

Anlage 1: Anforderungen an die Bestimmung der Sensitivität von Screening-Tests, die bei der Herstellung von Blut- und Stammzellzubereitungen zur Spenderuntersuchung verwendet werden

Parameter	Serokonversions-Sensitivität	Diagnostische Sensitivität	Analytische Sensitivität	Geno-, Subtypen-, Mutantenerkennung
Anti-HIV-1/2 Ak	Für alle HIV-, HCV- und HBsAg-Screening-Tests muss die Sensitivität während der frühen Infektionsphase (Serokonversion) durch Testung von 30 Serokonversions-Panels, mit kurzen Intervallen zwischen den Blutabnahmen im Bereich, in dem die Serokonversion stattfindet, im Vergleich zu einem Test mit akzeptabler Leistung (s. Anlage 3) ermittelt werden. Die ermittelte Sensitivität muss dem vom Paul-Ehrlich-Institut festgelegten Stand von Wissenschaft und Technik (s. Anlage 3) entsprechen. Bei Anti-HCV Ak und HCV Ag/Ak-Tests muss außerdem eine ausgewogene Erkennung von anti-core und anti-NS3 bestehen.	Die diagnostische Sensitivität ist an 400 positiven Proben und bei HIV zusätzlich an 100 Anti-HIV-2 Ak positiven Proben, die aus verschiedenen Stadien der Erkrankung und unter Berücksichtigung der Erregervariabilität gemäß GTS Tabelle 1 zu untersuchen. Für alle in einem Western Blot oder Line Assay bestätigt positiven Proben muss der Test einen positiven Befund anzeigen. Für HBsAg soll der Test eine Gesamtleistung erbringen, die dem Stand der Technik entspricht.	Nicht anwendbar	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Sensitivität für HIV-1 Subtypgruppe M vergleichbar mit Subtyp B ▪ Für HIV-1 Gruppe O und für HIV-2 muss der Test mindestens für serologisch bestätigt positive Proben positiv sein.
HIV Ag/Ak			HIV-1 p24 Antigen ≤ 2 IE/ml bezogen auf den WHO Standard (90/636)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Sensitivität für HIV-1 p24 Ag der Subtypgruppe M vergleichbar mit Subtyp B, ▪ Reaktivität für HIV-1 Gruppe O soll vorhanden sein ▪ Detektion von HIV-2 ist zu belegen
Anti-HCV Ak und HCV Ag/Ak			Nicht anwendbar	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Erkennung der HCV Genotypen 1-6
HBsAg			$< 0,1$ IE/ml bezogen auf den WHO Standard (00/588)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Sensitivität für HBV-Genotypen bzw. HBsAg-Subtypen soll vergleichbar zu Genotyp A sein ▪ Erkennung bekannter HBsAg-Mutanten.

Parameter	Serokonversions-Sensitivität	Diagnostische Sensitivität	Analytische Sensitivität	Geno-, Subtypen-, Mutantenerkennung
Anti-HBc Ak	<p>Untersuchung von mehreren aussagekräftigen Serokonversions-Panels mit Anti-HBc Ak Verlauf.</p> <p>Die ermittelte Sensitivität muss dem vom Paul-Ehrlich-Institut festgelegten Stand der Technik (s. Spalte 4, analytische Sensitivität) entsprechen.</p>	<p>Die diagnostische Sensitivität ist an 400 positiven Proben gemäß GTS Tabelle 1 zu untersuchen.</p> <p>Alle Proben, die gleichzeitig für Anti-HBe Ak und/oder Anti-HBs Ak positiv sind, müssen erkannt werden (100% Sensitivität). Isoliert Anti-HBc Ak positive Proben müssen zur Abklärung mit mindestens 2 weiteren Anti-HBc Ak Tests vergleichend untersucht werden.</p>	< 1,40 IE/ml bezogen auf den WHO Standard (95/522)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Nicht anzuwenden
HCV-RNA HIV-1-RNA HBV-DNA	<p>Proben aus der Präserokonversionsphase analog den Anforderungen in den GTS für qualitative NAT-Tests (10 Serokonversionspanels, jeweils beginnend mit einer negativen Probe und mit Intervallen < 7 Tage zwischen den Entnahmen)</p>	<p>Proben aus der Routine im Vergleich zu einem anderen CE- gekennzeichneten Verfahren. Kein Verpassen von Virusgenom - positiven Proben mit Konzentration oberhalb der deklarierten Sensitivitätsgrenze, Untersuchung des Einflusses von potentiell NAT- hemmenden Agenzien/Substanzen</p> <p>Regelmäßiger Nachweis von 5.000 IU HCV-RNA/ml bzw. 10.000 IU HIV1-RNA/ml in der Einzelspende. Für die Berechnung dieser Sensitivität wird das Dreifache der 95% LOD zugrunde gelegt.</p>	Zu bestimmen als 95 % LOD in IE/ml (WHO-Standards)	Erkennung von prävalenten Virus-Geno- und Subtypen mit Empfindlichkeit analog zu den entsprechenden WHO-Standards

* Das Paul-Ehrlich-Institut legt im Hinblick auf die besonderen Anforderungen bei der Herstellung von Blut- und Stammzellzubereitungen kontinuierlich den jeweiligen Stand von Wissenschaft und Technik auf der Basis von vergleichenden Untersuchungen verfügbarer Testsysteme fest und entwickelt entsprechende Testkriterien, die veröffentlicht werden.

Ag = Antigen; Ak = Antikörper, GTS = Gemeinsame Technische Spezifikationen

Erläuterungen zur Anlage 1

· Parameter HBsAg

Die von den GTS geforderte analytische Sensitivität von $<0,13$ IE/ml entsprechen den vom PEI verlangten $0,1$ IE/ml plus einer Fehlervariation von $0,03$ IE/ml, die die üblichen Chargenschwankungen von HBsAg- Tests beinhaltet. Da der Stand der Technik für die Serokonversions-Sensitivität zudem mit den $0,1$ IE/ml korreliert, ist eine Angleichung der analytischen Sensitivität gerechtfertigt.

· Parameter Anti-HBc-Ak

Mit der frühen Detektion von anti-HBc soll eine Überlappung mit der Detektion von HBsAg sichergestellt werden, um die Entstehung eines zweiten diagnostischen Fensters zu vermeiden. Aufgrund der eingeschränkten Verfügbarkeit von Serokonversionspanels mit anti-HBc Verlauf wird die Verwendung von Serokonversionspanel mit anti-HBc Verlauf ohne die Angabe der genauen Panelanzahl verlangt. Bei kommerziellen Panelanbietern können zurzeit > 10 Panels erworben werden.

Die diagnostische Sensitivität soll an 400 positiven Proben dargelegt werden. Diese Proben sind so auszuwählen, dass sie verschiedene Stadien der Infektion widerspiegeln (sowohl das akute HBV Stadium mit HBsAg Nachweis, wie auch das chronische Stadium mit fehlendem HBsAg Nachweis; das entspricht dem GTS Prinzip 3.1.7). Allgemein gelten die Regeln wie sie in den GTS (Grundsatz 3.1.5 Bewertung abweichender Testergebnisse mit Hilfe der Verwendung eines alternativen Verfahrens oder Markers) beschrieben werden. Die Forderung einer hundertprozentigen Sensitivität bezieht sich auf die Proben, die gleichzeitig für anti-HBc Ak und/oder anti-HBs Ak positiv sind. Dies entspricht den GTS Tabelle 1 (Diagnostische Sensitivität / Positive Proben / „einschließlich Bewertung anderer HBV-Marker).

Bei Proben mit anti-HBc als einzigem positivem HBV-Marker (isoliert anti-HBc Ak positive Proben) die in weiteren anti-HBc-Tests grenzwertig oder negativ reagieren, muss eine Abklärung mit mindestens 2 weiteren anti-HBc Ak Tests erfolgen. Dies steht im Einklang mit GTS Grundsatz 3.1.8.2 und GTS Grundsatz 3.1.5. Inzwischen ist von der WHO ein Internationaler Anti-HBc Standard zur Verfügung gestellt worden (NIBSC code 95/522). Der genannte Grenzwert $< 1,40$ IE/ml stellt eine Anpassung an die Einführung des neuen internationalen Anti-HBc Standards dar.

· Parameter Anti-HCV und HCV Ag/Ab

Die Entwicklung von Antikörpern gegen HCV beginnt etwa hälftig gegen HCV Core oder HCV NS3-Antigen. Die Auswahl der Serokonversionspanels zur diagnostischen Erprobung der Anti-HCV Erkennung soll dies berücksichtigen. Mit der Vorgabe soll erstens eine ausreichende Sensitivität in der frühen Infektionsphase auch für anti-NS3 belegt werden und zweitens verhindert werden, dass Anti-HCV oder HCV Ag/Ab Kombinationstests verwendet werden, die eine mangelhafte Erkennung von sog. „NS3 only Proben“ haben. Dies steht im Einklang mit GTS Grundsatz 3.1.7 und Tabelle 1.

Die Definition der HCV Genotypen wurde abweichend von den GTS vorgenommen, da der HCV Genotyp 5 vorwiegend in Südafrika vorkommt, während der Genotyp 6 weiter verbreitet und besser verfügbar ist.

· Parameter Anti-HIV-1/2 Ak und HIV Ag/Ak

Die Bestätigung eines reaktiven HIV Screeningtests durch Immunoblots entspricht dem Standard für die HIV-Diagnostik. Gemäß GTS Prinzip 3.1.8.3. muss für alle Proben der HIV-Serokonversion ein positiver Befund angezeigt werden. Zur Detektion von HIV p24 Antigen bei den kombinierten HIV Antigen/Antikörper Tests soll die Reaktivität für unterschiedliche HIV-1 Subtypen einschließlich Gruppe O und die Detektion von HIV-2 untersucht werden (GTS Prinzip 3.2 und Tabelle 5). Angaben zur Kreuz-Reaktivität mit dem HIV-2 p26 Antigen sollen gemacht werden.