

# Xpert<sup>®</sup> HBV Viral Load

**REF** GXHBV-VL-CE-10

Gebrauchsanweisung

**CE** 2797 **IVD**

## **Marken-, Patent- und Urheberschutzangaben**

### **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.

**© 2018-2023 Cepheid.**

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.

**© 2018-2023 Cepheid.**

# Xpert<sup>®</sup> HBV Viral Load

---

Zur Verwendung als *In-vitro*-Diagnostikum.

## 1 Markenname

Xpert<sup>®</sup> HBV Viral Load

## 2 Gebräuchlicher oder üblicher Name

Xpert HBV VL

## 3 Verwendungszweck

Der Cepheid Xpert<sup>®</sup> HBV Viral Load (VL)-Test ist ein *In-vitro*-Test nach dem Prinzip der Nukleinsäureamplifikation (PCR-Test (NAAT)), der für die Quantifizierung von DNA des Hepatitis-B-Virus (HBV) in humanem Serum oder Plasma (EDTA) von chronisch HBV-Infizierten mithilfe der automatisierten GeneXpert<sup>®</sup>-Systeme vorgesehen ist.

Der Test ist für die Verwendung zusammen mit dem klinischen Erscheinungsbild und anderen Labormarkern für die Prognose der Erkrankung sowie für die Verwendung als Hilfsmittel zur Beurteilung der Virusantwort auf die Behandlung mit antiretroviralen Wirkstoffen anhand der Änderung der HBV-DNA-Konzentration im Plasma oder Serum bestimmt.

Der Test ist weder für die Verwendung als Screeningtest von Spendern auf HBV noch als Diagnostiktest zur Bestätigung einer Infektion mit HBV bestimmt.

## 4 Zusammenfassung und Erklärung

Hepatitis-B-Virus (HBV) ist ein kleines, behülltes DNA-Virus aus der Familie Hepadnaviridae und ist der Auslöser der akuten und chronischen HBV-Hepatitis. Das Virus weist ein kleines, zirkuläres DNA-Genom auf, das zum Teil doppelsträngig und zum Teil einzelsträngig ist und einen Durchmesser von 42 nm hat. HBV enthält zahlreiche Antigenkomponenten, darunter Hepatitis-B-Surface-Antigen (HBsAg), Hepatitis-B-Core-Antigen (HBcAg) und Hepatitis-B-e-Antigen (HBeAg). HBV wird durch perkutanen Kontakt oder Schleimhautkontakt mit dem Blut oder mit Körperflüssigkeiten einer infizierten Person, von der infizierten Mutter auf das Neugeborene, durch engen Kontakt im Haushalt, durch nicht gescreente Bluttransfusionen oder unsichere Injektionen in medizinischen Einrichtungen, durch intravenösen Drogenkonsum und durch Sexualkontakt mit einer infizierten Person übertragen.

Chronische Hepatitis B (CHB) kann als Hepatitis-B-e-Antigen(HBeAg)-positive oder HBeAg-negative CHB auftreten. Die altersspezifische HBsAg-Seroprävalenz weist je nach geografischer Region erhebliche Unterschiede auf, wobei die höchste Prävalenz (>5 %) in Afrika südlich der Sahara, Ostasien, bestimmten Balkanregionen, auf den Pazifikinseln und im Amazonasbecken Südamerikas anzutreffen ist. In Regionen wie Mittelamerika, Nordamerika und Westeuropa liegt die Prävalenz unter 2 %. Insgesamt lebt beinahe die Hälfte der Weltbevölkerung in Regionen mit hoher Endemizität.<sup>1</sup> Morbidität und Mortalität von CHB stehen mit der Persistenz der Virusreplikation und der Weiterentwicklung zur Zirrhose und/oder zum hepatozellulären Karzinom (HCC) in Verbindung.<sup>2</sup> Die Mortalität durch virale Hepatitis hat im Verlauf der Zeit zugenommen und wird weiter steigen, falls die Betroffenen keine Diagnose und Behandlung erhalten.<sup>3</sup>

Ein HBV-Impfstoff für Säuglinge steht zur Verfügung und hat die Anzahl neuer chronischer Infektionen erheblich gesenkt, die Abdeckung beträgt aber nur 39 %.<sup>3</sup> 2015 lebten 3,5 % der Weltbevölkerung mit einer chronischen HBV-Infektion, wobei der westliche Pazifikraum und Regionen in Afrika am schwersten betroffen waren.<sup>3</sup> Nur 9 % der HBV-Betroffenen war ihre Diagnose bekannt und von den Betroffenen mit einer Diagnose erhielten nur 8 % eine Therapie.<sup>3</sup> Nukleosid- und Nukleotidanaloga wie z. B. Tenofovir und Entecavir werden für Personen empfohlen, die für eine Therapie infrage kommen, da diese Virostatika die HBV-Replikation wirksam unterdrücken und so eine Progression zur Zirrhose vermeiden und leberbedingte Todesfälle reduzieren.<sup>1</sup> Die HBV-Therapie muss lebenslang fortgesetzt werden.<sup>1</sup>

## 5 Verfahrensprinzip

Der Xpert® HBV VL-Test ist ein automatisierter Test zum quantitativen Nachweis des Hepatitis-B-Virus. Der Test wird auf den Cepheid GeneXpert- und GeneXpert Infinity-Instrumentensystemen durchgeführt.

Die GeneXpert-Instrumentensysteme automatisieren und integrieren Probenreinigung, Nukleinsäureamplifikation und Nachweis der Zielsequenz in einfachen oder komplexen Proben mithilfe von Echtzeit-PCR. Die Systeme bestehen aus einem Instrument, einem Computer und einer vorinstallierten Software zur Durchführung der Tests und zum Anzeigen der Ergebnisse. Die Systeme sehen die Verwendung von GeneXpert-Einwegkartuschen vor, die die PCR-Reagenzien enthalten und in denen der Reinigungs- und PCR-Prozess abläuft. 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* bzw. *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Infinity*.

Der Xpert® HBV VL-Test enthält Reagenzien für den Nachweis von HBV-DNA in Proben sowie zwei interne Kontrollen, die zur Quantifizierung von HBV-DNA dienen. Die internen Kontrollen werden darüber hinaus zur Kontrolle der korrekten Bearbeitung der Zielsequenz und Überwachung auf Hemmsubstanzen in der PCR-Reaktion eingesetzt. Mit der Sondenprüfungskontrolle (Probe Check Control, PCC) werden die Rehydrierung der Reagenzien, die Befüllung des PCR-Gefäßes in der Kartusche, die Unversehrtheit der Sonden und die Farbstoffstabilität überprüft.

Der Test wurde anhand des 4. internationalen HBV-DNA-Standards der Weltgesundheitsorganisation (World Health Organization, WHO) für Nukleinsäureamplifikations-Technologien (NIBSC-Code: 10/266)<sup>4</sup> kalibriert.

## 6 Reagenzien und Instrumente

### 6.1 Enthaltene Materialien

Das HBV VL Test-Kit enthält ausreichend Reagenzien zur Bearbeitung von 10 Patienten- und/oder Qualitätskontroll-Proben. Das Kit enthält die folgenden Materialien:

<b>HBV VL-Kartuschen mit integrierten Reaktionsbehältern</b>	<b>10</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kügelchen 1, Kügelchen 2 und Kügelchen 3 (gefriergetrocknet)</li> <li>• Lysereagenz (Guanidinthiocyanat)</li> <li>• Spülreagenz</li> <li>• Elutionsreagenz</li> <li>• Bindungsreagenz</li> <li>• Proteinase-K-Reagenz</li> </ul>	Je 1 pro Kartusche 1,7 ml pro Kartusche 0,5 ml pro Kartusche 1,5 ml pro Kartusche 1,5 ml pro Kartusche 0,48 ml pro Kartusche
<b>Einweg-Transferpipetten (1 ml)</b>	<b>10 pro Kit</b>
<b>CD</b>	<b>1 pro Kit</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Assay-Definitionsdatei (ADF)</li> <li>• Anweisungen zum Importieren der ADF in die GeneXpert- und Infinity-Software</li> <li>• Gebrauchsanweisung (Packungsbeilage)</li> </ul>	

#### Anmerkung

Sicherheitsdatenblätter (Safety Data Sheets, SDB) sind auf den Webseiten [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) oder [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com) unter dem Register **SUPPORT** erhältlich.

#### Anmerkung

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.

## 7 Aufbewahrung und Handhabung

- Die Xpert® HBV VL-Kartuschen bei 2–35 °C bis zum auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum aufbewahren.
- Die Kartuschen vor der Verwendung auf Raumtemperatur kommen lassen, wenn sie gekühlt aufbewahrt wurden.

- Keine Kartuschen mit abgelaufenem Verfallsdatum verwenden.
- Die Kartuschen erst dann öffnen, wenn die Testdurchführung unmittelbar bevorsteht.
- Keine auslaufenden Kartuschen verwenden.

## 8 Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

- GeneXpert® Dx-Instrumentensystem oder GeneXpert® Infinity-Instrumentensystem (Bestellnummer variiert abhängig von der Konfiguration): GeneXpert-Instrument, Computer mit spezieller GeneXpert-Software, Version 4.7b oder höher (GeneXpert Dx-Systeme) oder Xpertise 6.4b oder höher (Infinity-80/Infinity-48s), Barcodescanner und entsprechendes Benutzerhandbuch für das GeneXpert-Instrumentensystem.
- Drucker: Falls ein Drucker benötigt wird, wenden Sie sich bitte an den technischen Kundendienst von Cepheid, um einen empfohlenen Drucker zu erwerben.
- Bleichmittel bzw. Natriumhypochlorit
- Denaturiertes Ethanol

## 9 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

### 9.1 Allgemeines

- Zum Gebrauch als *In-vitro*-Diagnostikum.
- Alle biologischen Proben 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 Proben sind von den U.S. Centers for Disease Control and Prevention<sup>5</sup> und dem Clinical and Laboratory Standards Institute erhältlich.<sup>6</sup>
- Um eine Kontamination der Proben oder Reagenzien zu vermeiden, werden die Einhaltung der Guten Laborpraxis und Handschuhwechsel nach Handhabung jeder Probe empfohlen.
- Die Sicherheitsvorkehrungen der jeweiligen Einrichtung für den Umgang mit Chemikalien und biologischen Proben sind zu befolgen.
- Keine Xpert HBV VL-Test-Reagenzien durch andere Reagenzien ersetzen.
- Den Deckel der Xpert HBV VL-Test-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 Deckels geschüttelt oder fallen gelassen wird, sind die Ergebnisse möglicherweise ungültig.
- Kartuschen mit beschädigtem Reaktionsbehälter dürfen nicht verwendet werden.
- Das Barcode-Etikett auf der Kartusche nicht verdecken.
- Für die Zugabe der Probe zur Kartusche entweder eine Transferpipette oder eine Präzisionspipette verwenden. Die Probe darf nicht direkt aus dem Probenentnahmeprodukt in die Kartusche gegossen werden.
- Jede Xpert HBV VL-Kartusche dient zur Durchführung eines einzigen Tests (Einwegartikel). Kartuschen dürfen nicht wiederverwendet werden.
- Jede Einwegpipette dient zum Transfer nur einer Probe. Verwenden Sie Einwegpipetten nicht wieder.
- 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 einer frisch angesetzten 0,5%igen Natriumhypochloritlösung (oder 1:10 verdünnter haushaltsüblicher Chlorbleiche) gründlich reinigen. Die Oberfläche anschließend mit 70%igem Ethanol nachwischen. Die Arbeitsoberflächen vollständig trocken lassen, bevor fortgefahren wird.
- Biologische Proben, Transfervorrichtungen und gebrauchte Kartuschen sind als infektiös anzusehen und mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen zu handhaben. Bezüglich der angemessenen Entsorgung gebrauchter Kartuschen und nicht verwendeter Reagenzien sind die Umweltschutzvorschriften der jeweiligen Einrichtung einzuhalten. 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 der WHO (Weltgesundheitsorganisation) zur Handhabung und Entsorgung von medizinischen Abfällen entsorgt werden.<sup>7</sup>

## 10 Chemische Gefahren<sup>8,9</sup>

### Lysereagenz (Guanidinthiocyanat)

- Signalwort: ACHTUNG
- **UN-GHS-Gefahrenhinweise**
  - Gesundheitsschädlich bei Verschlucken
  - Verursacht leichte Hautreizungen
  - Verursacht Augenreizungen
- **UN-GHS-Sicherheitshinweise**
  - **Prävention**
    - Nach Gebrauch gründlich waschen.
  - **Reaktion**
    - 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.

## 11 Entnahme, Transport und Aufbewahrung der Proben

Vollblut sollte in K<sub>2</sub>-EDTA-Röhrchen, PPT-EDTA- oder Serum-Entnahmeröhrchen entnommen und anschließend zur Trennung von Plasma/Serum und roten Blutkörperchen entsprechend den Anweisungen des jeweiligen Herstellers zentrifugiert werden.

- Für den Xpert HBV VL-Test ist eine Mindestmenge von 0,6 ml Plasma bzw. Serum erforderlich. Wenn die im Kit enthaltene Transferpipette verwendet wird, muss die Pipette bis zur vierten Markierung (1,0 ml) mit Plasma bzw. Serum gefüllt werden. Alternativ ist bei Verwendung einer Präzisionspipette eine Mindestmenge von 0,6 ml Plasma bzw. Serum erforderlich. Siehe Anweisungen in Abschnitt 12.2, Option 1 bzw. Option 2.
- Vollblut kann vor der Plasma- bzw. Serumvorbereitung bei 2–35 °C bis zu 24 Stunden oder bei 2–8 °C bis zu 3 Tage lang aufbewahrt werden. Das Zentrifugieren sollte gemäß den Anweisungen des Herstellers erfolgen.
- Nach dem Zentrifugieren und Trennen können Plasma und Serum vor der Testung bei 2–35 °C bis zu 24 Stunden oder bei 2–8 °C bis zu 7 Tage lang aufbewahrt werden.
- Plasma- und Serumproben sind im gefrorenen Zustand (-80 bis -20 °C) 6 Wochen lang stabil.
- Plasma- und Serumproben sind bis zu drei Einfrier- und Auftauzyklen stabil.
- Plasma- und Serumproben müssen vor dem Transfer in die Kartusche aufgetaut und auf Raumtemperatur äquilibriert werden.
- Beim Transport von Vollblut-, Plasma- oder Serumproben müssen die Vorschriften des jeweiligen Landes, Bundes, Bundesstaates und Standortes für den Transport von Krankheitserregern eingehalten werden.

## 12 Verfahren

### 12.1 Vorbereitung der Probe

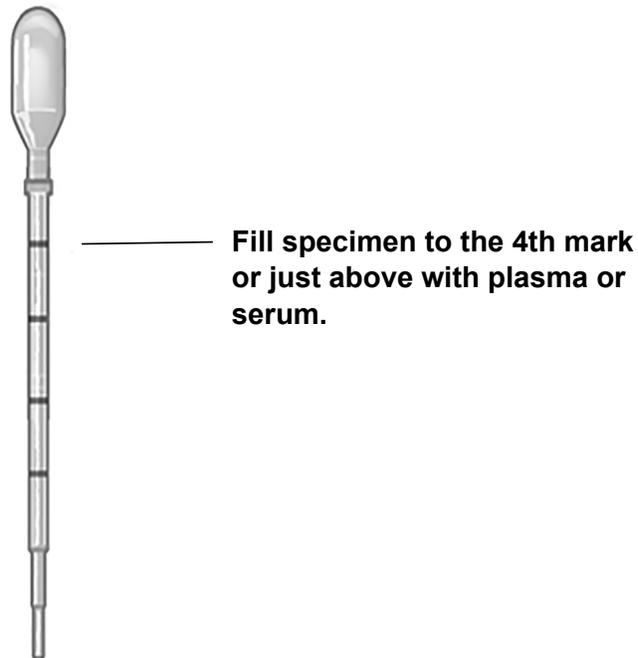
**Anmerkung** Der Test muss innerhalb von 4 Stunden nach Zugabe der Probe in die Kartusche begonnen werden.

1. Nach dem Zentrifugieren von Vollblutproben kann Plasma direkt in die Kartusche pipettiert werden. Ein ausreichendes Volumen ist entscheidend für gültige Testergebnisse (siehe Anweisungen in Abschnitt 12.2. Vorbereitung der Kartusche).
2. Wenn gefrorene Proben verwendet werden, diese vor Gebrauch bei Raumtemperatur (20–35 °C) bis zum vollständigen Auftauen stehen lassen und auf Raumtemperatur äquilibrieren.
3. Bei 2–8 °C aufbewahrte Plasmaproben sollten vor Gebrauch aus dem Kühlschrank genommen und auf Raumtemperatur äquilibriert werden.
4. Bei 2–8 °C oder gefroren aufbewahrte und dann aufgetaute Plasmaproben sollten vor Gebrauch 10 Sekunden lang im Vortexer gemischt werden. Trübe Proben durch kurzes Zentrifugieren klären.

## 12.2 Vorbereitung der Kartusche

1. Einweg-Schutzhandschuhe tragen.
2. Die Kartuschen vor der Verwendung auf Raumtemperatur kommen lassen, wenn sie gekühlt aufbewahrt wurden.
3. Die Kartusche auf Beschädigungen überprüfen. Falls die Kartusche beschädigt ist, darf sie nicht verwendet werden.
4. Die Kartusche mit der Probenidentifikation beschriften.
5. Den Kartuschendeckel öffnen.
6. Probe in die Kartusche geben
  - **Option 1:** Wenn die im Kit enthaltene Transferringpipette verwendet wird (siehe Abbildung 1), die Pipette bis zur vierten Markierung (1,0 ml) oder etwas darüber hinaus mit Plasma bzw. Serum aus dem Entnahmeröhrchen füllen. Den Inhalt der Pipette in die Probenkammer der Kartusche füllen (siehe Abbildung 2).
  - **Option 2:** Wenn eine Präzisionspipette verwendet wird, 0,6 ml Plasma bzw. Serum aus dem Entnahmeröhrchen in die Probenkammer der Kartusche transferieren (siehe Abbildung 2).

**Anmerkung** Die dünne Plastikfolie, die den inneren Ring mit 13 Öffnungen der Kartusche bedeckt, nicht entfernen.



**Abbildung 1. Transferringpipette für den Xpert HBV VL-Test**

7. Den Kartuschendeckel schließen. Sicherstellen, dass der Deckel fest eingerastet ist.



Abbildung 2. Xpert HBV VL-Kartusche (Draufsicht)

## 12.3 Testbeginn

### Wichtig

Bevor der Test gestartet wird, ist sicherzustellen, dass die Assay-Definitionsdatei (ADF) für den Xpert HBV VL-Test in die Software importiert wurde.

In diesem Abschnitt werden die grundlegenden Schritte der Testdurchführung beschrieben. Detaillierte Anweisungen finden Sie im *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Dx System* oder im *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Infinity System*, je nachdem, welches Instrument Sie verwenden.

### Anmerkung

Die zu befolgenden Schritte können unterschiedlich sein, falls der Standard-Workflow des Systems vom Systemadministrator geändert wurde.

1. Schalten Sie das GeneXpert-Instrumentensystem ein:
  - Schalten Sie bei Verwendung des GeneXpert Dx-Instruments zuerst das GeneXpert Dx-Instrument und dann den Computer ein. Die GeneXpert Dx-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 fahren Sie das Instrument hoch. Die GeneXpert-Software startet automatisch; eventuell müssen Sie sie durch Doppelklicken des Verknüpfungssymbols für die Xpertise-Software auf dem Windows®-Desktop starten.
2. Melden Sie sich mit Ihrem Benutzernamen und Kennwort bei der Software des GeneXpert-Instrumentensystems an.
3. Klicken Sie im Fenster des GeneXpert Systems auf **Test erstellen (Create Test)** (GeneXpert Dx) bzw. **Anforderungen (Orders)** und **Test anfordern (Order Test)** (Infinity). Das Fenster **Test erstellen (Create Test)** erscheint.
4. Scannen Sie die Patienten-ID (Patient ID) ein (optional). Vermeiden Sie Tippfehler beim Eintippen der Patienten-ID (Patient ID). Die Patienten-ID (Patient ID) wird auf der linken Seite des Fensters „Ergebnisse anzeigen“ (View Results) angezeigt und wird mit den Testergebnissen verknüpft.
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) wird auf der linken Seite des Fensters „Ergebnisse anzeigen“ (View Results) angezeigt und wird mit den Testergebnissen verknüpft.
6. Den Barcode der Xpert HBV VL-Testkartusche einscannen. Anhand der über den Barcode erhaltenen Informationen werden die folgenden Felder automatisch ausgefüllt: „Chargen-ID“ (Reagent Lot ID), „Kartuschen-Seriennr.“ (Cartridge SN) und „Verfallsdatum“ (Expiration Date).

### Anmerkung

Falls sich der Barcode auf der Xpert HBV VL-Kartusche nicht einscannen lässt, den Test mit einer neuen Kartusche wiederholen.

7. Auf **Test starten (Start Test)** (GeneXpert Dx) bzw. **Einreichen (Submit)** (Infinity) klicken. Tippen Sie Ihr Kennwort in das angezeigte Dialogfeld.

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:

- Öffnen Sie die Klappe des Instrumentenmoduls mit der grün blinkenden Leuchte und laden Sie die Kartusche.
- Schließen Sie die Klappe. Der Test beginnt und die grüne Leuchte hört auf zu blinken. Wenn der Test abgeschlossen ist, erlischt die Leuchte.
- Warten Sie ab, bis das System die Klappenverriegelung freigibt. Öffnen Sie anschließend die Modulklappe und entnehmen Sie die Kartusche.
- Verbrauchte Kartuschen müssen entsprechend den üblichen Praktiken Ihrer Einrichtung in einem geeigneten Proben-Abfallbehälter entsorgt werden.

## 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.

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

## 14 Qualitätskontrolle

Jeder Test enthält eine Kontrolle für ausreichendes Probenvolumen (Sample Volume Adequacy, SVA), einen hohen und niedrigen internen quantitativen Standard (Internal Quantitative Standard High und Low, IQS-H und IQS-L), chargenspezifische Parameter (Lot Specific Parameters, LSP) sowie eine Sondenprüfungskontrolle (Probe Check Control, PCC).

- Ausreichendes Probenvolumen (Sample Volume Adequacy, SVA)** – Stellt sicher, dass die Probe korrekt in die Kartusche gefüllt wurde. Die SVA überprüft, ob das korrekte Volumen der Probe in die Probenkammer gegeben wurde. Die SVA ist erfolgreich, wenn sie die validierten Akzeptanzkriterien erfüllt. Falls SVA fehlschlägt, wird entweder **Fehler 2096** (Error 2096) angezeigt, wenn keine Probe in die Kartusche gegeben wurde, oder **Fehler 2097** (ERROR 2097), wenn nicht genügend Probe in die Kartusche gegeben wurde. Das System lässt nicht zu, dass der Benutzer den Test fortsetzt.
- Hoher und niedriger interner quantitativer Standard (IQS-H und IQS-L)** – IQS-H und IQS-L sind zwei linearisierte Plasmide mit einer nicht mit HBV verwandten Sequenz, die in jeder Kartusche enthalten sind und das gesamte Testverfahren durchlaufen. Anhand dieser Standards wird die HBV-DNA-Konzentration in der Probe berechnet. Zusätzlich weisen IQS-H und IQS-L eine probenbedingte Hemmung des Echtzeit-PCR-Assays nach und fungieren so als Probenbearbeitungskontrollen. IQS-H und IQS-L sind erfolgreich, wenn sie die validierten Akzeptanzkriterien erfüllen.
- Chargenspezifische Parameter (Lot Specific Parameters, LSP) zur Quantifizierung** – Jede Kit-Charge weist integrierte LSP auf, die aus einem HBV-Kalibrierungspanel, das auf den 4. internationalen HBV-Standard der WHO (NIBSC-Code: 10/266)<sup>4</sup> rückführbar ist, sowie IQS-H und IQS-L erstellt werden. Die LSP sind für die Reagenziencharge eindeutig und dienen dazu, die korrekte Quantifizierung zu gewährleisten.
- Sondenprüfungskontrolle (PCC)** – 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 PCC gilt als erfolgreich bestanden, wenn die Fluoreszenzsignale die validierten Akzeptanzkriterien erfüllen.
- Externe Kontrollen** – Gemäß der Guten Laborpraxis sollten externe Kontrollen, die nicht zum Kit gehören, gemäß den lokal und bundesstaatlich geltenden Anforderungen von Akkreditierungsorganisationen verwendet werden.

## 15 Interpretation der Ergebnisse

Die Ergebnisse werden automatisch von dem GeneXpert-Instrumentensystem aus den gemessenen Fluoreszenzsignalen und den eingebetteten Berechnungsalgorithmen berechnet und im Fenster „Ergebnisse anzeigen“ (View Results) angezeigt (siehe Abbildung 3 bis Abbildung 8). Die möglichen Ergebnisse zeigt Tabelle 1.

Tabelle 1. Xpert HBV VL-Test – Ergebnisse und Interpretation

Ergebnis	Interpretation
<b>HBV NACHGEWIESEN IU/ml (log X,XX) (HBV DETECTED IU/mL (log X,XX))</b> Siehe Abbildung 3.	HBV-DNA wurde mit XX IU/ml (log X,XX) nachgewiesen. <ul style="list-style-type: none"> <li>Die HBV-DNA weist einen Titer im quantitativen Bereich des Tests (10–1,00E09 IU/ml) auf.</li> <li>IQS-H und IQS-L: BEST. (PASS).</li> <li>Sondenprüfung – BEST. (PASS); alle Sondenprüfungsergebnisse waren erfolgreich.</li> </ul>
<b>HBV NACHGEWIESEN &gt;1,00E09 IU/ml (HBV DETECTED &gt;1.00E09 IU/mL)</b> Siehe Abbildung 4.	HBV-DNA wurde oberhalb des quantitativen Bereichs des Tests nachgewiesen. <ul style="list-style-type: none"> <li>IQS-H und IQS-L: BEST. (PASS).</li> <li>Sondenprüfung – BEST. (PASS); alle Sondenprüfungsergebnisse waren erfolgreich.</li> </ul>
<b>HBV NACHGEWIESEN &lt;10 IU/ml (HBV DETECTED &lt;10 IU/mL)</b> Siehe Abbildung 5.	HBV-DNA wurde unterhalb des quantitativen Bereichs des Tests nachgewiesen. <ul style="list-style-type: none"> <li>IQS-H und IQS-L: BEST. (PASS).</li> <li>Sondenprüfung – BEST. (PASS); alle Sondenprüfungsergebnisse waren erfolgreich.</li> </ul>
<b>HBV NICHT NACHGEWIESEN (HBV NOT DETECTED)</b> Siehe Abbildung 6.	HBV-DNA wurde nicht nachgewiesen. <ul style="list-style-type: none"> <li>IQS-H und IQS-L: BEST. (PASS).</li> <li>Sondenprüfung – BEST. (PASS); alle Sondenprüfungsergebnisse waren erfolgreich.</li> </ul>
<b>UNGÜLTIG (INVALID)</b> Siehe Abbildung 7.	An- oder Abwesenheit von HBV-DNA kann nicht bestimmt werden. Wiederholen Sie den Test gemäß den Anweisungen in Abschnitt 16.2. Testwiederholung. <ul style="list-style-type: none"> <li>IQS-H und/oder IQS-L: DEFEKT (FAIL); die Werte der Schwellenwert-Zyklen (Cycle threshold, Ct) liegen nicht innerhalb des gültigen Bereichs.</li> <li>Sondenprüfung – BEST. (PASS); alle Sondenprüfungsergebnisse waren erfolgreich.</li> </ul>
<b>FEHLER (ERROR)</b> Siehe Abbildung 8.	An- oder Abwesenheit von HBV-DNA kann nicht bestimmt werden. Wiederholen Sie den Test gemäß den Anweisungen in Abschnitt 16.2. Testwiederholung. <ul style="list-style-type: none"> <li>Sondenprüfung – DEFEKT (FAIL)*; alle Sondenprüfungsergebnisse sind bzw. ein Sondenprüfungsergebnis ist fehlgeschlagen.</li> </ul> <p>* Wenn die Sondenprüfung bestanden wurde, wurde der Fehler durch Überschreiten des maximalen Druckgrenzwerts oder den Ausfall einer Systemkomponente verursacht.</p>
<b>KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)</b>	An- oder Abwesenheit von HBV-DNA kann nicht bestimmt werden. Wiederholen Sie den Test gemäß den Anweisungen in Abschnitt 16.2. Testwiederholung. <b>KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)</b> bedeutet, dass nicht genügend Daten erfasst wurden. Beispielsweise könnte der Benutzer den Test abgebrochen haben, bevor er abgeschlossen war.

**Anmerkung**

Die Test-Bildschirmabbildungen sind nur Muster. Die Versionsnummer kann von den Bildschirmabbildungen in dieser Gebrauchsanweisung abweichen.

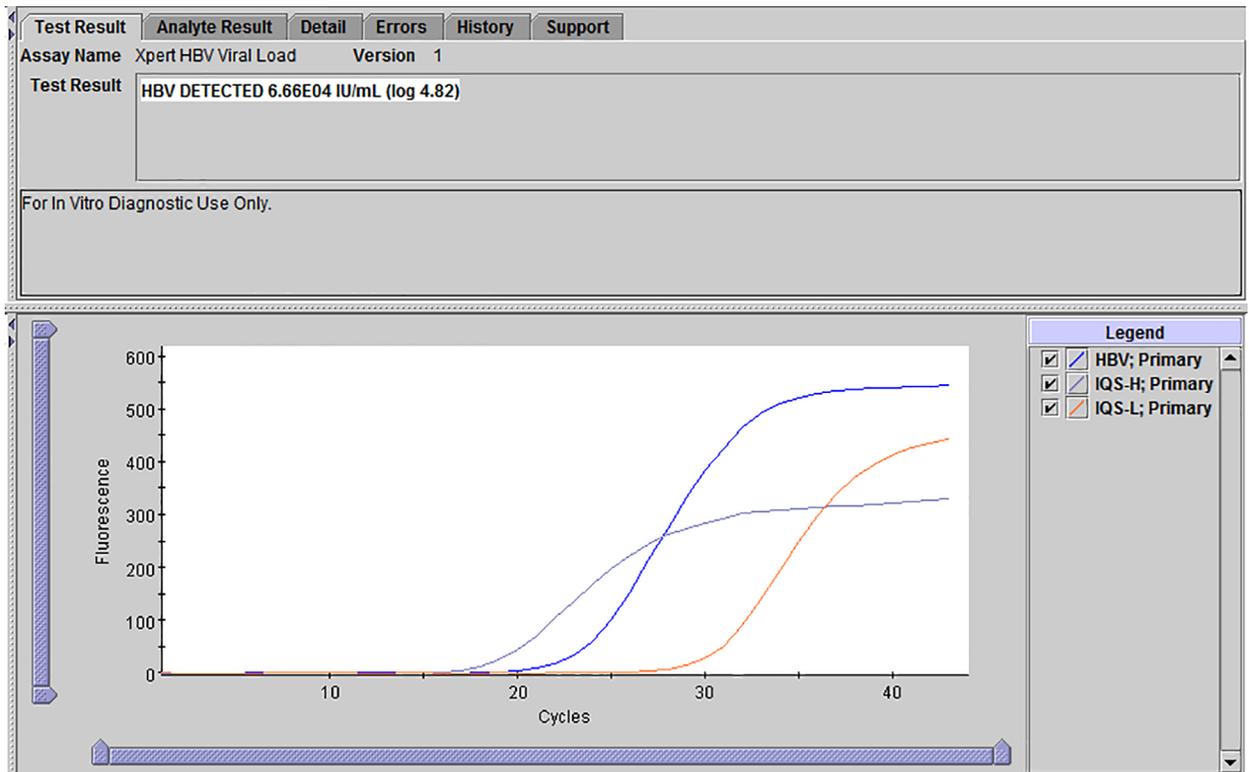


Abbildung 3. Ergebnis: HBV nachgewiesen und quantifiziert

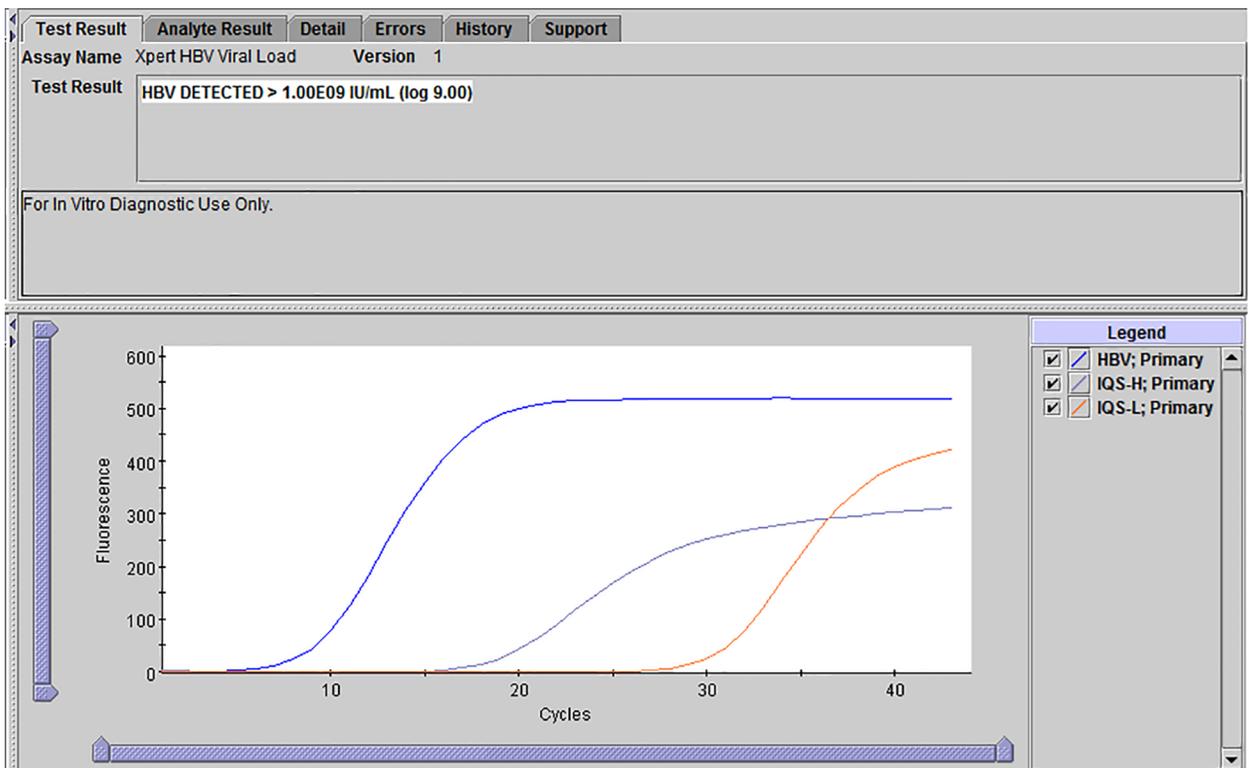


Abbildung 4. Ergebnis: HBV nachgewiesen, jedoch bei einem Titer, der über dem quantitativen Bereich des Tests liegt

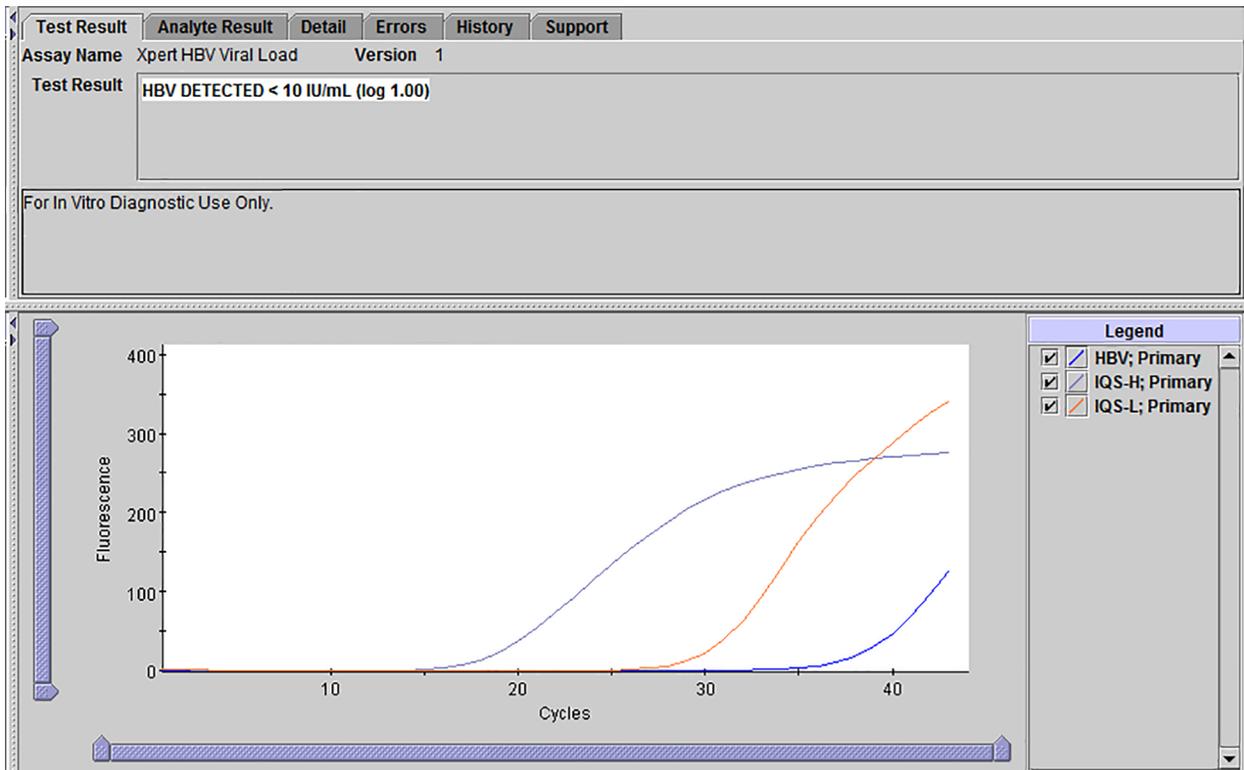


Abbildung 5. Ergebnis: HBV nachgewiesen, jedoch bei einem Titer, der unter dem quantitativen Bereich des Tests liegt

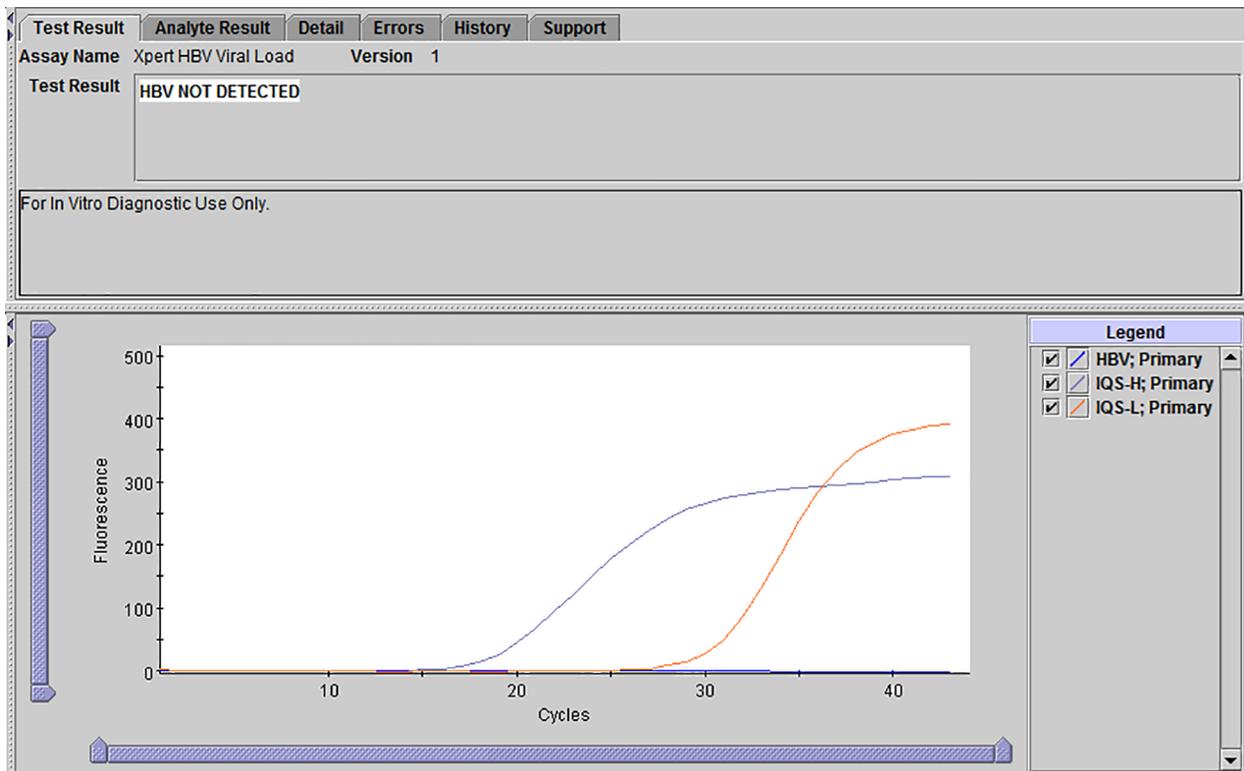


Abbildung 6. Ergebnis: HBV nicht nachgewiesen

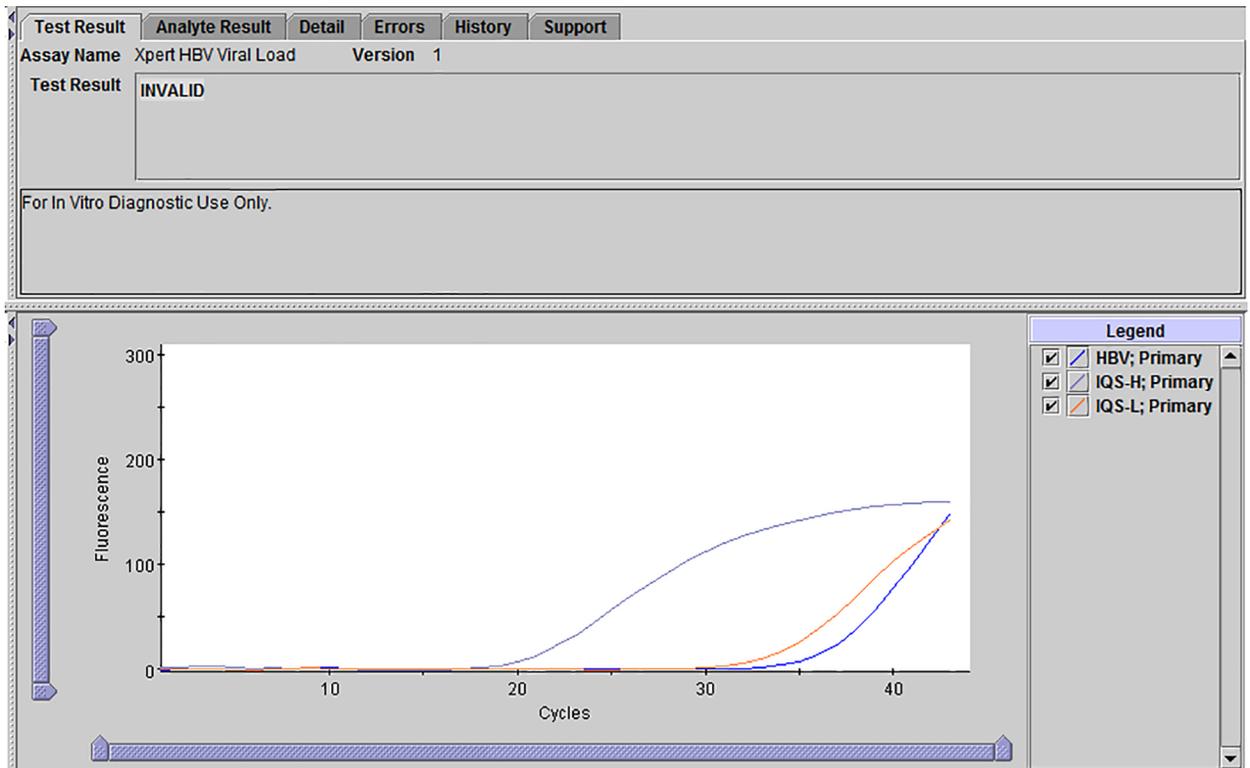


Abbildung 7. Ergebnis: Ungültiges Ergebnis

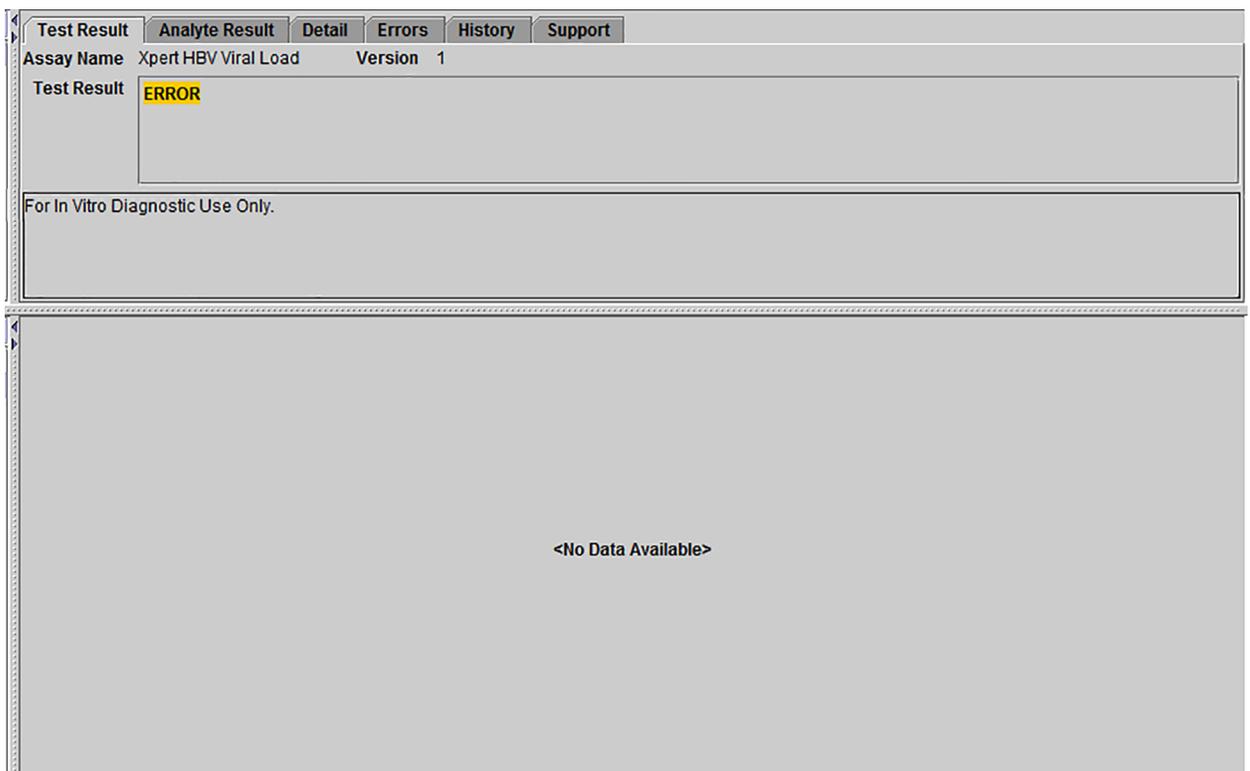


Abbildung 8. Ergebnis: Fehler

## 16 Wiederholungstests

### 16.1 Gründe für eine Testwiederholung

Falls es zu einem der nachstehend genannten Testergebnisse kommt, ist der Test gemäß den Anweisungen in Abschnitt 16.2. Testwiederholung zu wiederholen.

- Für das Ergebnis **UNGÜLTIG (INVALID)** kann es einen oder mehrere der folgenden Gründe geben:
  - Die Ct-Werte für IQS-H und/oder IQS-L liegen nicht innerhalb des gültigen Bereichs.
  - Die Probe wurde nicht sachgemäß bearbeitet oder die PCR wurde gehemmt.
- Das Ergebnis **FEHLER (ERROR)** bedeutet, dass der Test abgebrochen wurde. Mögliche Gründe hierfür sind: Es wurde nicht genügend Probe zugegeben, der Reaktionsbehälter wurde unsachgemäß befüllt, es wurde ein Problem mit der Integrität der Reagenziensonde festgestellt oder der Grenzwert für den Maximaldruck wurde überschritten.
- **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.

### 16.2 Testwiederholung

Wenn das Ergebnis eines Tests **UNGÜLTIG (INVALID)**, **FEHLER (ERROR)** oder **KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)** lautet, testen Sie die betroffene Probe erneut mit einer neuen Kartusche (verwenden Sie die alte Kartusche nicht nochmals).

1. Nehmen Sie eine neue Kartusche aus dem Kit.
2. Befolgen Sie die Schritte in Abschnitt 12. Verfahren, einschließlich Abschnitt 12.2. Vorbereitung der Kartusche und Abschnitt 12.3. Testbeginn.

## 17 Einschränkungen

- Um eine Kontamination von Proben oder Reagenzien zu vermeiden, werden die Einhaltung der Guten Laborpraxis und Handschuhwechsel nach jeder Probe empfohlen.
- Selten auftretende Mutationen in der Zielregion des Xpert HBV VL-Tests beeinträchtigen eventuell die Bindung der Primer oder Sonden, was dazu führt, dass das Virus zu niedrig quantifiziert oder nicht nachgewiesen wird.
- Dieser Test wurde nur für die Verwendung mit Serum und EDTA-Plasma validiert. Die Testung anderer Probenotypen kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Ein negatives Testergebnis schließt eine HBV-Infektion nicht aus. Daher darf der Xpert HBV VL-Test nicht als Diagnosetest zur Bestätigung des Vorliegens einer HBV-Infektion verwendet werden.

## 18 Leistungsmerkmale

### 18.1 Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze (Limit of Detection, LOD) des HBV VL-Assays wurde für den HBV-Genotyp A anhand von Tests mit Reihenverdünnungen des 4. internationalen HBV-DNA-Standards der WHO ermittelt (NIBSC-Code 10/266)<sup>4</sup>, der in HBV-negativem EDTA-Plasma und Serum verdünnt wurde. Panels aus sechs Konzentrationsstufen und einer negativen Probe wurden mit vier (für EDTA-Plasma-Panels) bzw. drei Reagenzienchargen (für Serum-Panels) getestet. Jede Panelprobe wurde über drei Tage mit 24 Replikaten pro Reagenziencharge getestet. Insgesamt wurden 96 Replikate pro Plasma-Panelprobe und 72 Replikate pro Serum-Panelprobe getestet.

Die Ergebnisse für EDTA-Plasma und Serum gehen aus Tabelle 2 hervor. Die Studie belegte, dass der HBV VL-Assay HBV-DNA für den internationalen Standard der WHO bei einer Konzentration von 3,20 IU/ml in EDTA-Plasma und einer Konzentration von 5,99 IU/ml in Serum mit einer Positivitätsrate von 95 % gemäß PROBIT-Regression nachweisen konnte.

**Tabelle 2. Nachweisgrenze für den Xpert HBV VL-  
Assay mit dem 4. internationalen HBV-Standard der WHO**

Genotyp	Matrix	Nenn-HBV-Konzentration (IU/ml)	Anzahl der gültigen Replikate	Anzahl der positiven Proben	Positivitätsrate (%)	95%-LOD mittels PROBIT-Analyse (95%-Konfidenzintervall)
A	Plasma	10	95	95	100	3,20 IU/ml (2,79–3,60 IU/ml)
		5	96	94	98	
		2,5	96	82	85	
		1,25	96	62	65	
		0,625	96	41	43	
		0	96	0	0	
A	Serum	10	72	70	97	5,99 IU/ml (5,13–6,86 IU/ml)
		5	72	63	88	
		2,5	72	58	81	
		1,25	72	37	51	
		0,625	71	15	21	
		0	72	0	0	

Die Nachweisgrenze für die HBV-Genotypen B bis H wurde anhand von Tests von aus sechs oder sieben Proben bestehenden Panels ermittelt, die durch Zusatz von HBV-positiven Proben für jeden Genotyp (Genotypen B bis G aus dem internationalen Referenzpanel der WHO, PEI-Code: 5086/08, sowie eine klinische Probe für Genotyp H) zu HBV-negativem EDTA-Plasma angesetzt wurden. Jede Panelprobe wurde über drei Tage mit drei Reagenzienchargen getestet, was insgesamt 24 Replikate pro Panelprobe ergab. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 aufgeführt.

**Tabelle 3. Nachweisgrenze für HBV-Genotypen B bis H in EDTA-Plasma**

Genotyp	95%-LOD mittels PROBIT-Analyse (IU/ml)	95%-Konfidenzintervall (IU/ml)
B	1,34	0,98–1,69
C	1,63	1,23–2,03
D	3,96	3,01–4,92
E	3,77	2,76–4,78
F	2,39	1,82–2,96
G	1,21	0,95–1,47
H	3,84	2,91–4,77

Die Nachweisgrenze für HBV-Genotypen B bis H in Serum wurde gemäß CLSI EP17-A2<sup>10</sup> mithilfe von 24 Replikaten verifiziert. Dabei wurde eine höhere Konzentration getestet, falls keine Positivitätsrate von >85 % erzielt wurde. Ergebnisse siehe Tabelle 4.

Tabelle 4. Verifizierung der LOD für Genotypen B bis H in Serum

Genotyp	Nenn-HBV-Konzentration (IU/ml)	Positivitätsrate (%)
B	1,34	88
C	3,25	96
D	3,96	96
E	3,77	96
F	2,39	92
G	1,21	88
H	3,84	100

Die Leistung des HBV VL-Assays wurde außerdem anhand eines Virus mit Precore-Mutation bewertet, indem eine sequenzierte klinische HBV-Probe mit den beiden Precore-Mutationen (C1858T und G1896A) und den beiden Basalcore-Promoter-Mutationen (A1762T und G1764A), die in EDTA-Plasma und Serum auf eine Konzentration von 10 IU/ml verdünnt wurde, mit einer Reagenziencharge getestet wurde. Für jedes der 24 getesteten Replikate in beiden Matrices wurde eine Positivitätsrate von 100 % erzielt.

## 18.2 Untere Quantifizierungsgrenze (LLOQ)

Die untere Quantifizierungsgrenze (Lower Limit of Quantitation, LLOQ) ist definiert als die niedrigste Konzentration von HBV-DNA, die mit akzeptabler Genauigkeit und Richtigkeit quantifiziert werden kann, und wird anhand des Gesamtanalysefehlers (Total Analytical Error, TAE) sowie einem Ansatz auf Grundlage der Differenz zwischen zwei Messungen ermittelt. Die LLOQ wurde anhand von vier unabhängigen Proben, die für die HBV-Genotypen A bis D standen, in EDTA-Plasma nahe der Nachweisgrenze des Tests bewertet. Jede Probe wurde mithilfe von vier Reagenzienchargen und in 8 bis 24 Replikaten pro Charge getestet. Der TAE wurde nach dem Westgard-Modell gemäß CLSI-Richtlinie EP17-A2<sup>10</sup> mit dem Kriterium  $[(\text{Absolute Verzerrung}) + 2 \text{ SA} \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}]$  geschätzt. Der Ansatz zur Differenz zwischen zwei Messungen wurde nach dem Kriterium  $[(2 \times \sqrt{2} \times \text{SA}) \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}]$  bewertet.

Die LLOQ-Analysen für alle Proben gehen aus Tabelle 5 hervor.

Tabelle 5. Ermittlung der LLOQ für den Xpert HBV VL-Test

HBV-Genotyp	Charge	N	HBV-Konzentration ( $\log_{10}$ IU/ml)		Verzerrung	SA insgesamt	Gesamtanalysefehler <sup>a</sup>	Ansatz mit zwei Messungen <sup>b</sup>
			Erwartet	Beobachtet				
A	1	24	1,00	1,02	0,02	0,20	0,42	0,57
	2	24	1,00	1,05	0,05	0,16	0,37	0,45
	3	24	1,00	0,94	-0,06	0,20	0,46	0,57
	4	23	1,00	1,02	0,02	0,14	0,30	0,40
B	1	16	1,00	1,18	0,18	0,11	0,39	0,30
	2	24	1,00	1,18	0,18	0,17	0,53	0,49
	3	8	1,00	1,17	0,17	0,19	0,54	0,53
	4	8	1,00	1,25	0,25	0,19	0,64	0,55
C	1	16	1,00	1,10	0,10	0,17	0,44	0,47
	2	24	1,00	1,11	0,11	0,22	0,55	0,61
	3	8	1,00	0,83	-0,17	0,24	0,65	0,68
	4	8	1,00	1,01	0,01	0,18	0,36	0,50
D	1	16	1,00	0,81	-0,19	0,28	0,74	0,78
	2	24	1,00	0,79	-0,21	0,27	0,75	0,76

HBV-Genotyp	Charge	N	HBV-Konzentration (log <sub>10</sub> IU/ml)		Verzerrung	SA insgesamt	Gesamtanalysefehler <sup>a</sup>	Ansatz mit zwei Messungen <sup>b</sup>
			Erwartet	Beobachtet				
	3	8	1,00	0,83	-0,14	0,14	0,42	0,39
	4	8	1,00	0,91	-0,09	0,11	0,31	0,32

<sup>a</sup> Nach dem Westgard-Modell berechneter TAE mit  $[TAE = | \text{Verzerrung} | + (2 \times SA) \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}]$ , womit gewährleistet ist, dass die Messung mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % um weniger als 1 log<sub>10</sub> IU/ml vom wahren Wert abweicht.

<sup>b</sup> Ansatz mit zwei Messungen mit  $[2 \times (\sqrt{2} \times SA) \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}]$  bedeutet, dass eine Differenz von unter 1 log<sub>10</sub> IU/ml durch einen zufälligen Messfehler erklärbar ist.

Die Ergebnisse zeigen, dass der Xpert HBV VL-Test 10 IU/ml HBV-DNA mit akzeptabler Richtigkeit und Genauigkeit bestimmen kann.

### 18.3 Genauigkeit/Reproduzierbarkeit

Die Präzision/Reproduzierbarkeit des Xpert HBV VL-Tests wurde in K<sub>2</sub>EDTA-Plasma anhand einer Varianzanalyse (ANOVA) zur Schätzung der Gesamtvarianz bewertet.

Bei der Studie handelte es sich um eine multizentrische (3 Zentren; 2 externe und 1 internes) Blindstudie zur Einschätzung der Hauptkomponenten der Varianz des Xpert HBV VL-Tests anhand eines aus acht Proben bestehenden Panels, von denen acht HBV-positiv waren. Die HBV-positiven Panelproben wurden angesetzt, indem entweder ein gut charakterisiertes HBV-Plasmid oder eine HBV-positive klinische Probe in humanem EDTA-Plasma verdünnt wurde. An jedem der drei Studienzentren testeten zwei Benutzer, einer mit früherer PCR-Erfahrung und einer ohne, ein Panel in zweifacher Bestimmung zwei Mal pro Tag (entsprechend acht Replikaten pro Tag) über sechs Testtage, sodass insgesamt 144 Replikate pro Panelprobe getestet wurden. Es wurden drei Chargen des Xpert HBV VL-Tests verwendet, wobei jede einzelne zwei Testtagen entsprach. Genauigkeit und Reproduzierbarkeit wurden gemäß CLSI EP05-A3<sup>11</sup> und CLSI EP15-A31<sup>12</sup> bewertet.

Genauigkeit und Reproduzierbarkeit des Xpert HBV VL-Tests wurden anhand einer nested ANOVA mit Termen für Zentrum/Instrument, Charge, Tag, Benutzer/Durchlauf und Innerhalb eines Durchlaufs bewertet. Die Standardabweichung und die auf jede Komponente der in log<sub>10</sub> angegebenen HBV-Konzentrationen zurückgehende prozentuale Variabilität wurden berechnet (siehe Tabelle 6).

**Tabelle 6. Genauigkeit und Reproduzierbarkeit des Xpert HBV VL-Tests**

HBV-DNA-Konzentration (log <sub>10</sub> IU/ml)			Beitrag zur Gesamtvarianz SA (VK %)										Gesamtgenauigkeit	
			Zentrum/Instrument		Charge		Tag		Benutzer/Durchlauf		Innerhalb eines Durchlaufs			
Erwartet	Beobachtet	N	SA	(%) <sup>a</sup>	SA	(%) <sup>a</sup>	SA	(%) <sup>a</sup>	SA	(%) <sup>a</sup>	SA	(%) <sup>a</sup>	SA	VK (%) <sup>b</sup>
9,00	9,13 <sup>c</sup>	144	<0,01	<0,01	0,04	23,4	<0,01	<0,01	0,02	4,9	0,07	71,7	0,08	19,7
8,00	8,17	144	<0,01	<0,01	0,04	26,7	<0,01	<0,01	0,02	5,4	0,06	67,9	0,07	16,9
7,00	7,15	144	0,01	2,2	0,03	12,2	0,01	3,9	<0,01	<0,01	0,07	81,8	0,07	16,8
6,00	6,18	144	<0,01	<0,01	0,04	32,1	0,01	4,3	<0,01	<0,01	0,05	63,6	0,06	14,7
4,70	4,87	144	0,02	4,5	0,03	15,3	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,07	80,2	0,07	17,1
3,00	3,19	144	<0,01	<0,01	0,03	28,8	<0,01	<0,01	0,02	11,5	0,04	59,7	0,06	13,2
2,00	2,17	144	<0,01	<0,01	0,02	8,6	<0,01	<0,01	0,01	1,0	0,08	90,5	0,08	19,0
1,00	1,13	144	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,05	11,0	0,01	0,3	0,15	88,8	0,16	37,7

<sup>a</sup> (%) steht für den Beitrag der Varianzkomponente zur Gesamtvarianz

b

$$\text{Lognormal CV(\%)} = 100 * \sqrt{10^{(\ln(10) + \sigma^2_{\log_{10} \text{data}})} - 1}$$

Der „VK“ ist der lognormale VK anhand der folgenden Formel:

c Der beobachtete Wert liegt über dem quantitativen Bereich des Xpert HBV VL-Tests.

## 18.4 Linearer Bereich

### Genotyp A

Der lineare Bereich des Xpert HBV VL-Tests wurde durch Analyse eines aus acht Proben bestehenden Panels ermittelt, das einen HBV-Konzentrationsbereich von 1,00–9,00 log<sub>10</sub> IU/ml abdeckte. Die Panels wurden angesetzt, indem HBV-negativem EDTA-Plasma und Serum eine klinische Probe mit HBV-Genotyp A oder eine HBV-Plasmid-DNA-Stammlösung mit hohem Titer zugesetzt wurde. Jede Panelprobe wurde in acht Replikaten pro Reagenziencharge analysiert, mit Ausnahme der geringsten Verdünnungen, die in sechzehn Replikaten pro Reagenziencharge und mit zwei Reagenzienchargen analysiert wurden. Die Ergebnisse sind in Abbildung 9 und Abbildung 10 aufgeführt.

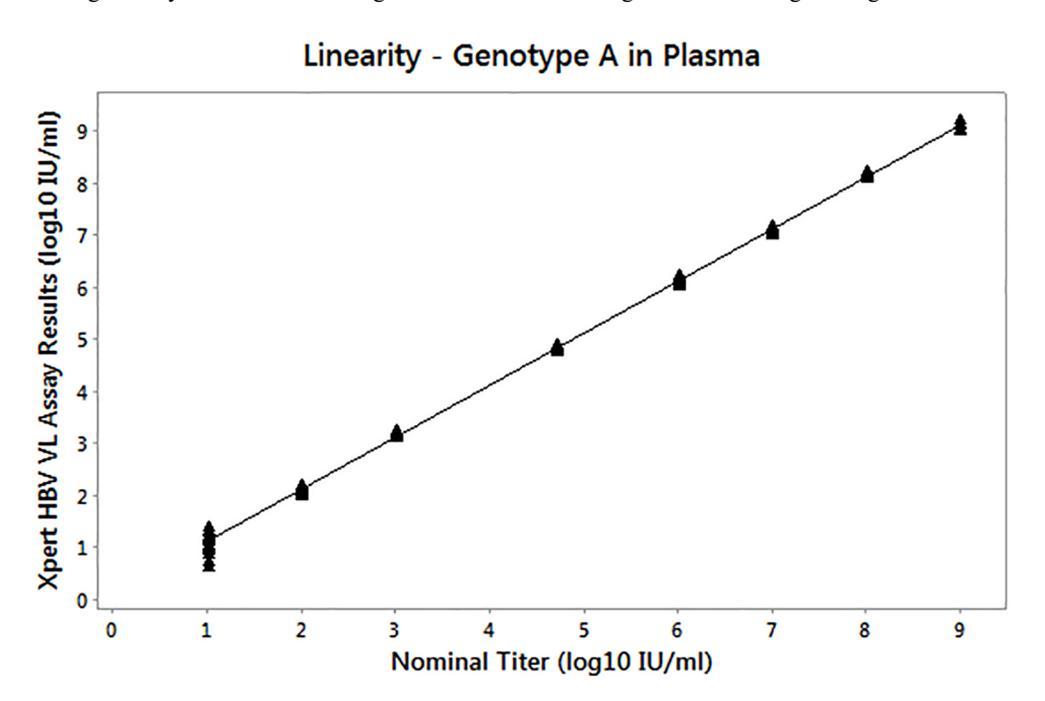
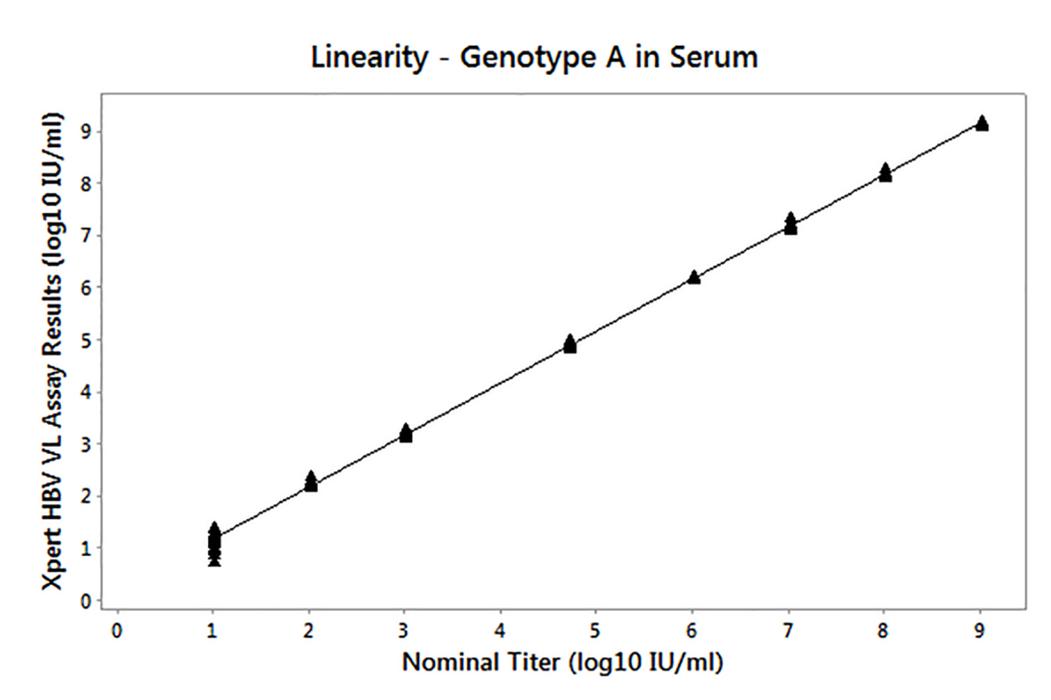


Abbildung 9. Linearität für den Xpert HBV VL-Test in EDTA-Plasma



**Abbildung 10. Linearität für den Xpert HBV VL-Test in EDTA-Serum**

#### Genotypen B–H

Um die Linearität zu bestätigen, wurden Verdünnungspanel angesetzt, die für die HBV-Genotypen B bis H standen und einen möglichst breiten Messbereich abdeckten, indem eine klinische Probe für jeden Genotyp in HBV-negativem EDTA-Plasma verdünnt wurde. Die Panelproben wurden mit der gleichen Replikanzahl wie für den HBV-Genotyp A mit einer Reagenziencharge analysiert.

Die Linearität wurde für die Genotypen A bis H gemäß CLSI-Richtlinie EP06-A<sup>13</sup> mit einem  $R^2 > 0,99$  nachgewiesen. Der Xpert HBV VL-Test ist über den Bereich von 1,00 bis 9,00 log<sub>10</sub> IU/ml für den Genotyp A und über den getesteten Bereich für die Genotypen B bis H (siehe Tabelle 7) linear.

**Tabelle 7. Linearität des Xpert HBV VL-Tests nach Genotypen**

Genotyp	Lineare Regressionsgleichung	R <sup>2</sup>	Getesteter Titerbereich (log <sub>10</sub> IU/ml)
A (Plasma)	$y = 1,005x + 0,093$	0,999	1,00–9,00
A (Serum)	$y = 1,000x + 0,167$	0,999	1,00–9,00
B	$y = 0,998x - 0,027$	0,995	1,00–6,83
C	$y = 0,998x - 0,119$	0,998	1,00–7,69
D	$y = 0,993x + 0,101$	0,998	1,00–7,41
E	$y = 1,010x - 0,149$	0,999	1,00–8,14
F	$y = 0,994x - 0,068$	0,999	1,00–7,96
G	$y = 0,990x + 0,538$	0,999	1,00–8,61
H	$y = 0,991x + 0,122$	0,999	1,00–6,35

## 18.5 Analytische Spezifität (Exklusivität)

Zur Beurteilung der analytischen Spezifität des Xpert HBV VL-Tests wurden potenziell kreuzreagierende Organismen in Konzentrationen von  $1 \times 10^6$  KBE/ml für Mikroorganismen bzw.  $1 \times 10^5$  Kopien/ml oder TCID<sub>50</sub>/ml für Viren in HBV-negatives EDTA-Plasma und in EDTA-Plasma mit ca. 30 IU/ml HBV-Referenzmaterial (4. internationaler HBV-Standard der WHO, NIBSC-Code: 10/266)<sup>4</sup> eingebracht. Die getesteten Organismen gehen aus Tabelle 8 hervor. Für keinen der getesteten Organismen ergab sich eine Kreuzreaktivität oder Störung der Quantifizierung des Xpert HBV VL-Tests.

**Tabelle 8. Organismen für die analytische Spezifität**

Viren		Bakterien	Hefen
BK humanes Polyomavirus	Humanes Immundefizienz-Virus 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Candida albicans</i>
Cytomegalovirus	Humanes Immundefizienz-Virus 2	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Epstein-Barr-Virus	Humanes Papillomvirus 16		
Hepatitis-A-Virus	Humanes Papillomvirus 18		
Hepatitis-C-Virus	Humanes T-lymphotropes Virus Typ 1		
Herpes-simplex-Virus 1	Humanes T-lymphotropes Virus Typ 2		
Herpes-simplex-Virus 2	Varicella-Zoster-Virus		
Humanes Herpesvirus 6	Vaccinia-Virus		
Humanes Herpesvirus 8			

## 18.6 Potenzielle Störsubstanzen

Die Anfälligkeit des Xpert HBV VL-Tests gegenüber Störungen durch erhöhte Konzentrationen von endogenen Substanzen, von Autoimmunerkrankungs-Markern und von Wirkstoffen, die bei HBV-Infizierten verschrieben werden, wurde bewertet. Die Hemmwirkungen wurden sowohl bei Anwesenheit als auch bei Abwesenheit von ca. 30 IU/ml HBV-DNA-Referenzmaterial (4. internationaler HBV-Standard der WHO, NIBSC-Code 10/266)<sup>4</sup> bewertet.

Es wurde nachgewiesen, dass erhöhte Konzentrationen der in Tabelle 9 aufgeführten endogenen Substanzen die Quantifizierung des Xpert HBV VL-Tests nicht stören, wobei der mittlere  $\log_{10}$ -Titer für jede der positiven HBV-Proben potenzielle Störsubstanzen innerhalb von  $\pm 0,10 \log_{10}$  IU/ml der Positivkontrolle enthielt. Für alle Proben ohne HBV-Zielsequenz wurden negative Ergebnisse erzielt, womit belegt war, dass die Spezifität des Assays unbeeinflusst blieb.

### Endogene Substanzen

**Tabelle 9. Endogene Substanzen und getestete Konzentrationen**

Substanz	Getestete Konzentration
Albumin	9 g/dl
Bilirubin	20 mg/dl
Hämoglobin	500 mg/dl
Humane DNA	0,4 mg/dl
Triglyceride	3000 mg/dl

### Arzneimittel

Es wurde nachgewiesen, dass die in Tabelle 10 aufgeführten Wirkstoffe bei Testung beim Dreifachen der Spitzen-Plasmakonzentration ( $C_{\max}$ ) bei Anwesenheit und Abwesenheit von HBV-DNA weder die Quantifizierung des Xpert HBV VL-Tests stören noch die Spezifität des Tests beeinflussen.

Tabelle 10. Getestete Wirkstoff-Pools

Pool	Arzneimittel
1	Zidovudin, Saquinavir, Clarithromycin, Interferon-alfa-2b, Ritonavir, Ombitasvir, Paritaprevir, Dasabuvir, Didanosin
2	Abacavirsulfat, Fosamprenavir, Peginterferon-alfa-2a, Ribavirin, Entecavir, Adefovir-Dipivoxil
3	Tenofovir-disoproxil-fumarat, Lamivudin, Indinavir-Sulfat, Ganciclovir, Valganciclovir HCl, Acyclovir, Paroxetin, Telbivudin
4	Stavudin, Efavirenz, Lopinavir, Enfuvirtid, Ciprofloxacin-Fluoxetin
5	Nevirapin, Nelfinavir, Azithromycin, Valacyclovir, Sertralin, Tenofovir Alafenamid

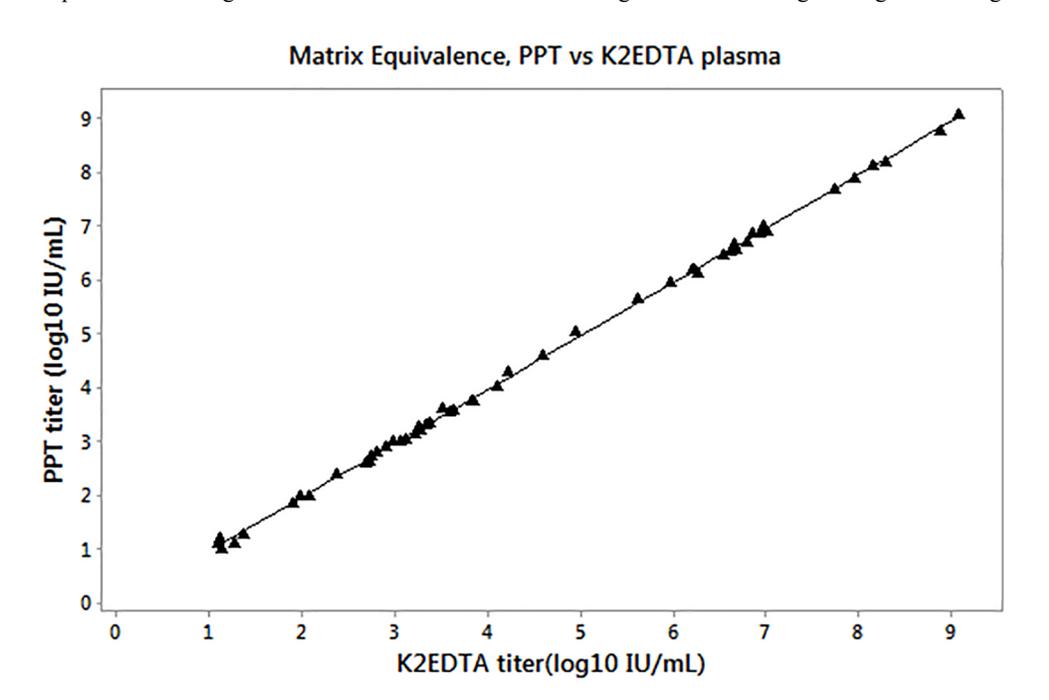
#### Autoimmunerkrankungs-Marker

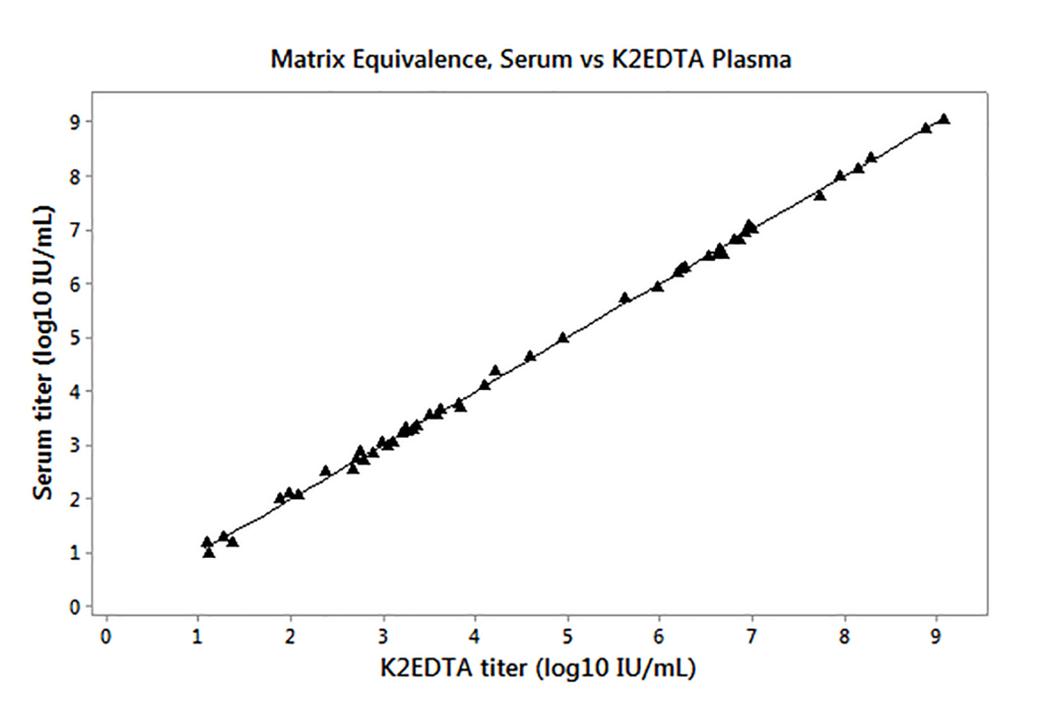
Tests von K<sub>2</sub>EDTA-Plasmaproben von fünf Personen pro Autoimmunerkrankungs-Marker (systemischer Lupus erythematodes (SLE), antinukleärer Antikörper (ANA) oder Rheumafaktor (RF)) ergaben keine Störung der Leistung des Xpert HBV VL-Tests. Die mittleren log<sub>10</sub>-Konzentrationen der mit HBV-DNA versetzten Proben lagen innerhalb von ± 0,10 log<sub>10</sub> IU/ml der Positivkontrolle. Für alle Proben ohne HBV-Zielsequenz wurden negative Ergebnisse erzielt, womit belegt war, dass die Spezifität des Assays unbeeinflusst blieb.

### 18.7 Matrixäquivalenz (K<sub>2</sub>EDTA-Plasma, PPT-EDTA und Serum)

Die Matrixäquivalenz für den Xpert HBV VL-Test wurde anhand von 32 gepaarten HBV-positiven klinischen Proben und 23 gepaarten HBV-negativen klinischen Proben, die in K<sub>2</sub>EDTA-Plasma, PPT-EDTA-Plasma und Serum-Entnahmeröhrchen entnommen wurden, ermittelt. Die 23 gepaarten HBV-negativen klinischen Proben wurden mit HBV-positivem Material aus klinischen Proben für die HBV-Genotypen B bis G und einem DNA-Plasmid, das die Zielsequenz für den HBV-Genotyp A exprimiert, mit Titern über den gesamten linearen Bereich versetzt.

Die Matrixäquivalenz für die getesteten Proben wurde wie in Abbildung 11 und Abbildung 12 dargestellt belegt.

Abbildung 11. Linearer Regressionsplot von PPT-EDTA-Plasma gegenüber K<sub>2</sub>EDTA-Plasma



**Abbildung 12. Linearer Regressionsplot von Serum gegenüber K<sub>2</sub>EDTA-Plasma**

Die Ergebnisse zeigen, dass der Xpert HBV VL-Test bei K<sub>2</sub>-EDTA-Plasma, PPT-EDTA-Plasma und Serum für Proben im Bereich von etwa 1,0–9,0 log<sub>10</sub> IU/ml die gleiche Leistung erbringt.

## 18.8 Fehlerrate des Gesamtsystems

Die Fehlerrate des Gesamtsystems für den HBV VL Assay wurde durch Testung von 100 Replikaten EDTA-Plasma, dem der 4. internationale HBV-DNA-Standard der WHO (NIBSC-Code 10/266)<sup>4</sup>, eine Genotyp-A-Probe, zugesetzt wurde, ermittelt. Die versetzten Proben wurden bei einer Zielkonzentration von ungefähr dem 3-Fachen der LLOQ (30 IU/ml) getestet.

Die Ergebnisse dieser Studie belegten, dass alle Replikate sowohl gültig als auch positiv für die HBV-Zielsequenz waren, woraus sich eine Fehlerrate des Gesamtsystems von 0,0 % ergibt.

## 18.9 Kontamination durch Verschleppung

Eine HBV-positive Probe mit hohem Titer (>1 x 10<sup>7</sup> IU/ml) und unmittelbar darauf eine HBV-negative Probe wurden im gleichen GeneXpert-Instrumentenmodul getestet. Dieser Vorgang wurde zwanzig (20) Mal in zwei Modulen wiederholt. Die Verschleppungsrate für den Xpert HBV VL-Test betrug 0 %.

# 19 Klinische Leistung

## 19.1 Spezifität bei normalen, gesunden Blutspendern

Die Spezifität des Xpert HBV VL-Tests wurde anhand von 99 Serum- und 100 EDTA-Plasmaproben von HBV-negativen Blutspendern bewertet. Die Spezifität des Xpert HBV VL-Tests betrug 100,0 % (95%-KI: 98,1–100,0 [199/199]).

## 19.2 Methodenkorrelation

Es wurde eine multizentrische Studie zur Bewertung der Leistung des Xpert HBV VL-Tests gegenüber einer quantitativen HBV-DNA-Vergleichsmethode durchgeführt. Dazu wurden Restmengen von im Rahmen des Pflegestandards entnommenen Serum- und EDTA-Plasmaproben von bekannt HBV-infizierten Personen verwendet.

Von den 876 aufnahmefähigen Probanden waren 351 (40,1 %) weiblich und 489 (55,8 %) männlich. Das durchschnittliche Alter betrug  $47,2 \pm 15,9$  Jahre mit einem Altersbereich von 18 bis 89 Jahre. Von diesen 876 Proben lagen 560 innerhalb des Quantifizierungsbereichs sowohl des HBV VL-Assays als auch des Vergleichsassays. Die Ergebnisse der Analysen mittels Deming-Regression und einfacher linearer Regression gehen aus Abbildung 13 hervor.

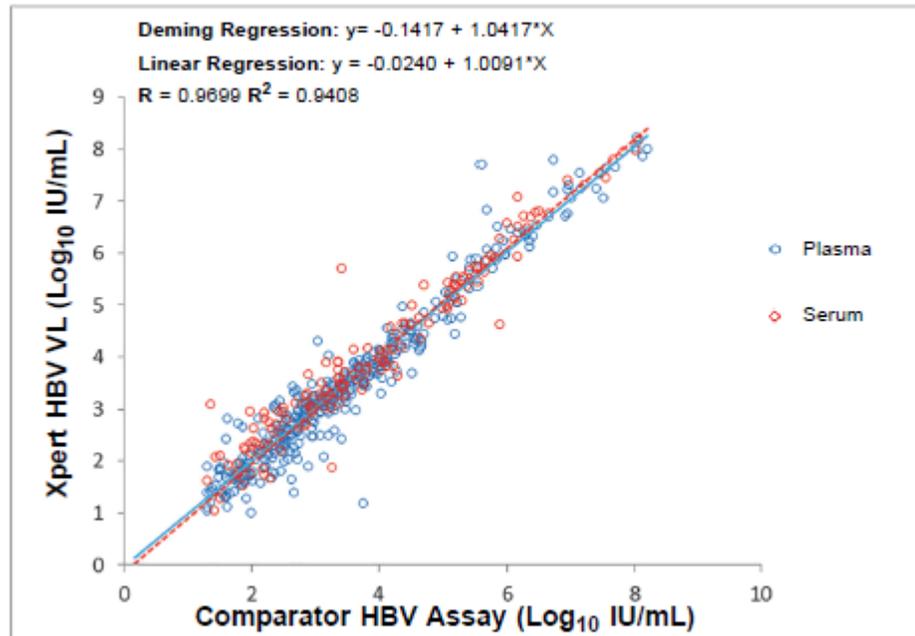


Abbildung 13. Korrelation des Xpert HBV VL-Tests gegenüber der Vergleichsmethode anhand von Serum- und EDTA-Plasmaproben

## 20 Literatur

1. World Health Organization (WHO). Guidelines for the Prevention, Care and Treatment of Persons with Chronic Hepatitis B Infection. März 2015. Abgerufen am 14. März 2018 unter: <http://www.who.int/hiv/pub/hepatitis/hepatitis-b-guidelines/en/>.
2. European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *J. Hepat.* 2012; 57:167-185. Verfügbar unter: <http://dxdoi.org/10.1016/j.jhep.2012.02.010>.
3. World Health Organisation. Global Hepatitis Report, 2017. WHO. April 2017.
4. The 4th WHO International Standard for Hepatitis B Virus DNA for Nucleic Acid Amplification Techniques (NIBSC code: 10/266). National Institute for Biological Standards and Control; 2016.
5. Centers for Disease Control and Prevention. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (5th Edition), abgerufen am 5. März 2018 unter <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections, Approved Guideline*. Document M29 (refer to latest edition).
7. World Health Organization. Safe management of wastes from health-care activities. 2nd Edition. WHO, 2014. Abgerufen am 20. April 2018 unter [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/publications/wastemanag/en/](http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/wastemanag/en/).
8. VERORDNUNG (EG) NR. 1272/2008 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 16. Dezember 2008 über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen, zur Änderung und Aufhebung der Liste der Sicherheitshinweise, Richtlinien 67/548/EWG und 1999/45/EG und Änderung der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006.
9. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition*. CLSI document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2012.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition*. CLSI document EP05-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2014.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. *User Verification of Precision and Estimation of Bias; Approved Guideline – Third Edition*. CLSI document EP15-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2014.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach*. Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2003.

---

---

## 21 Standorte der Cepheid-Zentralen

### Konzernzentrale

Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

Telefon: + 1 408 541 4191  
Fax: + 1 408 541 4192  
www.cepheid.com

### Konzernzentrale in Europa

Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France

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 Number) des Computers

### Kontaktinformationen

Vereinigte Staaten von Amerika

Telefon: +1 (888) 838 3222

E-Mail: [techsupport@cepheid.com](mailto:techsupport@cepheid.com)

Frankreich

Telefon: + 33 563 825 319

E-Mail: [support@cepheideurope.com](mailto:support@cepheideurope.com)

Die Kontaktinformationen aller Vertretungen des technischen Kundendiensts von Cepheid finden Sie auf unserer Website: [www.cepheid.com/en/CustomerSupport](http://www.cepheid.com/en/CustomerSupport).

## 23 Symbolerklärung

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

