

## **cobas<sup>®</sup> HCV**

---

### **Quantitativer Nukleinsäuretest zur Verwendung auf den cobas<sup>®</sup> 6800/8800 Systems**

*In-vitro-Diagnostikum*

**cobas<sup>®</sup> HCV**

P/N: 06997732190

**cobas<sup>®</sup> HBV/HCV/HIV-1 Control Kit**

P/N: 06997767190

**cobas<sup>®</sup> NHP Negative Control Kit**

P/N: 07002220190

# Inhaltsverzeichnis

<b>Verwendungszweck .....</b>	<b>4</b>
<b>Zusammenfassung und Erklärung des Tests .....</b>	<b>4</b>
<b>Reagenzien und Materialien .....</b>	<b>7</b>
cobas® HCV-Reagenzien und Kontrollen .....	7
cobas omni-Reagenzien für die Probenvorbereitung .....	10
Lagerung und Handhabung der Reagenzien .....	11
Zusätzlich benötigte Materialien .....	12
Benötigte Geräte und Software .....	12
<b>Vorsichtsmaßnahmen und ordnungsgemäße Handhabung .....</b>	<b>13</b>
Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen .....	13
Umgang mit Reagenzien .....	14
Gute Laborpraxis .....	14
<b>Entnahme, Transport und Lagerung von Proben .....</b>	<b>14</b>
Proben .....	15
<b>Gebrauchsanleitung .....</b>	<b>16</b>
Hinweise zum Verfahren .....	16
Durchführen des cobas® HCV-Tests .....	16
<b>Ergebnisse .....</b>	<b>17</b>
Qualitätskontrolle und Gültigkeit der Ergebnisse .....	17
Interpretation der Ergebnisse .....	18
Verfahrenseinschränkungen .....	19
<b>Nichtklinische Leistungsmerkmale .....</b>	<b>20</b>
Wichtigste Leistungsmerkmale .....	20
Nachweisgrenze (LoD) .....	20
Linearer Bereich .....	22
Laborinterne Präzision .....	25

---

Genotypverifizierung .....	27
Spezifität.....	30
Analytische Spezifität .....	30
Analytische Spezifität – Störsubstanzen .....	31
Korrelation der Methode .....	33
Äquivalenzerhebung: EDTA-Plasma gegen Serum .....	34
Gesamtsystemausfall .....	35
Kreuzkontamination .....	35
<b>Weitere Informationen .....</b>	<b>36</b>
Wichtigste Leistungsmerkmale des Tests .....	36
Symbole .....	37
Herstellung und Vertrieb .....	38
Marken und Patente.....	38
Copyright.....	38
Literatur .....	39
Dokumentversion.....	41

## Verwendungszweck

Der **cobas**® HCV-Test ist ein *in-vitro*-Nukleinsäure-Amplifikationstest, der sowohl zur Detektion als auch zur quantitativen Bestimmung von Hepatitis-C-(HCV-)RNA der Genotypen 1 bis 6 in EDTA-Plasma oder Serum von HCV-infizierten Personen vorgesehen ist.

**cobas**® HCV ist als Hilfsmittel bei der Diagnose von HCV-Infektionen in den folgenden Gruppen vorgesehen: Personen mit Evidenz einer Lebererkrankung und HCV-Antikörpern, Personen mit Verdacht auf eine aktive Infektion und HCV-Antikörper-Evidenz und Personen mit HCV-Antikörper-Evidenz, bei denen das Risiko einer HCV-Infektion besteht. Die Detektion von HCV-RNA weist auf ein replizierendes Virus hin und ist daher ein Nachweis für eine aktive Infektion.

Der Test ist in Verbindung mit dem klinischen Bild und weiteren Labormarkern einer HCV-Infektion für das Management von Patienten mit chronischer HCV-Infektion bestimmt. Mit dem Test kann die Wahrscheinlichkeit eines anhaltenden virologischen Ansprechens (*sustained virologic response*, SVR) zu einem frühen Zeitpunkt der antiviralen Therapie vorhergesagt und das virologische Ansprechen auf eine antivirale Behandlung anhand der Veränderungen der HCV-RNA-Konzentration im Serum oder EDTA-Plasma beurteilt werden (*response-guided therapy*, RGT). Die Ergebnisse müssen im Kontext aller relevanten klinischen Befunde und Laborwerte interpretiert werden.

## Zusammenfassung und Erklärung des Tests

### Hintergrund

Das Hepatitis-C-Virus (HCV) gilt in 90 bis 95 % aller Fälle von Post-Transfusions-Hepatitis als der primär verantwortliche Erreger.<sup>1-4</sup> HCV ist ein positivsträngiges Einzelstrang-RNA-Virus, dessen Genom etwa 9.500 Nukleotide umfasst, die 3.000 Aminosäuren kodieren. HCV ist ein hämatogenes Virus, das über Blut und Blutprodukte übertragen werden kann. Der weit verbreitete Einsatz von HCV-Blut-Screeningtests hat das Risiko transfusionsbedingter Hepatitis deutlich reduziert. Besonders häufig sind HCV-Infektionen bei intravenösem Drogenmissbrauch sowie in geringerem Ausmaß bei sonstiger perkutaner Exposition.<sup>4</sup>

Die quantitative Bestimmung der HCV-RNA zur Messung der anfänglichen Viruslast und zur Therapiekontrolle ist gut etabliert und eignet sich nachweislich dazu, die Wirksamkeit einer antiviralen Kombinationstherapie mit pegyliertem Interferon und Ribavirin (pegIFN/RBV) zu beurteilen.<sup>5-9</sup> Leitlinien für die HCV-Therapie<sup>10,11</sup> empfehlen die quantitative Bestimmung der HCV-RNA vor dem Beginn der antiviralen Therapie, in bestimmten Abständen während der Therapie (RGT) sowie ab 12 Wochen nach Ende der Therapie.

Behandlungsziel ist die mit einem sensitiven Test nachweisbare Abwesenheit von HCV-RNA 12 Wochen nach Behandlungsende, da dies darauf schließen lässt, dass ein anhaltendes virologisches Ansprechen (SVR) erzielt wurde.<sup>10</sup>

Die Bestimmung der viralen Kinetik während der Therapie wird auch zur individuellen Anpassung der Therapiedauer bei Anwendung von in jüngerer Zeit neu zugelassenen direkt wirksamen antiviralen Wirkstoffen, den Proteaseinhibitoren Telaprevir und Boceprevir, eingesetzt.<sup>12-15</sup>

## Nutzen von HCV-Tests

Trotz der sehr dynamischen und gut gefüllten Drug-Discovery-Pipeline für weitere HCV-Therapien bleibt die Überwachung der Viruslast der Labortest der Wahl, um zu bestätigen, dass der Einsatz direkt wirksamer antiviraler Wirkstoffe, beispielsweise Proteaseinhibitoren der zweiten Generation, nukleosidische Inhibitoren der HCV-Polymerase und anderen antiviralen Wirkmechanismen, zu einem SVR geführt hat.<sup>16-19</sup>

Der **cobas**® HCV-Test zur Verwendung auf den **cobas**® 6800/8800 Systems ist ein Test zur quantitativen Bestimmung von HCV-RNA und viraler Kinetik zum Einsatz in Laboren, die an klinischen Studien mitwirken oder die routinemäßige Behandlung von HCV-Patienten in der klinischen Praxis unterstützen.

## Erklärung des Tests

Der **cobas**® HCV-Test ist ein quantitativer Test zur Verwendung auf dem **cobas**® 6800 System und dem **cobas**® 8800 System. Der **cobas**® HCV-Test ermöglicht den Nachweis und die quantitative Bestimmung von HCV-RNA in EDTA-Plasma oder Serum von Infizierten. Anhand von zwei Sonden werden die Genotypen 1 bis 6 nachgewiesen und quantifiziert, nicht jedoch differenziert. Zur quantitativen Bestimmung der Viruslast dient ein nicht aus HCV stammender Armored-RNA-Quantifizierungsstandard (RNA-QS), der bei der Probenvorbereitung jeder Probe zugegeben wird. Der RNA-QS fungiert auch als interne Kontrolle, mit der der gesamte Prozess der Probenvorbereitung und PCR-Amplifikation überwacht wird. Zusätzlich kommen bei dem Test drei externe Kontrollen zum Einsatz: eine Positivkontrolle mit hohem Titer, eine Positivkontrolle mit niedrigem Titer und eine Negativkontrolle.

## Testprinzipien

Der **cobas**® HCV-Test beruht auf einer vollautomatisierten Probenvorbereitung (Extraktion und Aufreinigung der Nukleinsäuren) gefolgt von PCR-Amplifikation und Detektion. Die **cobas**® 6800/8800 Systems bestehen aus einem Probenzufuhrmodul, einem Transfermodul, einem Aufarbeitungsmodul und einem Analysenmodul. Die automatisierte Datenverwaltung erfolgt über die **cobas**® 6800/8800 Software, die die Ergebnisse aller Tests als 'nicht nachgewiesen', 'unter unterer Quantifizierungsgrenze', 'über oberer Quantifizierungsgrenze' oder 'HCV-RNA nachgewiesen' einstuft. Im letzteren Fall liegt das Ergebnis im linearen Bereich von 'untere Quantifizierungsgrenze < x < obere Quantifizierungsgrenze'. Die Ergebnisse können direkt am Bildschirm des Systems eingesehen, exportiert und als Bericht gedruckt werden.

In der Patientenprobe enthaltene Nukleinsäure, externe Kontrollen und hinzugegebene RNA-QS-Moleküle werden gleichzeitig extrahiert. Die viralen Nukleinsäuren werden schließlich durch Zugabe von Proteinase und Lysereagenz zur Probe freigesetzt. Die freigesetzte Nukleinsäure bindet an die Siliziumdioxid-Oberfläche der hinzugefügten magnetischen Glaspartikel. Nicht gebundene Substanzen und Verunreinigungen, beispielsweise denaturiertes Protein, Zelltrümmer und potenzielle PCR-Inhibitoren werden durch anschließende Waschreagenzschritte entfernt. Die aufgereinigte Nukleinsäure wird danach mit einem Elutionspuffer bei erhöhter Temperatur von den Glaspartikeln gelöst.

Zur selektiven Amplifikation der Zielnukleinsäure aus der Patientenprobe werden virusspezifische Forward- und Reverse-Primer eingesetzt, die aus hochkonservierten Regionen des HCV-Genoms ausgewählt wurden. Zur selektiven Amplifikation des RNA-QS werden speziell ausgewählte, sequenzspezifische Forward- und Reverse-Primer eingesetzt, die keine Homologien mit dem HCV-Genom aufweisen. Für die reverse Transkription und die PCR-Amplifikation wird ein thermostabiles DNA-Polymeraseenzym eingesetzt. Die Ziel- und RNA-QS-Sequenzen werden unter Verwendung eines universellen PCR-Amplifikationsprofils mit vordefinierten Temperaturschritten und vordefinierter Zyklusanzahl

gleichzeitig amplifiziert. Der Master-Mix enthält anstelle von Desoxythymidintriphosphat (dTTP) Desoxyuridin-triphosphat (dUTP), das in die neu synthetisierte DNA (Amplifikat) eingebaut wird.<sup>20-22</sup> Etwaige Verunreinigungen durch Amplifikate aus vorherigen PCR-Läufen werden im ersten thermozyklischen Schritt durch das im PCR-Mix enthaltene Enzym AmpErase eliminiert. Neu gebildete Amplifikate dagegen werden nicht eliminiert, da das AmpErase-Enzym durch Temperaturen über 55 °C inaktiviert wird.

Der **cobas**® HCV-Master-Mix enthält zwei Detektionssonden, die für die HCV-Zielsequenzen spezifisch sind (sog. „Dual Probe“-Prinzip), und eine, die für den RNA-QS spezifisch ist. Die Sonden sind mit zielspezifischen fluoreszierenden Reporterfarbstoffen markiert, die den gleichzeitigen Nachweis der HCV-Zielsequenz und des RNA-QS in zwei verschiedenen Zielkanälen gestatten.<sup>23,24</sup> Das Fluoreszenzsignal der intakten, nicht an die Zielsequenz gebundenen Sonde wird durch einen Quencher-Farbstoff unterdrückt. Während des PCR-Amplifikationsschritts werden die Sonden an die betreffenden einsträngigen DNA-Templates hybridisiert, was zur Spaltung der Sonde durch die 5'-3'-Nukleaseaktivität der DNA-Polymerase führt. Dadurch kommt es zur Abtrennung des Reporter- und Quencher-Farbstoffs, und es entsteht ein Fluoreszenzsignal. Mit jedem PCR-Zyklus werden zunehmende Mengen gespaltener Sonden erzeugt, und das kumulative Signal des Reporterfarbstoffs steigt entsprechend an. Die Echtzeit-Detektion und Unterscheidung der PCR-Produkte wird durch Messen der Fluoreszenz der freigesetzten Reporterfarbstoffe erreicht, die die Viruszielsequenzen und den RNA-QS repräsentieren.

# Reagenzien und Materialien

## cobas® HCV-Reagenzien und Kontrollen

Sämtliche ungeöffneten Reagenzien und Kontrollen sollten wie in Tabelle 1 bis Tabelle 4 empfohlen gelagert werden.

**Tabelle 1** cobas® HCV

<b>cobas® HCV</b> Bei 2–8 °C lagern. Kassette mit 96 Tests (P/N 06997732190)		
<b>Kitkomponenten</b>	<b>Reagenzienbestandteile</b>	<b>Menge je Kit 96 Tests</b>
<b>Proteinase-Lösung (PASE)</b>	Tris-Puffer, < 0,05 % EDTA, Kalziumchlorid, Kalziumazetat, 8 % (Massenvol.-%) Proteinase  EUH210: Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich. EUH208: Kann allergische Reaktionen hervorrufen. Enthält: Subtilisin, 9014-01-1	13 ml
<b>RNA-Quantifizierungs- standard (RNA-QS)</b>	Tris-Puffer, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % nicht aus HCV stammendes Armored-RNA-Konstrukt mit primer- und sondenspezifischen Primer-Sequenzregionen (nicht-infektiöse RNA aus MS2-Bakteriophage), < 0,1 % Natriumazid	13 ml
<b>Elutionspuffer (EB)</b>	Tris-Puffer, 0,2 % Methyl-4-Hydroxybenzoat	13 ml
<b>Master-Mix-Reagenz 1 (MMX-R1)</b>	Manganacetat, Kaliumhydroxid, < 0,1 % Natriumazid	5,5 ml
<b>HCV-Master-Mix- Reagenz 2 (HCV MMX-R2)</b>	Tricin-Puffer, Kaliumacetat, 18 % Dimethylsulfoxid, Glycerin, < 0,1 % Tween 20, EDTA, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP und dUTP, < 0,01 % Upstream- und Downstream-HCV-Primer, < 0,01 % Quantifizierungsstandard-Forward- und -Reverse- Primer, < 0,01 % fluoreszenzmarkierte, für HCV bzw. den HCV-Quantifizierungsstandard spezifische Oligonukleotid- sonden, < 0,01 % Oligonukleotid-Aptamer, < 0,01 % Z05D- DNA-Polymerase, < 0,1 % AmpErase-Enzym (Uracil-N- Glykosylase, mikrobiell), < 0,1 % Natriumazid	6 ml

Tabelle 2 cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

**cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit**

Bei 2–8 °C lagern.

(P/N: 06997767190)

Kitkomponenten	Reagenzienbestandteile	Menge je Kit	Sicherheitssymbole und -hinweise*
<b>Schwach positive HBV/HCV/HIV-1- Kontrolle (HBV/HCV/HIV-1 L(+))C)</b>	<p>&lt; 0,001 % in Bakteriophagen-Hüllprotein MS2 verkapselte Armored-RNA der HIV-1 Gruppe M, &lt; 0,001 % in Lambda-Bakteriophagen-Hüllprotein verkapselte synthetische (Plasmid-)HBV-DNA, &lt; 0,001 % in MS2-Bakteriophagen-Hüllprotein verkapselte synthetische (Armored) HCV-RNA; Humanplasma, das in zugelassenen Tests nicht reaktiv auf HCV-Antikörper, HIV-1/2-Antikörper, HBsAg oder HBc-Antikörper war und in dem mittels PCR-Methoden keine HIV-1-RNA, HIV-2-RNA, HCV-RNA, HBV-DNA, HEV-RNA, WNV-RNA und CMV-DNA nachgewiesen werden konnte.</p> <p>0,1 % ProClin® 300 als Konservierungsmittel</p>	5,2 ml (8 x 0,65 ml)	  <p>Warnung</p> <p>H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen.</p> <p>P261: Einatmen von Staub/Rauch/Gas/ Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden.</p> <p>P272: Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen.</p> <p>P280: Schutzhandschuhe tragen.</p> <p>P302 + P352: BEI KONTAKT MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen.</p> <p>P333 + P313: Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.</p> <p>P363: Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen.</p>
<b>Hoch positive HBV/HCV/HIV-1- Kontrolle (HBV/HCV/HIV-1 H(+))C)</b>	<p>&lt; 0,001 % in Bakteriophagen-Hüllprotein MS2 verkapselte synthetische (Armored) RNA der HIV-1 Gruppe M mit hohem Titer, &lt; 0,001 % in Lambda-Bakteriophagen-Hüllprotein verkapselte synthetische (Plasmid-)HBV-DNA, &lt; 0,001 % in MS2-Bakteriophagen-Hüllprotein verkapselte synthetische (Armored) HCV-RNA; Humanplasma, das in zugelassenen Tests nicht reaktiv auf HCV-Antikörper, HIV-1/2-Antikörper, HBsAg oder HBc-Antikörper war und in dem mittels PCR-Methoden keine HIV-1-RNA, HIV-2-RNA, HCV-RNA, HBV-DNA, HEV-RNA, WNV-RNA und CMV-DNA nachgewiesen werden konnte.</p> <p>0,1 % ProClin® 300 als Konservierungsmittel</p>	5,2 ml (8 x 0,65 ml)	  <p>Warnung</p> <p>H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen.</p> <p>P261: Einatmen von Staub/Rauch/Gas/ Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden.</p> <p>P272: Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen.</p> <p>P280: Schutzhandschuhe tragen.</p> <p>P302 + P352: BEI KONTAKT MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen.</p> <p>P333 + P313: Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.</p> <p>P363: Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen.</p>

\* Die Sicherheitskennzeichnung der Produkte erfolgt in erster Linie gemäß GHS-Verordnung der EU.

**Tabelle 3** cobas® NHP Negative Control Kit**cobas® NHP Negative Control Kit**

Bei 2–8 °C lagern.

(P/N 07002220190)

Kitkomponenten	Reagenzienbestandteile	Menge je Kit	Sicherheitssymbole und -hinweise*
<b>Normal-Humanplasma-Negativkontrolle (NHP-NC)</b>	Humanplasma, das in zugelassenen Tests nicht reaktiv auf HCV-Antikörper, HIV-1/2-Antikörper, HBsAg und HBc-Antikörper war und in dem mittels PCR-Methoden keine HIV-1-RNA, HIV-2-RNA, HCV-RNA, HBV-DNA, HEV-RNA, WNV-RNA und CMV-DNA nachgewiesen werden konnte.  < 0,1 % ProClin® 300 als Konservierungsmittel	16 ml (16 x 1 ml)	  Warnung H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen. P261: Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. P272: Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen. P280: Schutzhandschuhe tragen. P302 + P352: BEI KONTAKT MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen. P333 + P313: Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen. P363: Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen.

\* Die Sicherheitskennzeichnung der Produkte erfolgt in erster Linie gemäß GHS-Verordnung der EU.

## cobas omni-Reagenzien für die Probenvorbereitung

Tabelle 4 cobas omni Reagenzien für die Probenvorbereitung\*

Reagenzien	Reagenzienbestandteile	Menge je Kit	Sicherheitssymbole und -hinweise**
<b>cobas omni MGP Reagent (MGP)</b> Bei 2–8 °C lagern. (P/N: 06997546190)	Magnetische Glaspartikel, Tris-Puffer, 0,1 % Methyl-4 Hydroxybenzoat, < 0,1 % Natriumazid	480 Tests	keine Entsprechung
<b>cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL)</b> Bei 2–8 °C lagern. (P/N: 06997511190)	Tris-Puffer, 0,1 % Methyl-4 Hydroxybenzoat, < 0,1 % Natriumazid	4 x 875 ml	keine Entsprechung
<b>cobas omni Lysis Reagent (LYS)</b> Bei 2–8 °C lagern. (P/N: 06997538190)	43 % (Gew.-%) Guanidinthiocyanat, 5 % (Massenvol.-%) Polydocanol, 2 % (Massenvol.-%) Dithiothreitol, Dihydro-Natriumcitrat	4 x 875 ml	 <p>Gefahr</p> <p>H302 + H332: Gesundheitsschädlich bei Verschlucken oder Einatmen.</p> <p>H318: Verursacht schwere Augenschäden.</p> <p>H412: Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.</p> <p>EUH032: Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.</p> <p>P301 + P312: BEI VERSCHLUCKEN: Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.</p> <p>P264: Nach Gebrauch Haut gründlich waschen.</p> <p>P270: Bei Gebrauch nicht essen, trinken oder rauchen.</p> <p>P273: Freisetzung in die Umwelt vermeiden.</p> <p>P280: Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.</p> <p>P305 + P351 + P338: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen.</p> <p>P310: Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.</p> <p>P330: Mund ausspülen.</p>
<b>cobas omni Wash Reagent (WASH)</b> Bei 15–30°C lagern. (P/N: 06997503190)	Natriumcitratdihydrat, 0,1 % Methyl-4-Hydroxybenzoat	4,2 l	keine Entsprechung

\* Diese Reagenzien sind nicht Bestandteil des cobas® HCV-Testkits. Siehe Liste der zusätzlich benötigten Materialien (Tabelle 7).

\*\*Die Sicherheitskennzeichnung der Produkte erfolgt in erster Linie gemäß GHS-Verordnung der EU.

## Lagerung und Handhabung der Reagenzien

Reagenzien müssen wie in Tabelle 5 und Tabelle 6 angegeben gelagert und gehandhabt werden.

Reagenzien außerhalb der cobas® 6800/8800 Systems bei der in Tabelle 5 angegebenen Temperatur lagern.

**Tabelle 5** Reagenzienlagerung (wenn sich das Reagenz nicht im System befindet)

Reagenz	Lagertemperatur
cobas® HCV	2–8 °C
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	2–8 °C
cobas® NHP Negative Control Kit	2–8 °C
cobas omni Lysis Reagent	2–8 °C
cobas omni MGP Reagent	2–8 °C
cobas omni Specimen Diluent	2–8 °C
cobas omni Wash Reagent	15–30 °C

Reagenzien in den cobas® 6800/8800 Systems werden bei angemessenen Temperaturen aufbewahrt und ihr Verfallsdatum wird vom System überwacht. Die cobas® 6800/8800 Systems lassen die Verwendung der Reagenzien nur zu, wenn alle in Tabelle 6 angegebenen Bedingungen erfüllt sind. Das System verhindert automatisch die Verwendung von abgelaufenen Reagenzien. In Tabelle 6 sind die Bedingungen für die Reagenzhandhabung aufgeführt, die von den cobas® 6800/8800 Systems geprüft werden.

**Tabelle 6** Stabilitätsbedingungen für Reagenzien, die von den cobas® 6800/8800 Systems geprüft werden

Reagenz	Verfallsdatum des Kits	Kithaltbarkeit nach dem Öffnen	Anzahl der Läufe, für die dieses Kit verwendet werden kann	Haltbarkeit im Gerät (kumulative Zeit im Gerät außerhalb der Kühlung)
cobas® HCV	Datum nicht überschritten	30 Tage ab erstem Gebrauch	Max. 10 Läufe	Max. 8 Stunden
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	Datum nicht überschritten	keine Entsprechung	keine Entsprechung	Max. 8 Stunden
cobas® NHP Negative Control Kit	Datum nicht überschritten	keine Entsprechung	keine Entsprechung	Max. 10 Stunden
cobas omni Lysis Reagent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden*	keine Entsprechung	keine Entsprechung
cobas omni MGP Reagent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden*	keine Entsprechung	keine Entsprechung
cobas omni Specimen Diluent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden*	keine Entsprechung	keine Entsprechung
cobas omni Wash Reagent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden*	keine Entsprechung	keine Entsprechung

\* Zeit ab dem ersten Zeitpunkt, zu dem das Reagenz in die cobas® 6800/8800 Systems geladen wird

## Zusätzlich benötigte Materialien

**Tabelle 7** Materialien und Verbrauchsmaterialien zur Verwendung auf den **cobas**® 6800/8800 Systems

Material	P/N
<b>cobas omni</b> Processing Plate	05534917001
<b>cobas omni</b> Amplification Plate	05534941001
<b>cobas omni</b> Pipette Tips	05534925001
<b>cobas omni</b> Liquid Waste Container	07094388001
<b>cobas omni</b> Lysis Reagent	06997538190
<b>cobas omni</b> MGP Reagent	06997546190
<b>cobas omni</b> Specimen Diluent	06997511190
<b>cobas omni</b> Wash Reagent	06997503190
Beutel für Festabfälle	07435967001
Festabfallbehälter	07094361001

## Benötigte Geräte und Software

Die **cobas**® 6800/8800 Software und das **cobas**® HCV-Analysenpaket müssen auf dem Instrument (bzw. den Instrumenten) installiert werden. Der IG-Server (Instrument Gateway) ist Bestandteil des Systems.

**Tabelle 8** Geräte

Gerät	P/N
<b>cobas</b> ® 6800 System (mit beweglicher Plattform)	05524245001 und 06379672001
<b>cobas</b> ® 6800 System (feststehend)	05524245001 und 06379664001
<b>cobas</b> ® 8800 System	05412722001
Probenzufuhrmodul	06301037001

Weitere Informationen zu Primär- und Sekundärröhrchen, die auf den Systemen verwendet werden können, enthält das Benutzerhandbuch des **cobas**® 6800/8800 Systems.

Hinweis: Eine ausführliche Bestellliste für Probenracks, Racks für verstopfte Spitzen und Racktrays, die auf den Geräten verwendet werden können, ist bei der zuständigen Roche-Vertretung erhältlich.

# Vorsichtsmaßnahmen und ordnungsgemäße Handhabung

## Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Wie bei allen Testverfahren ist gute Laborpraxis eine unerlässliche Voraussetzung für die ordnungsgemäße Durchführung dieses Tests. Aufgrund der hohen Sensitivität dieses Tests ist besonders darauf zu achten, dass die Reagenzien und Amplifikationsgemische nicht kontaminiert werden.

- Nur zur Verwendung als *in-vitro*-Diagnostikum bestimmt.
- Der **cobas®** HCV-Test wurde nicht zur Verwendung als Screening-Test für das Vorliegen von HCV in Blut oder Blutprodukten evaluiert.
- Die Patientenproben sind als potenziell infektiös und gemäß den Vorschriften für sicheres Arbeiten im Labor wie in „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories“ und dem CLSI-Dokument M29-A4 beschrieben zu behandeln.<sup>25,26</sup> Dieses Verfahren darf nur von Personal angewandt werden, das mit dem **cobas®** HCV-Test und den **cobas®** 6800/8800 Systems vertraut und in der Handhabung infektiöser Materialien geschult ist.
- Alle aus Menschen gewonnenen Materialien sind als potenziell infektiös zu betrachten und müssen unter Anwendung genereller Vorsichtsmaßnahmen gehandhabt werden. Wenn Material verschüttet wurde, betroffenes Areal unverzüglich mit einer frisch zubereiteten Lösung aus 0,5%igem Natriumhypochlorit in destilliertem oder entionisiertem Wasser (Haushaltsbleiche im Verhältnis 1:10 verdünnen) desinfizieren oder die jeweiligen Laborverfahren beachten.
- Das **cobas®** HBV/HCV/HIV-1 Control Kit und das **cobas®** NHP Negative Control Kit enthalten aus Humanblut gewonnenes Plasma. Das Ausgangsmaterial wurde mit zugelassenen Antikörpertests geprüft und erwies sich als nicht-reaktiv auf HCV-Antikörper, HIV-1/2-Antikörper, HBsAg und HBc-Antikörper. Bei der Untersuchung dieses normalen Humanplasmas konnte mit PCR-Methoden keine HIV-1-RNA (Gruppen M und O), HIV-2-RNA, HCV-RNA, HBV-DNA, HEV-RNA, WNV-RNA oder CMV-DNA nachgewiesen werden. Mit keiner der bekannten Testmethoden kann jedoch eine Übertragung von Infektionserregern durch humane Blutprodukte ausgeschlossen werden.
- **Vollblut und andere Proben in Primärröhrchen nicht einfrieren.**
- Nur die mitgelieferten oder angegebenen erforderlichen Verbrauchsmaterialien verwenden, um eine optimale Leistung des Tests zu gewährleisten.
- Sicherheitsdatenblätter (Safety Data Sheets, SDS) sind auf Anfrage bei der zuständigen Roche-Vertretung erhältlich.
- Alle Verfahren und Vorschriften sind sorgfältig einzuhalten, um eine korrekte Durchführung des Tests sicherzustellen. Jede Abweichung von den Verfahren und Vorschriften kann sich auf die optimale Leistung des Tests auswirken.
- Wird während der Handhabung und Bearbeitung der Proben nicht ordnungsgemäß auf eine Vermeidung von Verschleppung geachtet, kann es zu falsch-positiven Ergebnissen kommen.
- Das Probenaufgabevolumen von 200 µl nicht verwenden, wenn zu erwarten ist, dass die Viruslast unter 100 IE/ml liegt.

## Umgang mit Reagenzien

- Alle Reagenzien, Kontrollen und Proben sind gemäß der guten Laborpraxis zu handhaben, um eine Verschleppung der Proben und Kontrollen zu vermeiden.
- Vor der Verwendung alle Reagenzkassetten, Diluenten, Lysereagenzien und Waschreagenzien mittels Sichtprüfung auf auslaufende Flüssigkeit überprüfen. Liegen Anzeichen für undichte Stellen vor, das betreffende Material nicht für den Test verwenden.
- **cobas omni** Lysis Reagent enthält die potenziell gefährliche Chemikalie Guanidinthiocyanat. Haut, Augen und Schleimhäute vor Kontakt mit Reagenzien schützen. Bei Kontakt sofort mit reichlich Wasser abspülen, um Verätzungen zu vermeiden.
- **cobas®** HCV-Testkits, **cobas omni** MGP Reagent und **cobas omni** Specimen Diluent enthalten Natriumazid als Konservierungsmittel. Haut, Augen und Schleimhäute vor Kontakt mit Reagenzien schützen. Bei Kontakt sofort mit reichlich Wasser abspülen, um Verätzungen zu vermeiden. Verschüttete Reagenzien vor dem Aufwischen zunächst mit Wasser verdünnen.
- **cobas omni** Lysis Reagent enthält Guanidinthiocyanat und darf nicht in Kontakt mit Natriumhypochloritlösung (Haushaltsbleiche) gebracht werden. Dieses Gemisch kann ein hochgiftiges Gas erzeugen.
- Sämtliche Materialien, die mit Proben und Reagenzien in Berührung gekommen sind, gemäß den geltenden Vorschriften entsorgen.

## Gute Laborpraxis

- Nicht mit dem Mund pipettieren.
- In den Arbeitsbereichen des Labors nicht essen, trinken oder rauchen.
- Beim Umgang mit Proben und Reagenzien Laborhandschuhe, Laborkittel und Schutzbrille tragen. Um Kontamination zu vermeiden, müssen die Handschuhe zwischen der Handhabung von Proben und **cobas®** HCV-Kits sowie **cobas omni** Reagenzien jeweils gewechselt werden. Darauf achten, dass die Handschuhe beim Umgang mit den Proben und Kontrollen nicht kontaminiert werden.
- Nach Gebrauch der Proben und Kitreagenzien sowie nach dem Ausziehen der Handschuhe gründlich die Hände waschen.
- Alle Arbeitsflächen im Labor gründlich mit einer frisch hergestellten Lösung aus 0,5%igem Natriumhypochlorit in destilliertem oder entionisiertem Wasser reinigen und desinfizieren (Haushaltsbleiche im Verhältnis 1:10 verdünnen). Anschließend die Arbeitsflächen mit 70%igem Ethanol abreiben.
- Wenn Flüssigkeiten auf den **cobas®** 6800/8800 Systems verschüttet wurden, die Oberflächen gemäß den Anweisungen im Benutzerhandbuch der **cobas®** 6800/8800 Systems reinigen und dekontaminieren.

## Entnahme, Transport und Lagerung von Proben

**Hinweis: Alle Proben und Kontrollen wie potenzielle Überträger von Infektionserregern behandeln.**

Alle Proben bei den angegebenen Temperaturen lagern.

Erhöhte Umgebungstemperaturen wirken sich auf die Probenstabilität aus.

Bei Verwendung gefrorener Proben in Sekundärrohrchen die Proben bei Zimmertemperatur (15–30 °C) vollständig auftauen lassen, kurz mischen (z. B. 3 bis 5 Sekunden im Vortexer) und anschließend zentrifugieren, um das gesamte Probenvolumen am Röhrchenboden zu sammeln.

## Proben

Das Blut ist in SST™ Serumentrennröhrchen, BD Vacutainer® PPT™ Plasmavorbereitungsröhrchen für molekulare diagnostische Tests oder in sterilen Röhrchen mit EDTA als Antikoagulans zu sammeln. Die Anweisungen des Probenröhrchen-Herstellers beachten.

- Vollblut, das in SST™ Serumentrennröhrchen, BD Vacutainer® PPT™ Plasmavorbereitungsröhrchen für molekulare diagnostische Tests oder in sterilen Röhrchen mit EDTA als Antikoagulans gesammelt wurde, kann vor der Vorbereitung des Plasmas bzw. Serums bei 2 °C bis 25 °C maximal 24 Stunden lang gelagert und transportiert werden. Beim Zentrifugieren die Anweisungen des Geräteherstellers beachten.
- Nach der Abtrennung können EDTA-Plasma- oder Serumproben in Sekundärröhrchen bei 2 °C bis 8 °C maximal 6 Tage oder bei  $\leq -18$  °C maximal 12 Wochen gelagert werden. Zur Langzeitlagerung werden Temperaturen von  $\leq -60$  °C empfohlen.
- Plasma- und Serumproben dürfen viermal bei  $\leq -18$  °C eingefroren und wieder aufgetaut werden.
- Sicherstellen, dass ausreichend Vollblut gesammelt wird, um das bevorzugte Verarbeitungsvolumen von 500 µl EDTA-Plasma oder Serum (bei einer Mindest-Gesamtprobenmenge von 650 µl) verwenden zu können.
- Wenn Proben versandt werden sollen, sind sie gemäß den geltenden nationalen und internationalen Vorschriften für den Transport von Proben und Krankheitserregern zu verpacken und zu beschriften.

# Gebrauchsanleitung

## Hinweise zum Verfahren

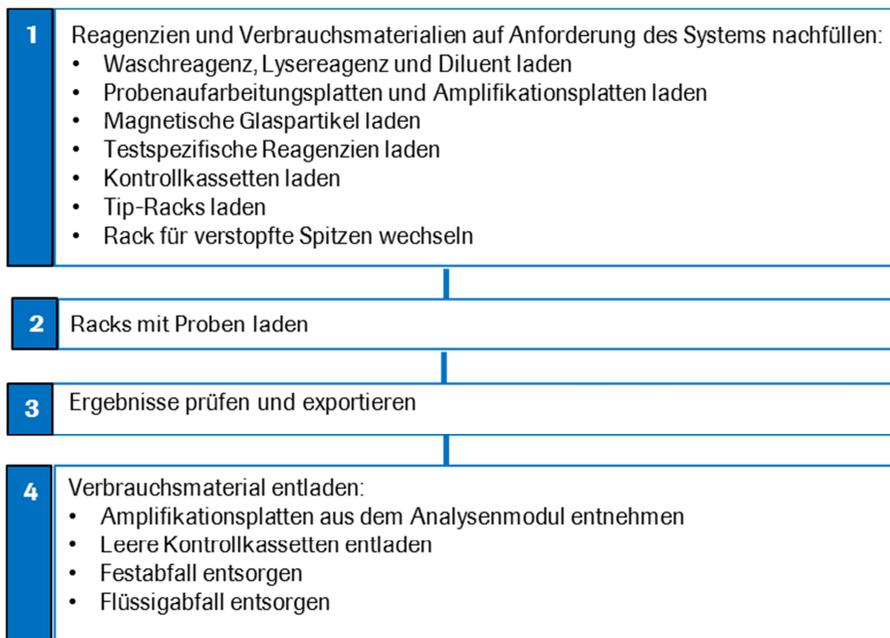
- Die **cobas**® HCV-Testreagenzien, das **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, das **cobas**® NHP Negative Control Kit und die **cobas** **omni** Reagenzien nach dem Verfallsdatum nicht mehr verwenden.
- Verbrauchsmaterial nicht wiederverwenden. Es ist ausschließlich zum Einmalgebrauch vorgesehen.
- Informationen zur ordnungsgemäßen Wartung enthält das Benutzerhandbuch der **cobas**® 6800/8800 Systems.

## Durchführen des **cobas**® HCV-Tests

Zur Durchführung des **cobas**® HCV-Tests ist ein Probenvolumen von 350 µl (beim Workflow mit 200 µl Probe) bzw. 650 µl (beim Workflow mit 500 µl Probe) erforderlich. Der Testablauf ist im Benutzerhandbuch der **cobas**® 6800/8800 Systems ausführlich beschrieben. In Abbildung 1 ist der Ablauf zusammenfassend dargestellt.

- **Hinweis: Den Workflow mit 200 µl Probe nicht verwenden, wenn zu erwarten ist, dass die Viruslast  $\leq 100$  IE/ml ist. Es sollte ausreichend Blut gesammelt werden, um das bevorzugte Verarbeitungsvolumen von 500 µl EDTA-Plasma oder Serum (bei einer Mindest-Gesamtprobenmenge von 650 µl) verwenden zu können.**

**Abbildung 1** **cobas**® HCV-Testablauf



## Ergebnisse

Die cobas® 6800/8800 Systems dienen zur automatischen Bestimmung der HCV-RNA-Konzentration in Proben und Kontrollen. Die HCV-RNA-Konzentration wird in internationalen Einheiten pro Milliliter (IE/ml) angegeben.

### Qualitätskontrolle und Gültigkeit der Ergebnisse

- Mit jedem Batch werden eine Negativkontrolle (-) C sowie zwei Positivkontrollen (eine schwach positive – HCV L(+)C und eine hoch positive – HCV H(+)C) mitgeführt.
- Die Batch-Gültigkeit kann in der cobas® 6800/8800 Software und/oder im Bericht überprüft werden.
- Der Batch ist gültig, wenn für keine der drei Kontrollen Flags ausgegeben wurden, d. h. weder für die Negativkontrolle noch für die beiden Positivkontrollen HCV L(+)C und HCV H(+)C. In der Ergebnisübersicht wird die Negativkontrolle als (-) C und die schwach und hoch positiven Kontrollen als HxV L(+)C bzw. HxV H(+)C dargestellt.

Die cobas® 6800/8800 Software markiert Ergebnisse bei fehlerhaften Negativ- und Positivkontrollen automatisch als ungültig.

### Kontroll-Flags

**Tabelle 9** Kontroll-Flags für Negativ- und Positivkontrollen

Negativkontrolle	Flag	Ergebnis	Interpretation
(-) C	Q02 (Kontrollbatch fehlerhaft)	Invalid	Ungültiges Ergebnis oder der errechnete Titer für die Negativkontrolle ist nicht negativ.
Positivkontrolle	Flag	Ergebnis	Interpretation
HxV L(+)C	Q02 (Kontrollbatch fehlerhaft)	Invalid	Ungültiges Ergebnis oder der errechnete Titerwert für die schwach positive Kontrolle liegt nicht im Sollbereich.
HxV H(+)C	Q02 (Kontrollbatch fehlerhaft)	Invalid	Ungültiges Ergebnis oder der errechnete Titerwert für die hoch positive Kontrolle liegt nicht im Sollbereich.

Wenn der Batch ungültig ist, muss der Test des gesamten Batch einschließlich der Proben und Kontrollen wiederholt werden.

In der cobas® 6800/8800 Software steht HxV L(+)C für die cobas® HBV/HCV/HIV-1 schwach positive Kontrolle und HxV H(+)C für die cobas® HBV/HCV/HIV-1 hoch positive Kontrolle.

## Interpretation der Ergebnisse

Bei gültigen Batches die einzelnen Proben in der cobas® 6800/8800 Software und/oder im Bericht auf Flags kontrollieren. Die Ergebnisse sind wie folgt zu interpretieren:

- Ein gültiger Batch kann sowohl gültige als auch ungültige Probenergebnisse enthalten.

**Tabelle 10** Interpretation der Ergebnisse für die einzelnen Zielsequenzen

Ergebnisse	Interpretation
Target Not Detected	HCV-RNA nicht nachgewiesen. Ergebnisse als „HCV nicht nachgewiesen“ angeben.
< Titer Min	Der errechnete Titer liegt unterhalb der unteren Quantifizierungsgrenze des Tests. Ergebnisse als „HCV nachgewiesen, unter (Titer min)“ angeben. Titer min = 15 IE/ml (500 µl) Titer min = 40 IE/ml (200 µl)
Titer	Der errechnete Titer liegt innerhalb des linearen Bereichs des Tests, d. h. er ist größer oder gleich Titer min und kleiner oder gleich Titer max. Ergebnisse als „(Titer) von HCV nachgewiesen“ angeben.
> Titer Max <sup>a</sup>	Der errechnete Titer liegt über der oberen Quantifizierungsgrenze des Tests. Ergebnisse als „HCV nachgewiesen, über (Titer max)“ angeben. Titer max = 1,00E+08 IE/ml (500 µl und 200 µl)

a Das Probenergebnis „> Titer max“ bezieht sich auf HCV-positive Proben, bei denen HCV mit einem Titer über der oberen Quantifizierungsgrenze nachgewiesen wurde. Wenn quantitative Ergebnisse gewünscht werden, die ursprüngliche Probe je nach Probenart mit HCV-negativem EDTA-Plasma oder Serum verdünnen und den Test wiederholen. Das dabei ermittelte Ergebnis mit dem Verdünnungsfaktor multiplizieren.

## Verfahrenseinschränkungen

- Der **cobas**® HCV-Test ist ausschließlich für den Gebrauch mit dem **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, **cobas**® NHP Negative Control Kit, **cobas omni** MGP Reagent, **cobas omni** Lysis Reagent, **cobas omni** Specimen Diluent und **cobas omni** Wash Reagent auf **cobas**® 6800/8800 Systems validiert.
- Zuverlässige Ergebnisse sind nur bei Anwendung sachgemäßer Verfahren für Gewinnung, Lagerung und Bearbeitung der Proben gewährleistet.
- Dieser Test wurde ausschließlich für die Verwendung mit EDTA-Plasma und Serum validiert. Wenn andere Arten von Proben getestet werden, können falsche Ergebnisse erzielt werden.
- Die HCV-RNA-Quantifizierung hängt von der Anzahl der in der Probe enthaltenen Virenpartikel ab und kann durch das Probenentnahmeverfahren, patientenbezogene Faktoren (d. h. Alter, Vorhandensein von Symptomen) und/oder das Infektionsstadium beeinflusst werden.
- Mutationen in den hochkonservierten Regionen des viralen Genoms, das durch den **cobas**® HCV-Test abgedeckt wird, treten zwar selten auf, können jedoch die Primer- und/oder Sondenbindung beeinträchtigen und dadurch zur Unterquantifizierung oder Nichterkennung des Virus führen.
- Bevor Benutzer zwischen verschiedenen Verfahren wechseln, sollten sie aufgrund der inhärenten Unterschiede zwischen den Verfahren in ihrem Labor Studien zur Korrelation der Methoden durchführen, um die Unterschiede der Verfahren zu ermitteln. Außerdem sollten Benutzer stets die eigenen spezifischen Strategien und Verfahren beachten.
- Der **cobas**® HCV-Test ist nicht zur Verwendung als Screening-Test für das Vorliegen von HCV in Blut oder Blutprodukten vorgesehen.

# Nichtklinische Leistungsmerkmale

## Wichtigste Leistungsmerkmale

### Nachweisgrenze (LoD)

#### Internationaler WHO-Standard

Die Nachweisgrenze des **cobas**® HCV-Tests wurde durch Analyse von Reihenverdünnungen des 4. internationalen WHO-Standards für HCV-RNA für auf Nukleinsäure-Amplifikationstechniken basierende Tests (4th WHO International Standard) des Genotyps 1a (vom NIBSC bereitgestellt) in HCV-negativem humanem EDTA-Plasma und Serum mit Probenverarbeitungsvolumina von 500 µl und 200 µl bestimmt. Für die Verarbeitung auf **cobas**® 6800/8800 Systems waren mindestens 650 µl bzw. 350 µl Probe erforderlich. Panels mit sechs Konzentrationen plus Negativprobe für das Probenverarbeitungsvolumen von 500 µl und sieben Konzentrationen für das Probenverarbeitungsvolumen von 200 µl wurden mit drei Chargen von **cobas**® HCV-Testreagenzien an mehreren Tagen mit mehreren Läufen, Bedienern und Instrumenten getestet.

Die Ergebnisse für EDTA-Plasma und Serum aus beiden Probenverarbeitungsvolumina sind in Tabelle 11 bis Tabelle 14 dargestellt. Für das Probenverarbeitungsvolumen von 500 µl wurde ermittelt, dass der **cobas**® HCV-Test HCV-RNA in EDTA-Plasma in einer Konzentration von 8,46 IE/ml mit einem 95-%-Konfidenzintervall von 7,50–9,79 IE/ml und in Serum in einer Konzentration von 9,61 IE/ml mit einem 95-%-Konfidenzintervall von 8,70–10,95 IE/ml nachweist. Für das Probenverarbeitungsvolumen von 200 µl wurde ermittelt, dass der **cobas**® HCV-Test HCV-RNA in EDTA-Plasma in einer Konzentration von 24,93 IE/ml mit einem 95-%-Konfidenzintervall von 22,51–28,35 IE/ml und in Serum in einer Konzentration von 33,25 IE/ml mit einem 95-%-Konfidenzintervall von 29,94–37,94 IE/ml nachweist. Die Differenz zwischen EDTA-Plasma und Serum bei Probenverarbeitungsvolumina von 500 µl und 200 µl war statistisch nicht signifikant.

**Tabelle 11** Nachweisgrenze in EDTA-Plasma (500 µl)

Ausgangstiterkonzentration (HCV-RNA, IE/ml)	Anzahl der gültigen Replikate	Anzahl positiver Replikate	Trefferquote in %
30	189	189	100,00
20	188	186	98,94
15	189	187	98,94
10	189	183	96,83
8	188	182	96,81
5	188	155	82,45
0	189	1*	0,53
Nachweisgrenze gemäß PROBIT bei 95 % Trefferquote	8,46 IE/ml 95-%-Konfidenzintervall: 7,50-9,79 IE/ml		

\* Durch andere Analysemethoden als negativ bestätigte Proben.

**Tabelle 12** Nachweisgrenze in Serum (500 µl)

<b>Ausgangstiterkonzentration (HCV-RNA, IE/ml)</b>	<b>Anzahl der gültigen Replikate</b>	<b>Anzahl positiver Replikate</b>	<b>Trefferquote in %</b>
30	188	187	99,47
20	189	189	100,00
15	189	187	98,94
10	189	184	97,35
8	189	171	90,48
5	189	141	74,60
0	189	0	0,00
Nachweisgrenze gemäß PROBIT bei 95 % Trefferquote		9,61 IE/ml 95-%-Konfidenzintervall: 8,70-10,95 IE/ml	

**Tabelle 13** Nachweisgrenze in EDTA-Plasma (200 µl)

<b>Ausgangstiterkonzentration (HCV-RNA, IE/ml)</b>	<b>Anzahl der gültigen Replikate</b>	<b>Anzahl positiver Replikate</b>	<b>Trefferquote in %</b>
80	189	189	100,00
60	189	189	100,00
50	188	187	99,47
40	189	185	97,88
25	189	179	94,71
20	189	177	93,65
12	188	136	72,34
0	189	1*	0,53
Nachweisgrenze gemäß PROBIT bei 95 % Trefferquote		24,93 IE/ml 95-%-Konfidenzintervall: 22,51-28,35 IE/ml	

\* Durch andere Analysemethoden als negativ bestätigte Proben.

**Tabelle 14** Nachweisgrenze in Serum (200 µl)

Ausgangstiterkonzentration (HCV-RNA, IE/ml)	Anzahl der gültigen Replikate	Anzahl positiver Replikate	Trefferquote in %
80	189	189	100,00
60	189	188	99,47
50	189	186	98,41
40	189	184	97,35
25	189	167	88,36
20	189	156	82,54
12	189	125	66,14
0	189	0	0,00
Nachweisgrenze gemäß PROBIT bei 95 % Trefferquote	33,25 IE/ml 95%-Konfidenzintervall: 29,94-37,94 IE/ml		

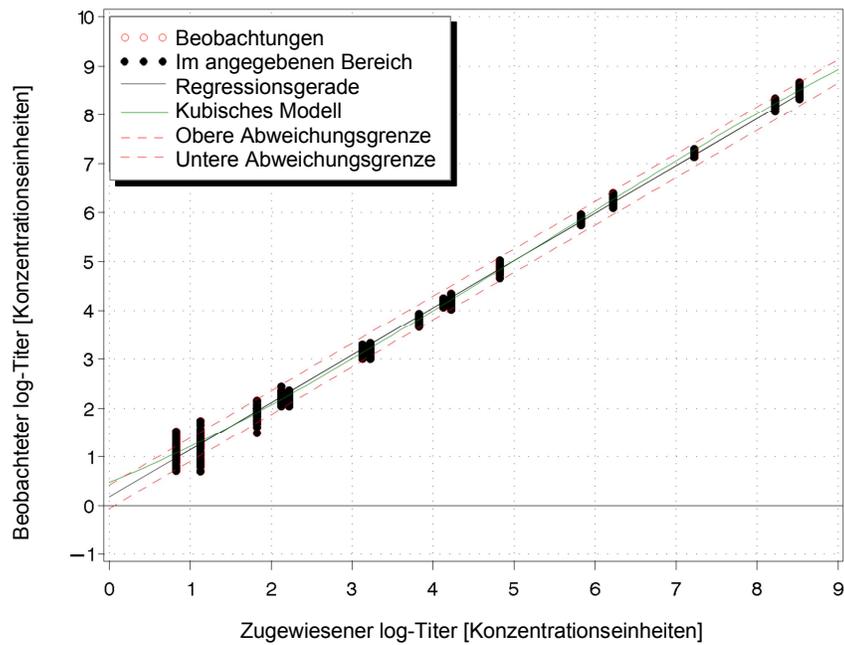
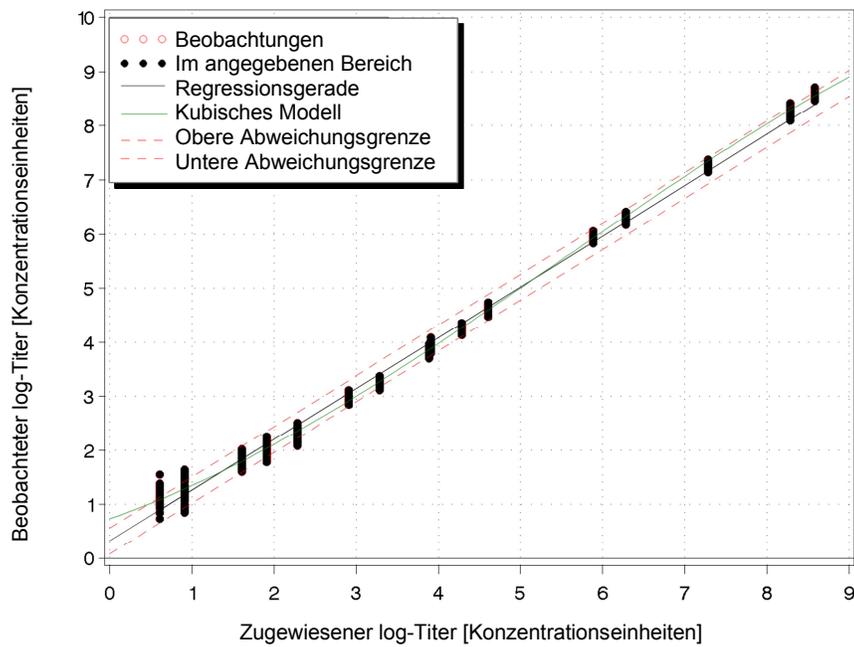
## Linearer Bereich

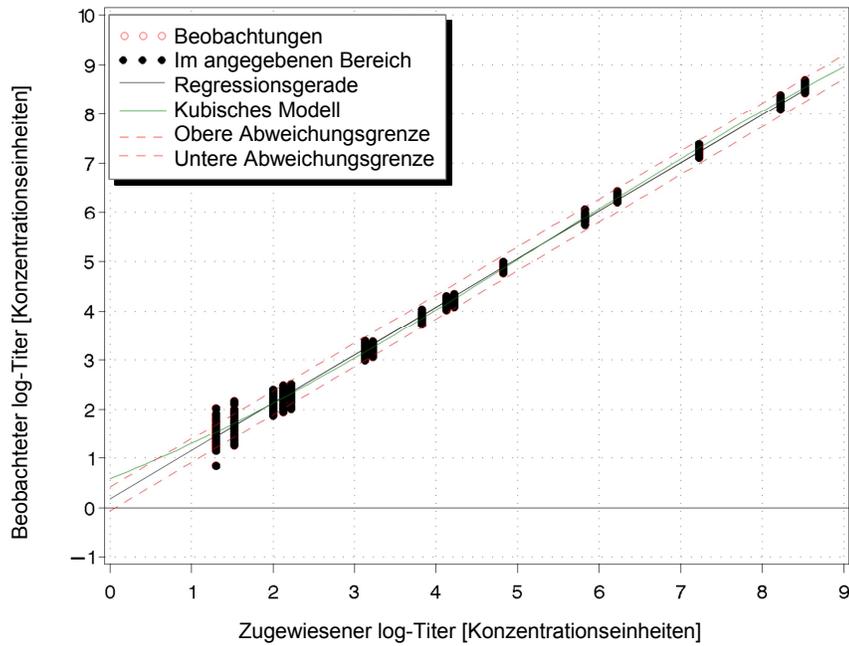
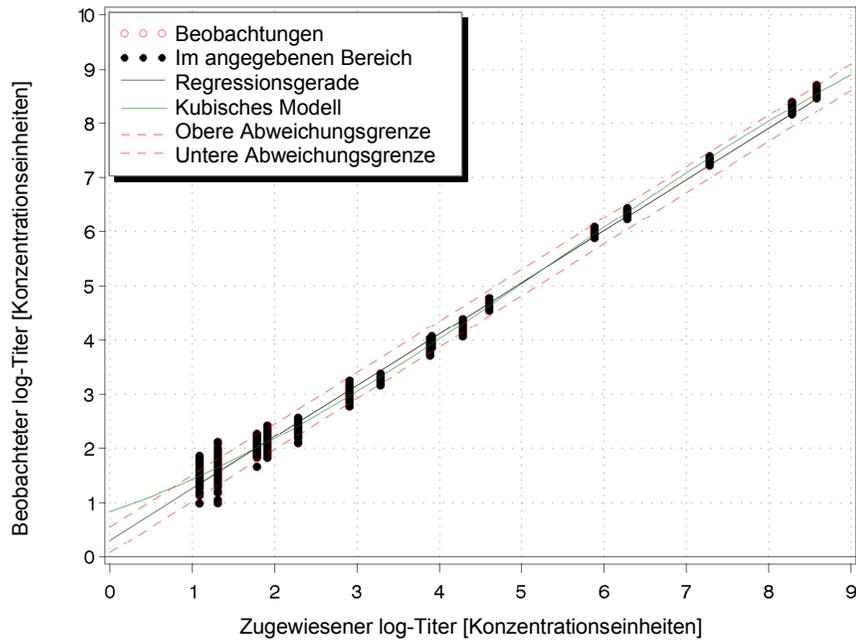
Die Linearitätsstudie zum **cobas**® HCV-Test wurde mit einer Verdünnungsreihe durchgeführt, deren 16 Panel-Elemente den vorgesehenen linearen Bereich für den vorherrschenden Genotyp (GT 1) abdecken. Panel-Elemente mit hohem Titer wurden aus einer Armored-RNA-Stammlösung (arRNA) mit hohem Titer hergestellt, während Panel-Elemente mit niedrigem Titer aus klinischen Proben (KP) hergestellt wurden. Das Linearitäts-Panel war auf eine Titerüberlappung von ca.  $2 \log_{10}$  zwischen den beiden Materialquellen ausgelegt. Der erwartete lineare Bereich des **cobas**® HCV-Tests reicht von der unteren Quantifizierungsgrenze (15 IE/ml bei 500 µl Verarbeitungsvolumen und 40 IE/ml bei 200 µl Verarbeitungsvolumen) bis zur oberen Quantifizierungsgrenze (1,00E+08 IE/ml bei beiden Verarbeitungsvolumina). Das Linearitäts-Panel war auf eine Spanne von 1 Konzentrationsstufe unter der unteren Quantifizierungsgrenze (z. B. 7,5 IE/ml) bis 1 Konzentrationsstufe über der oberen Quantifizierungsgrenze (z. B. 2,0E+08 IE/ml) und die Abdeckung medizinischer Entscheidungspunkte ausgelegt. Darüber hinaus war das Panel darauf ausgelegt, Schritte von  $1,0 \log_{10}$  über den gesamten linearen Bereich teilweise zu unterstützen. Für jedes Panel-Element wurde die Nennkonzentration in IE/ml sowie die Quelle der HCV-RNA angegeben.

Bei einem Verarbeitungsvolumen von 500 µl ist der **cobas**® HCV-Test für EDTA-Plasma und Serum im Bereich von 15 IE/ml bis 1,00E+08 IE/ml linear und zeigt eine absolute Abweichung von der nichtlinearen Regression von weniger als  $\pm 0,24 \log_{10}$ . Die Genauigkeit des Tests lag über den gesamten linearen Bereich innerhalb von  $\pm 0,24 \log_{10}$ .

Bei einem Verarbeitungsvolumen von 200 µl ist der **cobas**® HCV-Test für EDTA-Plasma und Serum im Bereich von 40 IE/ml bis 1,00E+08 IE/ml linear und zeigt eine absolute Abweichung von der nichtlinearen Regression von weniger als  $\pm 0,24 \log_{10}$ . Die Genauigkeit des Tests lag über den gesamten linearen Bereich innerhalb von  $\pm 0,24 \log_{10}$  für Plasma und  $\pm 0,27 \log_{10}$  für Serum.

Repräsentative Ergebnisse siehe Abbildung 2 bis Abbildung 5.

**Abbildung 2** Linearität bei EDTA-Plasma (500 µl)**Abbildung 3** Linearität bei Serum (500 µl)

**Abbildung 4** Linearität bei EDTA-Plasma (200 µl)**Abbildung 5** Linearität bei Serum (200 µl)

## Laborinterne Präzision

Zur Bestimmung der Präzision des cobas® HCV-Tests wurden serielle Verdünnungen von klinischen HCV-Proben (KP) des Genotyps 1 oder Armored-RNA-HCV (arRNA) in HCV-negativem EDTA-Plasma oder Serum analysiert. 13 Verdünnungsstufen in Plasma und 12 Verdünnungsstufen in Serum wurden in jeweils zwei Replikaten in zwei Läufen an 12 Tagen getestet, d. h. insgesamt 48 Replikate je Konzentration. Alle Proben durchliefen das gesamte cobas® HCV-Testverfahren auf vollautomatisierten cobas® 6800/8800 Systems. Die hier angegebene Präzision spiegelt daher alle Aspekte des Testverfahrens wider. Die Studie wurde mit drei Chargen von cobas® HCV-Testreagenzien durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 15 bis Tabelle 18 zusammengefasst.

Der cobas® HCV-Test zeigte eine hohe Präzision für drei getestete Reagenzchargen in einem Konzentrationsbereich von 1,00E+01 IE/ml bis 1,0E+07 IE/ml bei einem Probenverarbeitungsvolumen von 500 µl und in einem Bereich von 2,50E+01 IE/ml bis 1,0E+07 IE/ml bei einem Probenverarbeitungsvolumen von 200 µl.

**Tabelle 15** Laborinterne Präzision des cobas® HCV-Tests (EDTA-Plasmaproben – 500 µl Probenverarbeitungsvolumen)\*

Nennkonzentration (IE/ml)	Zugewiesene Konzentration (IE/ml)	Ausgangs- material	EDTA-Plasma			
			Charge 1	Charge 2	Charge 3	Alle Chargen
			SD	SD	SD	SD gepoolt
1,00E+07	1,67E+07	arRNA	0,04	0,05	0,03	0,04
1,00E+06	1,67E+06	arRNA	0,05	0,05	0,06	0,05
4,00E+05	6,69E+05	arRNA	0,03	0,04	0,05	0,04
5,00E+04	6,69E+04	KP	0,08	0,06	0,06	0,06
1,00E+04	1,67E+04	arRNA	0,05	0,05	0,04	0,05
1,00E+04	1,34E+04	KP	0,03	0,06	0,05	0,05
4,00E+03	6,69E+03	arRNA	0,05	0,06	0,06	0,06
1,00E+03	1,34E+03	KP	0,05	0,06	0,05	0,05
1,00E+03	1,67E+03	arRNA	0,05	0,07	0,05	0,06
1,00E+02	1,34E+02	KP	0,06	0,09	0,05	0,07
1,00E+02	1,67E+02	arRNA	0,10	0,06	0,06	0,08
5,00E+01	6,69E+01	KP	0,09	0,17	0,10	0,13
1,00E+01	1,34E+01	KP	0,26	0,21	0,13	0,21

\*Titerdaten werden als log-normalverteilt betrachtet und nach der log<sub>10</sub>-Transformation analysiert. In den Spalten zur Standardabweichung (SD) sind die log-transformierten Gesamttiter für die drei Reagenzchargen angegeben.

**Tabelle 16** Laborinterne Präzision des cobas® HCV-Tests (Serumproben – 500 µl Probenverarbeitungsvolumen)\*

Nennkonzentration (IE/ml)	Zugewiesene Konzentration (IE/ml)	Ausgangs- material	Serum			
			Charge 1	Charge 2	Charge 3	Alle Chargen
			SD	SD	SD	SD gepoolt
1,00E+07	1,92E+07	arRNA	0,03	0,07	0,04	0,05
1,00E+06	1,92E+06	arRNA	0,05	0,06	0,04	0,05
4,00E+05	7,69E+05	arRNA	0,03	0,07	0,03	0,05
5,00E+04	4,05E+04	KP	0,07	0,06	0,04	0,06
1,00E+04	1,92E+04	arRNA	0,06	0,06	0,04	0,05
1,00E+04	8,11E+03	KP	0,05	0,06	0,04	0,05
4,00E+03	7,69E+03	arRNA	0,04	0,08	0,04	0,06
1,00E+03	8,11E+02	KP	0,05	0,06	0,06	0,05
1,00E+03	1,92E+03	arRNA	0,06	0,05	0,05	0,05
1,00E+02	8,11E+01	KP	0,10	0,18	0,10	0,13
1,00E+02	1,92E+02	arRNA	0,07	0,08	0,09	0,08
5,00E+01	4,05E+01	KP	0,09	0,14	0,18	0,14

\*Titerdaten werden als log-normalverteilt betrachtet und nach der  $\log_{10}$ -Transformation analysiert. In den Spalten zur Standardabweichung (SD) sind die log-transformierten Gesamttiter für die drei Reagenzchargen angegeben.

**Tabelle 17** Laborinterne Präzision des cobas® HCV-Tests (EDTA-Plasma – 200 µl Probenverarbeitungsvolumen)\*

Nennkonzentration (IE/ml)	Zugewiesene Konzentration (IE/ml)	Ausgangs- material	EDTA-Plasma			
			Charge 1	Charge 2	Charge 3	Alle Chargen
			SD	SD	SD	SD gepoolt
1,00E+07	1,67E+07	arRNA	0,04	0,06	0,05	0,05
1,00E+06	1,67E+06	arRNA	0,04	0,03	0,05	0,04
4,00E+05	6,69E+05	arRNA	0,04	0,06	0,03	0,04
5,00E+04	6,69E+04	KP	0,05	0,06	0,05	0,06
1,00E+04	1,67E+04	arRNA	0,05	0,05	0,05	0,05
1,00E+04	1,34E+04	KP	0,07	0,06	0,05	0,06
4,00E+03	6,69E+03	arRNA	0,05	0,06	0,05	0,05
1,00E+03	1,34E+03	KP	0,08	0,08	0,06	0,07
1,00E+03	1,67E+03	arRNA	0,04	0,07	0,05	0,05
1,00E+02	1,34E+02	KP	0,11	0,15	0,13	0,13
1,00E+02	1,67E+02	arRNA	0,10	0,10	0,13	0,11
7,50E+01	1,00E+02	KP	0,15	0,12	0,11	0,13
2,50E+01	3,34E+01	KP	0,19	0,20	0,22	0,21

\*Titerdaten werden als log-normalverteilt betrachtet und nach der  $\log_{10}$ -Transformation analysiert. In den Spalten zur Standardabweichung (SD) sind die log-transformierten Gesamttiter für die drei Reagenzchargen angegeben.

**Tabelle 18** Laborinterne Präzision des **cobas®** HCV-Tests (Serum – 200 µl Probenverarbeitungsvolumen)\*

Nennkonzentration (IE/ml)	Zugewiesene Konzentration (IE/ml)	Ausgangs- material	Serum			
			Charge 1	Charge 2	Charge 3	Alle Chargen
			SD	SD	SD	SD gepoolt
1,00E+07	1,92E+07	arRNA	0,02	0,06	0,03	0,04
1,00E+06	1,92E+06	arRNA	0,03	0,06	0,04	0,04
4,00E+05	7,69E+05	arRNA	0,04	0,09	0,04	0,06
5,00E+04	4,05E+04	KP	0,05	0,06	0,06	0,06
1,00E+04	1,92E+04	arRNA	0,05	0,07	0,04	0,06
1,00E+04	8,11E+03	KP	0,04	0,05	0,05	0,05
4,00E+03	7,69E+03	arRNA	0,04	0,07	0,04	0,05
1,00E+03	8,11E+02	KP	0,10	0,09	0,08	0,09
1,00E+03	1,92E+03	arRNA	0,05	0,07	0,04	0,05
1,00E+02	8,11E+01	KP	0,17	0,30	0,17	0,22
1,00E+02	1,92E+02	arRNA	0,13	0,13	0,09	0,12
7,50E+01	6,08E+01	KP	0,11	0,16	0,12	0,13

\*Titerdaten werden als log-normalverteilt betrachtet und nach der  $\log_{10}$ -Transformation analysiert. In den Spalten zur Standardabweichung (SD) sind die log-transformierten Gesamttiter für die drei Reagenzchargen angegeben.

## Genotypverifizierung

Die Leistungsmerkmale des **cobas®** HCV-Tests bei den HCV-Genotypen wurde wie folgt evaluiert:

- Bestimmung der Nachweisgrenze für die Genotypen 1b bis 6 bei einem Probenverarbeitungsvolumen von 500 µl
- Bestimmung der Nachweisgrenze für die Genotypen 1b bis 6 bei einem Probenverarbeitungsvolumen von 200 µl
- Verifizierung des linearen Bereichs für die Genotypen 2 bis 6

### Nachweisgrenze für die Genotypen 1b bis 6

Zur Bestimmung der Nachweisgrenze des **cobas®** HCV-Tests für die Genotypen 1b bis 6 wurden serielle Verdünnungen jedes Genotyps in HCV-negativem humanem EDTA-Plasma und Serum jeweils mit einem Probenverarbeitungsvolumen von 500 µl analysiert. Panels mit sechs Konzentrationen plus Negativprobe wurden mit drei Chargen von **cobas®** HCV-Testreagenzien an mehreren Tagen mit mehreren Läufen, Bedienern und Instrumenten getestet.

Die Ergebnisse für EDTA-Plasma und Serum bei einem Probenverarbeitungsvolumen von 500 µl sind in Tabelle 19 und Tabelle 20 dargestellt. Es wurde ermittelt, dass der **cobas®** HCV-Test alle HCV-Genotypen mit einer ähnlichen Nachweisgrenze wie derjenigen des HCV-Genotyps 1a nachweist.

**Tabelle 19** Nachweisgrenze für HCV-RNA-Genotypen in EDTA-Plasma (500 µl)

Genotyp	Nachweisgrenze von 95 % durch PROBIT-Analyse	95 %-Konfidenzintervall
GT 1b	11,32 IE/ml	9,72-14,52 IE/ml
GT 2	9,10 IE/ml	7,83-11,80 IE/ml
GT 3	8,68 IE/ml	7,30-11,51 IE/ml
GT 4	12,78 IE/ml	10,69-17,20 IE/ml
GT 5	11,63 IE/ml	9,66-15,98 IE/ml
GT 6	12,58 IE/ml	9,78-20,10 IE/ml

**Tabelle 20** Nachweisgrenze für HCV-RNA-Genotypen in Serum (500 µl)

Genotyp	Nachweisgrenze von 95 % durch PROBIT-Analyse	95 %-Konfidenzintervall
GT 1b	15,24 IE/ml	12,40-21,58 IE/ml
GT 2	12,51 IE/ml	10,25-17,63 IE/ml
GT 3	7,21 IE/ml	6,10-9,50 IE/ml
GT 4	11,62 IE/ml	9,92-15,02 IE/ml
GT 5	13,06 IE/ml	10,64-18,68 IE/ml
GT 6	11,15 IE/ml	9,54-14,40 IE/ml

### Verifizierung der Nachweisgrenze für die Genotypen 1b bis 6

Klinische HCV-RNA-Proben für sechs verschiedene Genotypen (1b, 2, 3, 4, 5, 6) wurden in EDTA-Plasma und Serum auf drei verschiedene Konzentrationsstufen verdünnt. Die Trefferquote wurde mit 63 Replikaten je Konzentration bestimmt. Die Tests wurden mit drei Chargen von cobas® HCV-Reagenzien durchgeführt. Die Ergebnisse für 200 µl EDTA-Plasma und Serum sind in Tabelle 21 und Tabelle 22 dargestellt. Diese Ergebnisse belegen, dass der cobas® HCV-Test HCV-RNA der sechs verschiedenen Genotypen in Konzentrationen von 33 IE/ml mit einer Trefferquote von  $\geq 90,5$  % nachweist, wobei das obere einseitige 95 %-Konfidenzintervall bei  $\geq 95,8$  % liegt.

**Tabelle 21** Bestimmung der Nachweisgrenze für HCV-RNA-Genotypen in EDTA-Plasma (200 µl)

Genotyp	17,5 IE/ml			33 IE/ml			50 IE/ml		
	Anzahl der gültigen Replikate	Anzahl positiver Replikate	Trefferquote in % (95-%-KI*)	Anzahl der gültigen Replikate	Anzahl positiver Replikate	Trefferquote in % (95-%-KI*)	Anzahl der gültigen Replikate	Anzahl positiver Replikate	Trefferquote in % (95-%-KI*)
1b	63	50	79,4	63	61	96,8	63	63	100,0
2	63	51	81,0	63	62	98,4	63	62	98,4
3	63	56	89,0	63	58	92,1	63	63	100,0
4	63	54	85,7	63	57	90,5	63	63	100,0
5	63	57	90,5	63	61	96,8	63	63	100,0
6	63	47	74,6	63	57	90,5	63	62	98,4

\* Oberes einseitiges 95-%-Konfidenzintervall

**Tabelle 22** Bestimmung der Nachweisgrenze für HCV-RNA-Genotypen in Serum (200 µl)

Genotyp	17,5 IE/ml			33 IE/ml			50 IE/ml		
	Anzahl der gültigen Replikate	Anzahl positiver Replikate	Trefferquote in % (95-%-KI*)	Anzahl der gültigen Replikate	Anzahl positiver Replikate	Trefferquote in % (95-%-KI*)	Anzahl der gültigen Replikate	Anzahl positiver Replikate	Trefferquote in % (95-%-KI*)
1b	63	52	82,5	63	61	96,8	63	63	100,0
2	63	46	73,0	63	62	98,4	63	59	93,7
3	63	58	92,1	63	63	100,0	63	63	100,0
4	63	49	77,8	63	59	93,7	63	63	100,0
5	63	46	73,0	63	59	93,7	63	62	98,4
6	63	44	69,8	63	61	96,8	63	61	96,8

\* Oberes einseitiges 95-%-Konfidenzintervall

### Linearität für die Genotypen 2 bis 6

Die zur Verifizierung der Genotypenlinearität des **cobas**® HCV-Tests verwendete Verdünnungsreihe umfasst neun Panel-Elemente, die den vorgesehenen linearen Bereich abdecken. Panel-Elemente mit hohem Titer wurden aus einer arRNA-Stammlösung mit hohem Titer hergestellt, während Panel-Elemente mit niedrigem Titer aus klinischen Proben (KP) mit hohem Titer hergestellt wurden. Das Linearitäts-Panel war auf eine Titerüberlappung von ca.  $2 \log_{10}$  zwischen den beiden Materialquellen ausgelegt. Der lineare Bereich des **cobas**® HCV-Tests reicht von der unteren Quantifizierungsgrenze (15 IE/ml bei 500 µl Verarbeitungsvolumen und 40 IE/ml bei 200 µl Verarbeitungsvolumen) bis zur oberen Quantifizierungsgrenze (1,00E+08 IE/ml bei beiden Verarbeitungsvolumina) und umfasst mindestens einen medizinischen Entscheidungspunkt. Die Tests wurden mit drei Chargen der **cobas**® HCV-Reagenzien durchgeführt. Es wurden 15 Replikate je Konzentration in EDTA-Plasma getestet.

Die Linearität innerhalb des linearen Bereichs des **cobas**® HCV-Tests wurde für alle fünf Genotypen (2, 3, 4, 5 und 6) validiert. Die maximale Abweichung zwischen der linearen Regression und der nichtlinearen Regression war kleiner oder gleich  $0,24 \log_{10}$ .

## Spezifität

Die Spezifität des **cobas**® HCV-Tests wurde durch Analyse von HCV-negativen EDTA-Plasmaproben und Serumproben von Einzelspendern bestimmt. 300 einzelne EDTA-Plasmaproben und 300 einzelne Serumproben (insgesamt 600 Ergebnisse) wurden mit zwei Chargen von **cobas**® HCV-Reagenzien getestet. Alle Proben wurden negativ auf HCV-RNA getestet. Im Test-Panel betrug die Spezifität des **cobas**® HCV-Tests 100 % (95-%-Konfidenzgrenze:  $\geq 99,5$  %).

## Analytische Spezifität

Die analytische Spezifität des **cobas**® HCV-Tests wurde durch Verdünnung eines Panels von Mikroorganismen mit HCV-RNA-positivem und HCV-RNA-negativem EDTA-Plasma evaluiert. Die Mikroorganismen wurden virus-negativem EDTA-Humanplasma zugegeben und mit und ohne HCV-RNA getestet. Der **cobas**® HCV-Test lieferte bei allen Mikroorganismenproben ohne HCV-Zielsequenz negative Ergebnisse und bei allen Mikroorganismenproben mit HCV-Zielsequenz positive Ergebnisse. Darüber hinaus lag der mittlere  $\log_{10}$ -Titer bei allen HCV-positiven Proben, die möglicherweise zu Kreuzreaktivität führende Organismen enthielten, innerhalb von  $\pm 0,3 \log_{10}$  Abstand zum mittleren  $\log_{10}$ -Titer der betreffenden Positivkontrolle.

**Tabelle 23** Zur Bestimmung der Kreuzreaktivität getestete Mikroorganismen

Viren	Bakterien	Hefen
Adenovirus Typ 5	West-Nil-Virus	Candida albicans
Cytomegalievirus	St.-Louis-Encephalitis-Virus	Staphylococcus aureus
Epstein-Barr-Virus	Murray-Valley-Enzephalitis-Virus	
Hepatitis-A-Virus	Dengue-Virus Typ 1, 2, 3 und 4	
Hepatitis-B-Virus	FSME-Virus (Stamm HYPR)	
Hepatitis-D-Virus	Gelbfiebervirus	
Humanes Immundefizienz-Virus Typ 1	Humanes Herpesvirus Typ 6	
Humanes T-Zell-lymphotropes Virus Typ 1 und 2	Herpes-Simplex-Virus Typ 1 und 2	
Humanes Papillomavirus	Influenza-A-Virus	
Varicella-Zoster-Virus	Zika-Virus	

## Analytische Spezifität – Störsubstanzen

Es wurden Proben mit erhöhten Werten von Triglyzeriden (34,5 g/l), konjugiertem Bilirubin (0,25 g/l), unkonjugiertem Bilirubin (0,25 g/l), Albumin (58,7 g/l), Hämoglobin (2,9 g/l) und erhöhten Human-DNA-Werten (2 mg/l) mit und ohne HCV-RNA getestet. Die getesteten endogenen potenziellen Störsubstanzen haben nachweislich keinen störenden Einfluss auf die Leistung des **cobas**® HCV-Tests.

Darüber hinaus wurden Proben mit Autoimmunerkrankungen wie systemischem Lupus erythematosus (SLE), Rheumafaktor (RF) und antinukleären Antikörpern (ANA) getestet.

Im Hinblick auf die Sensitivität wurde bei Einzelproben von zwei SLE-Spendern, einem RF-Spender und vier ANA-Spendern ein störender Einfluss auf den **cobas**® HCV-Test festgestellt. Eine Ursachenermittlung ergab, dass die Testbeeinflussung bei den betroffenen SLE- und RF-Spendern nicht auftrat, wenn mit 75 IE/ml HCV-RNA getestet wurde.

Bei den vier ANA-Spendern, bei denen der **cobas**® HCV-Test beim Testen mit 50 IE/ml HCV-RNA beeinflusst wurde, trat der Störeinfluss auch bei 75 IE/ml HCV-RNA auf. Um zu beurteilen, ob der beobachtete störende Einfluss ANA- oder spenderspezifisch ist, wurden Proben von 15 weiteren ANA-Spendern mit 50 IE/ml und 75 IE/ml HCV-RNA getestet. Bei beiden getesteten Konzentrationen zeigte sich bei keinem der zusätzlichen Spender ein störender Einfluss auf die Sensitivität/quantitative Bestimmung des **cobas**® HCV-Tests.

Zusätzlich wurden die in Tabelle 24 aufgeführten Wirkstoffe in dreifacher  $C_{\max}$ -Konzentration getestet. Keiner der getesteten Wirkstoffe hatte einen störenden Einfluss auf die Spezifität oder die quantitative Bestimmung von HCV-RNA mit dem **cobas**® HCV-Test.

Keine der potenziellen Störsubstanzen führte zu einer Störung der Testleistung. Der **cobas**® HCV-Test lieferte bei allen Proben ohne HCV-Zielsequenz negative Ergebnisse und bei allen Proben mit HCV-Zielsequenz positive Ergebnisse. Darüber hinaus lag der mittlere  $\log_{10}$ -Titer bei allen HCV-positiven Proben, die potenzielle Störsubstanzen enthielten, innerhalb von  $\pm 0,3 \log_{10}$  Abstand zum mittleren  $\log_{10}$ -Titer der betreffenden Positivkontrolle.

**Tabelle 24** Wirkstoffe, die auf einen möglichen störenden Einfluss auf die quantitative Bestimmung von HCV-RNA mit dem **cobas®** HCV-Test getestet wurden

<b>Wirkstoffklasse</b>	<b>Freiname</b>	
Immunmodulatoren	Peginterferon $\alpha$ -2a Peginterferon $\alpha$ -2b Ribavirin	
HIV-Entry-Inhibitor	Maraviroc	
HIV-Integrase-Inhibitor	Elvitegravir/Cobicistat	Raltegravir
Nicht-Nukleosid-HIV-Reverse-Transkriptase-Inhibitor	Efavirenz Etravirin	Nevirapin Ralpivirin
HIV-Protease-Inhibitor	Atazanavir Tipranavir Darunavir Fosamprenavir	Lopinavir Nelfinavir Ritonavir Saquinavir
HCV-Protease-Inhibitor	Boceprevir Simeprevir	Telaprevir
Reverse-Transkriptase- und DNA-Polymerase-Inhibitoren	Abacavir Emtricitabin Entecavir Foscarnet Cidofovir Lamivudin Telbivudin	Tenofovir Adefovir dipivoxil Zidovudin Aciclovir Valganciclovir Ganciclovir Sofosbuvir
Substanzen zur Behandlung von opportunistischen Infektionen	Azithromycin Clarithromycin Ethambutol Fluconazol Isoniazid	Pyrazinamid Rifabutin Rifampicin Sulfamethoxazol Trimethoprim

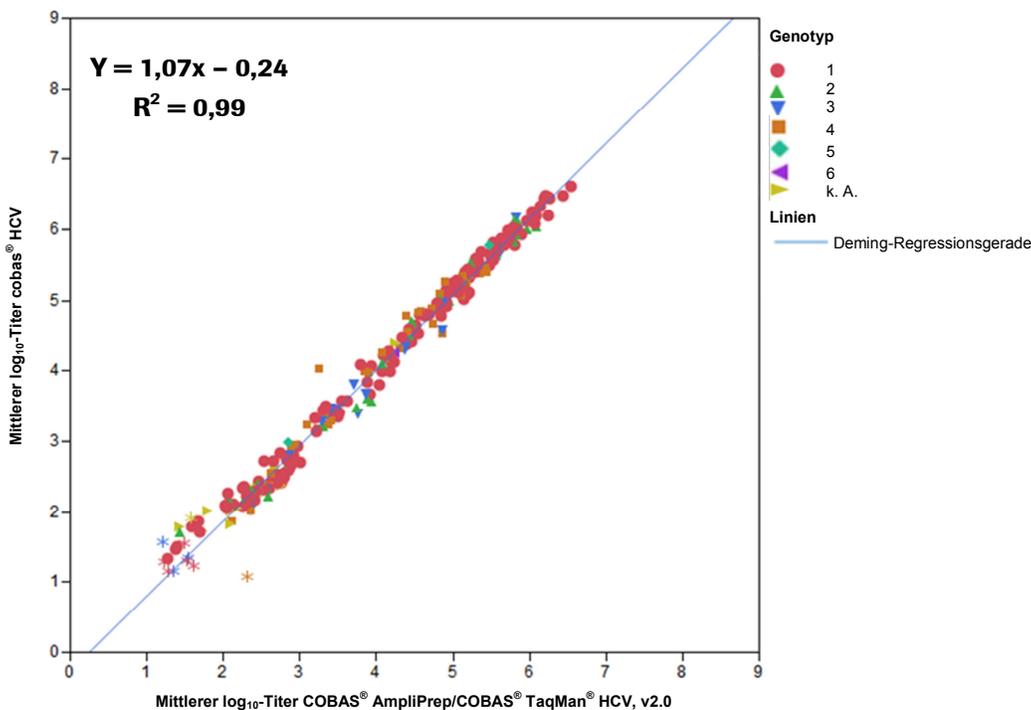
## Korrelation der Methode

### Leistungsbewertung des cobas® HCV-Tests im Vergleich zum COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative Test, v2.0

Zum Vergleich der Leistungsmerkmale des cobas® HCV-Tests und des COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative Test, v2.0 (TaqMan® HCV Test, v2.0), wurden Serum- und EDTA-Plasmaproben von HCV-infizierten Patienten analysiert. Die Ergebnisse von insgesamt 149 EDTA-Plasma- und 122 Serumproben aller HCV-Genotypen (in Doppelbestimmung analysiert) waren gültig und lagen bei beiden Tests innerhalb des Quantifizierungsbereichs. Es wurde eine Deming-Regressionsanalyse durchgeführt. Die mittlere Titerabweichung der mit den beiden Tests getesteten Proben betrug  $0,02 \log_{10}$  (95-%-Konfidenzintervall: 0,00; 0,04).

Die Ergebnisse der Deming-Regression sind in Abbildung 6 dargestellt. Einfachbestimmungen sind in Abbildung 6 mit dem Symbol \* gekennzeichnet.

**Abbildung 6** Regressionsanalyse des cobas® HCV-Tests im Vergleich zum TaqMan® HCV-Test, v2.0; EDTA-Plasma- und Serumproben

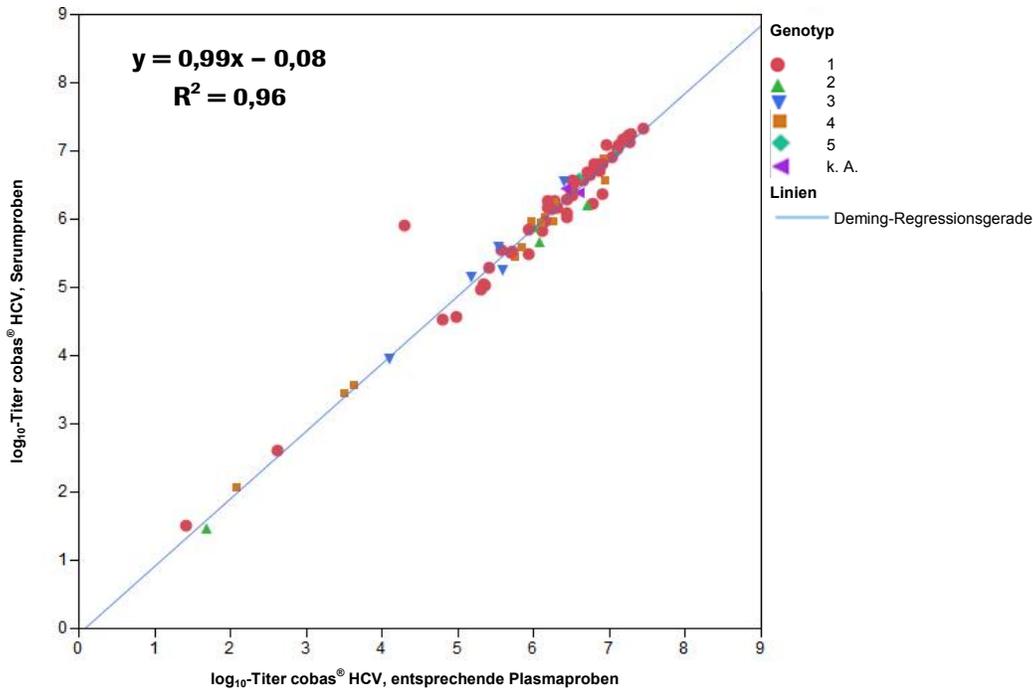


## Äquivalenzerhebung: EDTA-Plasma gegen Serum

Es wurden 190 gepaarte EDTA-Plasma- und Serumproben in Bezug auf deren Gleichwertigkeit als Ausgangsmaterial hin analysiert. Von diesen gepaarten Proben waren 73 HCV-positiv. Die HCV-positiven Proben deckten die Genotypen 1 bis 4 über den linearen Bereich ab.

Die mittlere Titerabweichung der gepaarten EDTA-Plasma- und Serumproben betrug  $-0,13 \log_{10}$  (95%-Konfidenzintervall:  $-0,19; -0,07$ ) (Abbildung 7).

**Abbildung 7** Matrixgleichwertigkeit von EDTA-Plasma und Serum



## Gesamtsystemausfall

Zur Ermittlung der Gesamtsystemausfall-Rate für den cobas® HCV-Test wurden jeweils 100 Replikate von mit der HCV-Zielsequenz versetztem EDTA-Plasma bzw. Serum getestet. Diese Proben wurden mit einer Zielsequenzkonzentration von ca. der 3fachen Nachweisgrenze getestet.

Die Studie ergab, dass alle Replikate gültig und HCV-positiv waren, was einer Gesamtsystemausfall-Rate von 0 % entspricht. Das exakte zweiseitige 95-%-Konfidenzintervall betrug bei beiden Matrizen 0 % für die Untergrenze und 3,62 % für die Obergrenze [0 %: 3,62 %].

## Kreuzkontamination

Zur Ermittlung der Kreuzkontaminationsrate des cobas® HCV-Tests wurden 240 Replikate einer normalen virusnegativen (HIV, HCV und HBV) EDTA-Humanplasmaprobe sowie 225 Replikate einer Probe mit höherem HCV-Titer von 4,0E+07 IE/ml getestet. Es wurden insgesamt fünf Läufe mit Positiv- und Negativproben in Schachbrettkonfiguration durchgeführt.

239 der 240 Replikate der Negativprobe waren gültig und negativ, was einer Kreuzkontaminationsrate von 0,42 % entspricht. Das exakte zweiseitige 95-%-Konfidenzintervall betrug 0,01 % für die Untergrenze und 2,3 % für die Obergrenze [0 %: 2,3 %].

## Weitere Informationen

### Wichtigste Leistungsmerkmale des Tests

<b>Probentyp</b>	EDTA-Plasma, Serum
<b>Erforderliche Probenmindestmenge</b>	650 µl oder 350 µl
<b>Probenverarbeitungsvolumen</b>	500 µl oder 200 µl
<b>Analytische Sensitivität</b>	15 IE/ml (500 µl) 40 IE/ml (200 µl)
<b>Linearer Bereich</b>	500 µl: 15 IE/ml bis 1,0E+08 IE/ml 200 µl: 40 IE/ml bis 1,0E+08 IE/ml
<b>Spezifität</b>	100 % (einseitiges 95-%-Konfidenzintervall: 99,5 %)
<b>Nachweisbare Genotypen</b>	HCV-Genotypen 1 bis 6

## Symbole

Die folgenden Symbole werden bei der Etikettierung von Roche PCR-Diagnostikprodukten verwendet.

**Tabelle 25** Symbole auf den Etiketten von Roche PCR-Diagnostikprodukten

	Zusatz-Software		<i>In-vitro</i> -Diagnostikum
	Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft		Unterer Grenzwert des Sollbereichs
	Barcode-Datenblatt		Hersteller
	Chargenbezeichnung		Im Dunkeln aufbewahren
	Biogefährdung		Ausreichend für $\langle n \rangle$ Tests
	Bestellnummer		Temperaturbegrenzung
	Gebrauchsanweisung beachten		Testdefinitionsdatei
	Inhalt der Packung		Oberer Grenzwert des Sollbereichs
	Vertrieb		Verwendbar bis
	Nur zur Beurteilung der IVD-Leistung		Globale Artikelnummer GTIN
	Dieses Produkt erfüllt die Anforderungen der Europäischen Richtlinie 98/79/EG für <i>in-vitro</i> -diagnostische medizinische Geräte.		

Technischer Kundendienst in den USA: +1 800 526 1247

## Herstellung und Vertrieb

**Tabelle 26** Herstellung und Vertrieb



Hergestellt in den USA

Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
68305 Mannheim, Germany  
www.roche.com



Roche Diagnostics (Schweiz) AG  
Industriestrasse 7  
6343 Rotkreuz, Switzerland

Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
68305 Mannheim, Germany

Roche Diagnostics, SL  
Avda. Generalitat, 171-173  
E-08174 Sant Cugat del Vallès  
Barcelona, Spain

Roche Diagnostica Brasil Ltda.  
Av. Engenheiro Billings, 1729  
Jaguará, Building 10  
05321-010 São Paulo, SP Brazil

Roche Diagnostics  
201, boulevard Armand-Frappier  
H7V 4A2 Laval, Québec, Canada  
(For Technical Assistance call:  
Pour toute assistance technique,  
appeler le: 1-877-273-3433)

Roche Diagnostics  
2, Avenue du Vercors  
38240 Meylan, France

Distributore in Italia:  
Roche Diagnostics S.p.A.  
Viale G. B. Stucchi 110  
20052 Monza, Milano, Italy

Distribuidor em Portugal:  
Roche Sistemas de Diagnósticos Lda.  
Estrada Nacional, 249-1  
2720-413 Amadora, Portugal

## Marken und Patente

Siehe <http://www.roche-diagnostics.us/patents>

## Copyright

©2016 Roche Molecular Systems, Inc.



## Literatur

1. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome [Science 1989;244:359-362]. *J Hepatol.* 2002;36:582-585.
2. Armstrong GL, Wasley A, Simard EP, McQuillan GM, Kuhnert WL, Alter MJ. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002. *Ann Intern Med.* 2006;144:705-714.
3. Rustgi VK. The epidemiology of hepatitis C infection in the United States. *J Gastroenterol.* 2007;42:513-521.
4. Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2001;345:41-52.
5. McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med.* 1998;339(21):1485-92.
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, Hoefs J, Gordon SC, Trepo C, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. International Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med.* 1998;339:1493-1499.
7. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet.* 2001;358):958-965.
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2002;347(13):975-982.
9. Hadziyannis SJ, Sette H, Jr., Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med.* 2004;140:346-355.
10. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB; . American Association for the Study of Liver Diseases. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology.* 2009;49:1335-1374.
11. Ghany MG, Nelson DR, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB; American Association for the Study of Liver Diseases. An update on treatment of genotype 1 chronic hepatitis C virus infection: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology.* 2011;54:1433-1444.
12. Poordad F, McCone J Jr., Bacon BR, et al. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med.* 2011;364:1195-1206.
13. Jacobson IM, McHutchison JG, Dusheiko G, et al. Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2011;364:2405-2416.
14. Bacon BR, Gordon SC, Lawitz E, et al. Boceprevir for previously treated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med.* 2011;364:1207-1217.
15. Zeuzem S, Andreone P, Pol S, et al. Telaprevir for retreatment of HCV infection. *N Engl J Med.* 2011;364:2417-2428.
16. Lawitz E, Mangia A, Wyles D, et al. Sofosbuvir for previously untreated chronic hepatitis C infection. *N Engl J Med.* 2013;368:1878-1887.

17. Jacobson IM, Gordon SC, Kowdley KV, et al. Sofosbuvir for hepatitis C genotype 2 or 3 in patients without treatment options. *N Engl J Med*. 2013;368:1867-1877.
18. Liang TJ, Ghany MG. Current and future therapies for hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*. 2013;368:1907-1917.
19. Rutter K, Hofer H, Beinhardt S, et al. Durability of SVR in chronic hepatitis C patients treated with peginterferon-alpha2a/ribavirin in combination with a direct-acting anti-viral. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013;38:118-123.
20. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-128.
21. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-493.
22. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-878.
23. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (NY)*. 1992;10:413-417.
24. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-994.
25. Center for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
26. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.

## Dokumentversion

<b>Dokumentversionsübersicht</b>	
Doc Rev. 1.0 (Mfg-US) 04/2016	Erstveröffentlichung für das in den USA hergestellte Produkt auf Grundlage von 07175400001 Doc Rev. 2.0.
Doc Rev. 2.0 (Mfg-US) 11/2016	<p>Im Abschnitt <b>Entnahme, Transport und Lagerung von Proben</b> wurde ein Misch-Schritt hinzugefügt.</p> <p>Im Abschnitt <b>Proben</b> wurden die Lagerbedingungen von Proben in Sekundärröhrchen nach der Abtrennung präzisiert.</p> <p>Die Website-Adresse von Roche (<a href="http://www.roche.com">www.roche.com</a>) wurde hinzugefügt.</p> <p>Bei Fragen wenden Sie sich bitte an Ihre Roche-Vertretung vor Ort.</p>