



## HCV BLOT 3.0 WESTERN-BLOT-ASSAY

### Gebrauchsanweisung



REVISIONSDATUM : 2025-06  
MAD0011-GER-3

Hinweis: Änderungen hervorgehoben.

(Kit mit 18 Tests) : 11130-018  
(Kit mit 36 Tests) : 11130-036

#### NAME UND VERWENDUNGSZWECK

Der **MP Diagnostics HCV Blot 3.0** ist ein qualitativer Enzymimmunoassay zum *In-vitro*-Nachweis von Antikörpern gegen Hepatitis C-Viren (HCV) in menschlichem Serum oder Plasma. Er ist als spezifischerer Zusatz-/Bestätigungstest für Proben vorgesehen, die sich bei Verwendung spezifischer Verfahren wie Enzymimmunoassays (ELISA) wiederholt als reaktiv erwiesen haben.

Der MP Diagnostics HCV Blot 3.0 ist für die Verwendung durch Fachleute zur Unterstützung der Diagnose einer HCV-Infektion vorgesehen.

Der MP Diagnostics HCV Blot 3.0 ist für die manuelle oder halbautomatische Verwendung mit dem validierten AutoBlot-System vorgesehen.

#### EINLEITUNG

HCV wurde als Hauptursache für parenteral übertragene Nicht-A-, Nicht-B-Hepatitis (NANB) identifiziert. Infektionen mit dem Hepatitis-C-Virus treten in allen WHO-Regionen auf. Die höchste Krankheitslast weisen die Region Östliches Mittelmeer und die Region Europa auf, in denen jeweils 12 Millionen Menschen chronisch infiziert sind. In Südostasien und Westpazifik sind jeweils schätzungsweise 10 Millionen Menschen chronisch infiziert. In Afrika sind neun Millionen Menschen chronisch infiziert und in Amerika fünf Millionen. Das Hepatitis-C-Virus wird durch Blut übertragen. Am häufigsten wird es durch die Wiederverwendung oder unzureichende Sterilisation von medizinischem Gerät übertragen, insbesondere von Spritzen und Kanülen im Gesundheitswesen, durch die Transfusion von nicht geprüftem Blut und Blutprodukten sowie durch intravenösen Drogenkonsum durch die gemeinsame Nutzung von Injektionsbesteck. Die meisten Menschen zeigen in den ersten Wochen nach der Injektion keine Symptome. Es kann zwischen zwei Wochen und sechs Monaten dauern, bis Symptome auftreten. Wenn Symptome auftreten, können diese Fieber, starke Müdigkeit, Appetitlosigkeit, Übelkeit und Erbrechen, Bauchschmerzen, dunklen Urin, hellen Stuhl, Gelenkschmerzen und Gelbsucht (Gelbfärbung der Haut oder Augen) umfassen.<sup>8</sup>

Heute stehen in der Regel Screening-Tests für die Diagnose einer Hepatitis-C-Infektion zur Verfügung. Diese Screening-Tests umfassen normalerweise Antigene aus der strukturellen Region (Kapsid) sowie ein oder mehrere spezifische Antigene aus nicht-strukturellen Regionen des Virus (NS3, NS4, NS5). Wiederholt reaktive Proben aus Screening-Tests erfordern zusätzliche und spezifischere Tests zur Bestätigung der HCV-

Seropositivität, da mit den derzeit verfügbaren HCV-ELISA-Screening-Tests falsch-positive Reaktionen möglich sind.

Die zusätzlichen Bestätigungstests sollten individuelle Virus-Antigene sowie angemessene negative Kontrollen umfassen. Der **HCV-BLOT 3.0 von MP Diagnostics** umfasst strukturelle und nicht-strukturelle Antigene von HCV und ist als zusätzlicher Bestätigungstest für das Vorhandensein von Antikörpern gegen HCV vorgesehen.

#### BESCHREIBUNG DER VERWENDETEN SYMBOLE

Die folgenden grafischen Symbole werden in oder auf Produkten und Verpackungen von **MP Diagnostics** verwendet.

	Verwendbar bis <i>Synonym:</i> Verfallsdatum		<i>In-vitro</i> -Diagnostika
	Chargenbezeichnung <i>Synonyme:</i> Losnummer Chargennummer		Bestell-nummer
	Temperaturbegrenzungen		Achtung, Gebrauchsanweisung beachten
	Hersteller		Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
	Inhalt ausreichend für <math>\pm</math> Tests		Gebrauchsanweisung beachten
	Nicht zur Wiederverwendung		Eindeutige Geräteerkennung

#### CHEMISCHE UND BIOLOGISCHE VERFAHRENSPRINZIPIEN

Die Nitrozellulosestreifen enthalten fünf rekombinante HCV-Proteine, darunter die Core-, NS3-1-, NS3-2-, NS4- und NS5-Regionen des HCV-Genoms. Die HCV-Proteine werden als GST-Fusionsproteine exprimiert, deshalb ist eine GST-Kontrollbande eingeschlossen, um die Reaktivität auf natives GST anzuzeigen. Die Blots enthalten auch eine IgG-Kontrollbande und eine Anti-IgG-Bande. Die einzelnen Nitrozellulosestreifen sind mit verdünnten Serum- oder Plasmaproben und Kontrollen inkubiert. Etwaige in der Probe vorhandene spezifische Antikörper gegen HCV werden an die HCV-Proteine auf den Streifen binden. Die Streifen werden gewaschen, um ungebundene Materialien zu entfernen, und dann mit affinitätsgereinigtem Anti-Human-IgG inkubiert, das mit alkaliner Phosphatase konjugiert wurde. Der Konjugat-Antikörper wird an jegliche auf den Blots gebildeten Antigen-Antikörper binden. Ungebundenes Konjugat wird abgewaschen. Ein BCIP/NBT-Substrat wird hinzugegeben, um die reaktiven Proteinbanden auf den Blots zu visualisieren.

Die Nitrozellulosestreifen enthalten fünf rekombinante HCV-Proteine, darunter die Core-, NS3-1-, NS3-2-, NS4- und NS5-Regionen des HCV-Genoms. Die HCV-Proteine werden als GST-Fusionsproteine exprimiert, deshalb ist eine GST-Kontrollbande eingeschlossen, um die Reaktivität auf natives GST anzuzeigen. Die Blots enthalten auch eine IgG-Kontrollbande und eine Anti-IgG-Bande. Die einzelnen Nitrozellulosestreifen sind mit verdünnten Serum- oder Plasmaproben und Kontrollen inkubiert. Etwaige in der Probe vorhandene spezifische Antikörper gegen HCV werden an die HCV-Proteine auf den Streifen binden. Die Streifen werden gewaschen, um ungebundene Materialien zu entfernen, und dann mit affinitätsgereinigtem Anti-Human-IgG inkubiert, das mit alkaliner Phosphatase konjugiert wurde. Der Konjugat-Antikörper wird an jegliche auf den Blots gebildeten Antigen-Antikörper binden. Ungebundenes Konjugat wird abgewaschen. Ein BCIP/NBT-Substrat wird hinzugegeben, um die reaktiven Proteinbanden auf den Blots zu visualisieren.

1

#### VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- VERDÜNNTER WASCHPUFFER**
  - VERDÜNNTER WASCHPUFFER sollte vor dem **Gebrauch frisch zubereitet werden**.
  - 1 Teil WASHPUFFERKONZENTRAT (20fach) mit 19 Teilen Reagenzgrad-Wasser verdünnen. Gut mischen.
- BLOTTING-PUFFER**
  - BLOTTING-PUFFER sollte vor dem **Gebrauch frisch zubereitet werden**.
  - 1 Teil VORRATSPUFFERKONZENTRAT (10fach) mit 9 Teilen Reagenzgrad-Wasser verdünnen. Gut mischen.
  - Für alle 20 ml des in Schritt 2(b) oben zubereiteten VORRATSPUFFERS 1 g BLOTTING-PULVER hinzugeben. Umrühren, um sicherzustellen, dass das Pulver sich vollständig auflöst.
  - Vor der Ausgabe noch einmal umrühren.
- ARBEITSKONJUGATLÖSUNG**  
Hinweis: Die Lösung in einem Polypropylenbehälter-becher zubereiten.
  - ARBEITSKONJUGATLÖSUNG sollte **vor dem Gebrauch frisch zubereitet werden**.
  - Zur Zubereitung der ARBEITSKONJUGATLÖSUNG das KONJUGAT im Verhältnis von 1:1000 im BLOTTING-PUFFER verdünnen, zum Beispiel 5 µl KONJUGAT auf 5 ml BLOTTING-PUFFER.
- SUBSTRATLÖSUNG (gebrauchsfertig)**
  - Das benötigte Volumen direkt aus der Flasche ausgeben. Eine saubere Pipette verwenden. Den Deckel nach dem Gebrauch fest verschließen.

#### TESTVERFAHREN

- Hinweis:**
- Alle verwendeten Chemikalien und Reagenzien in eine Falle mit Natriumhypochlorit absaugen.
  - Alle Inkubationen auf einem Plattformerschütterer durchführen.

#### Vorsicht:

Manche Proben verursachen dunkle Flecken auf dem Streifen, wo sie aufgebracht wurden. Um dies zu vermeiden, ist Folgendes sicherzustellen:

- Die Probe sollte erst nach dem BLOTTING-PUFFER hinzugegeben werden.
- ii. Die Schale leicht kippen, indem das obere oder untere Ende der Schale angehoben wird. Der Blotting-Puffer fließt in das niedrigere Ende der Schale. Die Probe dort hinzugeben, wo sich der Blotting-Puffer angesammelt hat. Nachdem alle Proben hinzugegeben wurden, die Schale wieder in ihre flache Position bringen. Während des Prozesses immer sicherstellen, dass die Streifen feucht gehalten werden.
- iii. Falls ein Kippen der Schale nicht erwünscht ist, können die Proben am oberen oder unteren Ende der Vertiefung hinzugegeben werden. Wenn dabei dunkle Flecken auftreten, wird die Auswertung der Streifenergebnisse dadurch nicht beeinflusst.

#### Verfahren:

- Mit einer Pinzette vorsichtig die erforderliche Anzahl von STREIFEN aus dem Röhrchen nehmen und mit der nummerierten Seite nach oben in jede Vertiefung legen. Streifen für reaktive und nicht reaktive Kontrollen einschließen.

#### KIT-KOMPONENTEN

	Beschreibung der Komponenten	Verfügbare Menge
	<b>NITROZELLULOSESTREIFEN</b> Mit HCV-rekombinanten strukturellen und nicht-strukturellen Antigenen inkorporiert. Zwei Serumzugabe-Kontrollbänder (Anti-Human-IgG und Human-IgG). Trocken und von Licht fernhalten.	Verfügbar mit 18 oder 36 Streifen
	<b>NICHT REAKTIVE KONTROLLE</b> Inaktiviertes normales Humenserum, nicht reaktiv für Hepatitis-B-Oberflächen-Antigen (HBsAg), Antikörper gegen HIV-1, HIV-2 und HCV. Enthält Natriumazid und Thimerosal als Konservierungsmittel.	1 Röhrchen (80 µl)
	<b>REAKTIVE KONTROLLE</b> Inaktiviertes Humenserum mit hochtitrigen Antikörpern gegen HCV. Nicht reaktiv für Anti-HIV-1/2 und HBsAg. Enthält Natriumazid und Thimerosal als Konservierungsmittel.	1 Röhrchen (80 µl)
	<b>BASISPUFFER (10fach)</b> Tris-Puffer mit Hitze-inaktiviertem normalem Ziegenserum. Enthält Thimerosal als Konservierungsmittel.	1 Flasche (20 ml)
	<b>WASCHPUFFERKONZENTRAT (20fach)</b> Tris mit Tween20. Enthält Thimerosal als Konservierungsmittel.	1 Flasche (70 ml)
	<b>KONJUGAT</b> Ziegen-Anti-Human-IgG, mit alkaliner Phosphatase konjugiert.	1 Röhrchen (120 µl)
	<b>SUBSTRAT</b> Lösung von 5-Brom-4-chlor-3-indolylphosphat (BCIP) und Nitroblau-Tetrazolium (NBT).	1 Flasche (100 ml)
	<b>BLOTTING-PULVER</b> Magermilchpulver	10 Päckchen (je 1 g)
	Gebrauchsanweisung	1 Exemplar
	Pinzette	1 Stück
	Inkubationsschalen*	

Hinweis: Das zur Verfügung gestellte Reagenzvolumen reicht für 4 Durchläufe.

\* Inkubationswannen sind im Lieferumfang enthalten, sind aber getrennt vom Kit verpackt.

2

- 2 ml VERDÜNNTEN WASHPUFFER in jede Vertiefung geben. **2 ml**
- Die Streifen für mindestens **1–2 Minuten** bei Raumtemperatur (25°C ± 3°C) auf einem Plattformerschütterer inkubieren (Geschwindigkeit von 12 bis 16 Oszillationen pro Minute). Den Puffer durch Aspiration entfernen. **2 Minuten**
- 2 ml BLOTTING-PUFFER in jede Vertiefung geben. **2 ml**
- 20 µl der Seren jedes Patienten oder Kontrollen in die entsprechenden Vertiefungen geben. Darauf achten, dass die Proben nicht direkt auf die Streifen gegeben werden. **20 µl**
- Die Schale mit dem bereitgestellten Deckel abdecken und für **1 Stunde** bei Raumtemperatur (25°C ± 3°C) auf dem Plattformerschütterer inkubieren. **60 Minuten**
- Den Deckel vorsichtig von der Schale abnehmen, um Spritzer oder ein Vermischen der Proben zu vermeiden. Die Schale kippen, um die Mischung aus den Vertiefungen abzusaugen. Die Absaugspitzen zwischen den Proben auswechseln, um eine Kreuzkontamination zu vermeiden.
- Jeden Streifen 3-mal mit 2 ml VERDÜNNTEM WASHPUFFER waschen und zwischen jeder Wäsche für **5 Minuten** auf dem Plattformerschütterer einweichen lassen. **3 x 2 ml**
- 2 ml der ARBEITSKONJUGATLÖSUNG in jede Vertiefung geben. **2 ml**
- Die Schale abdecken und für 1 Stunde bei Raumtemperatur (25°C ± 3°C) auf dem Plattformerschütterer inkubieren. **60 Minuten**
- Das KONJUGAT aus den Vertiefungen absaugen. Wie in Schritt 8 waschen. **3 x 2 ml**
- 2 ml der SUBSTRATLÖSUNG in jede Vertiefung geben. **2 ml**
- Die Schale abdecken und für **15 Minuten** auf dem Plattformerschütterer inkubieren. **15 Minuten**
- Das SUBSTRAT absaugen und die Streifen mindestens dreimal mit Reagenzgrad-Wasser abspülen, um die Reaktion zu stoppen (bei unzureichendem Waschen kann in diesem Schritt ein dunkler Hintergrund entstehen). **3 x 2 ml**
- Die Streifen mit einer Pinzette herausnehmen und auf Papiertücher legen. Mit Papiertüchern abdecken und trocknen lassen. Alternativ die Streifen in den Vertiefungen der Schale trocknen lassen.

#### WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Nur für *In-vitro*-Diagnose.
- Nur für den Gebrauch durch Fachkräfte.
- Informationen zu potenziell gefährlichen Komponenten sind dem Produktetikett zu entnehmen.

#### INFORMATIONEN ZU GESUNDHEIT UND SICHERHEIT

**VORSICHT:** Dieses Kit enthält Materialien menschlichen Ursprungs. Bei keiner Testmethode kann vollständig gewährleistet werden, dass menschliche Blutprodukte keine Infektion übertragen.

**TESTPROBEN SOWIE REAKTIVE UND NICHT REAKTIVE KONTROLLEN ALS POTENZIELL INFEKTIÖSE SUBSTANZEN HANDBABEN.** Es wird empfohlen, die Komponenten und Testproben unter Verwendung von guten Laborpraktiken zu handhaben. Sie sollten in Übereinstimmung mit den festgelegten Sicherheitsverfahren entsorgt werden.

Die **reaktive Kontrolle** und die **nichtreaktive Kontrolle** enthalten Thimerosal und Natriumazid und das Vorratspufferkonzentrat und das Waschpufferkonzentrat enthalten Thimerosal und das Konjugat enthält Natriumazid. Natriumazid kann mit Kupfer und Blei in manchen Rohrleitungssystemen reagieren und explosive Salze bilden. Die in diesem Kit verwendeten Mengen sind klein, bei der Entsorgung von azidhaltigen Materialien sollten diese jedoch mit relativ großen Mengen Wasser weggespült werden, um eine Metallazidansammlung in den Rohrleitungssystemen zu vermeiden.

Gemäß EU-Verordnung 1272/2008 (CLP) sind gefährliche Komponenten wie folgt eingestuft und gekennzeichnet:

<b>Komponente:</b>	<b>NITROZELLULOSESTREIFEN</b>
<b>Signalwort:</b>	<b>Gefahr</b>
<b>Piktogramm:</b>	
<b>Gefahrenhinweise:</b>	H228 Entzündbarer Feststoff.
<b>Sicherheitshinweise:</b>	P210 Von Hitze/Funken/offener Flamme/heißen Oberflächen fernhalten. Nicht rauchen. P280 Schutzhandschuhe/ Schutzbekleidung/Augenschutz/ Gesichtsschutz tragen.
<b>Ergänzende Hinweise:</b>	EUH210 Sicherheitsdatenblatt ist auf Anfrage erhältlich
<b>Enthält:</b>	100 % Nitrozellulose

<b>Komponente:</b>	<b>BASISPUFFER (10fach) WASHPUFFERKONZENTRAT (20fach)</b>
<b>Signalwort:</b>	Warnung
<b>Piktogramm:</b>	
<b>Gefahrenhinweise:</b>	H373 Kann die Organe schädigen bei längerer oder wiederholter Exposition
<b>Sicherheitshinweise:</b>	P260 Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol nicht einatmen. P501 Entsorgung des Inhalts/ des Behälters gemäß den örtlichen/regionalen/nationalen/internationalen Vorschriften.

- Die Streifen auf dem Arbeitsblatt anbringen (nicht absorbierendes weißes Papier). Keine Klebestreifen auf die entwickelten Banden geben. Die Banden beobachten (siehe Auswertung der Ergebnisse) und die Ergebnisse auswerten. Die Streifen vor Licht geschützt aufbewahren.

ZUSAMMENFASSUNG DER TESTPROTOKOLLE		
Reagenzien	Anz.	Dauer
Nitrozellulosestreifen	1	-
Waschpuffer	2 ml	2 Min.
Blotting-Puffer	2 ml	-
Probe	20 µl	60 Min.
Waschpuffer	3 x 2 ml	3 x 5 Min.
Konjugat	2 ml	60 Min.
Waschpuffer	3 x 2 ml	3 x 5 Min.
Substrat (gebrauchsfertig)	2 ml	15 Min.
Destilliertes Wasser	3 x 2 ml	-

#### BENÖTIGTE MENGE VON REAGENZIEN FÜR VERSCHIEDENE ANZAHLN VON STREIFEN

Reagenzien	ANZAHL VON ZU VERWENDENDEN STREIFEN						
	3	6	9	15	20	27	36
1X Waschpuffer (ml)	60	100	140	240	300	400	520
1X Blotting-Puffer (ml)	20	40	60	80	100	120	160
Konjugat (µl)	11	17	23	35	45	59	77
Substrat (ml)	11	17	23	35	45	59	77
Blotting-Pulver (g)	1	2	3	4	5	6	8

#### QUALITÄTSKONTROLLE

Die reaktiven und nicht reaktiven Kontrollen sollten bei jedem Test mitbenutzt werden. Damit die Ergebnisse eines Tests als gültig erachtet werden können, müssen die folgenden Bedingungen erfüllt sein:

- KONTROLLBANDEN (Anti-IgG- und IgG-KONTROLLE)**  
Die zwei Kontrollbänder (Anti-IgG und IgG, siehe nachfolgendes Diagramm) sollten auf allen Blots differenziell reaktiv sein. Das Vorhandensein der Anti-IgG-Bande zeigt an, dass im anfänglichen Inkubationsschritt Serum hinzugegeben wurde. Das Fehlen der Anti-IgG-Kontrollbande und das Vorhandensein von IgG auf einem Blot würden anzeigen, dass das Patientenserum nicht hinzugegeben wurde. Wenn keiner der Blots in einem Test, einschließlich der Kontrollen, Banden enthält, könnte dies auf einen technischen Fehler oder ein fehlerhaftes Kit-Reagenz hindeuten.
- NICHT REAKTIVE KONTROLLE**  
Auf dem nicht reaktiven Streifen sollten nur die IgG-Kontrollbande und die Anti-IgG-Kontrollbande reaktiv sein. (Abb. 1b)
- REAKTIVE KONTROLLE**  
Alle rekombinanten HCV-Proteinbanden sollten mit dem reaktiven Kontrollserum reaktiv sein. Des Weiteren sollten die Anti-IgG- und IgG-Kontrollbänder reaktiv sein. Die GST-Kontrollbande sollte nicht reaktiv sein. (Abb. 1a).

Die den MP Diagnostics HCV Blot 3.0 Test Controls zugewiesenen Spezifikationen sind über interne Produktions-/Qualitätskontrollverfahren rückverfolgbar. Die Vorbereitung

<b>Ergänzende Hinweise:</b>	EUH210 Sicherheitsdatenblatt ist auf Anfrage erhältlich
<b>Enthält:</b>	0,1 % Thimerosal

- Beim Öffnen und Entfernen von Aliquoten aus den Originalröhrchen oder -flaschen eine Mikrobenkontamination der Reagenzien vermeiden, da dies die Haltbarkeit der Kits reduziert und zu fehlerhaften Ergebnissen führt. Beim Aufziehen von Aliquoten aus Röhrchen aseptische Techniken verwenden, einschließlich Einweg-Pipettenspitzen.
- Die Kitkontrollen sollten bei jedem Testlauf gleichzeitig mit den Patientenproben getestet werden.
- Für jedes Proben-Aliquot eine neue Pipettenspitze verwenden, um Kreuzkontamination zu vermeiden.
- Für beste Ergebnisse alle Reagenzien kalt ausgeben und sobald wie möglich wieder bei 2 °C bis 8 °C aufbewahren.
- Es wird empfohlen, mit den Reagenzien verwendete Glaswaren vor dem Gebrauch mit 2M-Hydrochlorosäure zu waschen und gründlich mit destilliertem oder deionisiertem Wasser zu spülen.
- Zur Verdünnung von Reagenzien nur deionisiertes oder destilliertes Wasser von Reagenz-Qualität verwenden.
- Alle Reagenzien vor dem Gebrauch gut mischen.
- Arbeitskonjugatösung, verdünnter Waschpuffer und Blotting-Puffer sollten vor dem **Gebrauch frisch zubereitet werden**.
- Die Arbeitskonjugatösung sollte mithilfe eines Polypropylenbehälters oder -beckens hergestellt werden.
- Während der Aufbewahrung oder bei den Inkubationsschritten in einem Bereich mit hohen chemischen Desinfektionsmitteldämpfen (z. B. Hypochloritdämpfe) keine Reagenzien verwenden oder Tests durchführen. Der Kontakt hemmt die Farbreaktion. Die Reagenzien auch keinem starken Licht aussetzen.
- Der Test sollte vorzugsweise bei Raumtemperatur (25°C ± 3°C) durchgeführt werden.
- Sicherstellen, dass die Teststreifen so ausgelegt werden, dass die Zahlen auf den Streifen nach oben zeigen.
- Bei Western-Blot-Assays ist es wichtig, einen Plattformerschütterer und keinen Kreisschütter zu verwenden, da die Leistung des Kits ansonsten beeinträchtigt werden könnte. Die empfohlene Geschwindigkeit des Schüttlers beträgt 12 bis 16 Zyklen pro Minute und sein Kippwinkel beträgt 5 bis 10 Grad.
- Sicherstellen, dass automatisierte Geräte vor dem Gebrauch validiert werden.
- Sicherstellen, dass Proben vom Streifen entfernt hinzugegeben werden. Die Schale kann gekippt und die Probe dort hinzugegeben werden, wo der Puffer sich am unteren Ende angesammelt hat. Dadurch wird die Bildung eines dunklen Flecks aufgrund der Aufbringung der Probe auf den Streifen verhindert.
- Zur Aufbewahrung der Reagenzien und Proben nach Möglichkeit keine Gefrierschränke mit automatischer Abtauerung verwenden.

#### AUFBEWAHRUNG

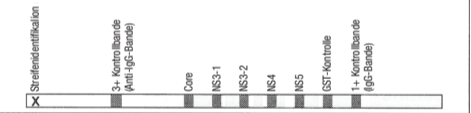
- Das MP Diagnostics HCV BLOT 3.0 Kit und seine Komponenten bei 2°C bis 8°C aufbewahren, wenn sie nicht in Gebrauch sind.
- Alle Testreagenzien und Streifen sind bei einer Aufbewahrung bei 2°C bis 8°C bis zu dem auf dem Kit angegebenen Verfallsdatum stabil. Reagenzien nicht einfrieren.
- Die geöffneten Komponenten sind bei sachgemäßer Handhabung und Lagerung bis zu dem auf dem Kit angegebenen Verfallsdatum stabil.

3

der MP Diagnostics HCV Blot 3.0 Test Controls wird durch detaillierte interne Produktions-/Qualitätskontrollverfahren beschrieben.

#### AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Es folgt ein Diagramm der Antigene und Kontrollen auf dem MP Diagnostics HCV BLOT 3.0



Die Kontrollbänder ausfindig machen und identifizieren. Die 3+ Intensität ist die Anti-IgG-Bande und die 1+ Intensitätsbande ist die IgG-Kontrollbande. Diese sollten auf allen Streifen sichtbar sein. Die Intensität einer reaktiven Bande wird zur Referenz mit diesen beiden Banden verglichen. Der Vergleich mit diesen Banden erfolgt, um jedem Antigen auf dem Streifen eine Reaktivitätsbewertung zuzuweisen.

MUSTER	INTERPRETATION
1) Keine Reaktivität	-
2) Reaktivität < 1+ Kontrolle	±
3) Reaktivität = 1+ Kontrolle	1+
4) Reaktivität > 1+ und < 3+ Kontrolle	2+
5) Reaktivität = 3+ Kontrolle	3+
6) Reaktivität > 3+ Kontrolle	4+

BLOT-PROFIL	INTERPRETATION
Keine Banden mit Reaktivität von 1+ oder stärker	<b>NEGATIV</b>
1+ oder stärkere Reaktivität auf 2 oder mehr HCV-Antigene	<b>POSITIV</b>
2+ oder stärkere Reaktivität nur auf der Core-Bande.	
Eine einzige HCV-Bande mit einer Reaktivität von 1+ oder stärker, das Muster erfüllt jedoch nicht die Kriterien für POSITIV	<b>FRAGLICH</b>

Nur Reaktivität auf die GST-Kontrollbande gilt als **NEGATIV**.

Eine GST-Kontrollbandenreaktivität von 1+ oder stärker und eine Reaktivität von 1+ oder stärker auf einem oder mehreren HCV-Antigenen gelten als **FRAGLICH**.

Eine Probe, die bei einem Screening-Test eines anderen Herstellers oder einem Bestätigungstest nicht reaktiv war, könnte aufgrund des Vorhandenseins von einzigtartigen Epitopen in diesem Bestätigungstest auf dem MP Diagnostics HCV BLOT 3.0 reaktiv sein.

#### SPEZIFISCHE LEISTUNGSMERKMALE

Insgesamt wurden 550 HCV-positive und 583 HCV-negative Proben mit MP Diagnostics HCV Blot 3.0 getestet; die Gesamtdiagnostiksensitivität beträgt 99,8 % und die Gesamtdiagnostikspezifität 99,9 %.

- Bei Öffnen und Entfernen von Aliquoten aus den Originalröhrchen oder -flaschen eine Mikrobenkontamination der Reagenzien vermeiden, da dies die Haltbarkeit der Kits reduziert und zu fehlerhaften Ergebnissen führt. Beim Aufziehen von Aliquoten aus Röhrchen aseptische Techniken verwenden, einschließlich Einweg-Pipettenspitzen.
- Die Kitkontrollen sollten bei jedem Testlauf gleichzeitig mit den Patientenproben getestet werden.
- Für jedes Proben-Aliquot eine neue Pipettenspitze verwenden, um Kreuzkontamination zu vermeiden.
- Für beste Ergebnisse alle Reagenzien kalt ausgeben und sobald wie möglich wieder bei 2 °C bis 8 °C aufbewahren.
- Es wird empfohlen, mit den Reagenzien verwendete Glaswaren vor dem Gebrauch mit 2M-Hydrochlorosäure zu waschen und gründlich mit destilliertem oder deionisiertem Wasser zu spülen.
- Zur Verdünnung von Reagenzien nur deionisiertes oder destilliertes Wasser von Reagenz-Qualität verwenden.
- Alle Reagenzien vor dem Gebrauch gut mischen.
- Arbeitskonjugatösung, verdünnter Waschpuffer und Blotting-Puffer sollten vor dem **Gebrauch frisch zubereitet werden**.
- Die Arbeitskonjugatösung sollte mithilfe eines Polypropylenbehälters oder -beckens hergestellt werden.
- Während der Aufbewahrung oder bei den Inkubationsschritten in einem Bereich mit hohen chemischen Desinfektionsmitteldämpfen (z. B. Hypochloritdämpfe) keine Reagenzien verwenden oder Tests durchführen. Der Kontakt hemmt die Farbreaktion. Die Reagenzien auch keinem starken Licht aussetzen.
- Der Test sollte vorzugsweise bei Raumtemperatur (25°C ± 3°C) durchgeführt werden.
- Sicherstellen, dass die Teststreifen so ausgelegt werden, dass die Zahlen auf den Streifen nach oben zeigen.
- Bei Western-Blot-Assays ist es wichtig, einen Plattformerschütterer und keinen Kreisschütter zu verwenden, da die Leistung des Kits ansonsten beeinträchtigt werden könnte. Die empfohlene Geschwindigkeit des Schüttlers beträgt 12 bis 16 Zyklen pro Minute und sein Kippwinkel beträgt 5 bis 10 Grad.
- Sicherstellen, dass automatisierte Geräte vor dem Gebrauch validiert werden.
- Sicherstellen, dass Proben vom Streifen entfernt hinzugegeben werden. Die Schale kann gekippt und die Probe dort hinzugegeben werden, wo der Puffer sich am unteren Ende angesammelt hat. Dadurch wird die Bildung eines dunklen Flecks aufgrund der Aufbringung der Probe auf den Streifen verhindert.
- Zur Aufbewahrung der Reagenzien und Proben nach Möglichkeit keine Gefrierschränke mit automatischer Abtauerung verwenden.

#### AUFBEWAHRUNG

- Das MP Diagnostics HCV BLOT 3.0 Kit und seine Komponenten bei 2°C bis 8°C aufbewahren, wenn sie nicht in Gebrauch sind.
- Alle Testreagenzien und Streifen sind bei einer Aufbewahrung bei 2°C bis 8°C bis zu dem auf dem Kit angegebenen Verfallsdatum stabil. Reagenzien nicht einfrieren.
- Die geöffneten Komponenten sind bei sachgemäßer Handhabung und Lagerung bis zu dem auf dem Kit angegebenen Verfallsdatum stabil.

Leistung	MP Diagnostics HCV Blot 3.0
Diagnostische Sensitivität*	99.82% (549/550) 98.99% at 100.00%
Diagnostische Spezifität**	100% (583/583) 99.37% at 100%
Positiver prädiktiver Wert (PPV)	100% 99.33% at 100%
Negativer prädiktiver Wert (NPV)	99.83% 98.80% at 99.98%

\*HCV-positive Proben, einschließlich verschiedener HCV-Genotypen 1 bis 6.

\*\*HCV-negative Proben, einschließlich Proben von normalen Blutspendern, kreuzreaktive Proben/störende Proben/ Schwangerschaftsproben

## Analytische Sensitivität

Bei der Titration von drei (3) HCV-positiven Proben wurde festgestellt, dass der Reaktivitätspunkt für MP Diagnostics HCV Blot 3.0 bei einer Verdünnung von 1:800 bzw. 1:1280 liegt.

## Präzision

Die Interassay- (zwischen den Durchläufen) und Intraassay- (innerhalb der Durchläufe, innerhalb eines Tages und von Tag zu Tag) Reproduzierbarkeit von MP Diagnostics HCV Blot 3.0 wurde anhand einer Reihe von Kontrollpanel-Mitgliedern bewertet. Alle erzielten Ergebnisse liegen durchweg innerhalb der akzeptablen Kriterien, was darauf hindeutet, dass MP Diagnostics HCV Blot 3.0 in drei (3) untersuchten Chargen robust, reproduzierbar und konsistent ist.

## EINSCHRÄNKUNGEN DER METHODE

Für eine optimale Testdurchführung ist eine strenge Einhaltung des Testverfahrens erforderlich. Eine Abweichung vom Verfahren kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen.

Ein **NEGATIVES** Ergebnis schließt die Möglichkeit einer Exposition oder Infektion mit HCV nicht aus; ein negatives Ergebnis könnte wahrscheinlich auf eine frühe Infektion vor der Serokonversion zurückzuführen sein, als der Antikörperspiegel zu niedrig für die Erkennung war.

Ein **FRAGLICHES** Ergebnis sollte nicht als Grundlage für eine Diagnose von HCV-Infektion verwendet werden. Eine Reaktivität von  $\geq 1+$  auf nur einem HCV-Antigen könnte nicht spezifische Reaktivität sein, ein Zeichen für eine vergangene beseitigte Infektion oder ein Zeichen für eine frühe Serokonversion. Wir empfehlen einen erneuten Test in zwei bis sechs Monaten mit einer frischen Probe. **FRAGLICHE** Seren können mit PCR getestet werden, um weiter zu bestimmen, ob eine Person HCV exponiert war oder mit HCV infiziert ist.

Ein positives Ergebnis unterscheidet nicht zwischen einer früheren und einer aktuellen Infektion. Ein Nukleinsäuretest (NAT) auf HCV-Ribonukleinsäure (RNA) ist erforderlich, um eine aktive Infektion und die Notwendigkeit einer Behandlung zu bestätigen.

## GARANTIEBESCHRÄNKUNG

Der Hersteller übernimmt keine andere Garantie, als dass das Testkit im Rahmen der in der Gebrauchsanweisung des Produktes beschriebenen Spezifikationen und Einschränkungen wie ein In-vitro-Diagnosetest funktioniert, wenn es in Übereinstimmung mit den darin enthaltenen Anleitungen verwendet wird. Der Hersteller lehnt jede ausdrückliche oder stillschweigende Garantie ab, einschließlich der ausdrücklichen oder stillschweigenden Garantie hinsichtlich Marktfähigkeit, Gebrauchstauglichkeit oder stillschweigenden Nutzen für jeglichen Zweck. Natürliche oder juristische Personen können gemäß den geltenden Unions- und nationalen Rechtsvorschriften Schadensersatz für Schäden geltend machen, die durch ein fehlerhaftes Produkt verursacht wurden. Der Bevollmächtigte haftet gesetzlich für fehlerhafte Produkte in der gleichen Weise wie der Hersteller und solidarisch mit diesem, wenn der Hersteller seinen in der Verordnung (EU) 2017/746 aufgeführten Verpflichtungen nicht nachgekommen ist.

## TECHNISCHE PROBLEME / REKLAMATIONEN / SCHWERWIEGENDE VORKOMMISSE

Bei einem technischen Problem/einer Beschwerde tun Sie bitte Folgendes:

1. Notieren Sie die Kit-Chargennummer, das Verfallsdatum und die Streifen-Chargennummer.
2. Bewahren Sie die Kits und die damit erhaltenen Ergebnisse auf.

7

3. Kontaktieren Sie die nächstgelegene Niederlassung von MP Biomedicals oder Ihren örtlichen Vertriebsrepräsentanten.

Sollte ein schwerwiegendes Vorkommnis im Zusammenhang mit dem Produkt auftreten, so ist dieser dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats, in dem sich der Benutzer und/oder der Patient befindet, zu melden.

Die Zusammenfassung von Sicherheit und Leistung (ReferenzNr.: SSP-MP Diagnostics HCV Blot 3.0) ist verfügbar auf EUDAMED oder kann von MP Biomedicals bezogen werden.

## LITERATUR

1. Choo Q-L., et al. 1989. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne Non-A, Non-B viral hepatitis genome. Science; 244: 359-62.
2. Kuo G., et al. 1989. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human Non-A, Non-B hepatitis. Science; 244: 362-364.
3. Kleinman S., Alter H., Busch M., et al. 1993. Increased detection of hepatitis C virus infected blood donors by a multiple antigen HCV enzyme immunoassay. Transfusion; 32: 805-813.
4. Van der Poel C. L. Reesink H., W., Schaasberg W. et al. 1990. Infectivity of blood seropositives for hepatitis C virus antibodies. Lancet; 335:558-560.
5. Colombo M., Kuo G., Choo Q-L., et al. 1989. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Italian patients with hepatocellular carcinoma. Lancet; 2: 1006-8.
6. Bruix J., Barrera J., Calvert X. et al. 1989. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Spanish patients with hepatocellular carcinoma and hepatic cirrhosis. Lancet; 2: 1004-6.
7. European Centre for Disease Prevention and Control. Hepatitis C. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2020. Stockholm: ECDC; 2022.
8. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c>



### MP Biomedicals Asia Pacific Pte Ltd.

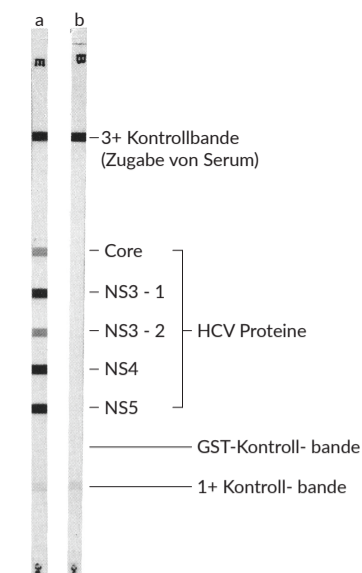
2 Pioneer Place  
Singapore 627885  
Tel.- Nr.: + 65 6775 0008  
E-Mail: [enquiry\\_ap@mpbio.com](mailto:enquiry_ap@mpbio.com)  
Internet-Adresse: [www.mpbio.com](http://www.mpbio.com)



### MP Biomedicals Deutschland GmbH

Thüringer Straße 15  
37269 Eschwege  
Deutschland  
Tel.-Nr. : +49 5651 921 111  
Fax-Nr. : +49 5651 921 181  
E-mail : [diagnostics@mpbio.com](mailto:diagnostics@mpbio.com)

## ABBILDUNG 1



Viruspezifisch, wie visualisiert mit:

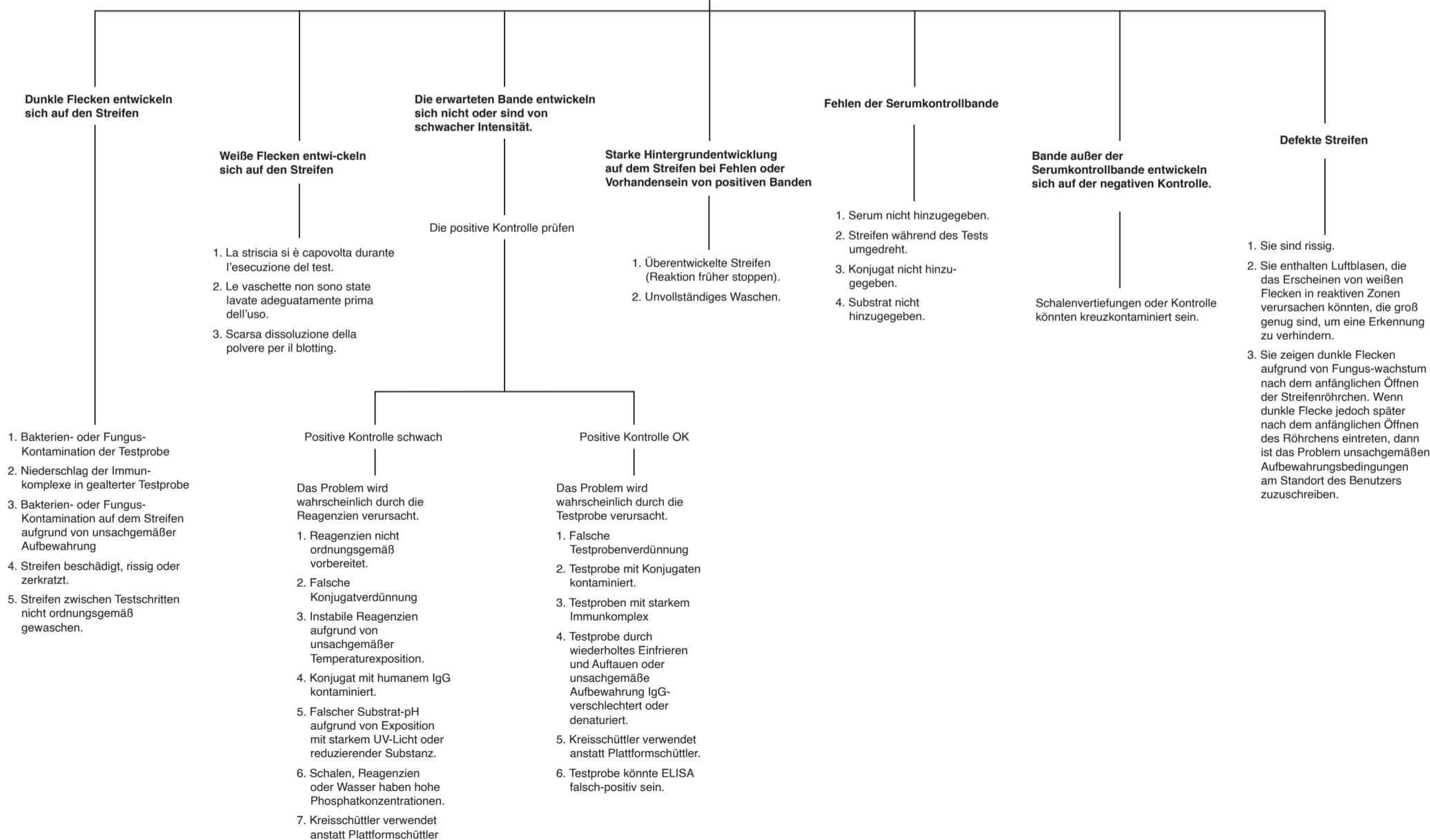
a. stark reaktiver Kontrolle.

b. nicht reaktiver Kontrolle.

(Hinweis: Diese Position der GST-Bande ist angezeigt, aber die Bande selbst ist nicht sichtbar, da diese Seren mit GST nicht reaktiv sind.)

8

## Fehlerbehebungstabelle



10

11

12