. Trefferquoten-Analyse der HCV VL LoD für Proben mit HCV-Genotyp 1–6 in EDTA-Plasma

Genotyp	Unterste Konzentrationsstufe > 95% Trefferquote (IE/mL)	Trefferquote (%)
1a	10	100
2b	4	100
3a	6	100
4a	4	100
5a	2	96
6a	4	96

18.2 Quantifizierungsgrenze

Die Berechnung des analytischen Gesamtfehlers (Total Analytical Error, TAE) beruhte auf Schätzungen, die durch eine Analyse der aus der LoD-Studie (WHO-Standard) und der Präzisions-/Reproduzierbarkeitsstudie gemäß CLSI-Richtlinie E17-A2 gewonnenen Daten ermittelt worden waren. Der TAE für die Verdünnungen, deren gemessene Konzentration bei oder nahe der Nachweisgrenze des Assays (10 IE/mL [1,0 log₁₀]) lag, ist in Tabelle 5 aufgeführt. Der TAE wurde mit zwei verschiedenen Methoden berechnet.

Tabelle 5. HCV VL-TAE-Analyse zur Ermittlung der Quantifizierungsgrenze

Probe (Studie)	DL-Charge	N	Konzentration (Log ₁₀ IE/mL)		Abweichung	SA gesamt	TAE ^a Absolute Abweichung + 2 x SA	TAE ^b 2 x SQRT (2) x SA
			Erwartet	Gemessen				
Acrometrix (Präzision)	DL1	72	1,40	1,31	0,09	0,15	0,38	0,41
	DL2	72	1,40	1,29	0,11	0,14	0,40	0,41
	DL3	72	1,40	1,24	0,16	0,12	0,41	0,35
Acrometrix (Präzision)	DL1	72	1,00	0,92	0,08	0,22	0,52	0,62
	DL2	72	1,00	0,82	0,18	0,18	0,54	0,51
	DL3	72	1,00	0,75	0,25	0,19	0,63	0,54
WHO, Plasma (LoD)	DL1	24	1,00	0,91	0,09	0,21	0,51	0,59
	DL2	24	1,00	0,82	0,18	0,30	0,78	0,86
	DL3	24	1,00	0,86	0,14	0,17	0,48	0,48
WHO, Serum (LoD)	DL1	24	1,00	0,96	0,04	0,13	0,30	0,37
	DL2	24	1,00	0,88	0,12	0,23	0,58	0,66
	DL3	24	1,00	0,80	0,20	0,18	0,57	0,52

a. Berechnung des TAE nach dem Westgard-Modell in CLSI EP17-A2 (Abschnitt 6.2)

b. TAE basierend auf der Differenz zwischen zwei Messverfahren

Die Ergebnisse der TAE-Analyse zeigen, dass der HCV VL Assay 10 IE/mL (1,0 log₁₀) mit akzeptabler Richtigkeit und Präzision bestimmen kann.

18.3 Präzision/Reproduzierbarkeit

Die Präzision/Reproduzierbarkeit des HCV VL Assays wurde anhand einer Analyse von parallelen Verdünnungen von HCV-Referenzmaterial in HCV-negativem EDTA-Plasma ermittelt. Die Nominalkonzentration des benutzten Referenzmaterials wurde gegen den 4. Internationalen Standard der WHO für HCV (06/102) kalibriert. Die Studie war als verblindete Vergleichsstudie an zwei Zentren konzipiert, bei der ein aus sieben Proben bestehendes Panel von HCV-Referenzmaterial in HCV-negativem EDTA-Plasma bei RNA-Konzentrationen über den gesamten Quantifizierungsbereich des HCV VL Assays verwendet wurde. An jedem der zwei Studienzentren analysierten zwei Anwender an sechs Testtagen pro Charge einmal täglich ein Panel von einundzwanzig Proben. An einem Zentrum wurde ein Infinity-80-Instrument benutzt, während an dem anderen Zentrum GeneXpert Dx-Instrumente benutzt wurden. Für die Studie wurden drei Chargen von HCV VL Assay-Reagenzien verwendet. Die Beurteilung der Präzision/Reproduzierbarkeit erfolgte in Übereinstimmung mit der Richtlinie „Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline“, CLSI-Dokument EP5-A2. Die Präzisionsergebnisse für jede Reagenzcharge sind in Tabelle 6 aufgelistet.

Tabelle 6. HCV VL – Präzision pro Charge

Erwartete HCV-RNA-Konzentration log ₁₀ IE/mL	Gesamtpräzision pro Charge					
	Charge 1		Charge 2		Charge 3	
	SA	VK ^a	SA	VK ^a	SA	VK ^a
1,0	0,23	55,8%	0,18	44,2%	0,20	48,1%

Tabelle 6. HCV VL – Präzision pro Charge

Erwartete HCV-RNA-Konzentration log ₁₀ IE/mL	Gesamtpräzision pro Charge					
	Charge 1		Charge 2		Charge 3	
	SA	VK ^a	SA	VK ^a	SA	VK ^a
1,4	0,15	35,1%	0,15	35,8%	0,13	29,6%
2,7	0,09	20,7%	0,09	20,6%	0,09	20,2%
4,2	0,07	16,4%	0,08	18,9%	0,07	15,3%
5,4	0,12	28,3%	0,09	19,9%	0,07	16,2%
6,9	0,13	31,8%	0,09	20,9%	0,07	17,0%
8,2	0,10	22,7%	0,10	23,7%	0,08	17,8%

a. „VK“ ist der lognormale Variationskoeffizient, ermittelt mit der Gleichung:

$$CV \text{ (of the lognormal dist)} = \sqrt{10^{\ln(10) \cdot \sigma^2} - 1}$$

Reproduzierbarkeit und Präzision des HCV VL Assays wurden anhand einer geschachtelten ANOVA mit Termen für Zentrum/Instrument, Charge, Tag, Bediener/Durchlauf und Innerhalb eines Durchlaufs bewertet. Die Standardabweichung und der Prozentsatz der Variabilität aufgrund jeder Komponente der transformierten log₁₀-HCV-Konzentrationen wurden berechnet; siehe Tabelle 7.

Tabelle 7. Standardabweichung und zuordenbarer Prozentsatz der Variabilität für jeden Term sowie Gesamtpräzision

HCV-RNA-Konzentration Log ₁₀ IE/mL			Beitrag zur Gesamtvarianz-SA (VK%)									Gesamtpräzision				
Erwartet	Tatsächlich	N	Zentrum/ Inst.		Charge		Tag		Anwender/ Durchlauf		Innerhalb einer Testserie		Insgesamt			
			SA	(%) ^a	SA	(%) ^a	SA	(%) ^a	SA	(%) ^a	SA	(%) ^a	SA	Unteres KI	Oberes KI	VK ^b
1,0	0,83	216	0,03	1,8%	0,08	13,2%	0,04	3,5%	0,00	0,0%	0,19	81,6%	0,21	0,18	0,25	51,7%
1,4	1,28	216	0,00	0,0%	0,04	7,1%	0,00	0,0%	0,00	0,0%	0,14	92,9%	0,14	0,13	0,16	34,1%
2,7	2,66	216	0,00	0,0%	0,04	17,2%	0,00	0,0%	0,02	3,2%	0,08	79,5%	0,09	0,08	0,11	22,1%
4,2	4,18	215	0,00	0,0%	0,05	30,9%	0,01	2,6%	0,00	0,0%	0,07	66,5%	0,09	0,07	0,12	20,6%
5,4	5,44	216	0,00	0,0%	0,06	26,5%	0,00	0,0%	0,01	1,3%	0,09	72,2%	0,11	0,09	0,14	25,8%
6,9	6,86	216	0,00	0,0%	0,07	34,0%	0,02	3,4%	0,00	0,0%	0,10	62,5%	0,13	0,10	0,17	29,8%
8,2	8,11	216	0,00	0,0%	0,09	47,9%	0,00	0,0%	0,02	2,6%	0,09	49,5%	0,13	0,10	0,19	30,5%

a. (%) ist der Beitrag der Varianzkomponente zum lognormalen VK insgesamt

b. „VK“ ist der lognormale Variationskoeffizient, ermittelt mit der Gleichung:

$$CV \text{ (of the lognormal dist)} = \sqrt{10^{\ln(10) \cdot \sigma^2} - 1}$$

18.4 Linearer Bereich und Inklusivität

Der lineare Bereich des HCV VL Assays wurde anhand einer Analyse eines aus zwölf Proben bestehenden Panels ermittelt, das den Bereich von ~ 5 ($0,75 \log_{10}$) bis $\sim 1 \times 10^8$ ($8 \log_{10}$) IE/mL umfasste. Die Panels wurden anhand von parallelen Verdünnungen von HCV-Referenzmaterial (Armored RNA® Genotyp 1 und klinische Probe Genotyp 1) in HCV-negativem EDTA-Plasma und Serum angesetzt. Die Nominalkonzentration des benutzten Referenzmaterials wurde gegen den 4. Internationalen Standard der WHO für HCV (06/102) kalibriert. Jede Panelprobe wurde an drei Testtagen unter Verwendung von zwei Kitchargen in Vierfachbestimmung getestet. Insgesamt wurden 24 Replikate jeder Panelprobe und jedes Probenotyps getestet. Die Linearitätsanalyse erfolgte gemäß CLSI-Richtlinie EP06-A. Die kombinierten Ergebnisse für beide Chargen sind in Abbildung 9 und Abbildung 10 aufgeführt. Der HCV VL Assay ist linear in einem Bereich von 0,8–8,0 \log_{10} IE/mL mit einem R²-Wert von $> 0,997$.

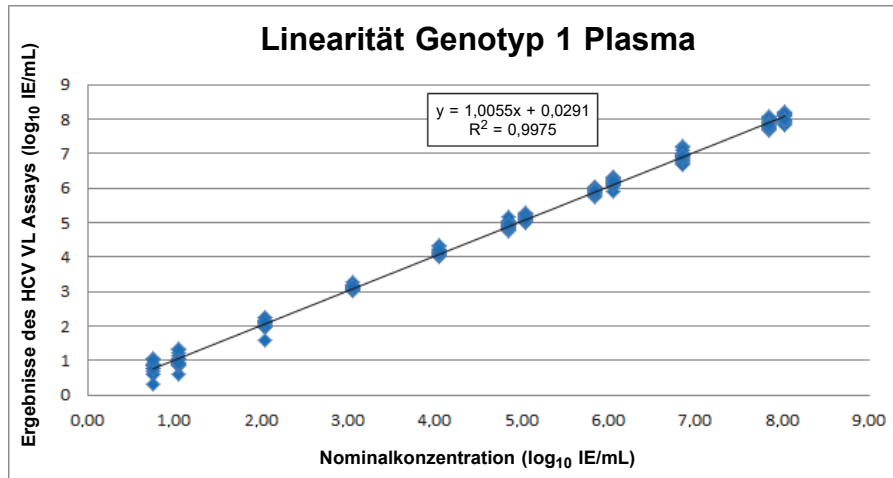


Abbildung 9. Linearität von Genotyp 1 in EDTA-Plasma für den HCV VL Assay

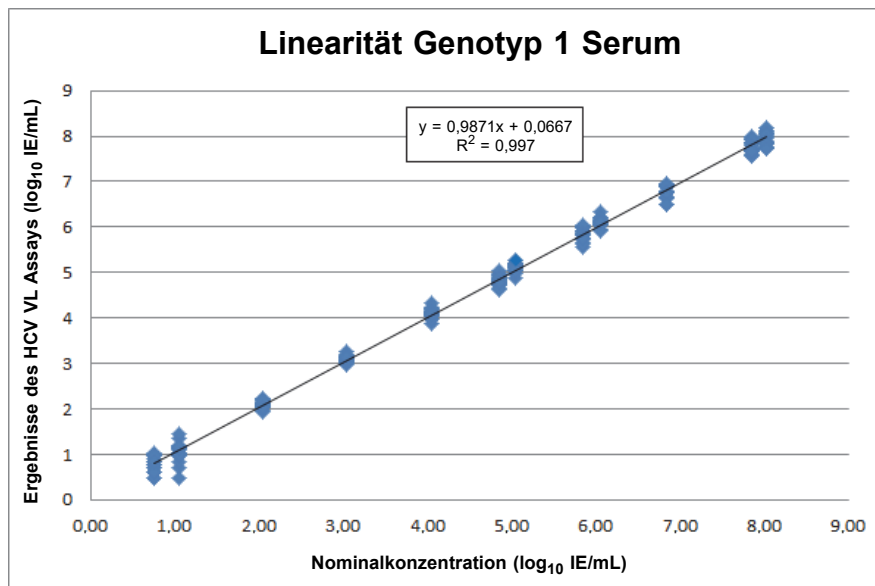


Abbildung 10. Linearität von Genotyp 1 in Serum für den HCV VL Assay

Zur Bestätigung des linearen Bereichs und Bewertung der Inklusivität des HCV VL Assays wurden Panels aus klinischen Proben, die die HCV-Genotypen 2–6 repräsentierten, und, sofern verfügbar, Armored RNA® (nur Genotypen 2 und 3) in negativem humanem EDTA-Plasma angesetzt. Es wurden 7–13 Panelproben pro Genotyp, die den größtmöglichen Bereich abdeckten und von $\sim 0,9$ – $6 \log_{10}$ IE/mL für Genotyp 5 bis $\sim 0,9$ – $8,3 \log_{10}$ für Genotyp 3 variierten, hergestellt und an drei Testtagen unter Verwendung von zwei Kitchargen in Vierfachbestimmung analysiert. Für jeden Genotyp wurden 24 Replikate jeder Panelprobe getestet. Die Nominalkonzentrationen der benutzten Referenzmaterialien wurden gegen den 4. Internationalen Standard der WHO für HCV (06/102) kalibriert. Alle Genotypen lieferten eine lineare Reaktion mit R^2 -Werten von 0,994 bis 0,998.

18.5 Analytische Spezifität (Exklusivität)

Zur Beurteilung der analytischen Spezifität des HCV VL Assays wurden potenziell kreuzreagierende Organismen in Eingangskonzentrationen von 1×10^5 KBE/mL, Kopien/mL oder TCID₅₀/mL in HCV-negatives EDTA-Plasma und in Plasma mit ~ 25 IE/mL HCV-Referenzmaterial (klinische Probe Genotyp 1) eingebracht. Die untersuchten Organismen sind in Tabelle 8 aufgeführt.

Tabelle 8. Organismen zur Beurteilung der analytischen Spezifität

Humanes Immundefizienzvirus 1
Humanes Immundefizienzvirus 2
Humanes T-Zell-lymphotropes Virus I
Humanes T-Zell-lymphotropes Virus II
<i>Candida albicans</i>
Cytomegalovirus
Epstein-Barr-Virus
Hepatitis-A-Virus
Hepatitis-B-Virus
Herpes-Simplex-Virus 1
Herpes-Simplex-Virus 2
Humanes Herpesvirus 6
Humanes Herpesvirus 8
Varicella-Zoster-Virus
Humanes Polyomavirus (BK-Virus)
Banji-Virus
Ilheus-Virus
West-Nil-Virus
Zika-Virus
Humanes Papillomvirus 16
Humanes Papillomvirus 18
<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>

Keiner der getesteten Organismen wies eine Kreuzreaktivität auf und alle positiven Replikate ergaben HCV-RNA-Konzentrationen innerhalb von $\pm 0,5$ log der HCV-Positivkontrolle beim Test mit dem HCV VL Assay. Zusätzlich zu den in Tabelle 8 aufgeführten Arten wurden Dengue-Virus und Vaccinia-Virus *in silico* analysiert, weil kein Material mit diesen Viren für die Tests erhältlich war. Es wurde keine in der Praxis signifikante Sequenzähnlichkeit zwischen den analysierten Viren und den Primern und Sonden des Xpert HCV VL Assays gefunden.

18.6 Potenzielle Störsubstanzen

Die Anfälligkeit des HCV VL Assays gegenüber Störungen durch erhöhte Konzentrationen von endogenen Substanzen, von Wirkstoffen, die bei HCV-Infizierten verschrieben werden, und von Autoimmunerkrankungs-Markern wurde bewertet. HCV-negatives EDTA-Plasma und Plasma mit ~25 IE/mL HCV-Referenzmaterial (klinische Probe Genotyp 1) wurden untersucht.

Erhöhte Konzentrationen der in Tabelle 9 aufgeführten endogenen Substanzen störten die Quantifizierung des HCV VL Assays nachweislich nicht und beeinflussten die Spezifität des Assays nachweislich nicht.

Tabelle 9. Endogene Substanzen und untersuchte Konzentration

Substanz	Untersuchte Konzentration
Albumin	9 g/dL
Bilirubin	20 mg/dL
Hämoglobin	500 mg/dL
Humane DNA	0,4 mg/dL
Triglyzeride	3000 mg/dL

Die in Tabelle 10 aufgeführten Wirkstoffe störten bei Testung beim Dreifachen der Spitzenkonzentration in fünf Wirkstoff-Pools die Quantifizierung des HCV VL Assays nachweislich nicht und beeinflussten die Spezifität des Assays nachweislich nicht.

Tabelle 10. Untersuchte Arzneimittel-Pools

Pool	Arzneimittel
Kontrolle	N. zutr.
1	Zidovudin, Saquinavir, Ritonavir, Interferon alfa-2b, Clarithromycin
2	Abacavirsulfat, Fosamprenavir-Calcium, Peginterferon 2b, Ribavirin
3	Tenofoviridisoproxilfumarat, Lamivudin, (3TC), Indinavirsulfat, Ganciclovir, Valganciclovir HCl, Acyclovir
4	Stavudin (d4T), Efavirenz, Lopinavir, Enfuvirtid (T-20), Ciprofloxacin
5	Nevirapin, Nelfinavirmesylat, Azithromycin, Valacyclovir HCl

Tests von Patientenproben von zehn Personen pro Autoimmunerkrankungs-Marker (systemischer Lupus erythematoses (SLE), antinukleärer Antikörper (ANA) oder Rheumafaktor (RF)) ergaben keine Störung mit dem HCV VL Assay.

18.7 Serokonversions-Sensitivität

Die Sensitivität des HCV VL Assays wurde durch Testung von aufeinanderfolgenden Plasmaproben aus zehn Serokonversions-Panels mit insgesamt 59 Panelproben bewertet. Jedes Serokonversions-Panel bestand aus unverdünnten Plasmaproben, die einem einzigen Spender während der Entwicklung einer HCV-Infektion und der anschließenden Immunantwort entnommen wurden. Der HCV VL Assay wies HCV-RNA in 51 von 57 getesteten Patientenproben mit gültigem Testergebnis nach. Im Vergleich dazu wurde in 21 der 59 getesteten Proben von mindestens einem der HCV-Antikörper-Tests (Abbott ARCHITECT HCV Ab, Abbott PRISM HCV Ab, Ortho® Ver. 3.0 ELISA HCV Ab, Ortho HCV 3.0 ELISA Testsystem mit Enhanced SAVE, Ortho Vitros Eci, Siemens ADIVA Centaur) HCV-RNA nachgewiesen. HCV-RNA wurde vom HCV VL Assay bei neun Serokonversions-Panels noch vor den Antikörper-Tests und bei einem Serokonversions-Panel gleichzeitig mit den Antikörper-Tests nachgewiesen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 11 aufgeführt.

Tabelle 11. Serokonversions-Sensitivität des HCV VL Assays

Panelnr.	Anz. Proben im Panel	Zeitraum in Tagen	Anz. der reaktiven Panelproben		Tage bis zum ersten reaktiven Ergebnis		Tage zwischen dem ersten reaktiven Ergebnis mit dem Xpert HCV VL und einem beliebigen Ak-Test
			Xpert HCV VL	Antikörper-(Ak-)Test ^a	Xpert HCV VL	Antikörper-(Ak-)Test ^a	
PHV913	4	9	4	2	0 ^b	7	7
PHV915	4	14	3 ^c	2	5 ^c	12	7
PHV920	9	35	9	7	0 ^b	13	13
PHV922	6	17	5 ^c	5	3 ^c	3	0
PHV924	6	88	6	3	0 ^b	59	59
PHV925	5	27	5	1	0 ^b	27	27
PHV926	5	14	5	1	0 ^b	14	14
PHV927	5	17	4	0	4	17 ^d	13
PHV928	9	50	7	0	29	50 ^d	21
PHV929	6	22	3	0	14	22 ^d	8

- a. Antikörper-Test anhand der Daten der Lieferanten: Abbott ARCHITECT HCV Ab, Abbott PRISM HCV Ab, Ortho Ver. 3.0 ELISA HCV Ab, Ortho Enhanced SAvE HCV Ab, Ortho Vitros Eci, Siemens ADIVA Centaur.
- b. Alle Blutentnahmen wurden mit dem Xpert HCV VL Assay getestet.
- c. Alle Testergebnisse mit dem Xpert HCV VL sind aufgeführt; die erste Panelprobe erbrachte ein ungültiges Testergebnis.
- d. Alle Blutentnahmen waren (nach Angaben des Lieferanten) nicht-reaktiv für HCV-Antikörper. Der Tag der letzten Blutentnahme wird für „Tage bis zum ersten reaktiven Ergebnis“ herangezogen.

18.8 Äquivalenz der Probenentnahmemedien (EDTA, PPT-EDTA und Serum)

Für jedes Probenentnahmemedium (EDTA, PPT-EDTA und Serum) wurden Proben von 50 gepaarten HCV-positiven Personen und 25 gepaarte HCV-negative Proben entnommen und mit einer Kitcharge des HCV VL Assays getestet.

Wie aus Abbildung 11 und Abbildung 12 hervorgeht, wurde die gleichwertige Leistung des HCV VL Assays für EDTA-Plasma gegenüber Serumproben sowie EDTA-Plasma gegenüber PPT-EDTA-Plasmaproben nachgewiesen. Alle in Serum oder PPT-EDTA entnommenen HCV-positiven Patientenproben ergaben HCV-RNA-Konzentrationen innerhalb von $\pm 0,5 \log_{10}$ IE/mL der in EDTA-Plasma entnommenen HCV-positiven Patientenprobe beim Test mit dem HCV VL Assay.

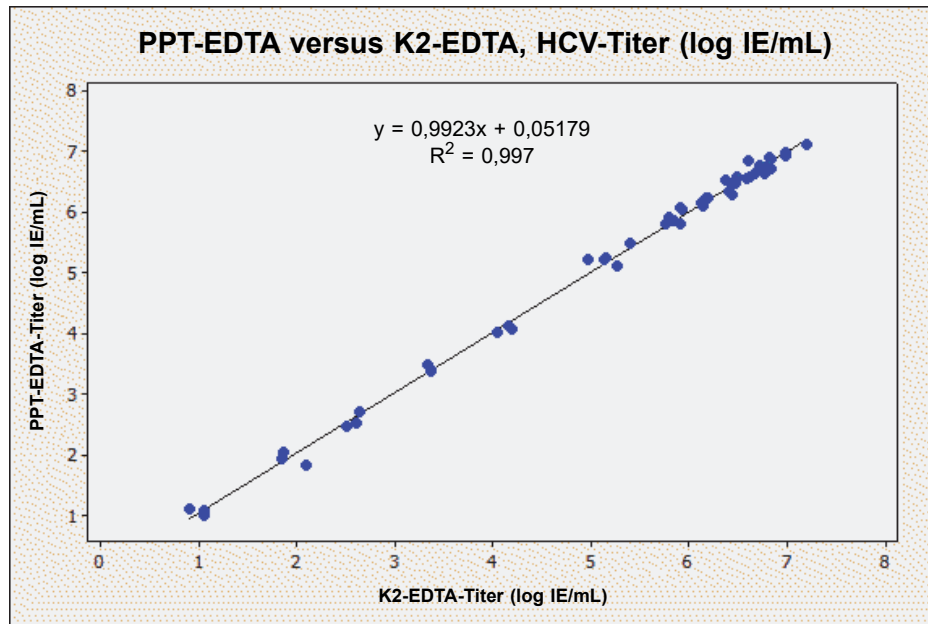


Abbildung 11. Streudiagramm von log IE/mL PPT-EDTA versus log IE/mL EDTA

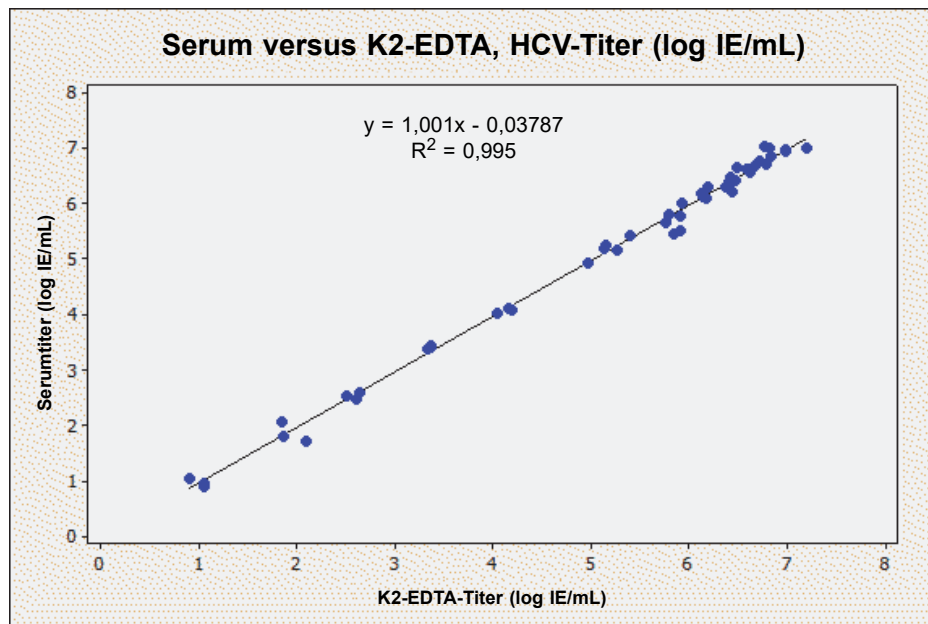


Abbildung 12. Streudiagramm von log IE/mL Serum versus log IE/mL EDTA-Plasma

19 Leistungsmerkmale – Klinische Leistung

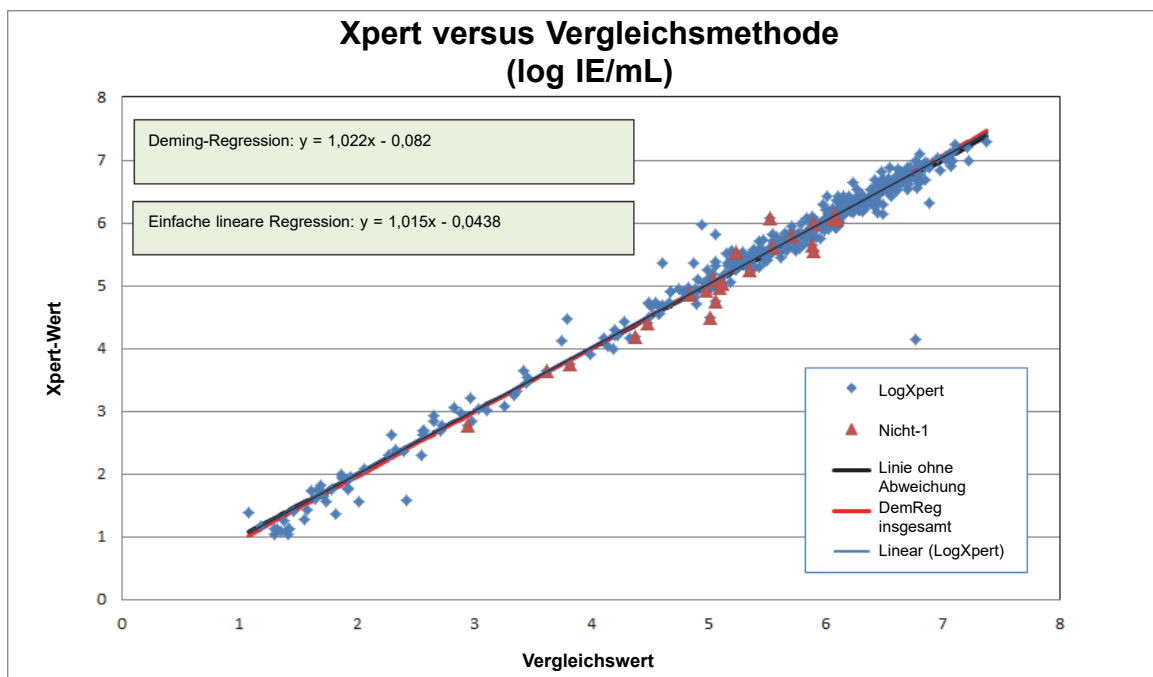
Spezifität

Die Spezifität des HCV VL Assays wurde anhand von 501 EDTA-Plasmaproben von HCV-negativen Blutspendern bewertet. HCV-RNA wurde in keiner der 501 mit dem Xpert HCV VL Assay getesteten Proben nachgewiesen, was einer Spezifität von 100% (95%-KI = 99,2–100,0) entspricht.

Methodenkorrelation

Um die Leistungsfähigkeit des HCV VL Assays relativ zu einer Vergleichsmethode zu bewerten, wurde eine Studie an mehreren Zentren unter Verwendung von frischen und gefrorenen humanen Plasma- bzw. Serumproben, die von HCV-Infizierten stammten, durchgeführt. Von den 607 akzeptablen Proben, die von 607 verschiedenen Personen entnommen worden waren, stammten 408 (67,2%) von Männern. Das durchschnittliche Alter betrug $50,2 \pm 13,2$ Jahre bei einem Altersbereich von 21 bis 86 Jahren.

Von den 607 Proben lagen 389 innerhalb des Quantifizierungsbereichs beider Assays, einschließlich 23 Proben mit anderem HCV-Genotyp als 1 (2, 2a, 2b, 2c, 3, 3a, 4 und 6) und einem gemischten Genotyp (HCV 1 und 6). Die Deming-Regression zeigt eine sehr gute Korrelation zwischen dem HCV VL und der Vergleichsmethode, mit einer Steigung von 1,022 und einem Achsenabschnitt von 0,082. Der R^2 -Wert betrug 0,986.



*Andere HCV-Genotypen als 1 sind als Dreiecke dargestellt. Ein einzelner Ausreißer wurde nicht in die Analyse aufgenommen.

Abbildung 13. Xpert versus Vergleichsmethode

20 Literaturverweise

1. Di Bisceglie AM. *Natural history of Hepatitis C: its impact on clinical management*. Hepatology 2000; 31:1014-1018.
2. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of Hepatitis C. Consensus Statement. J. Hepatology 2011; vol. 55:245-264.
3. Mohd Hanafiah K., Groeger J., Flaxman AD., Wiersma S.T *Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence*. Hepatology 2013; 57(4): 1333-1342.
4. Shepard CW, Finelli L, Alter MJ. *Global epidemiology of hepatitis C virus infection*. Lancet Infect Dis 2005; 5:558-67. doi:10.1016/S1473-3099(05)70216-4 PMID: 16122679.
5. Graham CS., Swan T. *A Path to Eradication of Hepatitis C in Low-and-Middle-Income Countries*. Antiviral Res. 2015 Jan 20; pii: S0166-3542(15)00005-4. doi: 10.1016/j.antiviral.2015.01.004. [Epub ahead of print].
6. Region H Press Release. The number of people living with HIV and hepatitis is on the rise in Europe, Oct 2014. <http://newsite.hiveurope.edu/>
7. Hepatitis C Fact Sheet No 164 Updated April 2014, accessed January 28, 2015 at <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/>
8. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, et al. *Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update*. Hepatology 2009;49 (4):1335-1374.
9. Centers for Disease Control and Prevention. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (refer to latest edition. <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections, Approved Guideline*. Document M29 (refer to latest edition).
11. 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)).
12. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

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 technischen Kundendienst von Cepheid kontaktieren:

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

















Kontaktdaten

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

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

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

23 Symbolerklärung

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



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden



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



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

