

Xpert[®] HCV VL Fingerstick

REF GXHCV-FS-CE-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.

© 2018-2022 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.

© 2018-2022 Cepheid.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Schweden

Xpert[®] HCV VL Fingerstick

Nur zum Gebrauch als In-vitro-Diagnostikum.

1 Markenname

Xpert[®] HCV VL Fingerstick

2 Gebräuchlicher oder üblicher Name

HCV VL FS

3 Verwendungszweck

Der Xpert HCV VL Fingerstick (FS) Assay ist ein In-vitro-Assay nach dem Prinzip der Reverse-Transkription-Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR) für den Nachweis und die Quantifizierung von RNA des Hepatitis-C-Virus (HCV) in humanem kapillärem EDTA-Vollblut aus der Fingerbeere sowie venösem EDTA-Vollblut von HCV-Infizierten unter Verwendung der automatisierten GeneXpert[®] Instrumentensysteme.

Der HCV VL FS Assay ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Erstdiagnose bei Personen mit einem hohen Risiko für eine HCV-Infektion bzw. bei anti-HCV-positiven Personen bestimmt. Der Nachweis von HCV-RNA bedeutet, dass sich das Virus repliziert, und ist daher ein Anzeichen einer aktiven Infektion.

Der HCV VL FS Assay ist zur Verwendung als Hilfsmittel beim Management von HCV-Infizierten, die mit Virostatika behandelt werden, bestimmt. Der Test misst die HCV-RNA-Konzentration zu einem beliebigen Zeitpunkt während der Virämie und während der Behandlung und kann zur Vorhersage des anhaltenden und nicht anhaltenden virologischen Ansprechens auf die HCV-Therapie dienen.

Der Xpert HCV VL FS 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

HCV gehört zur Familie der Flaviviridae und ist als Haupterreger von chronischen Lebererkrankungen wie chronische aktive Hepatitis, Zirrhose und hepatozelluläres Karzinom identifiziert worden.¹ Das HCV-Genom ist ein RNA-Molekül mit positiver Polarität und besteht aus ungefähr 9500 Nukleotiden.¹ HCV wird normalerweise durch perkutanen Kontakt mit infiziertem Blut übertragen, primär durch intravenösen Drogenkonsum, unsichere medizinische Injektionen und Empfang von nicht gescreenten Spenderblutprodukten. Auch eine HCV-Übertragung durch perinatalen und sexuellen Kontakt ist nachgewiesen, jedoch seltener.² HCV ist während der akuten Infektionsphase normalerweise asymptomatisch, sodass die Infektion bei vielen Betroffenen undiagnostiziert bleibt. Bei ungefähr 70 % der HCV-Infizierten kommt es zu einer chronischen HCV-Erkrankung.² Derzeit beruht das Screening für eine frühere oder aktuelle HCV-Infektion auf dem Nachweis von HCV-Antikörpern, jedoch weist die Anwesenheit von HCV-RNA auf eine aktuelle Infektion hin.³ Weltweit leben schätzungsweise 71 Millionen Menschen mit einer chronischen HCV-Infektion, die aber nur bei 20 % diagnostiziert wurde.² HCV-Infektionen sind weltweit ungleich verteilt und die Prävalenz schwankt zwischen verschiedenen Ländern und innerhalb des gleichen Landes. Die am stärksten betroffenen Regionen sind der östliche Mittelmeerraum (2,3 %), Europa (1,5 %), Afrika (1,0 %) und < 1 % in anderen Regionen wie Nord-, Mittel- und Südamerika, westlicher Pazifik und Südostasien.² Virostatika können HCV heilen, aber Diagnose und Behandlung sind nur in geringem Maß zugänglich.⁴ Die Heilung einer HCV-Infektion (definiert als anhaltendes virologisches Ansprechen, d. h. keine nachweisbare HCV-RNA 12 oder 24 Wochen nach Abschluss der HCV-Therapie) ist nun bei den meisten Patienten mit hochwirksamen, sicheren und verträglichen Kombinationen von oralen direkt wirkenden Virostatika (Direct-Acting Antivirals, DAAs), die 8–12 Wochen lang eingenommen werden, möglich.^{2,5}

Die Quantifizierung der HCV-RNA hat sich als nützlich bei der Bewertung der Wirksamkeit des Ansprechens auf eine Behandlung mit HCV-Virostatika erwiesen. Leitlinien für das Management und die Behandlung von HCV empfehlen quantitative Tests auf HCV-RNA vor dem Beginn der Virostatikatherapie sowie 12 oder 24 Wochen nach Abschluss der HCV-Therapie.⁵

5 Verfahrensprinzip

Die GeneXpert Instrumentensysteme führen eine automatisierte und integrierte Probenreinigung, Nukleinsäureamplifikation und Nachweis der Zielsequenzen anhand von Reverse-Transkription-PCR (RT-PCR) an einfachen und komplexen Proben durch, wobei die interessierende RNA mittels Fluoreszenz nachgewiesen wird. Die Systeme bestehen aus einem Instrument, einem Computer und einer vorinstallierten Software zur Durchführung der Tests und zum Anzeigen der Ergebnisse. Das System arbeitet mit GeneXpert-Kartuschen (Einwegartikel), die die RT-PCR-Reagenzien enthalten und in denen das RT-PCR-Verfahren 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-System* bzw. *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Infinity-System*. Der HCV VL FS Assay enthält Reagenzien für den Nachweis von HCV-RNA in klinischen Proben sowie zwei interne Kontrollen, die zur Quantifizierung von HCV-RNA dienen. Die internen Kontrollen werden darüber hinaus zur Kontrolle der korrekten Bearbeitung der Zielsequenz und Überwachung auf Hemmsubstanzen in der RT- und 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 Sondenintegrität und die Farbstoffstabilität überprüft.

Der Assay wurde anhand des 4. Internationalen HCV-Standards der Weltgesundheitsorganisation (WHO) kalibriert (NIBSC-Code: 06/102).⁶

6 Reagenzien und Instrumente

6.1 Enthaltene Materialien



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

HCV VL FS Assay-Kartuschen mit integrierten Reaktionsbehältern

10

- Kügelchen 1, Kügelchen 2 und Kügelchen 3 (gefriergetrocknet) Je 1 pro Kartusche
- Lysereagenz (Guanidinthiocyanat) 1,0 ml pro Kartusche
- Spülreagenz 0,5 ml pro Kartusche
- Elutionsreagenz 1,5 ml pro Kartusche
- Bindungsreagenz 1,5 ml pro Kartusche

CD

- Assay-Definitionsdatei (ADF)
- Anweisungen zum Importieren der ADF in die GeneXpert-Software
- Gebrauchsanweisung (Packungsbeilage)

Hinweis

Sicherheitsdatenblätter (Safety Data Sheets, SDS) sind auf den Webseiten www.cepheid.com und www.cepheidinternational.com unter dem Register **SUPPORT** erhältlich.

Hinweis

Das bovine Serumalbumin (BSA) in den Kügelchen dieses Produkts wurde ausschließlich aus bovinem Plasma gewonnen und hergestellt, das aus den USA stammt. Die Tiere erhielten keinerlei Wiederkäuer- oder anderes Tierprotein mit dem Futter und wurden ante- und post-mortem Tests unterzogen. Bei der Verarbeitung wurde das Material nicht mit anderen Tiermaterialien vermischt.

7 Aufbewahrung und Handhabung



- Die HCV VL FS Assay-Kartuschen und Reagenzien bei 2–28 °C lagern. Die Kartuschen vor der Verwendung auf Raumtemperatur kommen lassen, wenn sie gekühlt gelagert wurden.
- Den Kartuschendeckel erst kurz vor der Durchführung des Assays öffnen.
- Keine leckenden Kartuschen verwenden.
- Keine HCV VL FS Assay-Kartuschen verwenden, die zuvor eingefroren wurden.
- Kartuschen nicht nach dem Verfallsdatum verwenden.

8 Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

- GeneXpert Dx System oder GeneXpert Infinity System (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 Benutzerhandbuch.
- 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
- Ethanol oder denaturiertes Ethanol
- Einweg-Minivette® POCT 100 µl K3E (Art.-Nr.: MINIVETTE 100E-100, 100 pro Karton)
- Einweg-Safety-Lanzette Super, 1,5 mm (Sarstedt, Art.-Nr.: 85.1018 o. ä.)

9 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen



- Nur 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 Patientenproben sind von den U.S. Centers for Disease Control and Prevention⁷ und vom Clinical and Laboratory Standards Institute erhältlich.⁸
- Um eine Kontamination von Patientenproben oder Reagenzien zu vermeiden, werden die Einhaltung der Guten Laborpraxis und 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 FS Assay-Reagenzien durch andere Reagenzien ersetzen.
- Öffnen Sie den Deckel der HCV VL FS 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, sind die Ergebnisse möglicherweise ungültig.
- Kartuschen mit beschädigtem Reaktionsbehälter dürfen nicht verwendet werden.
- Keine leckenden Kartuschen verwenden.
- ② • Jede HCV VL FS Assay-Kartusche dient zur Durchführung eines einzigen Tests (Einwegartikel). Benutzte Kartuschen dürfen nicht wiederverwendet werden.
- ② • Jede Minivette POCT dient zur Entnahme und zum Transfer nur einer Probe. Eine benutzte Minivette POCT nicht wiederverwenden.
- 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 trocknen lassen, bevor fortgefahren wird.
- Biologische Proben, Transfervorrichtungen und gebrauchte Kartuschen sind als infektiös anzusehen und mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen zu handhaben. Halten Sie sich bezüglich der angemessenen Entsorgung gebrauchter Kartuschen und nicht verwendeter Reagenzien an die Umweltschutzvorschriften Ihrer Einrichtung. Diese Materialien können chemischen Sondermüll darstellen, der gemäß bestimmten nationalen oder regionalen Vorgehensweisen entsorgt werden muss. Falls die Vorschriften des jeweiligen Landes bzw. der jeweiligen Region keine klaren Anweisungen zur ordnungsgemäßen Entsorgung enthalten, sollten biologische Proben und gebrauchte Kartuschen gemäß den Richtlinien zur Handhabung und Entsorgung von medizinischen Abfällen der WHO (Weltgesundheitsorganisation) entsorgt werden⁹.

10 Chemische Gefahren^{10,11}

- 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 und Lagerung von Patientenproben

11.1 Kapilläres Vollblut

- Kapilläre Vollblutproben sollten nach einem Stich in die Fingerbeere mit der Safety-Lancet (nicht im Lieferumfang von Cepheid enthalten) in die Minivette POCT entnommen werden. Die Gebrauchsanweisung des Herstellers befolgen.
- Der HCV VL FS Assay benötigt 100 µl Vollblut. Die Minivette POCT muss vollständig gefüllt werden.
- In die Minivette POCT entnommene Vollblutproben können bis zu 15 Minuten bei 5–35 °C im Probenentnahmeprodukt verbleiben.



11.2 Venöses Vollblut

- Venöses Vollblut entsprechend der Gebrauchsanweisung des Herstellers in ein steriles Fläschchen mit EDTA-Antikoagulans entnehmen.
- Der HCV VL FS Assay benötigt 100 µl Vollblut.
- In EDTA entnommenes venöses Vollblut kann in einem sterilen Fläschchen bis zu 6 Monate bei -20 °C, 72 Stunden bei 2–8 °C oder 24 Stunden bei maximal 35 °C aufbewahrt werden.



12 Verfahren

12.1 Vorbereitung der Kartusche

Wichtig Der Test muss innerhalb von vier Stunden nach Zugabe der Probe in die Kartusche begonnen werden.

1. Einweg-Schutzhandschuhe tragen.
 2. Die Kartusche vor der Verwendung auf Raumtemperatur (25 ± 3 °C) kommen lassen.
 3. Die Kartusche auf Beschädigungen überprüfen. Falls die Kartusche beschädigt ist, darf sie nicht verwendet werden.
 4. Die Kartusche mit der Identifikation der Patientenprobe beschriften.
 5. Den Kartuschendeckel öffnen.
 6. Für *kapilläres* Vollblut:
 - A. Die gefüllte Minivette POCT (siehe Abbildung 1) so tief wie möglich in die Probenkammer der Kartusche einführen (siehe Abbildung 2).
 - B. Den Kolben der Minivette POCT vorsichtig eindrücken, um das Blut zu dispensieren.
- Für *venöses* Vollblut:
- A. Das Vollblut mischen, indem das Fläschchen mindestens sieben (7) Mal umgedreht wird.
 - B. Mit einer Mikropipette 100 µl Vollblut in die Probenkammer der Kartusche überführen (siehe Abbildung 2). Darauf achten, dass das Blut in den Boden der Probenkammer dispensiert wird.

- C. Um zu gewährleisten, dass 100 µl dispensiert werden, eine befeuchtete Pipettenspitze verwenden oder die Blutprobe mithilfe einer Kolbenhubpipette aspirieren und dispensieren.

Hinweis

Wenn weniger als 100 µl Blut in die Kartusche gegeben wird, löst dies eventuell einen Fehler wegen ungenügenden Probenvolumens (FEHLER (ERROR) 2097) aus, sodass das Instrument die Probe nicht analysieren kann.



Abbildung 1. Minivette POCT 100 µl EDTA

Hinweis

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



Abbildung 2. HCV VL FS Kartusche (Draufsicht)

7. Den Kartuschendeckel schließen. Stellen Sie sicher, dass der Deckel fest eingerastet ist.

12.2 Testbeginn**Wichtig**

Achten Sie vor Testbeginn darauf, dass die Assay-Definitionsdatei (Assay Definition File, ADF) für den HCV VL FS 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.

Hinweis

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

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. Falls nicht, führen Sie einen Doppelklick auf das Verknüpfungssymbol für die GeneXpert Dx-Software auf dem Windows®-Desktop durch.
oder
 - Bei Verwendung des GeneXpert Infinity Instruments das Instrument hochfahren. Die Xpertise™ Software startet automatisch. Falls nicht, führen Sie einen Doppelklick auf das Verknüpfungssymbol für die Xpertise-Software auf dem Windows®-Desktop durch.
2. Melden Sie sich mit Ihrem Benutzernamen und Kennwort bei der GeneXpert-Instrumentensystem Software an.
3. Klicken Sie im GeneXpert System-Fenster auf **Test erstellen (Create Test)** (GeneXpert Dx) bzw. **Anforderungen (Orders) und Test anfordern (Order Test)** (Infinity).
4. Scannen Sie die Patienten-ID (Patient ID) ein (optional). Vermeiden Sie Tippfehler beim Eintippen der Patienten-ID (Patient ID). Die Patienten-ID (Patient ID) ist mit den Testergebnissen verknüpft und erscheint im Fenster „Ergebnisse anzeigen“ (View Results).
5. Scannen oder tippen Sie die Proben-ID (Sample ID) ein. Vermeiden Sie Tippfehler beim Eintippen der Proben-ID (Sample ID). Die Proben-ID (Sample ID) ist mit den Testergebnissen verknüpft und erscheint im Fenster „Ergebnisse anzeigen“ (View Results) sowie in allen Berichten. Das Dialogfenster „Kartuschen scannen“ (Scan Cartridge) erscheint.
6. Scannen Sie den Barcode der HCV VL FS-Kartusche ein. Anhand der über den Strichcode erhaltenen Informationen werden die folgenden Felder automatisch ausgefüllt: „Assay auswählen“ (Select Assay), „Chargen-ID“ (Reagent Lot ID), „Kartuschen-Seriennr.“ (Cartridge SN) und „Verfallsdatum“ (Expiration Date).
7. Klicken Sie auf **Test starten (Start Test)** (GeneXpert Dx) bzw. **Einreichen (Submit)** (Infinity). Geben Sie Ihr Kennwort ein, falls eine entsprechende Aufforderung angezeigt wird.
8. Bei Verwendung eines GeneXpert Infinity Instruments 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 eines GeneXpert Dx Instruments:
 - D. Öffnen Sie die Klappe des Instrumentenmoduls mit der grün blinkenden Anzeige und laden Sie die Kartusche.
 - E. Schließen Sie die Klappe. Der Test beginnt und die grüne Anzeige hört auf zu blinken. Wenn der Test abgeschlossen ist, geht die Lampe aus.
 - F. Warten Sie ab, bis das Instrument die Klappenverriegelung freigibt. Öffnen Sie anschließend die Modulklappe und entnehmen Sie die Kartusche.
 - G. Die benutzten Kartuschen müssen entsprechend den üblichen Praktiken der jeweiligen Einrichtung in geeigneten Proben-Abfallbehältern 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.

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

CONTROL

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) sowie eine Sondenprüfungskontrolle (Probe Check Control, PCC).

- **Ausreichendes Probenvolumen (SVA):** Stellt sicher, dass die Probe korrekt zur Kartusche gegeben 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 die SVA fehlschlägt, wird **FEHLER (ERROR) 2097** angezeigt, wenn nicht genügend Probe in die Kartusche gegeben wurde. **FEHLER (ERROR) 2096** bedeutet, dass nicht genügend Probe bearbeitet 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 nicht mit HCV verwandte Armored RNA®-Kontrollen in Form eines getrockneten Kügelchens, das den gesamten GX-Vorgang durchläuft. Sie dienen zum Ausgleich der HCV-Konzentration mit der Qualität der Probe und den Eigenschaften der Kitcharge. IQS-H und IQS-L weisen eine probenbedingte Hemmung der RT-PCR-Reaktion nach und fungieren so als Probenbearbeitungskontrollen. IQS-H und IQS-L sind erfolgreich, wenn sie die validierten Akzeptanzkriterien erfüllen.
- **Chargenspezifische Parameter (CSP) zur Quantifizierung:** Jede Kitcharge weist eingebaute CSP auf, die aus einem HCV-Kalibrierungspanel, das auf den 4. Internationalen HCV-NAT-Standard der Weltgesundheitsorganisation (WHO) zurückverfolgbar ist (NIBSC-Code 06/102),⁷ sowie den internen quantitativen Standards IQS-H und IQS-L erstellt werden. Die Ct-Werte von IQS-H und IQS-L gehen als Parameter in die Gleichung ein, die die CSP der Kitcharge ergibt.
- **Sondenprüfungskontrolle (PCC):** Vor Beginn der PCR-Reaktion misst das GeneXpert-Instrumentensystem das Fluoreszenzsignal der Sonden, um die Rehydrierung der Kügelchen, Füllung des Reaktionsbehälters, Unversehrtheit der Sonden und Stabilität des Farbstoffs zu überprüfen. Die PCC gilt als erfolgreich, wenn die Fluoreszenzsignale die validierten Akzeptanzkriterien erfüllen.
- **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

Das GeneXpert-Instrumentensystem interpoliert die Ergebnisse automatisch anhand der gemessenen Fluoreszenzsignale und eingebauten Berechnungsalgorithmen. Die Ergebnisse werden im Fenster „Ergebnisse anzeigen“ (View Results) angezeigt (Abbildung 3 und Abbildung 4). Die möglichen Ergebnisse zeigt Tabelle 1.

Tabelle 1. HCV VL FS Assay – Ergebnisse und Interpretation

Ergebnis	Interpretation
HCV ERMITTELT (HCV DETECTED) XX IU/ml (log X,XX)	HCV-RNA wurde bei XX IU/ml nachgewiesen (siehe Abbildung 3). <ul style="list-style-type: none"> • Die HCV-RNA weist einen Titer im quantitativen Bereich des Assays (100–1,00E08 IU/ml) auf. • IQS-H und IQS-L: BEST. (PASS) • Sondentest: BEST. (PASS); alle Sondentestergebnisse waren erfolgreich.
HCV ERMITTELT (HCV DETECTED) > 1,00E08 IU/ml	HCV-RNA wurde oberhalb des quantitativen Bereich des Assays nachgewiesen. <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H und IQS-L: BEST. (PASS) • Sondentest: BEST. (PASS); alle Sondentestergebnisse waren erfolgreich.
HCV ERMITTELT (HCV DETECTED) < 100 IU/ml	HCV-RNA wurde unterhalb des quantitativen Bereich des Assays nachgewiesen. <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H und IQS-L: BEST. (PASS) • Sondentest: BEST. (PASS); alle Sondentestergebnisse waren erfolgreich.
HCV NICHT ERMITTELT (HCV NOT DETECTED)	HCV-RNA wurde nicht nachgewiesen (siehe Abbildung 4). <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H und IQS-L: BEST. (PASS) • Sondentest: BEST. (PASS); alle Sondentestergebnisse waren erfolgreich.
UNGÜLTIG (INVALID)	An- oder Abwesenheit von HCV-RNA kann nicht ermittelt werden. Wiederholen Sie den Test gemäß den Anweisungen in Abschnitt 16.2, Testwiederholung. <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H und/oder IQS-L: DEFEKT (FAIL); die Schwellenwert-Zyklen (Cycle threshold, Ct) liegen nicht innerhalb des gültigen Bereichs. • Sondentest: BEST. (PASS); alle Sondentestergebnisse waren erfolgreich.
FEHLER (ERROR)	An- oder Abwesenheit von HCV-RNA kann nicht ermittelt werden. Wiederholen Sie den Test gemäß den Anweisungen in Abschnitt 16.2, Testwiederholung. <ul style="list-style-type: none"> • Sondentest: DEFEKT (FAIL)*; ein oder alle Ergebnisse der Sondenprüfung waren nicht erfolgreich. <p>* Wenn die Sondenprüfung bestanden wurde, wurde der Fehler durch Überschreiten des maximalen Druckgrenzwerts oder den Ausfall einer Systemkomponente verursacht.</p>

Tabelle 1. HCV VL FS Assay – Ergebnisse und Interpretation (Fortsetzung)

Ergebnis	Interpretation
KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)	An- oder Abwesenheit von HCV-RNA kann nicht ermittelt werden. Wiederholen Sie den Test gemäß den Anweisungen in Abschnitt 16.2, Testwiederholung. KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) bedeutet, dass nicht genügend Daten erfasst wurden. Beispielsweise könnte der Bediener den Test abgebrochen haben, bevor er abgeschlossen war.

Hinweis

Die Assay-Bildschirmabbildungen sind nur Muster. Die Versionsnummer kann von den Bildschirmabbildungen in dieser Packungsbeilage abweichen.

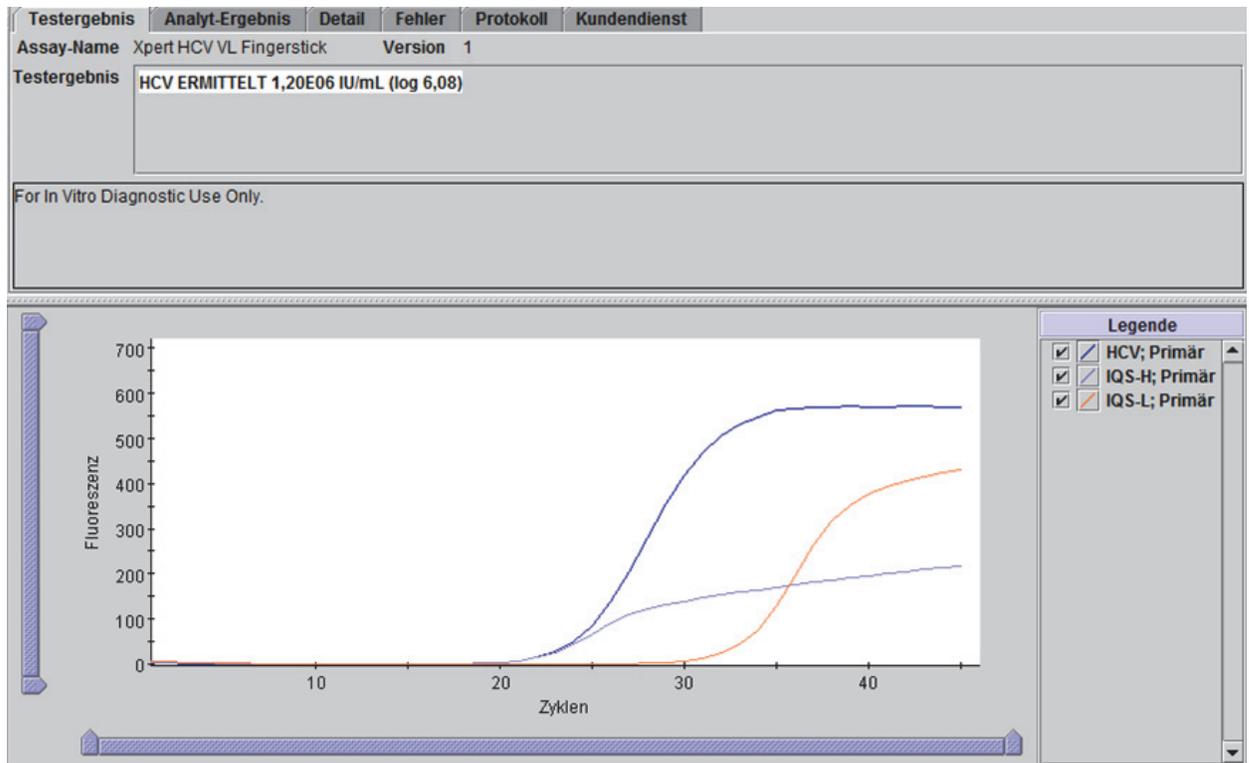


Abbildung 3. HCV ermittelt und quantifiziert

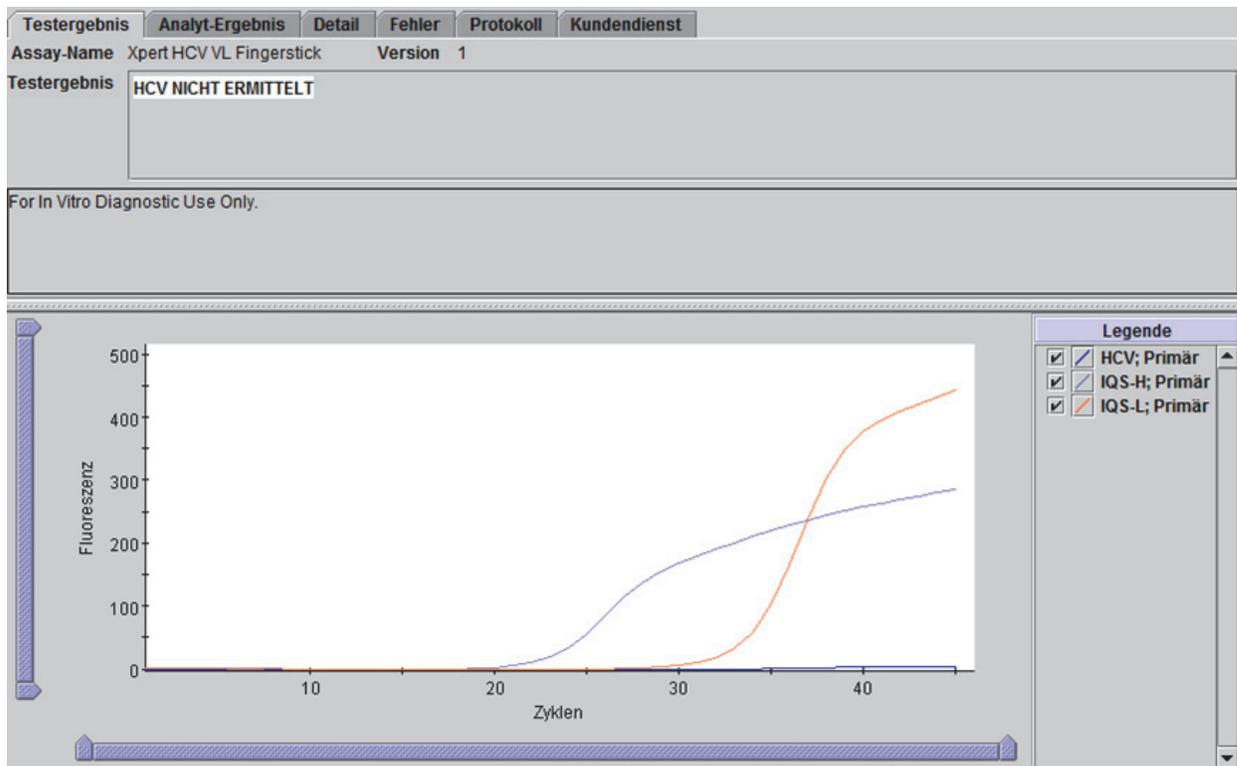


Abbildung 4. HCV nicht ermittelt

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 Assay abgebrochen wurde. Mögliche Ursachen sind z. B.: Es wurde nicht genügend Probenmaterial zugegeben, das Reaktionsgefäß 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).

- Bei Verwendung von kapillärem Vollblut siehe Abschnitt 11.1, Kapilläres Vollblut, zur Probenentnahme.
- Nehmen Sie eine neue Kartusche aus dem Kit.
- Siehe Abschnitt 12, Verfahren, einschließlich Abschnitt 12.1, Vorbereitung der Kartusche, und Abschnitt 12.2, Testbeginn.

17 Einschränkungen des Verfahrens

- Um eine Kontamination von Patientenproben oder Reagenzien zu vermeiden, werden die Einhaltung der Guten Laborpraxis und Handschuhwechsel nach jeder Patientenprobe empfohlen.
- Selten auftretende Mutationen in der Zielregion des HCV VL FS Assays beeinträchtigen eventuell die Bindung der Primer oder Sonden, was dazu führt, dass das Virus zu niedrig quantifiziert oder nicht nachgewiesen wird.

- Dieser Assay wurde nur für die Verwendung mit in EDTA entnommenem kapillärem und venösem Vollblut validiert. Die Testung anderer Probenotypen kann zu ungenauen Ergebnissen führen.
- Für die korrekte Leistung dieses Tests müssen Entnahme, Aufbewahrung, Handhabung und Transport der Proben zum Teststandort angemessen durchgeführt werden.
- Die mit dem HCV VL FS Assay erzielten Ergebnisse müssen in Verbindung mit anderen klinischen und Laborbefunden interpretiert werden.
- Aufgrund der inhärenten Unterschiede zwischen Technologien wird Anwendern empfohlen, vor dem Wechsel von einer Technologie zu einer anderen Methodenkorrelationsstudien im eigenen Labor durchzuführen, um technologisch bedingte Unterschiede zu quantifizieren.
- Ein negatives Testergebnis mit dem HCV VL FS Assay schließt eine HCV-Infektion des Patienten nicht aus.
- Der Assay ist nicht für das Screening von Blut-, Plasma-, Serum- oder Gewebespenden auf HCV bestimmt.

18 Leistungsmerkmale

18.1 Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) des HCV VL FS Assays wurde für die HCV-Genotypen 1 bis 6 ermittelt, indem aus sieben oder acht Proben bestehende Panels getestet wurden, die durch Zusatz von HCV-positiven klinischen Proben oder einem handelsüblichen HCV-Referenzmaterial mit hohem Titer (Acrometrix HCV High Titer Control, Genotyp 1b, Thermo Fisher Scientific, Charge: RD16121511) zu HCV-negativem, humanem EDTA-Vollblut hergestellt wurden. Die Konzentration der einzelnen Stammlösungen wurde mit dem Xpert HCV Viral Load Assay ermittelt, dessen Kalibrierung auf den 4. Internationalen Standard für HCV der WHO (NIBSC-Code 06/102) nachverfolgbar ist.⁶ Die LoD des HCV-Genotyps 1a wurde ermittelt, indem 24 Replikate jeder Verdünnungsstufe für jeweils drei Reagenzienchargen im Verlauf von drei Tagen getestet wurden. Insgesamt wurden 72 Replikate pro Stufe des Genotyps 1a getestet. Die LoD der HCV-Genotypen 1b sowie 2 bis 6 wurde ermittelt, indem 24 Replikate jeder Verdünnungsstufe mit einer Reagenziencharge im Verlauf von drei Tagen getestet wurden.

Die HCV-RNA-Konzentration, die mit einer Positivitätsrate von 95 % nachgewiesen werden kann, wurde mittels PROBIT-Regressionsanalyse ermittelt. Die Ergebnisse für alle Genotypen gehen aus Tabelle 2 hervor.

Tabelle 2. Nachweisgrenze für den Xpert HCV VL FS Assay mittels PROBIT-Regression

Genotyp	Nennkonzentration (IU/ml)	Anzahl der gültigen Replikate	Anzahl der positiven Proben	Positivitätsrate (%)	LoD mit 95 % Wahrscheinlichkeit mittels PROBIT-Schätzung (95%-Konfidenzintervall)
1a	45	72	72	100 %	22 IU/ml ^a (95 %-KI: 17–27 IU/ml)
	30	72	70	97 %	
	15	72	59	82 %	
	10	72	59	82 %	
	5	72	30	42 %	
	2,5	72	9	13 %	
1b	45	24	24	100 %	23 IU/ml (95 %-KI: 18–32 IU/ml)
	30	24	23	96 %	
	15	24	19	79 %	
	10	24	18	75 %	
	5	24	13	54 %	
	2,5	24	11	46 %	

Tabelle 2. Nachweisgrenze für den Xpert HCV VL FS Assay mittels PROBIT-Regression (Fortsetzung)

Genotyp	Nennkonzentration (IU/ml)	Anzahl der gültigen Replikate	Anzahl der positiven Proben	Positivitätsrate (%)	LoD mit 95 % Wahrscheinlichkeit mittels PROBIT-Schätzung (95%-Konfidenzintervall)
2b	45	24	24	100 %	13 IU/ml (95 %-KI: 10–16 IU/ml)
	30	24	24	100 %	
	15	24	24	100 %	
	10	24	18	75 %	
	5	24	12	50 %	
	2,5	24	9	38 %	
3a	45	24	24	100 %	28 IU/ml (95 %-KI: 21–34 IU/ml)
	30	24	22	92 %	
	15	24	17	71 %	
	10	24	14	58 %	
	5	24	12	50 %	
	2,5	24	4	17 %	
4	45	24	24	100 %	15 IU/ml (95 %-KI: 13–20 IU/ml)
	30	24	24	100 %	
	15	24	20	83 %	
	10	24	21	88 %	
	5	24	16	67 %	
	2,5	24	8	33 %	
5	45	24	24	100 %	28 IU/ml (95 %-KI: 21–36 IU/ml)
	30	23	21	91 %	
	15	24	17	71 %	
	10	24	15	63 %	
	5	24	11	46 %	
	2,5	24	9	38 %	
6e	60	24	24	100 %	35 IU/ml (95 %-KI: 28–42 IU/ml)
	45	24	23	96 %	
	30	24	22	92 %	
	15	24	14	58 %	
	10	24	11	46 %	
	5	24	10	42 %	
	2,5	24	3	13 %	

a. Höchste geschätzte LoD für Genotyp 1a anhand von Tests und Analysen von jeweils drei Reagenzienchargen.

18.2 Untere Quantifizierungsgrenze

Die untere Quantifizierungsgrenze (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) ist definiert als die niedrigste Konzentration von HCV-RNA, 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 mit vier unabhängigen Proben mit niedrigem Titer unter Verwendung von drei Reagenzienchargen mit 22 bis 24 Replikaten pro Charge überprüft. Der TAE wurde nach dem Westgard-Modell gemäß CLSI-Richtlinie EP17-A2¹² 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 3 hervor. Die Ergebnisse zeigen, dass der HCV VL FS Assay 100 IU/ml HCV-RNA mit akzeptabler Richtigkeit und Genauigkeit bestimmen kann.

Tabelle 3. Ermittlung der LLoQ für den Xpert HCV VL FS Assay

Probe	Charge	N	HCV-Konzentration (log ₁₀ IU/ml)		Verzerrung	SA insgesamt	Gesamtanalysefehler ^a	Ansatz mit zwei Messungen ^b
			Erwartet	Beobachtet				
HCV Gt1a (Klinische Patientenprobe 1)	1	24	2,00	2,16	0,16	0,23	0,61	0,64
	2	24	2,00	2,13	0,13	0,20	0,53	0,56
	3	23	2,00	2,30	0,30	0,20	0,70	0,56
	1	24	1,65	1,70	0,04	0,30	0,64	0,85
	2	24	1,65	1,62	0,03	0,26	0,55	0,74
	3	24	1,65	1,77	0,12	0,18	0,48	0,51
HCV Gt1a (Klinische Patientenprobe 2)	2	24	2,00	1,90	0,10	0,23	0,56	0,65
	3	22	2,00	2,11	0,11	0,27	0,65	0,76
	4	24	2,00	1,96	0,04	0,24	0,52	0,68
HCV Gt3a (Klinische Patientenprobe 3)	1	24	1,65	1,52	0,13	0,27	0,66	0,75
	2	23	1,65	1,58	0,07	0,29	0,66	0,83
	3	23	1,65	1,64	0,02	0,25	0,52	0,71

- Nach dem Westgard-Modell berechneter TAE mit $[|\text{Verzerrung}| + (2 \times \text{SA})] \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}$, womit gewährleistet ist, dass die Messung mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % um weniger als $1 \log_{10} \text{ IU/ml}$ vom wahren Wert abweicht.
- Ansatz mit zwei Messungen mit $[(2 \times \sqrt{2} \times \text{SA}) \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}]$ bedeutet, dass eine Differenz von unter $1 \log_{10} \text{ IU/ml}$ durch einen zufälligen Messfehler erklärbar ist.

18.3 Linearer Bereich und Inklusivität

Die Linearität des HCV VL FS Assays wurde für die HCV-Genotypen 1 bis 6 anhand von Probenpanels ermittelt, die durch Zusatz von HCV-positiven klinischen Proben oder Armored RNA zu negativem, humanem EDTA-Vollblut hergestellt wurden. Die Konzentration der klinischen Probe bzw. Armored RNA wurde mithilfe von quantitativen HCV-RNA-Nukleinsäuretests mit CE-Kennzeichnung ermittelt. Jede Panelprobe wurde in sechs Replikaten getestet, ausgenommen die jeweils niedrigste Konzentration (50 IU/ml), die in zwölf Replikaten getestet wurde. Die HCV-Genotypen 1 und 3 wurden mithilfe von zwei Reagenzienchargen getestet, die übrigen HCV-Genotypen (2, 4, 5 und 6) hingegen mit einer Reagenziencharge.

Die Linearität wurde für alle Genotypen gemäß CLSI-Richtlinie EP06-A¹³ nachgewiesen. Die Ergebnisse für die HCV-Genotypen 1 bis 6 gehen aus Abbildung 5 hervor, wobei für die HCV-Genotypen 1 und 3 gepoolte Ergebnisse aufgeführt sind.

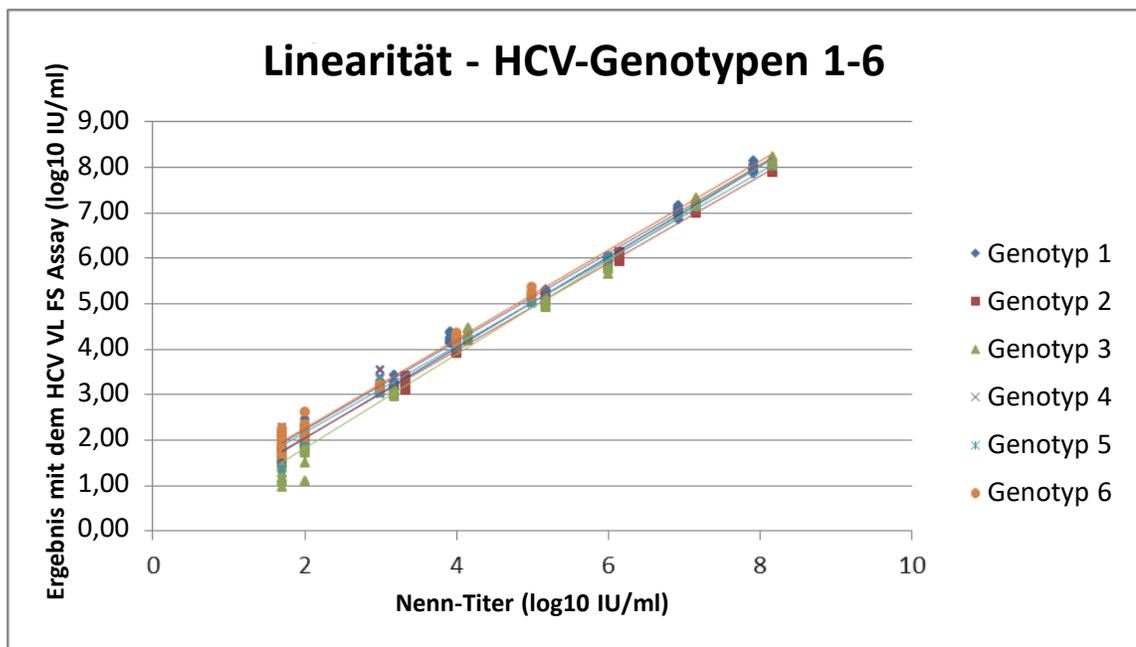


Abbildung 5. Linearität für den Xpert HCV VL FS Assay

Der HCV VL FS Assay ist linear über den Bereich von 100 bis 1×10^8 IU/ml mit einem $R^2 > 0,99$ für die HCV-Genotypen 1 bis 3 und über den getesteten Dynamikbereich für die HCV-Genotypen 4 bis 6 mit einem $R^2 > 0,98$ (Tabelle 4).

Tabelle 4. Lineare Regression des Xpert HCV VL FS Assays mit dem getesteten Titerbereich nach Genotypen

Genotyp	Lineare Regressionsgleichung	R^2	Getesteter Titerbereich \log_{10} IU/ml
1	$y = 0,9975x + 0,0603$	0,995	1,70 - 8,00
2	$y = 0,9564x + 0,1547$	0,997	1,70 - 8,00
3	$y = 1,0312x + 0,2348$	0,993	1,70 - 8,00
4	$y = 0,9683x + 0,3056$	0,986	1,70 - 5,00
5	$y = 0,9553x + 0,2645$	0,990	1,70 - 6,00
6	$y = 0,9798x + 0,2995$	0,989	1,70 - 5,00

18.4 Präzision/Reproduzierbarkeit

Die Präzision/Reproduzierbarkeit des HCV VL FS Assays wurde in EDTA-Vollblut 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), verblindete Studie zur Einschätzung der Hauptkomponenten der Varianz des HCV VL FS Assays anhand eines aus acht Proben bestehenden Panels, von denen sieben HCV-positiv waren und eine aus einer HCV-negativen EDTA-Vollblutprobe bestand. Die Panelproben mit niedrigem Titer wurden mithilfe einer gut beschriebenen HCV-Genotyp-1-Probe angesetzt, die Panelproben mit hohem Titer hingegen mit einer Armored-RNA-HCV-Genotyp-1-Stammlösung. An jedem der drei Studienzentren testeten zwei Bediener, einer mit früherer PCR-Erfahrung und einer ohne, ein Panel in dreifacher Bestimmung zwei Mal pro Tag (entsprechend zwölf Replikaten pro Tag) über sechs Testtage. Es wurden drei Chargen von des HCV VL FS Assays verwendet, wobei jede einzelne zwei Testtagen entsprach. Insgesamt wurden 216 Replikate jeder einzelnen Panelprobe getestet. Genauigkeit und Reproduzierbarkeit wurden gemäß CLSI EP5-A31¹⁴ und CLSI EP15-A32¹⁵ bewertet.

Genauigkeit und Reproduzierbarkeit des HCV VL FS Assays wurden anhand einer geschachtelten ANOVA mit Termen für Zentrum/Instrument, Charge, Tag, Bediener/Durchlauf und Innerhalb eines Durchlaufs bewertet. Die Standardabweichung und die auf jede Komponente der in log₁₀ angegebenen HCV-Konzentrationen zurückgehende prozentuale Variabilität wurden berechnet (siehe Tabelle 5).

Tabelle 5. Genauigkeit und Reproduzierbarkeit des Xpert HCV VL FS Assays

HCV-RNA-Konzentration (log ₁₀ IU/ml)			Beitrag zur Gesamtvarianz SA (VK %)										Gesamtpräzision	
			Zentrum/Inst.		Charge		Tag		Bediener/Durchlauf		Innerhalb eines Durchlaufs			
Erwartet	Tatsächlich	N	SA	(%) ^a	SA	(%) ^a	SA	(%) ^a	SA	(%) ^a	SA	(%) ^a	SA	VK ^b
8,00	7,73	216	0,09	30,2	0,06	16,5	<0,01	<0,1	0,04	7,2	0,11	46,1	0,15	36,8
7,00	6,77	216	0,08	36,8	0,05	15,5	0,04	8,7	0,03	5,1	0,08	33,9	0,14	32,8
5,70	5,68	216	<0,01	<0,1	0,06	27,0	0,02	5,3	0,01	0,7	0,09	66,9	0,11	25,1
4,00	3,88	216	0,09	35,9	0,04	5,9	<0,01	<0,1	0,01	0,8	0,11	57,3	0,15	35,1
3,00	3,00	213 ^c	0,04	11,8	<0,01	<0,1	0,02	3,5	0,01	1,0	0,10	83,7	0,11	26,4
2,00	1,97	216	0,03	2,2	<0,01	<0,1	0,03	2,5	<0,01	<0,1	0,20	95,3	0,20	49,2

- a. (%) steht für den Beitrag der Varianzkomponente zur Gesamtvarianz.
- b. Der VK ist der lognormale VK anhand der folgenden Formel: $\text{Lognormaler VK}(\%) = \sqrt{10^{[SA^2 * \ln(10)]} - 1} * 100$
 VK(%) = prozentualer Variationskoeffizient; SA = Standardabweichung; sqrt = Quadratwurzel
- c. Drei Proben mit den Ergebnissen **FEHLER (ERROR)**, **UNGÜLTIG (INVALID)** bzw. **HCV NICHT ERMITTELT (HCV NOT DETECTED)** wurden ausgeschlossen.

Tabelle 6 enthält die positive prozentuale Übereinstimmung (Positive Percent Agreement, PPA) und negative prozentuale Übereinstimmung (Negative Percent Agreement, NPA) für eine Panelprobe, die auf eine HCV-RNA-Konzentration unterhalb der Quantifizierungsgrenze (d. h. 1,60 log₁₀ IU/ml bzw. 40 IU/ml) abzielt, und eine HCV-negative EDTA-Vollblut-Panelprobe.

Tabelle 6. Positive und negative prozentuale Übereinstimmung für Panelprobe unterhalb der Quantifizierungsgrenze

Erwartete HCV-RNA-Konzentration	Anzahl der Tests mit gültigen Ergebnissen	Positive Ergebnisse	Negative Ergebnisse	Positive prozentuale Übereinstimmung ^a	Negative prozentuale Übereinstimmung ^b	95%-KI ^c
1,60 log ₁₀ IU/ml	215	214	1	99,5		(97,4, 99,9)
Negativ	216	1	215		99,5	(97,4, 99,9)

- a. Positive prozentuale Übereinstimmung = (Anzahl der positiven Ergebnisse/Gesamtzahl der gültigen Tests bei der positiven Panelprobe) × 100
- b. Negative prozentuale Übereinstimmung = (Anzahl der negativen Ergebnisse/Gesamtzahl der gültigen Tests bei der negativen Panelprobe) × 100
- c. Konfidenzintervall berechnet anhand der Wilson-Score-Methode

18.5 Analytische Spezifität (Exklusivität)

Zur Beurteilung der analytischen Spezifität des HCV VL FS Assays wurden potenziell kreuzreagierende Organismen in Eingangskonzentrationen von 1×10^5 KBE/ml, Kopien/ml bzw. TCID₅₀/ml in HCV-negatives EDTA-Vollblut und in EDTA-Vollblut mit 300 IU/ml HCV-Referenzmaterial (anhand des 4. Internationalen Standards für HCV der WHO, NIBSC-Code 06/102, kalibrierter HCV-Genotyp 1b) eingebracht.⁶ Die getesteten Organismen gehen aus Tabelle 7 hervor. Für keinen der getesteten Organismen ergab sich eine Kreuzreaktivität oder Störung der Quantifizierung des HCV VL FS Assays.

Tabelle 7. Organismen für die analytische Spezifität

Viren		Bakterien	Hefen
Banzi-Virus	Humanes Papillomvirus 16	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Candida albicans</i>
BK humanes Polyomavirus	Humanes Papillomvirus 18	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Cytomegalovirus	Humanes T-lymphotropes Virus Typ 1 und 2		
Dengue-Virus	St.-Louis-Enzephalitis-Virus		
Epstein-Barr-Virus	Varicella-Zoster-Virus		
Hepatitis-A-Virus	Vaccinia-Virus		
Hepatitis-B-Virus	Ilheus-Virus		
Herpes-simplex-Virus 1	West-Nil-Virus		
Herpes-simplex-Virus 2	Gelbfieber-Virus		
Humanes Herpesvirus 6	Zika-Virus		
Humanes Herpesvirus 8			
Humanes Immundefizienz-Virus 1			
Humanes Immundefizienz-Virus 2			

18.6 Potenzielle Störsubstanzen

Die Anfälligkeit des HCV VL FS Assays gegenüber Störungen durch erhöhte Konzentrationen von endogenen Substanzen, von Autoimmunerkrankungs-Markern und von Wirkstoffen, die bei HCV-Infizierten verschrieben werden, wurde bewertet. Die Hemmwirkungen wurden sowohl bei Anwesenheit wie bei Abwesenheit von 300 IU/ml HCV-Referenzmaterial (anhand des 4. Internationalen Standards für HCV der WHO, NIBSC-Code 06/102, kalibrierter HCV-Genotyp 1b) bewertet.⁶

Erhöhte Konzentrationen der in Tabelle 8 aufgeführten endogenen Substanzen störten die Quantifizierung des HCV VL FS Assays nachweislich nicht und beeinflussten die Spezifität des Assays nachweislich nicht.

Tabelle 8. Endogene Substanzen und getestete Konzentrationen

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

Die in Tabelle 9 aufgeführten Wirkstoffe störten bei Testung beim Dreifachen der Spitzenkonzentration in fünf Wirkstoff-Pools die Quantifizierung des HCV VL FS Assays nachweislich nicht und beeinflussten die Spezifität des Assays nachweislich nicht.

Tabelle 9. Getestete Wirkstoff-Pools

Pool	Wirkstoffe
1	Zidovudin, Abacavir-sulfat, Saquinavir, Ritonavir, Interferon-alfa 2b, Ombitasvir, Paritaprevir, Dasabuvir
2	Fosamprenavir, Ribavirin, Ledipasvir, Sofosbuvir, Daclatasvir, Simeprevir, Peginterferon-alfa 2a, Peginterferon-alfa 2b
3	Tenofovir-disoproxil-fumarat, Lamivudin, Indinavir-sulfat, Ganciclovir, Acyclovir, Valganciclovir HCl
4	Stavudin, Efavirenz, Lopinavir, Enfuvirtid, Ciprofloxacin, Clarithromycin, Maraviroc
5	Nevirapin, Nelfinavir, Azithromycin, Valacyclovir

Tests mit Proben von zwölf Personen mit Autoimmunstörungen, die im Test positiv für den Marker für systemischen Lupus erythematodes (SLE) waren und von denen sieben außerdem positiv für antinukleäre Antikörper (ANA) waren, sowie Tests mit Proben von acht Personen, die im Test positiv für Rheumafaktor (RF) waren, ergaben keine Störung der Quantifizierung oder der Spezifität des HCV VL FS Assays.

18.7 Serokonversions-Sensitivität

Die diagnostische Sensitivität des HCV VL FS Assays wurde durch Testung von aufeinanderfolgenden Plasmaproben aus zehn Serokonversions-Panels bewertet. Da der HCV VL FS Assay EDTA-Vollblut als Probentyp verwendet, wurde jede Plasmaprobe vor dem Test (im Verhältnis 1:3) in EDTA-Vollblut verdünnt. Der HCV VL FS Assay konnte HCV-RNA bei 53 von 59 Proben nachweisen, gegenüber 22 von 59 Proben, die 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) nachgewiesen wurden. Mit dem HCV VL FS Assay wurde bei allen zehn Panels ein positives HCV-Testergebnis früher als mit dem HCV-Antikörper-Screening erzielt. Die Serokonversions-Sensitivität geht aus Tabelle 10 hervor.

Tabelle 10. Serokonversions-Sensitivität des HCV VL FS Assays

Panelnr.	Anzahl der Proben im Panel	Zeitraum in Tagen	Anzahl der reaktiven Panelproben		Tage bis zum ersten reaktiven Ergebnis		Titer beim ersten reaktiven Ergebnis HCV VL FS (IU/ml) ^a	Tage zwischen dem ersten reaktiven Ergebnis mit dem Xpert und einem beliebigen Anti-körper-Test
			HCV VL FS	Anti-körper-Test ^b	HCV VL FS	Anti-körper-Test ^b		
PHV913	4	9	4	2	0 ^c	7	1,18E+03	7
PHV915	4	14	4	2	0 ^c	12	5,10E+01	12
PHV920M	10	35	10	9	0 ^c	7	1,19E+06	7
PHV922	6	17	6	5	0 ^c	3	1,57E+06	3
PHV924	6	88	6	3	0 ^c	59	3,81E+06	59
PHV925	5	27	5	1	0 ^c	27	1,33E+06	27
PHV926	5	14	5	1	0 ^c	14	1,13E+05	14
PHV927	5	17	4	0	4	17 ^d	6,66E+02	13
PHV928	9	50	7	0	29	50 ^d	5,40E+01	21
PHV929	6	22	3	0	14	22 ^d	2,36E+03	8

- a. Der Titer aus den Rohdaten wurde mit dem Faktor drei (3) multipliziert, um die Verdünnung in Vollblut zu berücksichtigen.
- b. Antikörper-Test anhand der Daten der Lieferanten: Abbott ARCHITECT HCV Ab, Abbott PRISM HCV Ab, Ortho Version 3.0 ELISA HCV Ab, Ortho HCV 3.0 ELISA Testsystem mit Enhanced SAVE, Ortho Vitros ECI, Siemens ADIVA Centaur.
- c. Alle Blutentnahmen wurden mit dem HCV VL FS Assay nachgewiesen.
- 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.

19 Leistungsmerkmale – Klinische Leistungsfähigkeit

19.1 Spezifität bei normalen, gesunden Blutspendern

Die Spezifität des HCV VL FS Assays wurde anhand von 500 EDTA-Vollblutproben von HCV-negativen Blutspendern bewertet. HCV-RNA wurde in keiner der 500 mit dem Xpert HCV VL FS Assay getesteten Proben nachgewiesen, was einer Spezifität von 100 % (95%-KI = 99,2-100) entspricht. Die Quote unbestimmter Ergebnisse für den Xpert HCV VL FS Assay bei gesunden Spendern von Humanblut betrug 1,0 % (5/505).

19.2 Klinische Leistungsfähigkeit

Eine multizentrische Studie wurde durchgeführt, um die Leistungsfähigkeit des Xpert HCV VL FS Assays mit kapillären und venösen Vollblutproben von Personen mit hohem Risiko für eine HCV-Infektion und von HCV-Infizierten relativ zu einer quantitativen HCV-RNA-Vergleichsmethode in EDTA-Plasma zu bewerten.

Von den 930 aufnahmefähige Probanden waren 621 (66,8 %) männlich und 309 (33,2 %) weiblich. Das durchschnittliche Alter betrug $48,8 \pm 12,6$ Jahre mit einem Altersbereich von 18 bis 84 Jahre.

Leistungsfähigkeit in einer Hochrisiko-Population

Sensitivität und Spezifität des Xpert HCV VL FS Assays wurden anhand von Proben beurteilt, die von Personen entnommen wurden, die als von einer HCV-Infektion gefährdet galten. Tabelle 11 enthält die Leistungsfähigkeit des Xpert HCV VL FS Assay anhand von kapillären und venösen Vollblutproben relativ zu einer quantitativen HCV-RNA-Vergleichsmethode, für die EDTA-Plasma aus der gleichen Probe verwendet wurde. Die Tabelle zeigt darüber hinaus die Leistungsfähigkeit des Xpert HCV VL FS Assays anhand von kapillären und venösen Vollblutproben im Vergleich zum Xpert HCV VL Assay mit EDTA-Plasma aus der gleichen Probe.

Tabelle 11. Leistungsfähigkeit des Xpert HCV VL FS Assays gegenüber zwei HCV-RNA-Vergleichsmethoden in einer HCV-Hochrisiko-Population

	N	RP ^a	FP ^b	RN ^c	FN ^d	Sensitivität (%)	95%-KI der Sensitivität (%)	Spezifität (%)	95%-KI der Spezifität (%)
HCV VL FS kapillär gegenüber Vergleichsmethode (Plasma)	339	54	0	283	2	96,4	87,9 – 99,0	100	98,7 – 100
HCV VL FS venös gegenüber Vergleichsmethode (Plasma)	352	55	0	295	2	96,5	88,1 – 99,0	100	98,7 – 100
HCV VL FS kapillär gegenüber HCV VL (Plasma)	339	54	0	278	7	88,5	78,2 – 94,3	100	98,6 – 100
HCV VL FS venös gegenüber HCV VL (Plasma)	352	55	0	290	7	88,7	78,5 – 94,4	100	98,7 – 100

- a. Richtig positiv
- b. Falsch positiv
- c. Richtig negativ
- d. Falsch negativ

Methodenkorrelation

Für 881 der Proben von insgesamt 930 Probanden lagen gültige Testergebnisse sowohl mit dem Xpert HCV VL FS Assay mit kapillärem Vollblut als auch mit der HCV-RNA-Vergleichsmethode vor, wobei die Gesamtübereinstimmung 97,8 % (862/881) betrug. Von den 881 lagen 429 innerhalb des Quantifizierungsbereichs beider Assays. Das Ergebnis der Analyse mittels Deming-Regression geht aus der nachstehenden Abbildung 6 hervor.

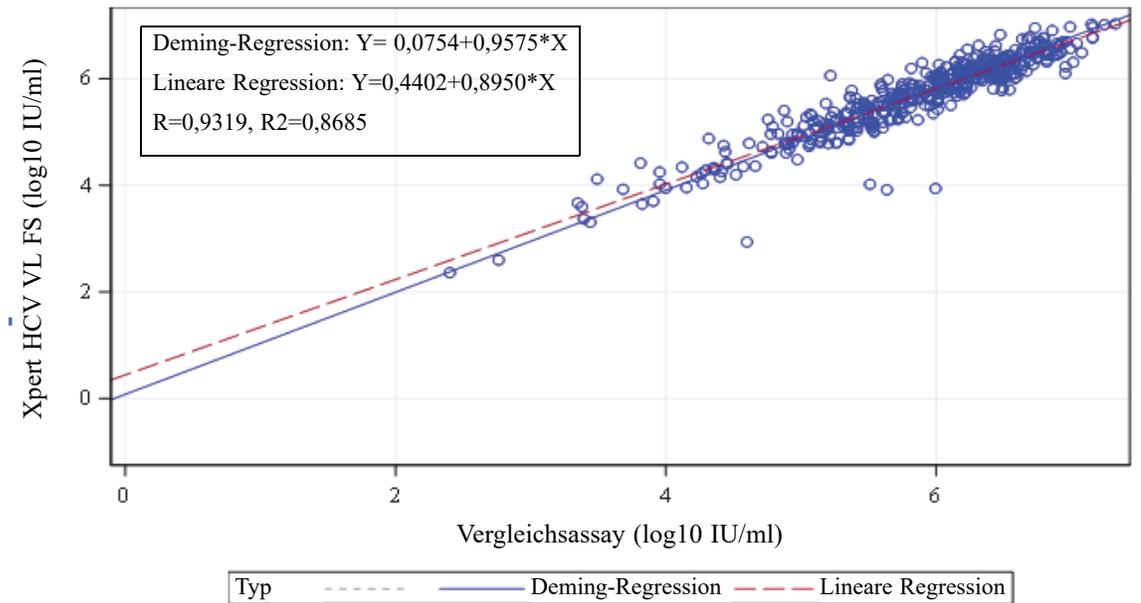


Abbildung 6. Xpert HCV VL FS Assay (kapilläres Vollblut) gegenüber HCV-RNA-Vergleichsmethode (EDTA-Plasma)

Für 920 der Proben von insgesamt 930 Probanden lagen gültige Testergebnisse sowohl mit dem Xpert HCV VL FS Assay mit venösem Vollblut als auch mit der Vergleichsmethode vor, wobei die Gesamtübereinstimmung 97,7 % (899/920) betrug. Von den 920 lagen 447 innerhalb des Quantifizierungsbereichs beider Assays. Das Ergebnis der Analyse mittels Deming-Regression geht aus der nachstehenden Abbildung 7 hervor.

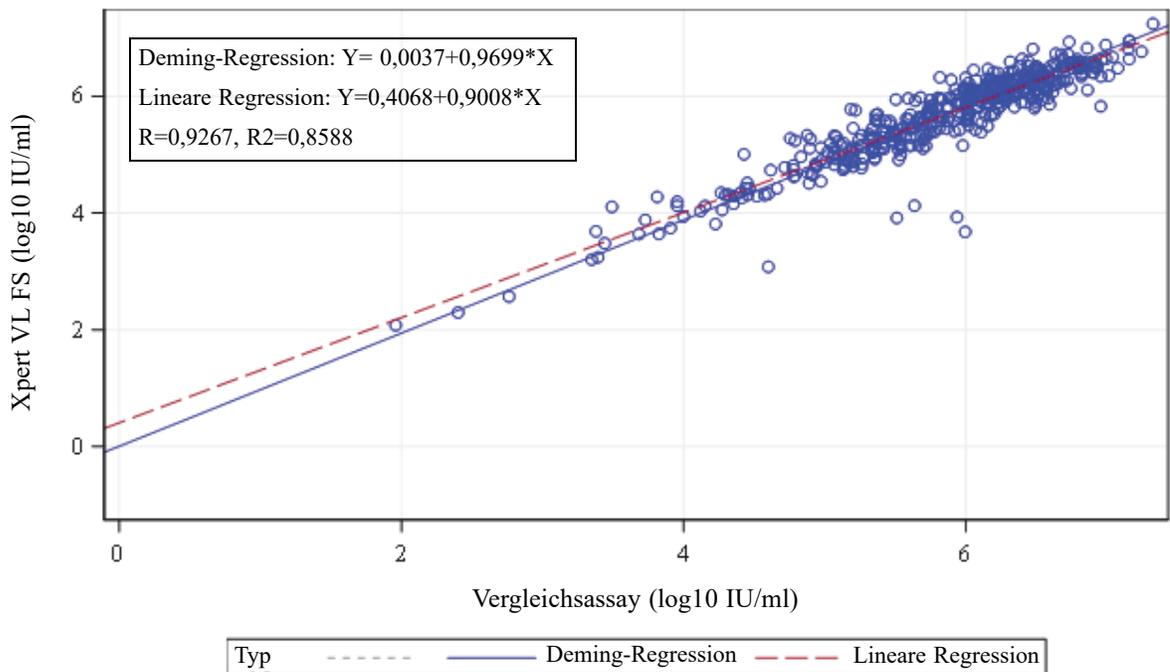


Abbildung 7. Xpert HCV VL FS Assay (venöses Vollblut) gegenüber HCV-RNA-Vergleichsmethode (EDTA-Plasma)

Für 885 der Proben von insgesamt 930 Probanden lagen gültige Testergebnisse sowohl mit dem Xpert HCV VL FS Assay mit kapillärem Vollblut als auch mit dem Xpert HCV VL Assay mit EDTA-Plasma vor, wobei die Gesamtübereinstimmung 97,4 % (862/885) betrug. Von den 885 lagen 433 innerhalb des Quantifizierungsbereichs beider Assays. Das Ergebnis der Analyse mittels Deming-Regression geht aus der nachstehenden Abbildung 8 hervor.

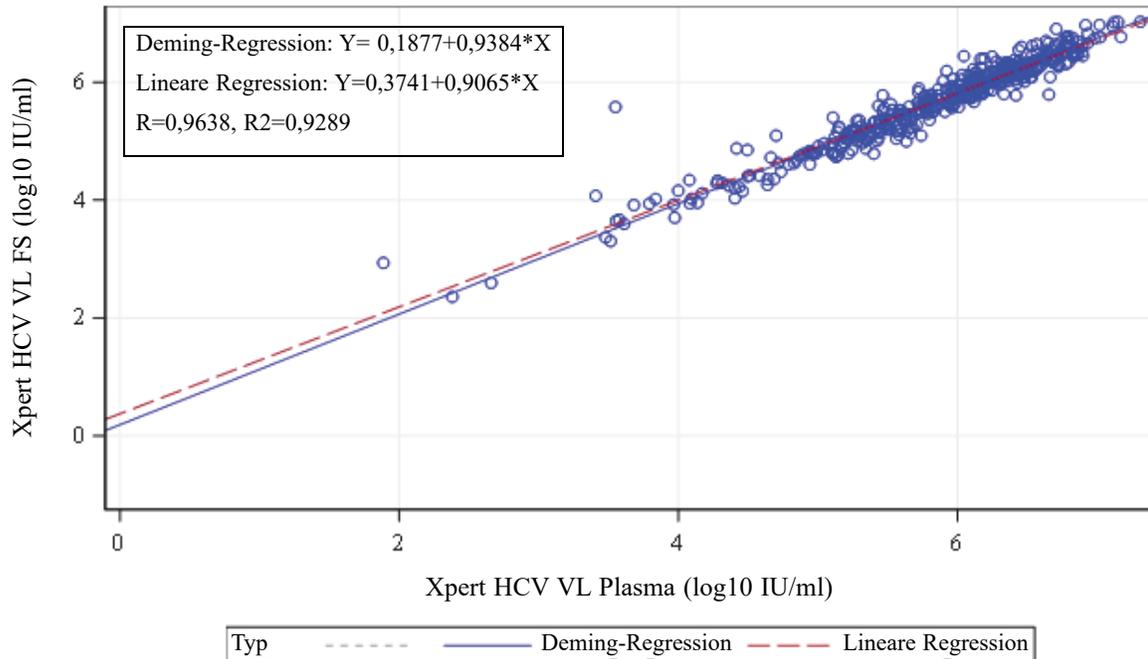


Abbildung 8. Xpert HCV VL FS Assay (kapilläres Vollblut) gegenüber Xpert HCV VL (EDTA-Plasma)

Für 927 der Proben von insgesamt 930 Probanden lagen gültige Testergebnisse sowohl mit dem Xpert HCV VL FS Assay mit venösem Vollblut als auch mit dem Xpert HCV VL Assay mit EDTA-Plasma vor, wobei die Gesamtübereinstimmung 97,6 % (905/927) betrug. Von den 927 lagen 453 innerhalb des Quantifizierungsbereichs beider Assays. Das Ergebnis der Analyse mittels Deming-Regression geht aus der nachstehenden Abbildung 9 hervor.

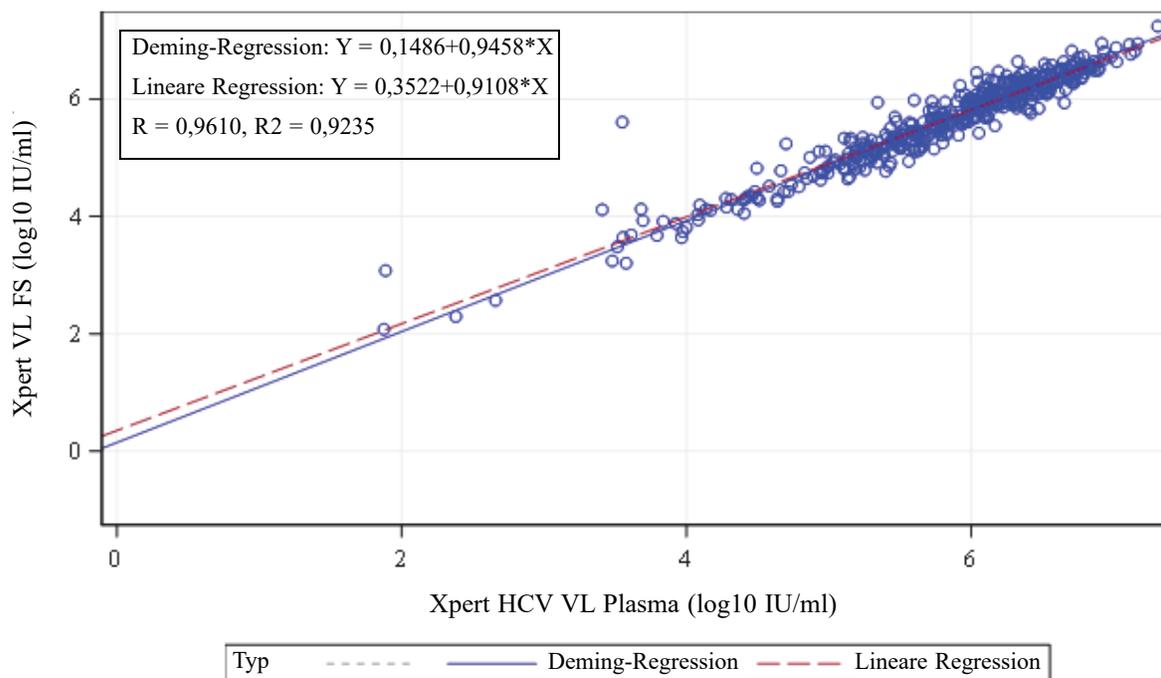


Abbildung 9. Xpert HCV VL FS Assay (venöses Vollblut) gegenüber Xpert HCV VL (EDTA-Plasma)

20 Literatur

1. Di Bisceglie AM. *Natural history of Hepatitis C: its impact on clinical management*. Hepatology 2000; 31:1014-1018.
2. World Health Organisation. Global hepatitis report, 2017. WHO. April 2017.
3. Hepatitis C FAQs for Health Professionals, accessed March 5, 2018 at <http://www.cdc.gov/hepatitis/hcv/hcvqaq.htm>.
4. Hepatitis C Fact Sheet No 164 Updated October 2017, accessed March 5, 2018 at <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/>.
5. EASL Recommendation on Treatment of Hepatitis C. J. Hepatology 2017; vol. 66:153- 194.
6. The 4th WHO International Standard for Hepatitis C Virus for Nucleic Acid Amplification Techniques (NIBSC code: 06/102). National Institute for Biological Standards and Control; 2014.
7. Centers for Disease Control and Prevention. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (5th edition), accessed March 5, 2018 at <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections, Approved Guideline*. Document M29 (refer to latest edition).
9. World Health Organization. Safe management of wastes from health-care activities. 2nd Edition. WHO, 2014. Accessed April 20, 2018 at http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/wastemanag/en/.
10. 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, and amending Regulation (EC) No 1907/2006.
11. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 CFR, part 1910, subpart Z).
12. 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.
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.
14. 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.
15. 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.

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 Kundendiensts von Cepheid finden Sie auf unserer Website:
www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

23 Symbolerklärung

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



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Schweden



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



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

