



NOTICE of CHANGE dated 26/04/2023

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«HCV ELITe MGB[®] Kit» Ref. RTK601ING

This new revision of the Instruction for Use (IFU) contains the following change:

- *Extension of use on the ELITe BeGenius instrument.*
- *Description of IC cut off value already adopted in the Assay protocol of the product (section "Diagnostic specificity")*

PLEASE NOTE

	LA REVISIONE DI QUESTO IFU E' COMPATIBILE ANCHE CON LA VERSIONE PRECEDENTE DEL KIT
	THE REVIEW OF THIS IFU IS ALSO COMPATIBLE WITH THE PREVIOUS VERSION OF THE KIT
	CET IFU MIS A JOUR ANNULE ET REMPLACE ET EST PARFAITEMENT COMPATIBLE AVEC LA VERSION PRECEDENTE DU KIT
	LA REVISIÓN DE ESTE IFU ES COMPATIBLE TAMBIÉN CON LA VERSIÓN ANTERIOR DEL KIT
	A REVISÃO DO ESTE IFU ÉTAMBÉM COMPATÍVEL COM A VERSÃO ANTERIOR DO KIT
	DIE REVIEW VON DIESER IFU IST KOMPATIBLE MIT DER VORIGE VERSION VON DEM TEST-KIT

HCV ELITE MGB® Kit

Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING



INHALTSVERZEICHNIS

VERWENDUNGSZWECK	Seite 1
TESTPRINZIP	Seite 2
PRODUKTBESCHREIBUNG	Seite 3
IM LIEFERUMFANG DES PRODUKTS ENTHALTENE MATERIALIEN	Seite 4
BENÖTIGTE MATERIALIEN (NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN)	Seite 4
SONSTIGE BENÖTIGTE PRODUKTE	Seite 4
WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN	Seite 5
ELITE INGENIUS®	Seite 7
PROBEN UND KONTROLLEN	Seite 7
VERFAHREN	Seite 8
ELITE BEGENIUS®	Seite 16
PROBEN UND KONTROLLEN	Seite 16
VERFAHREN	Seite 17
LEISTUNGSMERKMALE BEI ELITE INGENIUS® und ELITE BEGENIUS®	Seite 23
QUELLENANGABEN	Seite 38
GRENZEN DES VERFAHRENS	Seite 38
FEHLERBEHEBUNG	Seite 39
SYMBOLS	Seite 42
HINWEIS AN DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ	Seite 43
ANLAGE: KURZANLEITUNG	Seite A

VERWENDUNGSZWECK

Das Produkt **HCV ELITE MGB® Kit** ist ein quantitativer Nukleinsäure-RT- (reverse Transkription) und Amplifikationstest zum **Nachweis und zur Quantifizierung der RNA** des Hepatitis-C-Virus (HCV) in RNA-Proben, die aus klinischen Proben extrahiert wurden.

Der Test dient zum Nachweis der RNA der HCV-Genotypen 1, 2, 3, 4, 5 und 6.

Der Test ist in Verbindung mit den Systemen **ELITE InGenius®** und **ELITE BeGenius®** validiert und verwendet in EDTA oder in ACD entnommene humane Plasmaproben und Serumproben.

Zusammen mit den klinischen Daten und weiteren Laborbefunden des Patienten unterstützt das Produkt die Behandlung von HCV-Infizierten, die sich einer antiviralen Therapie unterziehen.

Dieses Produkt ist nicht für den Einsatz als Screening-Test auf das Vorhandensein von HCV in Blut oder Blutprodukten oder als diagnostischer Test zur Bestätigung des Vorliegens einer HCV-Infektion bestimmt.

HCV ELITE MGB® Kit

Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

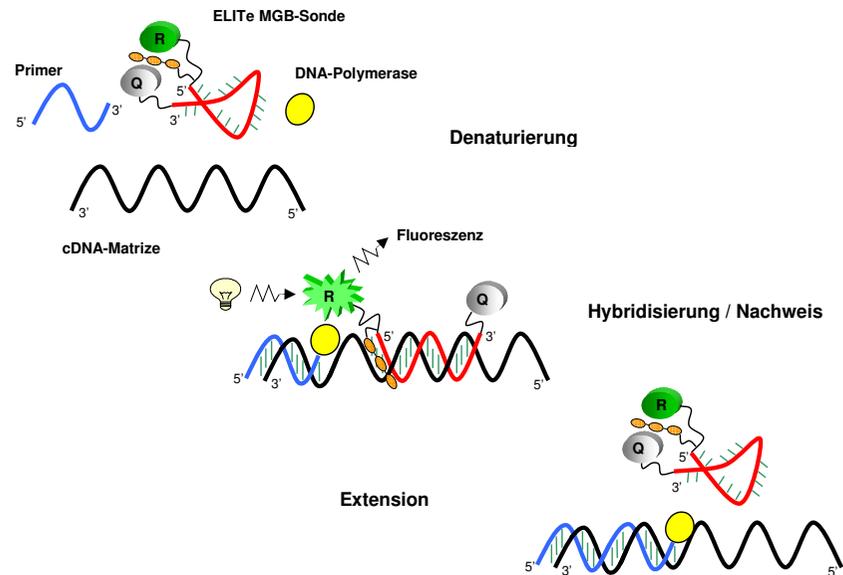
TESTPRINZIP

Der Assay besteht aus einer RT- (reverse Transkription) und einer Echtzeit-Amplifikationsreaktion (Ein-Schritt-Methode), die mit **ELITE InGenius** bzw. **ELITE BeGenius**, automatisierten und integrierten Systemen zur Extraktion, reversen Transkription, Amplifikation und zum Nachweis von Nukleinsäuren sowie zur Ergebnisinterpretation, durchgeführt wird.

Ausgehend von RNA, die mit **ELITE InGenius** aus den zu testenden Proben extrahiert wurde, führt der komplette HCV PCR Mix eine für die 5'-UTR-Region von HCV und für eine Region der genomischen RNA von MS2-Phage spezifische reverse Transkriptions- und Amplifikationsreaktion (exogene Internal Control der Extraktion und Inhibition) durch.

Die mit einem FAM-Fluorophor markierte, HCV-spezifische Sonde mit ELITE MGB®-Technologie wird aktiviert, wenn sie mit dem spezifischen Produkt der Amplifikationsreaktion der internen Kontrolle hybridisiert. Die Fluoreszenzemission erhöht sich mit Zunahme des spezifischen Produkts der Amplifikationsreaktion und wird vom Gerät gemessen und aufgezeichnet. Durch die Verarbeitung der Daten werden das Vorhandensein und der Titer von HCV-RNA in der Probe nachgewiesen.

In der folgenden Abbildung ist der Mechanismus der Aktivierung und Fluoreszenzemission der ELITE MGB-Technologie-Sonde zusammenfassend dargestellt.



HCV ELiTe MGB® Kit

Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

PRODUKT BESCHREIBUNGDas Produkt **HCV ELiTe MGB Kit** umfasst die folgenden Komponenten:

- **HCV ELiTe MGB Mix**

Diese Komponente enthält die folgenden zwei Unterkomponenten:

- „**HCV PCR Mix**“, ein optimiertes und stabilisiertes Gemisch aus Oligonukleotiden und Reagenzien für die reverse Transkription und Echtzeit-Amplifikation, das in **vier Teströhrchen** voraliquotiert wird (WEISSER Verschluss). Jedes Röhrchen enthält **600 µl** Lösung, die für **24 Tests** (Verarbeitung von mindestens 5 Proben pro Lauf) zusammen mit **ELiTe InGenius** bzw. **ELiTe BeGenius** ausreicht.

Die Primer und Sonden für HCV (stabilisiert mit einer MGB®-Gruppe, markiert mit FAM-Fluorophor und ausgelöscht mit einem nicht-fluoreszierenden Anteil, „Eclipse“) sind spezifisch für die 5'-UTR-Region von HCV. Das HCV-Signal wird durch den Kanal 1 (HCV) von **ELiTe InGenius** bzw. **ELiTe BeGenius** nachgewiesen.

Primer und Sonde für die interne Kontrolle (stabilisiert mit einer MGB®-Gruppe, markiert mit AP525-Fluorophor und ausgelöscht mit einem nicht-fluoreszierenden Anteil, „Eclipse“) sind spezifisch für eine Region der genomischen RNA des **MS2**-Phagen). Das Signal der Internal Control wird durch den Kanal 2 (IC) von **ELiTe InGenius** bzw. **ELiTe BeGenius** nachgewiesen. Außerdem enthält das Reaktionsgemisch den Puffer, Magnesiumchlorid, die Nukleotidtriphosphate und das für den Warmstart geeignete DNA-Polymerase-Enzym.

- „**RT Enzymemix**“, ein optimiertes und stabilisiertes Gemisch aus Enzymen zur reversen Transkription, **voraliquotiert in zwei Teströhrchen** (Verschluss mit SCHWARZEM Einsatz). Jedes Röhrchen enthält **20 µl** Lösung, die für **48 Tests** (Verarbeitung von mindestens 5 Proben pro Lauf) zusammen mit **ELiTe InGenius** und **ELiTe BeGenius** ausreicht.

Bei Verwendung von 20 µl bzw. 0,3 µl pro Reaktion sind die beiden Unterkomponenten ausreichend für **96 Tests** mit den Systemen **ELiTe InGenius** bzw. **ELiTe BeGenius**.

- **HCV ELiTe Standard**

Diese Komponente enthält die Unterkomponenten „**HCV Q-PCR Standard**“, vier stabilisierte Plasmid-DNA-Lösungen mit **bekanntem Titer**, die jeweils in **ein gebrauchsfertiges Teströhrchen** aliquotiert sind. Jedes Röhrchen enthält **160 µl** Lösung, die für **2 Läufe** ausreicht. Die Plasmid-DNA enthält die 5'-UTR-Region von HCV. Der Nachweis und die Quantifizierung von HCV-DNA als Ergebnis der Analyse mit der Komponente **HCV ELiTe MGB Mix** zusammen mit den Geräten **ELiTe InGenius** und **ELiTe BeGenius** ermöglicht die Berechnung der Standardkurve des Systems (Produktcharge und Gerät) für die HCV-Quantifizierung.

Die Plasmid-DNA-Konzentration in Kopien/ml wurde im Spektrophotometer mittels Extinktionsmessung ermittelt. Diese Plasmid-DNA-Konzentration wurde mittels eines Umrechnungsfaktors mit dem „WHO International Standard 6th HCV International Standard“ (NIBSC code 18/184, Vereinigtes Königreich) in Bezug gesetzt, um die Berechnung der Konzentration in internationalen Einheiten pro ml (IU/ml) zu ermöglichen.

Bei Verwendung von 20 µl pro Reaktion ist die Komponente ausreichend für **2 separate Analyseläufe** mit **ELiTe InGenius** und **ELiTe BeGenius**.

- **HCV - ELiTe Positive Control**

Diese Komponente enthält die Unterkomponente „**HCV Positive Control**“, eine stabilisierte Lösung von Plasmid-DNA mit **bekanntem Titer**, aliquotiert in **zwei gebrauchsfertigen Teströhrchen**. Jedes Teströhrchen enthält **160 µl** Lösung, die für **4 Läufe** ausreicht. Die Plasmid-DNA enthält die 5'-UTR-Region von HCV. Der Nachweis und die Quantifizierung von Ziel-DNA als Ergebnis der Analyse mit der Komponente **HCV ELiTe MGB Mix** zusammen mit **ELiTe InGenius**- und **ELiTe BeGenius**-Geräten ermöglicht die Validierung des Systems (Produktcharge und Gerät) für den Nachweis und die Quantifizierung von HCV.

Bei Verwendung von 20 µl pro Reaktion ist die Komponente ausreichend für **8 separate Analyseläufe** mit **ELiTe InGenius** und **ELiTe BeGenius**.

- **HCV Internal Control**

Diese Komponente enthält die Unterkomponente „**HCV CPE**“, eine stabilisierte Lösung der genomischen RNA des MS2-Phagen, aliquotiert in **acht gebrauchsfertigen Teströhrchen**. Jedes Röhrchen enthält **160 µl** Lösung, die für **12 Tests** (Verarbeitung von mindestens 2 Proben pro Lauf) ausreicht. Die genomische RNA des MS2-Phagen wird als Vorlage für die exogene interne Kontrolle verwendet. Der

HCV ELiTe MGB® Kit

Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

Nachweis von MS2 cDNA als Ergebnis der Analyse mit der Komponente **HCV ELiTe MGB Mix** zusammen mit **ELiTe InGenius** bzw. **ELiTe BeGenius** Geräten ermöglicht die Validierung der Ergebnisse von HCV-negativen Proben.

Bei Verwendung von 10 µl pro Extraktion ist die Komponente ausreichend für **96 Tests** mit **ELiTe InGenius** bzw. **ELiTe BeGenius**.

IM LIEFERUMFANG DES PRODUKTS ENTHALTENE MATERIALIEN

Komponente	Unterkomponente	Beschreibung	Menge	Gefahrenklasse
HCV ELiTe MGB Mix Art.-Nr. RTS601ING	HCV PCR Mix Art.-Nr. RTS601ING	Gemisch aus Reagenzien für die reverse Transkription und Echtzeit-Amplifikation in Röhrchen mit WEISSEM Verschluss	4 x 600 µl	-
	RT Enzymemix Art.-Nr. RTS003-RT	Reverse Transkriptase in Röhrchen mit Verschluss mit SCHWARZEM Einsatz	2 x 20 µl	-
HCV ELiTe Standard Art.-Nr. STD601ING	HCV Q-PCR Standard 10 ⁵ Art.-Nr. STD601ING-5	Plasmidlösung in Röhrchen mit ROTEM Verschluss	1 x 160 µl	-
	HCV Q-PCR Standard 10 ⁴ Art.-Nr. STD601ING-4	Plasmidlösung in Röhrchen mit BLAUEM Verschluss	1 x 160 µl	
	HCV Q-PCR Standard 10 ³ Art.-Nr. STD601ING-3	Plasmidlösung in Röhrchen mit GRÜNEM Verschluss	1 x 160 µl	
	HCV Q-PCR Standard 10 ² Art.-Nr. STD601ING-2	Plasmidlösung in Röhrchen mit GELBEM Verschluss	1 x 160 µl	
HCV - ELiTe Positive Control Art.-Nr. CTR601ING	HCV Positive Control Art.-Nr. CTR601ING	Plasmidlösung in Röhrchen mit SCHWARZEM Verschluss	2 x 160 µl	-
HCV Internal Control Art.-Nr. CPE601ING	HCV CPE Art.-Nr. CPE601ING	Lösung mit Plasmid-DNAs und genomischer RNA des MS2-Phagen in Röhrchen mit NEUTRALEM Verschluss	8 x 160 µl	-

BENÖTIGTE MATERIALIEN (NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN)

- Laminar-Flow-Haube.
- Puderfreie Einweghandschuhe aus Nitril oder einem ähnlichen Material.
- Vortex-Mixer.
- Tisch-Mikrozentrifuge (12.000–14.000 U/min).
- Mikropipetten und sterile Spitzen mit Aerosolfilter oder sterile Direktverdrängerspitzen (0,5–10 µl, 2–20 µl, 5–50 µl, 50–200 µl, 200–1000 µl).
- Sarstedt 2,0-ml-Röhrchen mit Schraubverschluss (Sarstedt Art.-Nr. 72.694.005).
- Hochreines Wasser für die Molekularbiologie.

SONSTIGE BENÖTIGTE PRODUKTE

Die Reagenzien für die Extraktion von RNA aus den zu analysierenden Proben und die Verbrauchsmaterialien sind **nicht** im Lieferumfang dieses Produkts enthalten.

Für die automatische Nukleinsäureextraktion, reverse Transkription, Echtzeit-Amplifikation und Ergebnisinterpretation von zu analysierenden Proben werden die Geräte **ELiTe InGenius** und **ELiTe BeGenius** (ELiTechGroup S.p.A., EG SpA, Art.-Nr. INT030) und die folgenden spezifischen **Assay-Protokolle** (EG SpA) benötigt:

- Parameter für die Amplifikation der Kalibratoren „**HCV ELiTe STD**“,
- Parameter für die Amplifikation der Positivkontrolle „**HCV ELiTe PC**“,
- Parameter für die Amplifikation der Negative Control „**HCV ELiTe NC**“,
- Parameter für zu analysierende Plasmaproben „**HCV ELiTe PL_600_50**“,

HCV ELiTe MGB® Kit

Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

- Parameter für zu analysierende Serumproben „HCV ELiTe_Se_600_50“
- Bei dem Gerät „ELiTe InGenius“ werden die folgenden generischen Produkte benötigt:
- Extraktionskartuschen „ELiTe InGenius® SP 1000“ (EG SpA, Art.-Nr. INT033SP1000),
- Verbrauchsmaterialien für die Extraktion „ELiTe InGenius® SP 200 Consumable Set“ (EG SpA, Art.-Nr. INT032CS),
- Amplifikationskartuschen „ELiTe InGenius® PCR Cassette“ (EG SpA, Art.-Nr. INT035PCR),
- Spitzen „300 µL Filter Tips Axygen“ (Axygen BioScience Inc., CA, USA, Art.-Nr. TF-350-L-R-S),
- Abfallboxen „ELiTe InGenius® Waste Box“ (EG SpA, Art.-Nr. F2102-000).

Für die Nukleinsäureextraktion und Probenanalyse mit dem «ELiTe BeGenius» (ELiTechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT040) werden die folgenden **Assay-Protokolle** (ELiTechGroup S.p.A.) benötigt:

- Parameter für die Amplifikation der Kalibratoren „HCV ELiTe_Be_STD“;
- Parameter für die Amplifikation der Positive Control „HCV ELiTe_Be_PC“;
- Parameter für die Amplifikation der Negative Control „HCV ELiTe_Be_NC“;
- Parameter für zu analysierende Plasmaproben „HCV ELiTe_Be_PL_600_50“;
- Parameter für zu analysierende Serumproben „HCV ELiTe_Be_Se_600_50“.

Bei dem Gerät **ELiTe BeGenius** werden die folgenden generischen Produkte benötigt:

- Extraktionskartuschen „ELiTe InGenius® SP 1000“ (EG SpA, Art.-Nr. INT033SP1000),
- Verbrauchsmaterialien für die Extraktion „ELiTe InGenius® SP 200 Consumable Set“ (EG SpA, Art.-Nr. INT032CS),
- Amplifikationskartuschen „ELiTe InGenius® PCR Cassette“ (EG SpA, Art.-Nr. INT035PCR),
- Spitzen „1000 µl Filter Tips Tecan“ (Tecan, Schweiz, Art.-Nr. 30180118),
- Abfallboxen „ELiTe InGenius® Waste Box“ (EG SpA, Art.-Nr. F2102-000).

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Dieses Produkt ist ausschließlich für die *In-vitro*-Anwendung bestimmt.

Allgemeine Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Alle biologischen Proben sind so zu handhaben und zu entsorgen, als wären sie potenziell infektiös. Direkten Kontakt mit den biologischen Proben vermeiden. Verspritzen und Aerosolbildung vermeiden. Die Materialien, die mit den biologischen Proben in Kontakt kommen, müssen vor der Entsorgung mindestens 30 Minuten lang mit 3%igem Natriumhypochlorit (Bleiche) behandelt oder eine Stunde lang bei 121 °C autoklaviert werden. Extraktionsreagenzien dürfen nicht mit Natriumhypochlorit (Bleiche) in Kontakt kommen.

Alle zur Durchführung des Tests verwendeten Reagenzien und Materialien sind so zu handhaben und zu entsorgen, als wären sie potenziell infektiös. Direkten Kontakt mit den Reagenzien vermeiden. Verspritzen und Aerosolbildung vermeiden. Abfall ist unter Einhaltung angemessener Sicherheitsstandards zu handhaben und zu entsorgen. Brennbares Einwegmaterial muss verbrannt werden. Saurer und basischer Flüssigabfall muss vor der Entsorgung neutralisiert werden.

Geeignete Schutzkleidung und Handschuhe zum Schutz der Augen und des Gesichts tragen. Lösungen niemals mit dem Mund pipettieren.

Essen, Trinken, Rauchen und Schminken sind in den Arbeitsbereichen verboten. Die Hände nach der Handhabung von Proben und Reagenzien gründlich waschen.

Übrig gebliebene Reagenzien und Abfälle gemäß den geltenden Vorschriften entsorgen.

Vor der Durchführung des Assays alle mit dem Produkt bereitgestellten Anweisungen aufmerksam lesen.

Während der Durchführung des Assays alle mit dem Produkt bereitgestellten Anweisungen befolgen. Das Produkt darf nach Ablauf des angegebenen Ablaufdatums nicht mehr verwendet werden.

Es dürfen nur die mit dem Produkt bereitgestellten und vom Hersteller empfohlenen Reagenzien verwendet werden.

Reagenzien von anderen Chargen dürfen nicht verwendet werden.

Reagenzien von anderen Herstellern dürfen nicht verwendet werden.

HCV ELiTe MGB® Kit

Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen für molekularbiologische Anwendungen

Molekularbiologische Verfahren dürfen nur von qualifizierten und geschulten Fachkräften durchgeführt werden, um fehlerhafte Ergebnisse zu vermeiden, insbesondere im Hinblick auf die Zersetzung der in den Proben enthaltenen Nukleinsäuren oder die Kontamination der Proben durch Amplifikationsprodukte.

Für die Einrichtung des Arbeitslaufs werden dafür vorgesehene Laborkittel, Schutzhandschuhe und Hilfsmittel benötigt.

Die Proben müssen geeignet und möglichst für diese Art der Analyse bestimmt sein. Die Proben müssen unter einer Sicherheitswerkbank verarbeitet werden. Die zur Verarbeitung der Proben verwendeten Pipetten dürfen ausschließlich für diesen Zweck verwendet werden. Die Pipetten müssen nach dem Verdrängungsprinzip arbeiten oder in Verbindung mit Aerosol-Filterspitzen verwendet werden. Die verwendeten Spitzen müssen steril, frei von DNasen und RNasen sowie frei von DNA und RNA sein.

Die Reagenzien müssen unter einer Laminar-Flow-Haube gehandhabt werden. Die für den Lauf benötigten Reagenzien müssen so vorbereitet werden, dass sie an einem einzelnen Tag verwendet werden können. Die Pipetten, die für die Handhabung der Reagenzien verwendet werden, dürfen nur für diesen Zweck verwendet werden. Die Pipetten müssen nach dem Verdrängungsprinzip arbeiten oder in Verbindung mit Aerosol-Filterspitzen verwendet werden. Die verwendeten Spitzen müssen steril, frei von DNasen und RNasen sowie frei von DNA und RNA sein.

Die Extraktionsprodukte müssen so verwendet werden, dass eine Freisetzung in die Umgebung weitestgehend reduziert wird, um die Möglichkeit einer Kontamination zu vermeiden.

Die PCR Cassettes müssen so gehandhabt werden, dass die Diffusion von Amplifikationsprodukten in die Umgebung und die Kontamination der Proben und Reagenzien vermieden werden.

Komponentenspezifische Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

• HCV ELiTe MGB Mix

Der **HCV PCR Mix** muss bei einer Temperatur von unter -20 °C dunkel aufbewahrt werden.

Der **HCV PCR Mix** muss nach der ersten Öffnung des Röhrchens innerhalb von einem Monat verwendet werden.

Der **HCV PCR Mix** darf maximal **fünf Mal** eingefroren und wieder aufgetaut werden; weitere Gefrier- und Auftauzyklen können zu einem Verlust der Produktleistung führen.

Der **RT EnzymeMix** muss bei einer Temperatur von unter -20 °C aufbewahrt werden.

Der **RT EnzymeMix** muss nach der ersten Öffnung des Röhrchens innerhalb von einem Monat verwendet werden.

Der **RT EnzymeMix** darf bei jedem Gebrauch nicht länger als 10 Minuten Temperaturen über -20 °C ausgesetzt werden.

Der **RT EnzymeMix** darf nicht mehr als **zehn Mal** Temperaturen über -20 °C ausgesetzt werden: Eine darüber hinausgehende Verwendung kann zu einem Verlust der Produktleistung führen.

• HCV ELiTe Standard

Der **HCV Q-PCR Standard** muss bei einer Temperatur von unter -20 °C aufbewahrt werden.

Der **HCV Q-PCR Standard** muss nach der ersten Öffnung des Röhrchens innerhalb von einem Monat verwendet werden.

Der **HCV Q-PCR Standard** darf maximal **zwei Mal** eingefroren und wieder aufgetaut werden; weitere Gefrier- und Auftauzyklen können zu einem Titerverlust führen.

Der **HCV Q-PCR Standard** darf für bis zu **zwei unabhängige Arbeitsläufe von jeweils zwei Stunden** im Gerät **ELiTe InGenius** bzw. **ELiTe BeGenius** gelassen werden (Laufmodus „PCR Only“ (nur PCR)).

• HCV - ELiTe Positive Control

Die **HCV Positive Control** muss bei einer Temperatur von unter -20 °C aufbewahrt werden.

Die **HCV Positive Control** muss nach dem ersten Öffnen des Röhrchens innerhalb von einem Monat verwendet werden.

Die **HCV Positive Control** darf maximal **vier Mal** eingefroren und wieder aufgetaut werden; weitere Gefrier- und Auftauzyklen können zu einem Verlust der Produktleistung führen.

Die **HCV Positive Control** darf für bis zu **vier unabhängige Arbeitsläufe von jeweils drei Stunden** im Gerät **ELiTe InGenius** bzw. **ELiTe BeGenius** gelassen werden (Laufmodus „Extraction + PCR“).

HCV ELITE MGB® Kit

Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

Only“ (Extraktion + nur PCR)).

• HCV Internal Control

Der **HCV CPE** muss bei einer Temperatur von unter -20 °C aufbewahrt werden.

Der **HCV CPE** muss nach der ersten Öffnung des Röhrchens innerhalb von einem Monat verwendet werden.

Der **HCV CPE** darf maximal **zwölf Mal** eingefroren und wieder aufgetaut werden; weitere Gefrier- und Auftauzyklen können zu einem Verlust der Produktleistung führen.

Der **HCV CPE** darf für bis zu **sechs unabhängige Arbeitsläufe von jeweils drei Stunden** im Gerät **ELITE InGenius** bzw. **ELITE BeGenius** verbleiben (Laufmodus „Extraction + PCR“ (Extraktion + PCR)).

ELITE InGenius

PROBEN UND KONTROLLEN

Proben

Dieses Produkt darf ausschließlich mit den folgenden klinischen Proben verwendet werden:

In EDTA oder ACD entnommenes Plasma

Plasmaproben für die Nukleinsäureextraktion müssen gemäß den Laborrichtlinien in EDTA oder ACD entnommen und identifiziert werden. Außerdem dürfen sie maximal 24 Stunden bei Raumtemperatur (+18/+25 °C) bzw. maximal 3 Tage bei +2 bis +8 °C transportiert und aufbewahrt werden. Anderenfalls müssen sie tiefgefroren bei -20 °C für maximal 1 Monat oder bei -70 °C für 6 Monate aufbewahrt werden.

Es wird empfohlen, die Proben vor dem Einfrieren in Aliquote aufzuteilen, um wiederholten Gefrier- und Auftauzyklen vorzubeugen. Bei Verwendung von gefrorenen Proben müssen die Proben unmittelbar vor der Extraktion aufgetaut werden, um einen möglichen Nukleinsäureabbau zu vermeiden.

Hinweis: Die RNA-Extraktion aus in EDTA oder ACD entnommenem Plasma wird mit dem System **ELITE InGenius** und der **ELITE InGenius Software**, Version 1.3 (oder entsprechende spätere Versionen) unter Verwendung des Assay Protocol **HCV ELITE_PL_600_50** durchgeführt. Dieses Protokoll verarbeitet 600 µl Probe, fügt den **HCV CPE** (interne Kontrolle) bei 10 µl pro Extraktion hinzu und eluiert die Nukleinsäuren in 50 µl. Primärröhrchen können nicht zusammen mit dem Assay Protocol verwendet werden.

Aufgereinigte Nukleinsäuren können einen Monat bei -20 °C aufbewahrt werden.

Serum

Für die RNA-Extraktion bestimmte Serumproben müssen gemäß den Laborrichtlinien entnommen und identifiziert werden. Außerdem dürfen sie maximal drei Tage bei Raumtemperatur (~+25 °C) bzw. maximal fünf Tage bei +2 bis +8 °C transportiert und aufbewahrt werden. Anderenfalls müssen sie tiefgefroren bei ~-20 °C für maximal einen Monat oder bei ~-70 °C für 6 Monate aufbewahrt werden.

Es wird empfohlen, die Proben vor dem Einfrieren in Aliquote aufzuteilen, um wiederholten Gefrier- und Auftauzyklen vorzubeugen. Bei Verwendung von gefrorenen Proben müssen die Proben unmittelbar vor der Extraktion aufgetaut werden, um einen möglichen Nukleinsäureabbau zu vermeiden.

Hinweis: Die RNA-Extraktion aus Serum wird mit dem System **ELITE InGenius** und der **ELITE InGenius Software**, Version 1.3 (oder entsprechende spätere Versionen) unter Verwendung des Assay Protocol **HCV ELITE_Se_600_50** durchgeführt. Dieses Protokoll verarbeitet 600 µl Probe, fügt den **HCV CPE** (interne Kontrolle) bei 10 µl pro Extraktion hinzu und eluiert die Nukleinsäuren in 50 µl. Primärröhrchen können nicht zusammen mit dem Assay Protocol verwendet werden.

Aufgereinigte Nukleinsäuren können einen Monat bei -20 °C aufbewahrt werden.

Andere Proben

Derzeit liegen keine Daten zur Produktleistung mit anderen klinischen Proben, wie z. B. Vollblut oder Liquor (CSF) vor.

Störende Substanzen

Verfügbare Daten zu einer Inhibition durch Arzneimittel und andere Substanzen sind im Abschnitt „Potenziell störende Substanzen“ des Kapitels „Leistungsmerkmale“ aufgeführt.

HCV ELITE MGB® Kit

Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

Verwenden Sie kein in Heparin entnommenes Plasma, um eine Hemmung der Amplifikationsreaktion und häufige ungültige Ergebnisse zu verhindern.

Verwenden Sie kein hämolytisches Plasma, um eine Hemmung der Amplifikationsreaktion und häufige ungültige Ergebnisse zu verhindern.

Amplifikationskontrollen

Vor der Analyse von Proben ist es unbedingt erforderlich, die Kalibrationskurve und die Amplifikationskontrollen für jede Amplifikationsreagenz-Charge zu generieren und zu genehmigen:

- als Kalibratorset sind die vier Konzentrationswerte der im Lieferumfang dieses Kits enthaltenen Komponente **HCV ELITE Standard** zusammen mit dem Assay Protocol **HCV ELITE_STD** zu verwenden,
- als Amplifikations-Positive Control ist die im Lieferumfang dieses Kits enthaltene Komponente **HCV - ELITE Positive Control** zusammen mit dem Assay Protocol **HCV PLUS ELITE_PC** zu verwenden,
- als Amplifikations-Negative Control ist hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) zusammen mit dem Assay Protocol **HCV ELITE_NC** zu verwenden.

Hinweis: Das System **ELITE InGenius** benötigt für jede in seiner Datenbank gespeicherte Amplifikationsreagenzcharge genehmigte und gültige Ergebnisse der Kalibrationskurve und der Amplifikationskontrollen.

Genehmigte und in der Datenbank gespeicherte Kalibrationskurven laufen nach **60 Tagen** ab. Am Ablaufdatum müssen die Q-PCR Standards zusammen mit der Amplifikationsreagenziencharge erneut verarbeitet werden.

Die genehmigten und in der Datenbank gespeicherten Ergebnisse der Amplifikationskontrolle laufen **nach 15 Tagen** ab. Am Ablaufdatum müssen die Positive Control und Negative Control zusammen mit der Amplifikationsreagenzcharge erneut verarbeitet werden.

Darüber hinaus müssen die Kalibratoren und Amplifikationskontrollen erneut generiert werden, wenn:

- eine neue Charge von Amplifikationsreagenzien gestartet wird,
- die Ergebnisse der Qualitätskontrollanalyse (siehe nächster Abschnitt) außerhalb der Spezifikation liegen,
- eine größere Wartung am **ELITE InGenius**-Gerät durchgeführt wird.

Qualitätskontrollen

Die geplante Validierung des Extraktions- und Amplifikationsverfahrens wird empfohlen. Es können getestete Proben oder zertifiziertes Referenzmaterial verwendet werden. Externe Kontrollen sind gemäß den einschlägigen Anforderungen der lokalen, staatlichen und föderalen Akkreditierungsorganisationen zu verwenden.

VERFAHREN

Das beim Gebrauch des **HCV ELITE MGB Kit** mit dem **ELITE InGenius** System anzuwendende Verfahren besteht aus drei Schritten:

- Prüfung der Systembereitschaft,
- Einrichtung des Laufs,
- Überprüfung und Export der Ergebnisse.

Prüfung der Systembereitschaft

Vor Beginn des Laufs gemäß der Gerätedokumentation muss Folgendes durchgeführt werden:

- **ELITE InGenius** einschalten und den Anmeldemodus „CLOSED“ (geschlossen) auswählen.
 - Bestätigen, dass die Kalibratoren (**HCV Q-PCR Standards**) für die zu verwendende Charge des **HCV PCR Mix** genehmigt und gültig (Status) sind. Wenn keine gültigen Kalibratoren für die Charge **HCV PCR Mix** verfügbar sind, Kalibration wie unten beschrieben durchführen, prüfen, ob die Amplifikationskontrollen (**HCV Positive Control**, **HCV Negative Control**) für die zu verwendende Charge des **HCV PCR Mix** genehmigt und gültig (Status) sind. Wenn keine gültigen Kontrollen für die Charge **HCV PCR Mix** verfügbar sind, die Kontrollen wie unten beschrieben durchführen. Dies kann auf der Startseite im Menü „Control“ (Kontrolle) überprüft werden; den Typ des Laufs auswählen, dazu die Anweisungen auf der grafischen

HCV ELITe MGB® Kit
 Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die
 Real-Time-PCR

REF RTK601ING

Benutzeroberfläche zur Einrichtung des Laufs befolgen und die von ELITechGroup S.p.A. bereitgestellten Assay-Protokolle verwenden. Diese IVD-Protokolle wurden speziell mit ELITe MGB Kits und dem Gerät ELITe InGenius mit den angegebenen Matrizes validiert.

- Die für das Testen von Proben mit dem Produkt **HCV ELITe MGB Kit** verfügbaren Assay-Protokolle sind in der nachfolgenden Tabelle beschrieben:

Assay-Protokoll für HCV ELITe MGB Kit			
Name	Matrix	Bericht	Eigenschaften
HCV ELITe_PL_600_50	Plasma	Positiv / Kopien/ml / IU/ml / Negativ	Extraktionseingangsvolumen: 600 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 50 µl Internal Control: 10 µl Sonifikation: KEINE Verdünnungsfaktor: 1,7 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl

Assay-Protokoll für HCV ELITe MGB Kit			
Name	Matrix	Bericht	Eigenschaften
HCV ELITe_Se_600_50	Serum	Positiv / Kopien/ml / IU/ml / Negativ	Extraktionseingangsvolumen: 600 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 50 µl Internal Control: 10 µl Sonifikation: KEINE Verdünnungsfaktor: 1,7 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl

IU: internationale Einheiten

Falls das betreffende Assay-Protokoll nicht im System geladen ist, wenden Sie sich an Ihren ELITechGroup Kundendienstvertreter vor Ort.

Einrichtung des Laufs

Das **HCV ELITe MGB Kit** kann mit **ELITe InGenius** für die Durchführung der folgenden Läufe verwendet werden:

- A. Integrierter Lauf (Extraktion + PCR),
- B. Amplifikationslauf (nur PCR),
- C. Kalibrationslauf (nur PCR),
- D. Amplifikationslauf für die Positive Control und Negative Control [PCR Only (nur PCR)].

Alle benötigten Parameter sind in dem auf dem Gerät verfügbaren Assay-Protokoll enthalten und werden bei Auswahl des Assay-Protokolls automatisch geladen.

Hinweis: **ELITe InGenius** kann mit dem „Location Information Server“ (LIS) verbunden werden, der das Laden der Laufinformationen ermöglicht. Weitere Informationen finden Sie im Gerätehandbuch.

Vor Beginn des Laufs ist es unbedingt notwendig, Folgendes durchzuführen:

1. Die benötigten **HCV PCR Mix**-Röhrchen (WEISSER Verschluss) 30 Minuten bei Raumtemperatur (~+25 °C) auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 24 Reaktionen unter optimalen Bedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Durch Vortexen dreimal 10 Sekunden lang mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und auf Eis lagern.

Hinweis: **HCV PCR Mix** im Dunkeln auftauen, da dieses Reagenz lichtempfindlich ist.

2. Die **RT EnzymeMix** Röhrchen (Verschluss mit SCHWARZEM Einsatz) herausnehmen. Jedes Röhrchen reicht für die Einrichtung von 48 Tests aus. Die Röhrchen vorsichtig schütteln, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis lagern.

Hinweis: Der **RT EnzymeMix** darf nicht länger als 10 Minuten Temperaturen über -20 °C ausgesetzt werden.

3. Ein 2-ml-Röhrchen mit Schraubverschluss (Sarstedt Art.-Nr. 72.694.005, nicht im Lieferumfang des Kits enthalten) für das **komplette Reaktionsgemisch** zubereiten und erkennbar mit einem Permanentmarker kennzeichnen.

HCV ELITe MGB® Kit
 Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die
 Real-Time-PCR

REF RTK601ING

4. Die Volumina der zwei Unterkomponenten, die für die Zubereitung des **kompletten Reaktionsgemischs** benötigt werden, auf Grundlage der Anzahl an zu analysierenden Proben berechnen, wie in der folgenden Tabelle beschrieben.

Hinweis: Zur Berechnung der Volumina der für die Zubereitung des **kompletten Reaktionsgemischs** zu verwendenden zwei Unterkomponenten müssen die Anzahl der im Lauf zu testenden Proben (N) definiert und die nachfolgende Tabelle beachtet werden.

Probenanzahl (N)	HCV PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µl	(N + 1) x 0,3 µl
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µl	(N + 2) x 0,3 µl
N = 12	290 µl	4,4 µl

5. Das **komplette Reaktionsgemisch** zubereiten: dazu die errechneten Volumina der zwei Komponenten in das dafür vorgesehene 2-ml-Röhrchen geben.
6. Dreimal durch **Vortexen bei niedriger Drehzahl** 10 Sekunden lang mischen, das Röhrchen 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und die Röhrchen auf Eis lagern.

Hinweis: Das **komplette Reaktionsgemisch** sollte innerhalb von 7 Stunden verwendet werden, wenn es im gekühlten Block des Geräts verbleibt. Das komplette Reaktionsgemisch **darf nicht** zur Wiederverwendung aufbewahrt werden.

Hinweis: Das **komplette Reaktionsgemisch** ist lichtempfindlich und darf daher keinem direkten Licht ausgesetzt werden.

Die wichtigsten Schritte für die Einrichtung der drei Durchlauftypen sind in den folgenden Abschnitten beschrieben.

A. Integrierter Lauf

Zur Einrichtung eines integrierten Laufs mit Probenextraktion und -amplifikation führen Sie die folgenden Schritte durch, wie auf der grafischen Benutzeroberfläche angegeben:

1. Die Teströhrchen mit den zu analysierenden Proben bei Raumtemperatur (~+25 °C) auftauen und gemäß den Laborrichtlinien und dem Abschnitt „Proben und Kontrollen“ handhaben. Daran denken, dass 600 µl Probe für die Analyse benötigt werden.
2. Die **HCV CPE**-Röhrchen für den Lauf auf Raumtemperatur (~+25 °C) auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Extraktionen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
3. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
4. Sicherstellen, dass das Extraktionseingangsvolumen („Extraction Input Volume“) 1000 µl (auch wenn 600 µl Probe verwendet werden) und das extrahierte Eluatvolumen („Extracted Elute Volume“) 50 µl beträgt.
5. Für jede relevante Spur unter „SampleID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.
6. Das zu verwendende Assay Protocol in der Spalte „Assay“ auswählen (z. B. HCV ELITe_PL_600_50).
7. Sicherstellen, dass unter „Protocol“ (Protokoll) Folgendes angezeigt wird: „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR).
8. Die Proben-Ladeposition „Extraction Tube“ (Extraktionsröhrchen) in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) auswählen: Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren. Für die Analyse müssen 600 µl Probe in das Extraktionsröhrchen überführt werden. **ELITe InGenius** behält eventuell überschüssiges Volumen im Extraktionsröhrchen.
9. Das **komplette Reaktionsgemisch** und **HCV CPE** auf den unter „Inventory Block“ (Bestandsblock) ausgewählten Bestandsblock laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen und die Chargennummer und das Verfallsdatum von **HCV PCR Mix** und **HCV CPE** eintragen. Auf die Schaltfläche „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.

HCV ELITE MGB® Kit

Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

- Die Spitzenständer in den unter „Inventory Area“(Bestandsbereich) ausgewählten Bestandsbereich laden und kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf die Schaltfläche „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
- Die **PCR-Kassetten**, die **ELITE InGenius SP 1000** Extraktionskartuschen, alle benötigten Verbrauchsmaterialien und die zu extrahierenden Proben laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
- Die Gerätetür schließen.
- Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

Nach Beendigung des Laufs ermöglicht das System **ELITE InGenius** es dem Benutzer, die Ergebnisse anzuzeigen, zu genehmigen und zu speichern und den Bericht auszudrucken und zu speichern.

Hinweis: Am Ende des Laufs muss die übrige extrahierte Probe im Elutionsröhrchen aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen, gekennzeichnet und maximal einen Monat bei -20 °C gelagert werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

Hinweis: Am Ende des Laufs müssen die **PCR-Kassetten** mit den Amplifikationsprodukten, die Extraktionskartuschen und die Verbrauchsmaterialien aus dem Gerät entfernt und ohne Kontamination der Umwelt entsorgt werden. Ein Verschütten der Reaktionsprodukte vermeiden.

Hinweis: Das **komplette Reaktionsgemisch** kann bis zu 2 Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden sowie für die zum Starten eines dritten Arbeitslaufs nötige Zeit (insgesamt 7 Stunden) im gekühlten Block des Geräts verbleiben. Vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

B. Amplifikationslauf (nur PCR)

Zum Einrichten des Amplifikationslaufs ab der extrahierten RNA die folgenden Schritte ausführen, wie auf der grafischen Benutzeroberfläche angegeben:

- Die Teströhrchen mit den zu analysierenden extrahierten Nukleinsäure-Proben auf Raumtemperatur (~ +25 °C) auftauen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
- Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
- Selbst wenn keine Extraktion durchgeführt wird, sicherstellen, dass das Extraktionseingangsvolumen („Extraction Input Volume“) 1000 µl (auch wenn 600 µl Probe verwendet wurden) und das extrahierte Eluatvolumen 50 µl beträgt.
- Für jede relevante Spur die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.
- Das zu verwendende Assay Protocol in der Spalte „Assay“ auswählen (z. B. HCV ELITE_PL_600_50).
- In der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) auswählen.
- Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr. (untere Reihe)) lautet. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
- Das **komplette Reaktionsgemisch** auf den unter „Inventory Block“ (Bestandsblock) ausgewählten Bestandsblock laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen und die Chargennummer und das Verfallsdatum von **HCV PCR Mix** eintragen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
- Die Spitzenständer in den unter „Inventory Area“(Bestandsbereich) ausgewählten Bestandsbereich laden und kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
- Die **PCR-Kassetten** und die extrahierte Nukleinsäure-Proben gemäß den Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche laden. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
- Die Gerätetür schließen.
- Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

Nach Beendigung des Laufs ermöglicht das System **ELITE InGenius** es dem Benutzer, die Ergebnisse anzuzeigen, zu genehmigen und zu speichern und den Bericht auszudrucken und zu speichern.

HCV ELITE MGB® Kit

Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

Hinweis: Am Ende des Laufs muss die übrige extrahierte Probe im Elutionsröhrchen aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und einen Monat bei -20 °C gelagert werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

Hinweis: Am Ende des Laufs müssen die **PCR-Kassetten** mit den Amplifikationsprodukten und die Verbrauchsmaterialien aus dem Gerät entfernt und ohne Kontamination der Umwelt entsorgt werden. Ein Verschütten der Reaktionsprodukte vermeiden.

Hinweis: Das **komplette Reaktionsgemisch** kann bis zu 2 Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden sowie für die zum Starten eines dritten Arbeitslaufs nötige Zeit (insgesamt 7 Stunden) im gekühlten Block des Geräts verbleiben. Vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

C. Kalibrationslauf

Zum Einrichten des Kalibrationslaufs mit Q-PCR-Standards führen Sie die folgenden Schritte durch, wie auf der grafischen Benutzeroberfläche angegeben:

- HCV Q-PCR Standard**-Röhrchen auftauen (Cal1: HCV Q-PCR Standards 10², Cal2: HCV Q-PCR Standards 10³, Cal3: HCV Q-PCR Standards 10⁴, Cal4: HCV Q-PCR Standards 10⁵) 30 Minuten bei Raumtemperatur (~+25 °C). Jedes Röhrchen reicht aus für die Vorbereitung von 4 Reaktionen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
- Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
- Selbst wenn keine Extraktion durchgeführt wird, sicherstellen, dass das Extraktionseingangsvolumen („Extraction Input Volume“) 1000 µl (auch wenn 600 µl Probe verwendet werden) und das extrahierte Eluatvolumen 50 µl beträgt.
- In der relevanten Spur das Assay Protocol „HCV ELITE STD“ in der Spalte „Assay“ auswählen und die Chargennummer und das Ablaufdatum des **HCV Q-PCR Standard** eintragen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
- Das **komplette Reaktionsgemisch** auf den unter „Inventory Block“ (Bestandsblock) ausgewählten Bestandsblock laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen und die Chargennummer und das Verfallsdatum von **HCV PCR Mix** eintragen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
- Die Spitzenständer in den unter „Inventory Area“(Bestandsbereich) ausgewählten Bestandsbereich laden und kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
- Die PCR-Kassetten („**PCR Cassettes**“), die **HCV Q-PCR Standard** Röhrchen gemäß den Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche laden. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
- Die Gerätetür schließen.
- Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

Nach Beendigung des Laufs ermöglicht das System **ELITE InGenius** es dem Benutzer, die Ergebnisse anzuzeigen, zu genehmigen und zu speichern und den Bericht auszudrucken und zu speichern.

Hinweis: Am Ende des Laufs müssen die übrigen **HCV Q-PCR Standards** aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und bei -20 °C gelagert werden.

Hinweis: Die **HCV Q-PCR Standards** können für 2 unabhängige Arbeitsläufe von jeweils 2 Stunden verwendet werden.

Hinweis: Am Ende des Laufs müssen die **PCR-Kassetten** mit den Reaktionsprodukten und die Verbrauchsmaterialien aus dem Gerät entfernt und ohne Kontamination der Umwelt entsorgt werden. Ein Verschütten der Reaktionsprodukte vermeiden.

Hinweis: Das **komplette Reaktionsgemisch** kann bis zu 2 Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden sowie für die zum Starten eines dritten Arbeitslaufs nötige Zeit (insgesamt 7 Stunden) im gekühlten Block des Geräts verbleiben. Vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

HCV ELiTe MGB® Kit

Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

D. Amplifikationslauf für Positive Control und Negative Control

Zur Einrichtung des Amplifikationslaufs für die Positive Control und Negative Control führen Sie die folgenden Schritte durch, wie auf der grafischen Benutzeroberfläche angegeben:

1. **HCV Positive Control**-Röhrchen für den Lauf 30 Minuten bei Raumtemperatur (~+25 °C) auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für die Vorbereitung von 4 Reaktionen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
2. Als **Negativkontrolle** mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie in ein Elutionsröhrchen (im Lieferumfang des **ELiTe InGenius SP 200 Consumable Set** enthalten) überführen.
3. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
4. Selbst wenn keine Extraktion durchgeführt wird, sicherstellen, dass das Extraktionseingangsvolumen („Extraction Input Volume“) 1000 µl (auch wenn 600 µl Probe verwendet werden) und das extrahierte Eluatvolumen 50 µl beträgt.
5. In der relevanten Spur das zu verwendende Assay Protocol in der Spalte „Assay“ auswählen.
6. Für die Positivkontrolle das Assay Protocol „HCV ELiTe_PC“ in der Spalte „Assay“ auswählen und die Chargennummer und das Ablaufdatum für **HCV Positive Control** eintragen.
7. Für die Negativkontrolle das Assay Protocol „HCV ELiTe_NC“ in der Spalte „Assay“ auswählen und die Chargennummer und das Ablaufdatum für das hochreine Wasser für die Molekularbiologie eintragen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
8. Das **komplette Reaktionsgemisch** auf den unter „Inventory Block“ (Bestandsblock) ausgewählten Bestandsblock laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen und die Chargennummer und das Verfallsdatum von **HCV PCR Mix** eintragen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
9. Die Spitzenstände in den unter „Inventory Area“ (Bestandsbereich) ausgewählten Bestandsbereich laden und kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
10. Die **PCR-Kassetten**, das **HCV Positive Control**-Röhrchen und das Röhrchen für die **Negativkontrolle** gemäß den Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche laden. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
11. Die Gerätetür schließen.
12. Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

Nach Beendigung des Laufs ermöglicht das System **ELiTe InGenius** es dem Benutzer, die Ergebnisse anzuzeigen, zu genehmigen und zu speichern und den Bericht auszudrucken und zu speichern.

Hinweis: Am Ende des Laufs kann die übrige **HCV-Positivkontrolle** aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und bei -20 °C gelagert werden. Die übrige **Negativkontrolle** muss entsorgt werden.

Hinweis: Die **HCV-Positivkontrolle** kann für 4 unabhängige Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden verwendet werden.

Hinweis: Am Ende des Laufs müssen die **PCR-Kassetten** mit den Amplifikationsprodukten und die anderen Verbrauchsmaterialien aus dem Gerät entfernt und ohne Kontamination der Umwelt entsorgt werden. Ein Verschütten der Reaktionsprodukte vermeiden.

Hinweis: Das **komplette Reaktionsgemisch** kann bis zu 2 Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden sowie für die zum Starten eines dritten Arbeitslaufs nötige Zeit (insgesamt 7 Stunden) im gekühlten Block des Geräts verbleiben. Vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

ELiTe InGenius überwacht die Fluoreszenzsignale der Zielsequenz und der Internal Control für jede Reaktion und wendet die Assay-Protokoll-Parameter automatisch zur Generierung von PCR-Kurven an, die dann für die Ergebnisse interpretiert werden.

HCV ELiTe MGB® Kit

Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

Am Ende des Laufs wird der Bildschirm „Results Display“ (Ergebnisanzeige) automatisch angezeigt. Auf diesem Bildschirm werden die Proben-/Standard-/Kontrollergenergebnisse sowie die Informationen zum Lauf angezeigt. Über diesen Bildschirm kann das Ergebnis genehmigt und können die Berichte („Sample Report“ (Probenbericht) oder „Track Report“ (Spurbericht)) ausgedruckt oder gespeichert werden. Weitere Informationen finden Sie im Benutzerhandbuch des Geräts.

Hinweis: Das **ELiTe InGenius** System kann mit dem Laborinformationssystem (LIS, Laboratory Information System) verbunden werden, über das die Arbeitslauf-Ergebnisse an das Rechenzentrum des Labors gesendet werden können. Weitere Informationen finden Sie im Benutzerhandbuch des Geräts.

Das **ELiTe InGenius** System generiert die Ergebnisse mithilfe des Produkts **HCV ELiTe MGB Kit** und geht dabei folgendermaßen vor.

A. Validierung der Kalibrationskurve

Die **ELiTe InGenius Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse für das HCV (Kanal „HCV“) der Kalibratorreaktionen mit den **HCV ELiTe STD** Assay-Protokoll-Parametern. Die Kalibrationskurve ergibt sich aus dem resultierenden Ct-Wert bei der jeweiligen Konzentration.

Die für die PCR-Reagenziencharge spezifischen Kalibrationskurven werden in der Datenbank („Calibration“) gespeichert. Sie können von Mitarbeitern mit der Qualifikation „Administrator“ oder „Analyst“ unter Befolgung der Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche angezeigt und genehmigt werden. Kalibrationskurve läuft **nach 60 Tagen** ab.

Vor der Analyse von Proben muss eine Kalibrationskurve für die verwendete Charge des PCR-Reagenz erstellt und genehmigt werden. Kalibrationskurven mit dem Status „Approved“ (Genehmigt) werden im Fenster „Calibration“ (Kalibration) der ELiTe InGenius Software angezeigt.

Hinweis: Erfüllt die Kalibrationskurve nicht die Annahmekriterien, wird die Meldung „Failed“ (nicht bestanden) auf dem Bildschirm „Calibration“ angezeigt. In diesem Fall können die Ergebnisse nicht genehmigt werden und die Kalibratorreaktionen müssen wiederholt werden. Außerdem werden Proben, die nicht in den Lauf einbezogen wurden, nicht quantifiziert und müssen ebenfalls wiederholt werden, um quantitative Ergebnisse zu generieren.

Hinweis: Wird die Kalibrationskurve zusammen mit Proben ausgeführt und ist ihr Ergebnis ungültig, so ist der gesamte Lauf ungültig. In diesem Fall muss die Amplifikation aller Proben ebenfalls wiederholt werden.

B. Validierung der Ergebnisse des Amplifikationslaufs für die Positive Control und Negative Control

Die von der Sonde für HCV (Kanal „HCV“) in den Amplifikationsreaktionen der Positive Control und Negative Control ausgesendeten Fluoreszenzsignale werden automatisch analysiert und von der Gerätesoftware mit den in den Assay-Protokollen „**HCV ELiTe_PC**“ und „**HCV ELiTe_NC**“ enthaltenen Parametern interpretiert.

Die Ergebnisse der Positive Control und Negative Control, die für die verwendete PCR-Zielcharge spezifisch sind, werden in der Datenbank („Controls“) gespeichert. Sie können von Mitarbeitern mit der Qualifikation „Administrator“ oder „Analyst“ unter Befolgung der Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche angezeigt und genehmigt werden. Die Ergebnisse der Positive Control und Negative Control laufen nach 15 Tagen ab.

Die ELiTe InGenius Software verarbeitet die Ergebnisse der Positive Control und Negative Control und generiert Kontrollendiagramme („Control Charts“). Zum Einrichten der Regelkarte sind vier Ergebnisse der Positiv- und der Negativkontrolle aus vier verschiedenen Läufen erforderlich. Anschließend werden die Ergebnisse der Positive Control und der Negative Control zur Überwachung der Leistung der Amplifikationsstufen herangezogen. Weitere Informationen finden Sie im Benutzerhandbuch des Geräts.

Hinweis: Wenn das Ergebnis der Positive Control oder Negative Control die Annahmekriterien nicht erfüllt, wird die Meldung „Failed“ (nicht bestanden) im Bildschirm „Controls“ angezeigt. In diesem Fall können die Ergebnisse nicht genehmigt werden und die Läufe der Positive Control oder Negative Control müssen wiederholt werden.

Hinweis: Wird die Positive Control bzw. Negative Control zusammen mit zu testenden Proben ausgeführt und ist ihr Ergebnis ungültig, so können die Proben genehmigt werden, die Ergebnisse werden jedoch nicht validiert. In diesem Fall muss die Amplifikation aller Proben ebenfalls wiederholt werden.

HCV ELITe MGB® Kit
 Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die
 Real-Time-PCR

REF RTK601ING

HCV ELITe MGB® Kit
 Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die
 Real-Time-PCR

REF RTK601ING

C. Validierung der Probenergebnisse

Die von den Sonden für HCV (Kanal „HCV“) und von der Sonde der internen Kontrolle (Kanal „IC“) in den Amplifikationsreaktionen der Probe ausgesendeten Fluoreszenzsignale werden automatisch analysiert und von der Gerätesoftware mit den in den Assay Protocols „HCV ELITe_PL_600_50“ und „HCV ELITe_Se_600_50“ enthaltenen Parametern interpretiert. Die Ergebnisse werden im Modul „Results Display“ (Ergebnisanzeige) angezeigt.

Der Probenlauf kann genehmigt werden, wenn die drei in der nachfolgenden Tabelle angegebenen Bedingungen erfüllt sind.

1) Kalibrationskurve	Status
HCV Q-PCR Standards	APPROVED (Genehmigt)
2) Positive Control	Status
HCV Positive Control	APPROVED (Genehmigt)
3) Negative Control	Status
HCV Negative Control	APPROVED (Genehmigt)

Probenergebnisse werden vom Algorithmus der **ELITe InGenius Software** und den Assay-Protokoll-Parametern automatisch interpretiert.

Die möglichen Ergebnismeldungen sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt.

Ergebnis des Probenlaufs	Interpretation
HCV: RNA Detected, quantity equal to XXX copies / mL or IU/mL (HCV: RNA erkannt, Menge gleich XXX Kopien/ml oder IU/ml)	HCV-RNA wurde in der Probe innerhalb des Messbereichs des Tests in der angezeigten Menge nachgewiesen .
HCV: RNA Detected, quantity below LLoQ copies / mL or IU/mL (HCV: RNA erkannt, Menge unter LLoQ Kopien/ml oder IU/ml)	HCV-RNA wurde in der Probe unterhalb der unteren Bestimmungsgrenze des Tests nachgewiesen .
HCV: RNA Detected, quantity beyond ULoQ copies / mL or IU/mL (HCV: RNA erkannt, Menge über ULoQ Kopien/ml oder IU/ml)	HCV-RNA wurde in der Probe oberhalb der oberen Bestimmungsgrenze des Tests nachgewiesen .
HCV: RNA Not Detected or below LoD copies / mL or IU/mL (HCV: RNA nicht erkannt oder Menge unter LoD Kopien/ml oder IU/ml)	In der Probe wurde keine HCV-RNA nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf HCV-RNA getestet oder die HCV-RNA-Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
Invalid - Retest Sample (Ungültig - Probe erneut testen).	Ungültiges Testergebnis durch fehlerhafte interne Kontrolle (falsche Extraktion, Verschleppung von Inhibitoren). Der Test sollte wiederholt werden.

Als „Invalid - Retest Sample“ (Ungültig - Probe erneut testen) ausgegebene Proben sind nicht für die Ergebnisinterpretation geeignet. In diesem Fall wurde die interne Kontroll-RNA aufgrund von Problemen beim RT- (reverse Transkription), Amplifikations- oder Extraktionsschritt nicht effizient erkannt (Abbau oder Verlust von RNA während der Extraktion oder Verschleppung von Inhibitoren im Eluat), was zu falschen Ergebnissen führen kann. Wenn ausreichend Eluatvolumen übrig bleibt, kann das Eluat (verdünnt oder unverdünnt) mithilfe eines Amplifikationslaufs im Modus „PCR Only“ (nur PCR) erneut getestet werden. Ist das zweite Ergebnis ungültig, muss die Probe beginnend mit der Extraktion einer neuen Probe im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) erneut getestet werden.

Als „HCV RNA Not Detected or below LoD“ (HCV-RNA nicht nachgewiesen oder unter Nachweisgrenze) ausgegebene Proben sind für die Analyse geeignet, es war jedoch nicht möglich, HCV-RNA nachzuweisen. In diesem Fall kann entweder die Probe für HCV-RNA negativ sein oder die HCV-RNA ist bei einer Konzentration unter der Nachweisgrenze des Tests vorhanden ist (siehe „Leistungsmerkmale“).

Als „HCV: RNA Detected, quantity below LLoQ“ (HCV: RNA nachgewiesen, Menge unter LLoQ) ausgegebene Proben sind für die Quantifizierung nicht geeignet. Die Konzentration der in der Probe nachgewiesenen HCV-RNA liegt unter dem Niveau, bei dem sie präzise quantifizierbar ist. Wenn die Probe vor der Extraktion oder dem PCR-Test verdünnt wurde, kann sie ohne Verdünnung erneut getestet werden (siehe „Leistungsmerkmale“).

Als „DNA Detected, quantity beyond ULoQ“ (DNA nachgewiesen, Menge über ULoQ) ausgegebene Proben sind für die Quantifizierung nicht geeignet. Die Konzentration der in der Probe nachgewiesenen

HCV-RNA liegt über dem Niveau, bei dem sie präzise quantifizierbar ist. Die Probe kann vor der Extraktion oder dem PCR-Test verdünnt und erneut getestet werden, um Ergebnisse innerhalb des linearen Assay-Bereichs zu erzielen.

Hinweis: Bei der Interpretation der mit diesem Test erhaltenen Ergebnisse müssen alle klinischen Daten und sonstigen Laborbefunde des Patienten berücksichtigt werden.

Die Ergebnisse des Probenlaufs werden in der Datenbank gespeichert und können, falls gültig, von Mitarbeitern, die als „Administrator“ oder „Analyst“ qualifiziert sind, unter Befolgung der Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche unter „Result Display“ (Ergebnisanzeige) genehmigt werden. Über das Fenster „Result Display“ können die Ergebnisse des Probenlaufs als „Sample Report“ (Probenbericht) und „Track Report“ (Spurbericht) ausgedruckt und gespeichert werden.

Ausgabe des Probenergebnisberichts

Die Probenergebnisse werden in der Datenbank gespeichert und können als „Sample Report“ (Probenbericht) und „Track Report“ (Spurbericht) angezeigt und exportiert werden.

Der „Sample Report“ zeigt die Ergebnisse sortiert nach ausgewählter Probe (SID, „Sample ID“) an.

Der „Track Report“ zeigt die Ergebnisdetails nach ausgewählter Spur an.

Der „Sample Report“ und der „Track Report“ können ausgedruckt und von autorisiertem Personal unterschrieben werden.

ELITe BeGenius

PROBEN UND KONTROLLEN

Proben

Dieses Produkt darf ausschließlich mit den folgenden klinischen Proben verwendet werden:

In EDTA oder ACD entnommenes Plasma

Plasmaproben für die Nukleinsäureextraktion müssen gemäß den Laborrichtlinien in EDTA oder ACD entnommen und identifiziert werden. Außerdem dürfen sie maximal drei Tage bei Raumtemperatur (+18 bis +25 °C) bzw. maximal fünf Tage bei +2 bis +8 °C transportiert und aufbewahrt werden. Anderenfalls müssen sie tiefgefroren bei ~-20 °C für maximal einen Monat oder bei ~-70 °C für 6 Monate aufbewahrt werden.

Es wird empfohlen, die Proben vor dem Einfrieren in Aliquote aufzuteilen, um wiederholten Gefrier- und Auftauzyklen vorzubeugen. Bei Verwendung von gefrorenen Proben müssen die Proben unmittelbar vor der Extraktion aufgetaut werden, um einen möglichen Nukleinsäureabbau zu vermeiden.

Hinweis: Die RNA-Extraktion aus in EDTA oder ACD entnommenem Plasma wird mit dem System **ELITe BeGenius** und der **ELITe BeGenius Software**, Version 2.1.0 (oder entsprechende spätere Versionen) unter Verwendung des Assay Protocols **HCV ELITe_Be_PL_600_50** durchgeführt. Dieses Protokoll verarbeitet 600 µl Probe, fügt den **HCV CPE** (interne Kontrolle) bei 10 µl pro Extraktion hinzu und eluiert die Nukleinsäuren in 50 µl.

Aufgereinigte Nukleinsäuren können einen Monat bei ~-20 °C aufbewahrt werden.

Serum

Für die RNA-Extraktion bestimmte Serumproben müssen gemäß den Laborrichtlinien entnommen und identifiziert werden. Außerdem dürfen sie maximal drei Tage bei Raumtemperatur (~+25 °C) bzw. maximal fünf Tage bei +2 bis +8 °C transportiert und aufbewahrt werden. Anderenfalls müssen sie tiefgefroren bei ~-20 °C für maximal einen Monat oder bei ~-70 °C für 6 Monate aufbewahrt werden.

Es wird empfohlen, die Proben vor dem Einfrieren in Aliquote aufzuteilen, um wiederholten Gefrier- und Auftauzyklen vorzubeugen. Bei Verwendung von gefrorenen Proben müssen die Proben unmittelbar vor der Extraktion aufgetaut werden, um einen möglichen Nukleinsäureabbau zu vermeiden.

Hinweis: Die RNA-Extraktion aus Serum wird mit dem System **ELITe BeGenius** und der **ELITe BeGenius Software**, Version 2.1.0 (oder entsprechende spätere Versionen) unter Verwendung des Assay-Protokolls **HCV ELITe_Be_Se_600_50** durchgeführt. Dieses Protokoll verarbeitet 600 µl Probe, fügt den **HCV CPE**

HCV ELiTe MGB® Kit
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF **RTK601ING**

(interne Kontrolle) bei 10 µl pro Extraktion hinzu und eluiert die Nukleinsäuren in 50 µl. Primärröhrchen können nicht zusammen mit dem Assay Protocol verwendet werden.

Aufgereinigte Nukleinsäuren können einen Monat bei -20 °C aufbewahrt werden.

Andere Proben

Derzeit liegen keine Daten zur Produktleistung mit anderen klinischen Proben, wie z. B. Vollblut oder Liquor (CSF) vor.

Störende Substanzen

Verfügbare Daten zu einer Inhibition durch Arzneimittel und andere Substanzen sind im Abschnitt „Potenziell störende Substanzen“ des Kapitels „Leistungsmerkmale“ aufgeführt.

Verwenden Sie kein in Heparin entnommenes Plasma, um eine Hemmung der Amplifikationsreaktion und häufige ungültige Ergebnisse zu verhindern.

Amplifikationskontrollen

Vor der Analyse von Proben ist es erforderlich, die Kalibrationskurve und die Amplifikationskontrollen für jede Amplifikationsreagenz-Charge zu generieren und zu genehmigen:

- als Kalibratorset sind die vier Konzentrationswerte des im Lieferumfang dieses Kits enthaltenen Produkts **HCV ELiTe Standard** zusammen mit dem Assay Protocol **HCV ELiTe_Be_STD** zu verwenden,
- als Amplifikations-Positivkontrolle ist das im Lieferumfang dieses Kits enthaltene Produkt **HCV - ELiTe Positive Control** zusammen mit dem Assay Protocol **HCV ELiTe_Be_PC** zu verwenden,
- als Amplifikations-Negativkontrolle ist hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) zusammen mit dem Assay Protocol **HCV ELiTe_Be_NC** zu verwenden.

Hinweis: Das System **ELiTe BeGenius** benötigt für jede in seiner Datenbank gespeicherte Amplifikationsreagenzcharge genehmigte und gültige Ergebnisse der Kalibrationskurve und der Amplifikationskontrollen.

Genehmigte und in der Datenbank gespeicherte Kalibrationskurven laufen nach **60 Tagen** ab. Am Ablaufdatum müssen die Q-PCR Standards zusammen mit der Amplifikationsreagenziencharge erneut verarbeitet werden.

Die genehmigten und in der Datenbank gespeicherten Ergebnisse der Amplifikationskontrolle laufen **nach 15 Tagen** ab. Am Ablaufdatum müssen die Positive Control und Negative Control zusammen mit der Amplifikationsreagenzcharge erneut verarbeitet werden.

Darüber hinaus müssen die Kalibratoren und Amplifikationskontrollen erneut generiert werden, wenn:

- eine neue Charge von Reagenzien gestartet wird,
- die Ergebnisse der Qualitätskontrollanalyse (siehe nächster Abschnitt) außerhalb der Spezifikation liegen,
- eine größere Wartung am **ELiTe BeGenius**-Gerät durchgeführt wird.

Qualitätskontrollen

Die geplante Validierung des Extraktions- und Amplifikationsverfahrens wird empfohlen. Es können getestete Proben oder zertifiziertes Referenzmaterial verwendet werden. Externe Kontrollen sind gemäß den einschlägigen Anforderungen der lokalen, staatlichen und föderalen Akkreditierungsorganisationen zu verwenden.

VERFAHREN

Der Gebrauch des **HCV ELiTe MGB Kit** mit **ELiTe BeGenius** besteht aus drei Schritten:

- Prüfung der Systembereitschaft,
- Einrichtung des Laufs,
- Überprüfung und Export der Ergebnisse.

Prüfung der Systembereitschaft

Vor Beginn des Laufs gemäß der Gerätedokumentation muss Folgendes durchgeführt werden:

- **ELiTe BeGenius** einschalten und den Anmeldemodus „**CLOSED**“ (geschlossen) auswählen.

HCV ELiTe MGB® Kit
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF **RTK601ING**

- Bestätigen, dass die Kalibratoren (**HCV Q-PCR Standards**) für die zu verwendende Charge des **HCV PCR Mix** genehmigt und gültig (Status) sind. Wenn keine Kalibratoren für die Charge **HCV PCR Mix** verfügbar sind, Kalibration wie unten beschrieben durchführen.

- Bestätigen, dass die Amplifikationskontrollen (**HCV Positive Control, HCV Negative Control**) für die zu verwendende Charge des **HCV PCR Mix** genehmigt und gültig (Status) sind. Wenn keine gültigen Amplifikationskontrollen für die Charge **HCV PCR Mix** vorhanden sind, die Kontrollen wie unten beschrieben durchführen, den Typ des Laufs auswählen, dazu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche zur Einrichtung des Laufs befolgen und die von ELiTechGroup S.p.A. bereitgestellten Assay-Protokolle verwenden. Diese IVD-Protokolle wurden speziell mit ELiTe MGB Kits und dem Gerät ELiTe BeGenius sowie der genannten Matrix validiert.

- Die für das Testen von Proben mit dem Produkt **HCV ELiTe MGB Kit** verfügbaren Assay-Protokolle sind in der nachfolgenden Tabelle beschrieben:

Assay-Protokoll für HCV ELiTe MGB Kit und ELiTe BeGenius			
Name	Matrix	Bericht	Eigenschaften
HCV ELiTe_Be_PL_600_50	Plasma	Positiv / IU/ml Kopien/ml / Negativ	Extraktionseingangsvolumen: 600 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 50 µl Internal Control: 10 µl Verdünnungsfaktor: 1,7 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
HCV ELiTe_Be_Se_600_50	Serum	Positiv / IU/ml Kopien/ml / Negativ	Extraktionseingangsvolumen: 600 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 50 µl Internal Control: 10 µl Verdünnungsfaktor: 1,7 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl

IU: internationale Einheiten

Falls das betreffende Assay-Protokoll nicht im System geladen ist, wenden Sie sich an Ihren ELiTechGroup Kundendienstvertreter vor Ort.

Einrichtung des Laufs

Das **HCV ELiTe MGB Kit** kann mit **ELiTe BeGenius** für die Durchführung der folgenden Läufe verwendet werden:

- A. Integrierter Lauf (Extraktion + PCR),
- B. Amplifikationslauf (nur PCR),
- C. Kalibrationslauf (nur PCR),
- D. Amplifikationslauf für die Positive Control und Negative Control [PCR Only (nur PCR)].

Alle benötigten Parameter sind in dem auf dem Gerät verfügbaren Assay-Protokoll enthalten und werden bei Auswahl des Assay-Protokolls automatisch geladen.

Hinweis: **ELiTe BeGenius** kann an den „Location Information Server“ (LIS) angeschlossen werden, der das Laden der Laufinformationen ermöglicht. Weitere Informationen finden Sie im Gerätehandbuch.

Vor Beginn des Laufs ist es unbedingt notwendig, Folgendes durchzuführen:

1. Die benötigten **HCV PCR Mix**-Röhrchen (WEISSER Verschluss) 30 Minuten bei Raumtemperatur (~+25 °C) auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für **24 Reaktionen** unter optimalen Bedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Durch Vortexen dreimal 10 Sekunden lang mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und auf Eis lagern.

Hinweis: **HCV PCR Mix** im Dunkeln auftauen, da dieses Reagenz lichtempfindlich ist.

2. Die benötigten **RT EnzymeMix** Röhrchen (Verschluss mit SCHWARZEM Einsatz) herausnehmen. Jedes Röhrchen reicht für die Einrichtung von **48 Tests** aus. Die Röhrchen vorsichtig schütteln, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis lagern.

Hinweis: Der **RT EnzymeMix** darf nicht länger als 10 Minuten Temperaturen über -20 °C ausgesetzt werden.

HCV ELite MGB® Kit

Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

- Ein 2-ml-Röhrchen mit Schraubverschluss (Sarstedt Art.-Nr. 72.694.005, nicht im Lieferumfang des Kits enthalten) für das **komplette Reaktionsgemisch** zubereiten und erkennbar mit einem Permanentmarker kennzeichnen.
- Die Volumina der zwei Unterkomponenten, die für die Zubereitung des **kompletten Reaktionsgemischs** benötigt werden, auf Grundlage der Anzahl an zu analysierenden Proben berechnen, wie in der folgenden Tabelle beschrieben.

Hinweis: Zur Berechnung der Volumina der für die Zubereitung des **kompletten Reaktionsgemischs** zu verwendenden zwei Unterkomponenten müssen die Anzahl der im Lauf zu testenden Proben (N) definiert und die nachfolgende Tabelle beachtet werden.

Probenanzahl (N)	HCV PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µl	(N + 1) x 0,3 µl
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µl	(N + 2) x 0,3 µl
N = 12	290 µl	4,4 µl

- Das **komplette Reaktionsgemisch** zubereiten: dazu die errechneten Volumina der zwei Komponenten in das dafür vorgesehene 2-ml-Röhrchen geben.
- Dreimal durch **Vortexen bei niedriger Drehzahl** 10 Sekunden lang mischen, das Röhrchen 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und die Röhrchen auf Eis lagern.

Hinweis: Das **komplette Reaktionsgemisch** sollte innerhalb von **7 Stunden** verwendet werden, wenn es im gekühlten Block des Geräts verbleibt. Das komplette Reaktionsgemisch **darf nicht** zur Wiederverwendung aufbewahrt werden.

Hinweis: Das **komplette Reaktionsgemisch** ist lichtempfindlich und darf daher keinem direkten Licht ausgesetzt werden.

Die wichtigsten Schritte für die Einrichtung der drei Durchlauftypen sind in den folgenden Abschnitten beschrieben.

A. Integrierter Lauf

Zur Einrichtung eines integrierten Laufs mit Probenextraktion und -amplifikation führen Sie die folgenden Schritte durch, wie auf der grafischen Benutzeroberfläche angegeben:

- Die Teströhrchen mit den zu analysierenden Proben bei Raumtemperatur (+18 bis 25 °C) auftauen und gemäß den Laborrichtlinien und dem Abschnitt „Proben und Kontrollen“ handhaben. Daran denken, dass 600 µl Probe für die Analyse benötigt werden.
- Die **HCV CPE**-Röhrchen für den Lauf 30 Minuten bei Raumtemperatur (~+25 °C) auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Extraktionen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
- Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
- Die Racks aus der „Kühleinheit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.
- Den Laufmodus wählen: „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR).
- Die Proben in die Racks 5 und 4 laden (immer mit Rack 5 beginnen).
- Das Rack in die „Kühleinheit“ einsetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.

Hinweis: Beim Laden von Sekundärröhrchen „2-ml-Röhrchen“ angeben. Bei Sekundärröhrchen ohne Barcode die Proben-ID manuell eingeben.

- Extraktionseingangsvolumen („Extraction Input Volume“, 600 µl) und extrahiertes Eluatvolumen („Extracted Eluate Volume“, 50 µl) kontrollieren.
- Das zu verwendende Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ auswählen (d.h. HCV ELITE_Be_PL_600_50). Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
- Schritt 7 bis 9 ggf. für Rack 4 wiederholen.
- Die Elutionsröhrchen in die Racks 3 und 2 laden (immer mit Rack 3 beginnen).

HCV ELite MGB® Kit

Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

Hinweis: Elutionsröhrchen können zur Verbesserung der Rückverfolgbarkeit etikettiert werden.

- Das Rack in die „Kühleinheit“ einsetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
- Schritt 11 und 12 ggf. für Rack 2 wiederholen.
- CPE** und das **komplette Reaktionsgemisch** in Rack 1 laden.
- Das Rack 1 in die „Kühleinheit“ einsetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
- Die Spitzenständer in den Bestandsbereich („Inventory Area“) laden und kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
- Den Korb mit der PCR-Kassette in den Bestandsbereich laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
- Den Korb mit den Extraktionskartuschen „ELITE InGenius SP 1000“ und den für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
- Die Gerätetür schließen.
- Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

Nach Beendigung des Laufs ermöglicht **ELITE BeGenius** es dem Benutzer, die Ergebnisse anzuzeigen, zu genehmigen und zu speichern und den Bericht auszudrucken und zu speichern.

Hinweis: Am Ende des Laufs kann die übrige extrahierte Probe aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen, gekennzeichnet und bei -20 °C gelagert werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

Hinweis: Am Ende des Laufs müssen die PCR-Kassette („PCR Cassette“) mit den Reaktionsprodukten und die Verbrauchsmaterialien aus dem Gerät entfernt und ohne Kontamination der Umwelt entsorgt werden. Ein Verschütten der Reaktionsprodukte vermeiden.

Hinweis: Das **komplette Reaktionsgemisch** kann bis zu 2 Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden sowie für die zum Starten eines dritten Arbeitslaufs nötige Zeit (insgesamt 7 Stunden) in der „Kühleinheit“ des Geräts verbleiben. Vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

B. Amplifikationslauf

Zum Einrichten des Amplifikationslaufs ab der extrahierten RNA die folgenden Schritte gemäß den Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche ausführen:

- Die Teströhrchen mit den zu analysierenden extrahierten Nukleinsäure-Proben auf Raumtemperatur (~ +25 °C) auftauen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
- Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
- Die Racks 1, 2 und 3 aus der „Kühleinheit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.
- Den Laufmodus wählen: „PCR Only“ (Nur PCR).
- Die Proben in die Racks 3 und 2 laden (immer mit Rack 3 beginnen).
- Das Rack in die „Kühleinheit“ einsetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
- Selbst wenn keine Extraktion durchgeführt wird, das Extraktionseingangsvolumen („Extraction Input Volume“, 600 µl) und das extrahierte Eluatvolumen („Extracted Eluate Volume“, 50 µl) kontrollieren.
- Das zu verwendende Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ auswählen (z. B. HCV ELITE_Be_PL_600_50). Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
- Schritt 5 bis 8 ggf. für Rack 2 wiederholen.

HCV ELITE MGB® Kit

Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

10. Das **komplette Reaktionsgemisch** in Rack 1 laden.
11. Das Rack 1 in die „Kühleinheit“ einsetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
12. Die Spitzenständer in den Bestandsbereich („Inventory Area“) laden und kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
13. Den Korb mit der PCR-Kassette in den Bestandsbereich laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
14. Die Gerätetür schließen.
15. Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

Nach Beendigung des Laufs ermöglicht **ELITE BeGenius** es dem Benutzer, die Ergebnisse anzuzeigen, zu genehmigen und zu speichern und den Bericht auszudrucken und zu speichern.

Hinweis: Am Ende des Laufs kann die übrige extrahierte Probe aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen, gekennzeichnet und bei -20 °C gelagert werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

Hinweis: Am Ende des Laufs muss die PCR-Kassette („PCR Cassette“) mit den Reaktionsprodukten aus dem Gerät entfernt und ohne Kontamination der Umwelt entsorgt werden. Ein Verschütten der Reaktionsprodukte vermeiden.

Hinweis: **Hinweis:** Das **komplette Reaktionsgemisch** kann bis zu 2 Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden sowie für die zum Starten eines dritten Arbeitslaufs nötige Zeit (insgesamt 7 Stunden) in der „Kühleinheit“ des Geräts verbleiben. Vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

C. Kalibrationslauf

Gehen Sie zum Einrichten des Kalibrationslaufs mit den Q-PCR Standards wie folgt vor und befolgen Sie die nachstehenden Anweisungen gemäß der grafischen Benutzeroberfläche:

1. **HCV Q-PCR Standard**-Röhrchen auftauen (Cal1: HCV Q-PCR Standards 10², Cal2: HCV Q-PCR Standards 10³, Cal3: HCV Q-PCR Standards 10⁴, Cal4: HCV Q-PCR Standards 10⁵) 30 Minuten bei Raumtemperatur (~+25 °C). Jedes Röhrchen reicht aus für die Vorbereitung von 2 Reaktionen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
2. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
3. Die Racks 1, 2 und 3 aus der „Kühleinheit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.
4. Den Laufmodus wählen: „PCR Only“ (Nur PCR).
5. Die Kalibratorröhrchen in Rack 3 laden.
6. Das zu verwendende Assay-Protokoll der Spalte „Assay“ auswählen (HCV ELITE_Be_STD). Auf die Schaltfläche „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
7. Das **komplette Reaktionsgemisch** in Rack 2 laden.
8. Das Rack 2 in die „Kühleinheit“ einsetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
9. Die Spitzenständer in den Bestandsbereich („Inventory Area“) laden und kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
10. Den Korb mit der PCR-Kassette in den Bestandsbereich laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
11. Die Gerätetür schließen.
12. Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

HCV ELITE MGB® Kit

Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

Nach Beendigung des Laufs ermöglicht **ELITE BeGenius** es dem Benutzer, die Ergebnisse anzuzeigen, zu genehmigen und zu speichern und den Bericht auszudrucken und zu speichern.

Hinweis: Am Ende des Laufs können die übrigen Kalibratoren aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und bei -20 °C gelagert werden. Ein Verschütten der Q-PCR Standards vermeiden.

Hinweis: Die **HCV Q-PCR Standards** können für 2 unabhängige Arbeitsläufe von jeweils 2 Stunden verwendet werden.

Hinweis: Am Ende des Laufs muss die PCR-Kassette („PCR Cassette“) mit den Reaktionsprodukten aus dem Gerät entfernt und ohne Kontamination der Umwelt entsorgt werden. Ein Verschütten der Reaktionsprodukte vermeiden.

Hinweis: Das **komplette Reaktionsgemisch** kann bis zu 2 Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden sowie für die zum Starten eines dritten Arbeitslaufs nötige Zeit (insgesamt 7 Stunden) im gekühlten Block des Geräts verbleiben. Vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

D. Lauf für die Positive Control und Negative Control

Gehen Sie zur Einrichtung des Amplifikationslaufs mit der Positive Control und Negative Control wie folgt vor und befolgen Sie die nachstehenden Anweisungen gemäß der grafischen Benutzeroberfläche:

1. **HCV Positive Control**-Röhrchen für den Lauf 30 Minuten bei Raumtemperatur (~+25 °C) auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für die Vorbereitung von 4 Reaktionen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
2. Für die Läufe mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie (wie Negative Control) in ein Elutionsröhrchen (im Lieferumfang des ELITE InGenius SP Consumable Set enthalten) überführen.
3. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
4. Die Racks 1, 2 und 3 aus der „Kühleinheit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.
5. Den Laufmodus wählen: „PCR Only“ (Nur PCR).
6. Die Röhrchen für die Positive und Negative Control in Rack 3 laden.
7. Das zu verwendende Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ auswählen (HCV ELITE_Be_PC und HCV ELITE_Be_NC). Auf die Schaltfläche „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
8. Das **komplette Reaktionsgemisch** in Rack 2 laden.
9. Das Rack 2 in die „Kühleinheit“ einsetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
10. Die Spitzenständer in den Bestandsbereich („Inventory Area“) laden und kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
11. Den Korb mit der PCR-Kassette in den Bestandsbereich laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
12. Die Gerätetür schließen.
13. Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

Nach Beendigung des Laufs ermöglicht **ELITE BeGenius** es dem Benutzer, die Ergebnisse anzuzeigen, zu genehmigen und zu speichern und den Bericht auszudrucken und zu speichern.

Hinweis: Am Ende des Laufs kann die übrige Positive Control aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und bei -20 °C gelagert werden. Ein Verschütten der Positive Control vermeiden. Die übrige Negative Control muss entsorgt werden.

Hinweis: Die **HCV-Positivkontrolle** kann für 4 unabhängige Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden verwendet werden.

HCV ELiTe MGB® Kit
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

Hinweis: Am Ende des Laufs müssen die PCR-Kassetten („PCR Cassettes“) mit den Reaktionsprodukten aus dem Gerät entfernt und ohne Kontamination der Umwelt entsorgt werden. Ein Verschütten der Reaktionsprodukte vermeiden.

Hinweis: Das **komplette Reaktionsgemisch** kann bis zu 2 Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden sowie für die zum Starten eines dritten Arbeitslaufs nötige Zeit (insgesamt 7 Stunden) im gekühlten Block des Geräts verbleiben. Vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

ELiTe BeGenius überwacht die Fluoreszenzsignale der Zielsequenz und der internen Kontrolle für jede Reaktion und wendet die Assay-Protokoll-Parameter automatisch an, um PCR-Kurven zu erstellen, anhand derer anschließend die Ergebnisse interpretiert werden.

Am Ende des Laufs wird der Bildschirm „Results Display“ (Ergebnisanzeige) automatisch angezeigt. Auf diesem Bildschirm werden die Proben-/Kalibrator-/Kontrollergenergebnisse sowie die Informationen zum Lauf angezeigt. Über diesen Bildschirm kann das Ergebnis genehmigt und können die Berichte („Sample Report“ (Probenbericht) oder „Track Report“ (Spurbericht)) ausgedruckt oder gespeichert werden. Weitere Informationen finden Sie im Benutzerhandbuch des Geräts.

Das **ELiTe BeGenius** System generiert Ergebnisse mithilfe des HCV ELiTe MGB Kit und geht dabei folgendermaßen vor:

- A. Validierung der Kalibrationskurve,
- B. Validierung der Ergebnisse des Amplifikationslaufs für die Positive Control und die Negative Control,
- C. Validierung der Probenergebnisse,
- D. Ausgabe des Probenergebnisberichts.

Hinweis: Einzelheiten sind den entsprechenden Kapiteln des **ELiTe InGenius** Handbuchs zu entnehmen.

**LEISTUNGSMERKMALE BEI
ELiTe InGenius und ELiTe BeGenius**

Nachweisgrenze (LoD)

Die Nachweisgrenze (LoD) des HCV ELiTe MGB Kit wurde in Kombination mit Plasmaproben und dem ELiTe InGenius System definiert.

Die LoD wurde durch Testen einer Reihe von in ACD entnommenen, HCV-negativen Plasmaproben, die mit zertifiziertem HCV-Referenzmaterial (6th WHO International Standard, NIBSC) mit bekanntem Titer dotiert waren, definiert. Es wurden sechs Verdünnungsstufen von 100 IU/ml bis 6 IU/ml zubereitet. Jede Verdünnungsstufe wurde in 24 Wiederholungen mit dem ELiTe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet. Die LoD wurde mittels Probit-Regressionsanalyse der Daten als die Konzentration geschätzt, bei der eine 95%ige Wahrscheinlichkeit eines positiven Ergebnisses vorliegt. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Nachweisgrenze (IU/ml) bei in ACD entnommenen Plasmaproben und ELiTe InGenius			
Ziel	LoD	95 % Konfidenzintervall	
		Untergrenze	Obergrenze
HCV	26	19	48

Die Nachweisgrenze in Kopien/ml bei in ACD entnommenem Plasma wurde unter Anwendung des spezifischen Umrechnungsfaktors (2,4 IU/Kopie) berechnet. Die analytische Sensitivität als Kopien/ml ist nachfolgend angegeben.

Nachweisgrenze (Kopien/ml) bei in ACD entnommenen Plasmaproben und ELiTe InGenius			
Ziel	LoD	95 % Konfidenzintervall	
		Untergrenze	Obergrenze
HCV	11	8	20

HCV ELiTe MGB® Kit
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

Der berechnete LoD-Wert wurde durch Testen von 30 Replikaten von in ACD entnommenem Plasma, 30 Replikaten von in EDTA entnommenem Plasma und 30 Replikaten von Serum, die mit zertifiziertem HCV-Referenzmaterial (6th WHO International Standard, NIBSC) in den behaupteten Konzentrationen dotiert waren, verifiziert. Die LoD wird bestätigt, wenn mindestens 27 von 30 Replikaten gemäß CLSI-Standard EP17-A ein positives Ergebnis haben.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Überprüfung der Nachweisgrenze bei Plasma und Serum und ELiTe InGenius					
Probe	Titer	Ziel	Anzahl	Positiv	Negativ
In ACD entnommenes Plasma	26 IU/ml	HCV	30	29	1
In EDTA entnommenes Plasma	26 IU/ml	HCV	30	27	3
Serum	26 IU/ml	HCV	30	27	3

Der LoD-Wert der HCV-Zielsequenz wurde für in ACD entnommenes Plasma, für in EDTA entnommenes Plasma und für Serum bei 26 IU/ml bestätigt.

Der berechnete LoD-Wert wurde mit **ELiTe BeGenius** durch Testen von 30 Replikaten von in ACD entnommenem Plasma, 30 Replikaten von in EDTA entnommenem Plasma und 30 Replikaten von Serum, die mit zertifiziertem HCV-Referenzmaterial (6th WHO International Standard, NIBSC) in den behaupteten Konzentrationen dotiert waren, verifiziert. Die LoD wird bestätigt, wenn mindestens 27 von 30 Replikaten gemäß K. Linnet et al. 2004. ein positives Ergebnis haben.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Überprüfung der Nachweisgrenze bei Plasma, Serum und ELiTe BeGenius					
Probe	Titer	Ziel	Anzahl	Positiv	Negativ
In EDTA entnommenes Plasma	26 IU/ml	HCV	30	30	0
In ACD entnommenes Plasma	26 IU/ml	HCV	30	27	3
Serum	26 IU/ml	HCV	30	27	3

Der LoD-Wert der HCV-Zielsequenz wurde für in ACD entnommenes Plasma, für in EDTA entnommenes Plasma und für Serum bei 26 IU/ml bestätigt.

Matrixäquivalenz: EDTA-Plasma vs. ACD-Plasma und Serum

Die Gleichwertigkeit der Leistungen des HCV ELiTe MGB Kit wurde anhand von in ACD entnommenen Plasmaproben, in EDTA entnommenen Plasmaproben und Serumproben mit dem ELiTe InGenius System verifiziert.

Es wurden 30 in EDTA entnommene Plasmaproben und 30 in ACD entnommene Plasmaproben von denselben 30 Spendern (gepaarte Proben), die in einem CE/IVD-gekennzeichneten Immunassay negativ auf HCV getestet worden waren, getestet. Die Proben wurden mit dem ELiTe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet. Die negative prozentuale Übereinstimmung wurde bewertet. Der Variationskoeffizient (VK %) von Ct-Werten der internen Kontrolle wurde berechnet, um die Übereinstimmung der beiden Matrices zu bewerten.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Probe	Anzahl	Positiv	Negativ	Negative prozentuale Übereinstimmung	IC Ct VK %	Gesamt-IC Ct VK %
In EDTA entnommenes Plasma	30	0	30	100 %	0,89	0,95
In ACD entnommenes Plasma	30	0	30		1,02	

HCV ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

Der gleiche Test wurde mit 30 in EDTA entnommenen Plasmaproben und 30 Serumproben von denselben 30 Spendern (gepaarte Proben), die in einem CE/IVD-gekennzeichneten Immunassay negativ auf HCV getestet worden waren, durchgeführt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Probe	Anzahl	Positiv	Negativ	Negative prozentuale Übereinstimmung	IC Ct VK %	Gesamt-IC Ct VK %
In EDTA entnommenes Plasma	30	0	30	100 %	0,90	1,11
Serum	30	0	30		1,28	

Es wurden 30 in EDTA entnommene Plasmaproben und 30 in ACD entnommene Plasmaproben von denselben 30 Spendern (gepaarte Proben), die in einem CE-gekennzeichneten IVD-Immunassay negativ auf HCV getestet und in einer Konzentration von 3 x LoD (zirka 78 IU/ml) mit zertifiziertem Referenzmaterial (6th WHO HCV International Standard, NIBSC) dotiert worden waren, getestet. Die Proben wurden mit dem ELITe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet. Die positive prozentuale Übereinstimmung wurde bewertet. Der Variationskoeffizient (VK %) von Ct-Werten der HCV-Zielsequenz wurde berechnet, um die Übereinstimmung der beiden Matrizes zu bewerten.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Probe	Anzahl	Positiv	Negativ	Positive Übereinstimmung in %	HCV Ct VK %	Gesamt-HCV Ct VK %	Messabweichung (log IU/ml)
In EDTA entnommenes Plasma	30	30	0	100 %	1,96	1,79	0,0190
In ACD entnommenes Plasma	30	30	0		1,60		

Der gleiche Test wurde mit 30 in EDTA entnommenen Plasmaproben und 30 Serumproben von denselben 30 Spendern (gepaarte Proben), die in einem CE-gekennzeichneten IVD-Immunassay negativ auf HCV getestet und in einer Konzentration von 3 x LoD (zirka 78 IU/ml) mit zertifiziertem Referenzmaterial (6th WHO HCV International Standard, NIBSC) dotiert worden waren, durchgeführt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Probe	Anzahl	Positiv	Negativ	Positive Übereinstimmung in %	HCV Ct VK %	Gesamt-HCV Ct VK %	Messabweichung (log IU/ml)
In EDTA entnommenes Plasma	30	30	0	100 %	1,84	1,81	0,0636
Serum	30	30	0		1,77		

In diesen Tests wiesen die 30 gepaarten, in EDTA entnommenen Plasmaproben und in ACD entnommenen Plasmaproben sowie die 30 gepaarten, in EDTA entnommenen Plasmaproben und Serumproben bei der Analyse mit dem HCV ELITe MGB Kit in Kombination mit dem ELITe InGenius System gleichwertige Leistungen auf.

Weitere Tests zur Gleichwertigkeit der Matrizes wurden bei der Untersuchung des linearen Messbereichs durchgeführt.

Linearer Messbereich

Der lineare Messbereich des HCV ELITe MGB Kit wurde in Kombination mit Plasmaproben und dem ELITe InGenius System bestimmt.

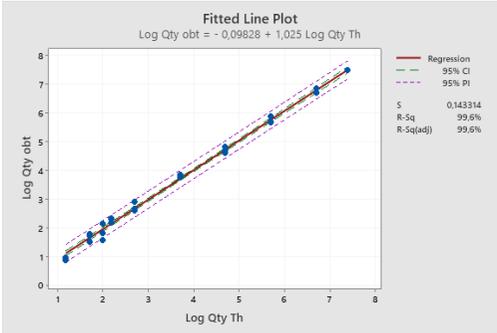
Der lineare Messbereich wurde mithilfe einer Reihe von HCV-Referenzmaterialien (AcroMatrix™ HCV-S Panel) mit bekanntem Titer in in EDTA entnommenem Plasma bestimmt. Die Reihe bestand aus zehn Verdünnungspunkten von 2,5x10⁷ IU/ml bis 1,5x10¹ IU/ml. Jede Probe der Reihe wurde in 3 Wiederholungen mit dem **ELITe InGenius** System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet.

HCV ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

Die Analyse der erhaltenen Daten mittels polynomieller Regression und linearer Regression ergab, dass der Assay bei allen Verdünnungen eine lineare Reaktion mit einem Quadrat des Korrelationskoeffizienten (R²) von 0,996 aufweist.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung aufgeführt.



Die untere Quantifizierungsgrenze (LLOQ) wurde festgesetzt auf die LoD-Konzentration, bei der präzise (Standardabweichung = 0,2787 log IU/ml) und genaue (systematische Messabweichung = 0,3641 log IU/ml) quantitative Ergebnisse innerhalb von ±0,5 log IU/ml: 26 IU/ml.

Die obere Quantifizierungsgrenze (ULOQ) wurde festgesetzt auf die höchste Konzentration, bei der präzise (Standardabweichung = 0,0089 log IU/ml) und genaue (systematische Messabweichung = 0,0794 log IU/ml) quantitative Ergebnisse innerhalb von ±0,5 log IU/ml: 25.000.001 IU/ml.

Der lineare Messbereich als Kopie/ml für EDTA-Plasma wird unter Anwendung des spezifischen Umrechnungsfaktors (2,4 IU/Kopie) berechnet.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Linearer Messbereich für Plasmaproben und ELITe InGenius	
Untere Grenze	Obere Grenze
26 IU/ml	25.000.001 IU/ml
11 Kopien/ml	10.416.667 Kopien/ml

Hinweis: Die Produktleistungen in Verbindung mit Plasma-EDTA, Plasma-ACD und Serum wurden als gleichwertig nachgewiesen.

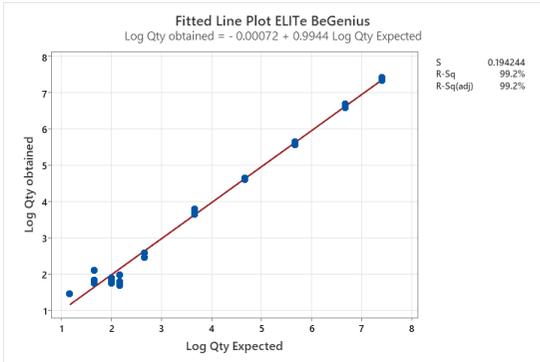
Der lineare Messbereich des HCV ELITe MGB Kit wurde zusammen mit Plasmaproben und dem System **ELITe BeGenius** mithilfe einer Reihe von Verdünnungen von HCV (AcroMatrix™ HCV-S Panel AcroMatrix) in HCV-negativen, in ACD entnommenen Plasmaproben bestimmt. Die Reihe bestand aus zehn Verdünnungspunkten von zirka 2,5x10⁷ IU/ml bis 15 IU/ml. Jede Probe der Reihe wurde in 3 Wiederholungen mit dem **ELITe BeGenius** System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet.

Die Analyse der erhaltenen Daten mittels polynomieller Regression und linearer Regression ergab, dass der Assay bei allen Verdünnungen eine lineare Reaktion mit einem Quadrat des Korrelationskoeffizienten (R²) von 0,992 aufweist.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung aufgeführt.

HCV ELite MGB® Kit
 Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING



Die untere Quantifizierungsgrenze (LLOQ) wurde festgesetzt auf die LoD-Konzentration, bei der präzise (Standardabweichung = 0,3762 log IU/ml) und genaue (systematische Messabweichung = 0,3583 log IU/ml) quantitative Ergebnisse innerhalb von ±0,5 log IU/ml: 26 IU/ml.

Die obere Quantifizierungsgrenze (ULOQ) wurde festgesetzt auf die höchste Konzentration, bei der präzise (Standardabweichung = 0,0405 log IU/ml) und genaue (systematische Messabweichung = 0,0064 log IU/ml) quantitative Ergebnisse innerhalb von ±0,5 log IU/ml: 2,5x10⁷ IU/ml.

Der lineare Messbereich als Kopie/ml für ACD-Plasma wird unter Anwendung des spezifischen Umrechnungsfaktors (2,4 IU/Kopie) berechnet.

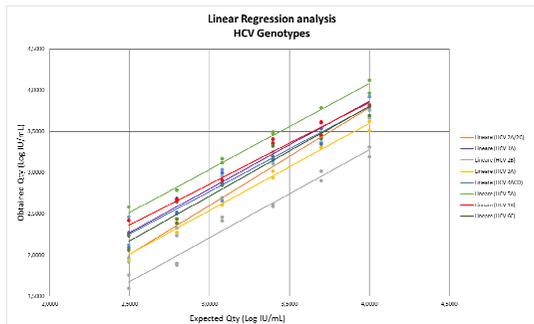
Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Linearen Messbereich für Plasmaproben und ELITE BeGenius	
Untere Grenze	Obere Grenze
26 IU/ml	25.000.001 IU/ml
11 Kopien/ml	10.416.667 Kopien/ml

Hinweis: Die Produktleistungen in Verbindung mit Plasma-EDTA, Plasma-ACD und Serum wurden als gleichwertig nachgewiesen.

Die Linearität der Quantifizierung wurde mittels Analyse von in EDTA entnommenem negativem Plasma verifiziert, das mit HCV-Referenzmaterial (SeraCare) für die wichtigsten HCV-Genotypen (1, 2, 3, 4, 5, 6) dotiert worden war. Jeder HCV-Genotyp wurde in einer Reihe von 6 Verdünnungsstufen getestet. Jede Verdünnungsstufe wurde in 2 Wiederholungen mit dem ELITE InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung aufgeführt.



Die Linearität des Assays wurde für die wichtigsten HCV-Genotypen (1, 2, 3, 4, 5, 6) bestätigt: Dabei lagen der R²-Wert im Bereich zwischen 0,950 und 0,992 und die quantitativen Ergebnisse innerhalb von

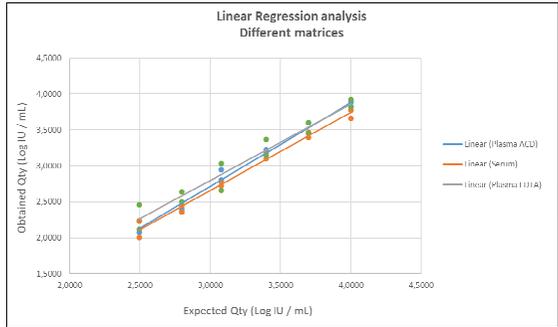
HCV ELite MGB® Kit
 Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

±0,5 log IU/ml mit Ausnahme des HCV-Genotyps 2b, der im Vergleich zum theoretischen Wert um zirka 0,8 log IU/ml zu niedrig angesetzt war. Diese Probe wurde jedoch auch von „cobas® HCV for use on the 6800 Systems“ (Roche Diagnostics) unterschätzt.

Die Linearität der Quantifizierung wurde mittels Analyse von in ACD entnommenem negativem Plasma und Serum, das mit HCV-Referenzmaterial (WHO-Standard, NIBSC) dotiert war, verifiziert. Jede Matrix wurde in einer Reihe von 6 Verdünnungsstufen getestet. Jede Verdünnungsstufe wurde in 2 Wiederholungen mit dem ELITE InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet. Als Referenz wurden entsprechende Testergebnisse mit in EDTA entnommenem Plasma angegeben.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung aufgeführt.



Die Linearität des Assays wurde für in ACD entnommenes Plasma und Serum bestätigt; dabei lagen der R²-Wert bei 0,9838 bzw. 0,9870 und die quantitativen Ergebnisse innerhalb von ±0,5 log IU/ml.

Inklusivität: Nachweis- und Quantifizierungseffizienz bei verschiedenen Genotypen

Die Nachweiseffizienz für verschiedene Genotypen von HCV wurde mittels *In-Silico*-Vergleich der in den Nukleotid-Datenbanken verfügbaren Sequenzen bewertet.

Die Analyse der für die Hybridisierung der Primer und der Sonde ausgewählten Regionen in der Anordnung der in der Datenbank verfügbaren Sequenzen der HCV 5'-UTR-Region ergab eine Sequenzkonservierung und ein Nichtvorhandensein von signifikanten Nichtübereinstimmungen bei den HCV-Genotypen (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 und 8). Daher sind eine effiziente Amplifikation und ein effizienter Nachweis bei allen HCV-Genotypen zu erwarten.

Die Inklusivität des Assays als die Nachweis- und Quantifizierungseffizienz bei verschiedenen Genotypen wurde durch Testen von drei Referenzmaterial-Reihen verifiziert:

- „AccuTrak HCV RNA Genotype Performance Panel“ (Seracare), eine Validierungsreihe mit 8 Elementen unterschiedlicher Zusammenstellung der HCV-Genotypen 1, 2, 3, 4, 5 und 6.
- „HCV Genotype Evaluation Panel 01“ (Qnostics).
- „Non WHO Reference Material 4th HCV RNA Genotype Panel for Nucleic Acid Amplification Techniques“ (NIBSC).

Jede Probe der Reihe wurde auf eine Konzentration von 3 x LoD (zirka 78 IU/ml) in negativen, in ACD entnommenen Plasmaproben verdünnt und mit dem System ELITE InGenius im Modus „Extraction + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

AccuTrak HCV RNA Genotype Performance Panel				
Genotyp	Theoretischer Wert IU/ml	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	Mittelwert IU/ml
HCV 1A	78	3/3	37,16	74
HCV 1B	78	3/3	37,74	48
HCV 2A/2C	78	3/3	37,64	56
HCV 2B	78	3/3	38,14	36
HCV 3A	78	3/3	39,70	14
HCV 4ACD	78	3/3	38,18	38
HCV 5A	78	3/3	37,20	67
HCV 6C	78	3/3	38,07	39

HCV ELiTe MGB® Kit

Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

HCV Genotype Evaluation Panel				
Genotyp	Theoretischer Wert IU/ml	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	Mittelwert IU/ml
HCV 1a	78	3/3	36,22	133
HCV 1b	78	3/3	34,11	615
HCV 2b	78	3/3	38,24	33
HCV 3a	78	3/3	35,46	225
HCV 4a	78	3/3	36,09	144
HCV 5a	78	3/3	37,22	69
HCV 6a	78	3/3	37,56	56

Non WHO Reference Material 4th HCV RNA Genotype Panel				
Genotyp	Theoretischer Wert IU/ml	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	Mittelwert IU/ml
HCV 1a	78	3/3	38,27	40
HCV 1b	78	3/3	37,12	160
HCV 2i	78	3/3	38,01	71
HCV 3a	78	3/3	39,49	19
HCV 4r	78	3/3	40,08	18
HCV 5a	78	3/3	38,92	39
HCV 6i	78	2/3	38,24	8

Alle Proben der drei Reihen wurden richtig erkannt. Beim „Non WHO Reference Material 4th HCV RNA Genotype Panel“ (NIBSC) wurde eines von drei Replikaten des HCV-Genotyps 6i nicht erkannt. Die meisten Proben wurden zudem mit dem HCV ELiTe MGB® Kit zusammen mit dem ELiTe InGenius Gerät innerhalb des theoretischen Titers von $\pm 0,5 \log$ IU/ml (25–247 IU/ml) quantifiziert. Beim „Non WHO Reference Material 4th HCV RNA Genotype Panel“ (NIBSC) wurde der HCV-Genotyp 6i ebenfalls unterschätzt. Dieser Genotyp wurde jedoch in den anderen zwei Reihen korrekt erkannt und quantifiziert.

Potenziell interferierende Marker: Kreuzreaktivität

Die potenzielle Kreuzreaktivität mit anderen Organismen, die in klinischen Plasma- und Serumproben zu finden sind, wurde durch den *In-silico*-Vergleich von in den Nukleotid-Datenbanken vorhandenen Sequenzen bewertet.

Die für die Hybridisierung der Primer und der Sonde ausgewählten Regionen wurden bei der Anordnung der Sequenzen anderer in der Datenbank verfügbarer Organismen überprüft. Die Analyse der Hybridisierungsregionen ergab die Abwesenheit signifikanter Homologien mit den ungewollten Organismen.

Die Abwesenheit von Kreuzreaktivität mit anderen Organismen, die in klinischen Plasma- und Serumproben zu finden sind, wurde ebenfalls durch das Testen einer Reihe zertifizierter Referenzmaterialien verifiziert.

Proben von genomischer DNA oder RNA von verschiedenen potenziell interferierenden Markern (ATCC, NIBSC, ZeptoMetrix) wurden mit dem ELiTe InGenius System im Modus „PCR Only“ (nur PCR) in hoher Konzentration (mindestens 10^5 Kopien/Reaktion) in drei Wiederholungen analysiert. Zur Nachahmung der extrahierten klinischen Proben wurden die genomischen DNAs oder RNAs der einzelnen Organismen mit 80.000 Kopien der internen Kontrolle pro Reaktion ergänzt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

HCV ELiTe MGB® Kit

Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

Proben-ID	HCV Pos. / Wiederh.	Ergebnis
HIV1	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HIV2	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HTLV1	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HTLV2	0/3	Keine Kreuzreaktivität
CMV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
EBV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HAV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HBV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HEV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HSV1	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HSV2	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HHV6	0/3	Keine Kreuzreaktivität
VZV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Influenza A	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Influenza B	0/3	Keine Kreuzreaktivität
RSV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
ADV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
WNV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
DV3	0/3	Keine Kreuzreaktivität
EV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
PVB19	0/3	Keine Kreuzreaktivität
<i>Staphylococcus aureus</i>	0/3	Keine Kreuzreaktivität
<i>Candida albicans</i>	0/3	Keine Kreuzreaktivität

Alle getesteten potenziell interferierenden Marker wiesen für die HCV-Zielsequenz beim Test mit dem HCV ELiTe MGB® Kit keine Kreuzreaktivität auf.

Potenziell interferierende Marker: Interferenz

Die Abwesenheit von Interferenz durch andere Organismen, die in klinischen Plasmaproben zu finden sind, wurde durch das Testen einer Reihe zertifizierter Referenzmaterialien verifiziert.

Proben von genomischer DNA oder RNA von verschiedenen potenziell interferierenden Markern (ATCC, NIBSC, ZeptoMetrix) in hoher Konzentration (mindestens 10^5 Kopien/Reaktion) wurden mit HCV-RNA-Referenzmaterial (aus 6th WHO International Standard, NIBSC) bei niedriger Konzentration (etwa 10^4 Kopien/Reaktion) dotiert. Die Proben wurden in drei Wiederholungen mit dem ELiTe InGenius System im Modus „PCR Only“ (nur PCR) analysiert. Zur Nachahmung der extrahierten klinischen Proben wurde jede Probe mit 80.000 Kopien der internen Kontrolle pro Reaktion ergänzt. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Proben-ID	HCV Pos. / Wiederh.	Ergebnis
HIV1	3/3	Keine Interferenz
HIV2	3/3	Keine Interferenz
HTLV1	3/3	Keine Interferenz
HTLV2	3/3	Keine Interferenz
CMV	3/3	Keine Interferenz
EBV	3/3	Keine Interferenz
HAV	3/3	Keine Interferenz
HBV	3/3	Keine Interferenz
HEV	3/3	Keine Interferenz
HSV1	3/3	Keine Interferenz
HSV2	3/3	Keine Interferenz
HHV6	3/3	Keine Interferenz
VZV	3/3	Keine Interferenz
Influenza A	3/3	Keine Interferenz
Influenza B	3/3	Keine Interferenz

HCV ELITE MGB® Kit
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

Proben-ID	HCV Pos. / Wiederh.	Ergebnis
RSV	3/3	Keine Interferenz
ADV	3/3	Keine Interferenz
WNV	3/3	Keine Interferenz
DV3	3/3	Keine Interferenz
EV	3/3	Keine Interferenz
PVB19	3/3	Keine Interferenz
<i>Staphylococcus aureus</i>	3/3	Keine Interferenz
<i>Candida albicans</i>	3/3	Keine Interferenz

Bei Vorhandensein der getesteten potenziell interferierenden Organismen wurde für die HCV-Zielsequenz beim Test mit dem HCV ELITE MGB® Kit keine Hemmung der Amplifikation festgestellt.

Potenziell interferierende Substanzen

Die Wirkung potenziell störender Substanzen wurde durch Analyse des Panels „AcroMetrix® Inhibition Panel“ (Thermo Fisher Scientific Inc.) bewertet, das endogene, aus Hämolyse, Ikterus und Lipämie resultierende Substanzen und exogene Substanzen, EDTA und Heparin enthielt.

Die Proben des Inhibitionspanels wurden in einer Konzentration von 3 x LoD (zirka 78 IU/ml) mit zertifiziertem HCV-Referenzmaterial (6th WHO HCV International Standard, NIBSC) dotiert.

Darüber hinaus wurden 7 weitere potenziell interferierende Substanzen in relevanten Konzentrationen getestet: Ganciclovir, Azithromycin, Glecaprevir, Ribavirin, Sofosbuvir, Pibrentasvir, Velpatasvir.

Die Substanzen wurden einzeln zu in ACD entnommenem, HCV-negativem Plasma, das in einer Konzentration von 3 x LoD (zirka 78 IU/ml) mit zertifiziertem HCV-Referenzmaterial (NIBSC) dotiert war, hinzugefügt.

Die Proben wurden in drei Wiederholungen mit dem ELITE InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet. Die Ct-Werte (Referenz- und Testwerte) der HCV-Zielsequenz und der internen Kontrolle wurden zur Berechnung des prozentualen Variationskoeffizienten (VK %) herangezogen, um die mögliche Interferenz zu bewerten.

Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen aufgeführt.

Probe	HCV Pos. / Wiederh.	HCV Ct VK %	IC Ct VK %	Ergebnis
Bilirubin	3/3	1,12	0,91	Keine Interferenz
Triglyzeride	3/3	2,20	0,83	Keine Interferenz
Hämoglobin	1/3	-	10,80	Interferenz
Heparin	0/3	-	7,68	Interferenz
EDTA	3/3	1,36	1,28	Keine Interferenz
Ganciclovir	3/3	1,94	0,94	Keine Interferenz
Azithromycin	3/3	2,22	1,69	Keine Interferenz
Sofosbuvir	3/3	2,03	0,93	Keine Interferenz
Pibrentasvir	3/3	2,81	0,92	Keine Interferenz
Glecaprevir	3/3	2,00	1,09	Keine Interferenz
Ribavirin	3/3	1,72	1,03	Keine Interferenz
Velpatasvir	3/3	2,01	0,84	Keine Interferenz
Referenz	3/3	1,12	0,91	Keine Interferenz

Die meisten getesteten Substanzen interferieren nicht mit der Amplifikation von HCV oder der internen Kontrolle. Die prozentualen Variationskoeffizienten (VK %) der Ct-Werte lagen unter 2,5 %.

Es wurde zwar bestätigt, dass Heparin und Hämoglobin in hohen Konzentrationen (3,4–4,6 g/dl) die Amplifikation von HCV hemmen, doch aufgrund des Ct-Grenzwerts der Internal Control (IC-Ct < 31) fallen die Proben in den meisten Fällen „ungültig“ und nicht „falsch-negativ“ aus.

HCV ELITE MGB® Kit
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

Nichtvorhandensein von Kreuzkontamination

Das Nichtvorhandensein von Kreuzkontamination wurde durch Analyse der Ergebnisse aus fünf Läufen, in denen HCV-RNA-negative Plasmaproben abwechselnd mit Plasmaproben, die in einer Konzentration von 1x10⁶ IU/ml mit zertifiziertem HCV-Referenzmaterial (ZeptoMetrix) dotiert waren, untersucht wurden, getestet.

Es wurden fünf Reihen von Proben mit dem ELITE InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet, wobei sich jeweils sechs positive Proben mit sechs negativen Probe abwechselten.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Proben	Anzahl	Negativ	Positiv
Positiv	30	0	30
Negativ	30	30	0

Bei keiner der getesteten HCV-negativen Proben wurden falsch-positive Ergebnisse erhalten. Bei diesem Test wurde weder innerhalb des Laufs noch laufübergreifend eine Kreuzkontamination festgestellt.

Fehlerrate des Gesamtsystems

Die Fehlerrate des Gesamtsystems, die zu falsch-negativen Ergebnissen führen kann, wurde mit ELITE InGenius mittels Analyse einer Reihe von mit niedrigen Titer mit HCV-RNA dotierten Proben verifiziert.

Es wurden 100 verschiedene, in EDTA entnommene Plasmaproben, 30 verschiedene, in ACD entnommene Plasmaproben und 30 verschiedene Serumproben, die negativ auf HCV-RNA getestet worden waren, in einer Konzentration von 3 x LoD (zirka 78 IU/ml) mit zertifiziertem Referenzmaterial (WHO) dotiert. Die Proben wurden mit dem ELITE InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	Anzahl	Negativ	Positiv	Mittelwert HCV IU/ml
In EDTA entnommenes Plasma	100	0	100	55
In ACD entnommenes Plasma	30	0	30	62
Serum	30	0	30	52

Bei keiner der getesteten HCV-positiven Proben wurden falsch-negative Ergebnisse erhalten. Bei diesem Test lag die Fehlerrate des Gesamtsystems bei 0 %.

Die Fehlerrate des Gesamtsystems, die zu falsch-negativen Ergebnissen führen kann, wurde mit ELITE BeGenius mittels Analyse einer Reihe von mit niedrigen Titer mit HCV-RNA dotierten Proben verifiziert.

Es wurden 100 verschiedene, in EDTA entnommene Plasmaproben, die negativ auf HCV-RNA getestet worden waren, in einer Konzentration von 3 x LoD (zirka 78 IU/ml) mit zertifiziertem Referenzmaterial (WHO) dotiert. Die Proben wurden mit dem ELITE BeGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	Anzahl	Negativ	Positiv	Mittelwert HCV IU/ml
In EDTA entnommenes, HCV-dotiertes Plasma	100	0	100	77

Bei keiner der getesteten HCV-positiven Proben wurden falsch-negative Ergebnisse erhalten. Bei diesem Test lag die Fehlerrate des Gesamtsystems bei 0 %.

Wiederholpräzision

Die Wiederholpräzision der mit dem Produkt HCV ELITE MGB Kit in Kombination mit dem ELITE InGenius System erhaltenen Ergebnisse wurde durch Analyse einer Reihe von Plasmaproben getestet. Die Reihe umfasste eine negative Probe und zwei Proben, die in Konzentrationen von 3 x LoD (zirka 78 IU/ml) und von 10 x LoD (zirka 260 IU/ml) mit zertifiziertem HCV-Referenzmaterial (WHO) dotiert waren.

HCV ELiTe MGB® Kit
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

Die Wiederholpräzision wurde an zwei verschiedenen Tagen mittels Analyse von Panel-Proben in vier Wiederholungen, in zwei Läufen pro Tag und mit derselben Produktcharge bestimmt. Drei Produktchargen wurden auf ein und demselben Gerät durch ein und denselben Bediener verwendet. Die Proben wurden an zufälligen Positionen auf dem ELiTe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet.

Die Ct-Werte der Zielsequenz und der Internal Control wurden zur Berechnung des VK % herangezogen, um die Wiederholpräzision als Ungenauigkeit zu bewerten.

Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabellen zusammengefasst.

Wiederholpräzision innerhalb des Laufs								
Probe	HCV				Internal Control			
	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	0/8	Unbestimmt	-	-	24/24	28,41	0,36	1,27
3 x LoD	8/8	38,02	0,83	2,19				
10 x LoD	8/8	35,91	0,59	1,65				

Laufübergreifende Wiederholpräzision								
Probe	HCV				Internal Control			
	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	0/16	Unbestimmt	-	-	48/48	28,47	0,38	1,33
3 x LoD	16/16	37,89	0,84	2,21				
10 x LoD	16/16	35,95	0,47	1,32				

Chargenübergreifende Wiederholpräzision								
Probe	HCV				Internal Control			
	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	0/48	Unbestimmt	-	-	144/144	28,52	0,46	1,61
3 x LoD	48/48	38,25	0,36	0,95				
10 x LoD	48/48	36,56	0,55	1,51				

Beim Test der Wiederholpräzision erkannte der Assay die HCV-Zielsequenz wie erwartet und wies niedrige VK % der Ct-Werte aus, die 2,19 % bei HCV und 1,61 % bei der internen Kontrolle nicht überstiegen.

Die Wiederholpräzision der mit dem Produkt HCV ELiTe MGB Kit in Kombination mit dem **ELiTe BeGenius** System erhaltenen Ergebnisse wurde durch Analyse einer Reihe von Plasmaproben getestet. Die Reihe umfasste eine negative Probe und zwei Proben, die in Konzentrationen von 3 x LoD (zirka 78 IU/ml) und von 10 x LoD (zirka 260 IU/ml) mit zertifiziertem HCV-Referenzmaterial (6th WHO International Standard, NIBSC) dotiert waren.

Die Wiederholpräzision wurde an zwei verschiedenen Tagen mittels Analyse von Panel-Proben in vier Wiederholungen, in zwei Läufen pro Tag und mit derselben Produktcharge bestimmt. Drei Produktchargen wurden auf ein und demselben Gerät durch ein und denselben Bediener verwendet. Die Proben wurden an zufälligen Positionen auf dem ELiTe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet.

Die Ct-Werte der Zielsequenz und der Internal Control wurden zur Berechnung des VK % herangezogen, um die Wiederholpräzision als Ungenauigkeit zu bewerten.

Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabellen zusammengefasst.

Wiederholpräzision innerhalb des Laufs								
Probe	HCV				Internal Control			
	Pos./Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Pos./Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	0/8	Unbestimmt	-	-	24/24	28,09	0,28	0,99
3 x LoD	8/8	37,65	0,50	1,33				
10 x LoD	8/8	35,97	0,43	1,19				

HCV ELiTe MGB® Kit
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

Laufübergreifende Wiederholpräzision								
Probe	HCV				Internal Control			
	Pos./Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Pos./Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	0/16	Unbestimmt	-	-	48/48	28,05	0,29	1,03
3 x LoD	16/16	37,80	0,72	1,91				
10 x LoD	16/16	35,93	0,47	1,30				

Beim Test der Wiederholpräzision erkannte der Assay die HCV-Zielsequenz wie erwartet und wies Ct-Werte mit einem VK % unter 5 % bei HCV und der Internal Control aus.

Vergleichspräzision

Die Vergleichspräzision der mit dem Produkt HCV ELiTe MGB Kit in Kombination mit dem ELiTe InGenius System erhaltenen Ergebnisse wurde durch Analyse einer Reihe von Plasmaproben getestet. Die Reihe umfasste eine negative Probe und zwei Proben, die in Konzentrationen von 3 x LoD (zirka 78 IU/ml) und von 10 x LoD (zirka 260 IU/ml) mit zertifiziertem HCV-Referenzmaterial (WHO) dotiert waren.

Die Vergleichspräzision wurde an zwei Tagen pro Standort mittels Analyse von Panel-Proben in vier Wiederholungen in einem Lauf pro Tag bestimmt. Drei verschiedene Produktchargen wurden an drei verschiedenen Standorten auf drei verschiedenen Geräten durch drei Bediener verwendet. Die Proben wurden an zufälligen Positionen auf dem ELiTe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet.

Die Ct-Werte der Zielsequenz und der Internal Control wurden zur Berechnung des VK % herangezogen, um die Vergleichspräzision als Ungenauigkeit zu bewerten.

Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabelle zusammengefasst.

Standortübergreifende Vergleichspräzision								
Probe	HCV				Internal Control			
	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	0/24	Unbestimmt	-	-	72/72	28,18	0,59	2,09
3 x LoD	24/24	36,84	0,59	1,60				
10 x LoD	24/24	34,94	0,42	1,20				

Beim Test der Vergleichspräzision erkannte der Assay die HCV-Zielsequenz wie erwartet und wies niedrige VK % der Ct-Werte aus, die 1,6 % bei HCV und 2,09 % bei der internen Kontrolle nicht überstiegen.

Die Vergleichspräzision der mit dem Produkt HCV ELiTe MGB Kit in Kombination mit dem **ELiTe BeGenius** System erhaltenen Ergebnisse wurde durch Analyse einer Reihe von Plasmaproben getestet. Die Reihe umfasste eine negative Probe und zwei Proben, die in Konzentrationen von 3 x LoD (zirka 78 IU/ml) und von 10 x LoD (zirka 260 IU/ml) mit zertifiziertem HCV-Referenzmaterial (6th WHO International Standard, NIBSC) dotiert waren.

Die Vergleichspräzision wurde an zwei Tagen pro Gerät mittels Analyse von Panel-Proben in vier Wiederholungen in einem Lauf pro Tag bestimmt. Drei verschiedene Produktchargen wurden auf drei verschiedenen Geräten durch drei verschiedene Bediener verwendet. Die Proben wurden an zufälligen Positionen auf dem ELiTe BeGenius® System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet.

Die Ct-Werte der Zielsequenz und der Internal Control wurden zur Berechnung des VK % herangezogen, um die Vergleichspräzision als Ungenauigkeit zu bewerten.

Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabelle zusammengefasst.

Geräteübergreifende Vergleichspräzision								
Probe	HCV				Internal Control			
	Pos./Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Pos./Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	0/24	Unbestimmt	-	-	72/72	28,57	0,5529	1,94
3 x LoD	23/23	37,99	0,6797	1,79				
10 x LoD	24/24	36,54	0,6210	1,70				

HCV ELiTe MGB® Kit
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

Chargenübergreifende Vergleichspräzision								
Probe	HCV				Internal Control			
	Pos./Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Pos./Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	0/24	Unbestimmt	-	-	72/72	28,43	0,41	1,45
3 x LoD	24/24	37,95	0,75	1,97				
10 x LoD	24/24	36,35	0,62	1,71				

Beim Test der Vergleichspräzision erkannte der Assay die HCV-Zielsequenz wie erwartet und wies Ct-Werte mit einem VK % unter 5 % bei HCV und der Internal Control aus.

Faktor für die Umrechnung in internationale Einheiten

Der Umrechnungsfaktor zum Ausdrücken der quantitativen Ergebnisse von Kopien/ml in internationale Einheiten (International Units, IU) / ml wurde mithilfe einer Reihe von vier Verdünnungen (0,5 log zwischen Verdünnungen) des zertifizierten kalibrierten Referenzmaterials „6th WHO HCV International Standard“ (NIBSC) in in EDTA entnommenem, negativ auf HCV-RNA getestetem Plasma berechnet.

Jeder Punkt der Reihe wurde in 27 Wiederholungen getestet, wobei drei verschiedene Produktchargen auf drei verschiedenen Geräten an drei verschiedenen Tagen verwendet wurden. Die Proben wurden an zufälligen Positionen auf dem ELiTe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet.

Der Umrechnungsfaktor wurde mittels Analyse des logarithmischen Konzentrationsunterschieds zwischen dem Referenztitel in IU/ml und den erhaltenen Ergebnissen in Kopien/ml berechnet und beträgt 2,4 IU/Kopie.

Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabelle zusammengefasst.

Umrechnungsfaktor in internationalen Einheiten, Fc = 2,4 IU/Kopie						
Probe			Ergebnis			Differenz von Log (Ref.-Test)
IU/ml	log IU/ml	Anzahl	Mittelwert K./ml	Mittelwert IU/ml	Mittelwert log IU/ml	
31623	4,5000	27	13233	31254	4,4807	+0,0193
10000	4,0000	27	4482	10595	4,0133	-0,0133
3162	3,5000	27	1414	3342	3,5091	-0,0091
1000	3,0000	27	439	1036	2,9969	+0,0031

Da die Gleichwertigkeit zwischen in EDTA entnommenem Plasma, in ACD entnommenem Plasma und Serum bewiesen wurde (siehe „Gleichwertigkeit der Matrices“ und „Linearer Messbereich“), kann der Umrechnungsfaktor auf die drei Matrices angewandt werden.

Der Umrechnungsfaktor zum Umrechnen der quantitativen Ergebnisse von Kopien/ml in internationale Einheiten (International Units, IU)/ml wurde mit **ELiTe BeGenius** und **ELiTe InGenius** mithilfe einer Reihe von Verdünnungen (0,5 log zwischen Verdünnungen) des zertifizierten kalibrierten Referenzmaterials (6th WHO International Standard, NIBSC) in negativ auf HCV-RNA getestetem Plasma, das in EDTA entnommen worden war, verifiziert. Die Reihe bestand aus fünf Verdünnungspunkten von zirka 4,5 log IU/ml bis 2,5 IU/ml. Jeder Punkt der Reihe wurde in 4 Wiederholungen getestet.

Die Präzision der Zielquantifizierung als Standardabweichung von log IU/ml lag unter 0,5 log.

Die Genauigkeit der Zielquantifizierung als Differenz zwischen der theoretischen und der gemessenen Konzentration in log IU/ml lag unter 0,5 log.

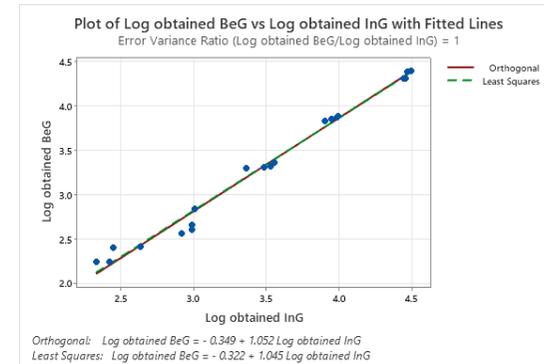
Diese Ergebnisse bestätigten den für Plasmaproben mit **ELiTe InGenius** berechneten Umrechnungsfaktor.

Zur Berechnung der Korrelation zwischen den Methoden wurden die mit **ELiTe InGenius** und **ELiTe BeGenius** erhaltenen Ergebnisse mittels orthogonaler und linearer Regression analysiert.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung zusammengefasst.

HCV ELiTe MGB® Kit
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING



Die orthogonale Regressionsanalyse ergab einen Achsenabschnitt von -0,3494 (95%-KI: -0,5546 bis 0,1442) und eine Steigung von 1,0523 (95%-KI: 0,9943 bis 1,1103). Die Analyse der linearen Regression ergab einen R²-Wert von 0,985.

Vergleichspräzision mit Referenzmaterial

Die Reproduzierbarkeit der Assayergebnisse, die verglichen wurden mit Ergebnissen, die mit anderen Methoden in verschiedenen Laboren erhalten wurden, wurde durch Analyse der Ringversuchsreihe „QCMD 2020 Hepatitis B Virus RNA EQA Programme“ (Qnostics) überprüft.

Jeder Punkt der Reihe wurde mit dem ELiTe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Mengenwerte des Konsensus handelsüblicher Systeme zur Echtzeit-Amplifikation wurden mit den Ergebnissen des Assays verglichen, um die Genauigkeit anhand der Messabweichung zu bewerten.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

QCMD 2020 HCV Panel		Konsensus-Ergebnisse	Testergebnisse	Differenz (Kons. – Test)
Proben-ID	Probeninhalt	Log IU/ml	Log IU/ml	
HCVRNA101S-01	HCV Genotyp 3a	3,3040	3,5794	-0,2754
HCVRNA101S-02	HCV Genotyp 3a	2,3130	2,2375	0,0755
HCVRNA101S-03	HCV Genotyp 1b	2,8600	3,0532	-0,1932
HCVRNA101S-04	HCV Genotyp 1b	2,8370	2,7850	0,0520
HCVRNA101S-05	HCV-negativ	nicht erkannt	nicht erkannt	-
HCVRNA101S-06	HCV Genotyp 1b	3,8500	3,8352	0,0148
HCVRNA101S-07	HCV Genotyp 1b	3,3730	3,4432	-0,0702
HCVRNA101S-08	HCV Genotyp 1b	1,7880	1,6812	0,1068

In diesem Test konnte der Assay alle Panel-Mitglieder korrekt nachweisen. Die sieben positiven Proben wurden innerhalb des Konsensusbereichs ± 0,5 log IU/ml quantifiziert.

Diagnostische Sensitivität: Methodenkorrelation

Die diagnostische Sensitivität des Assays als die Korrelation der mit unterschiedlichen Methoden erhaltenen Ergebnisse wurde durch die Analyse HCV-RNA-positiver klinischer Patienten, die sich einer antiviralen Therapie unterzogen und deren Ergebnisse innerhalb des Messbereichs des HCV ELiTe MBG Kit und CE/IVD-gekennzeichnete molekular-diagnostischer Referenzmethoden („cobas® HCV for use on the 4800 Systems“ und „cobas® HCV for use on the 6800 Systems“, Cobas HCV, Roche Diagnostics) lagen, bewertet. Da **ELiTe BeGenius** gleichwertige analytische Leistungen wie ELiTe InGenius aufweist, ist die diagnostische Güte der auf den beiden Instrumenten durchgeführten Tests ebenfalls als gleichwertig anzusehen. Daher gilt die mit ELiTe InGenius erhaltene diagnostische Sensitivität des Assays auch für ELiTe BeGenius.

Die Korrelationsstudie wurde an zwei verschiedenen Standorten mit den folgenden 128 in EDTA entnommenen Plasmaproben durchgeführt.

- Standort 1: 96 HCV-RNA-positive, in EDTA entnommene klinische Plasmaproben,

HCV ELITe MGB® Kit

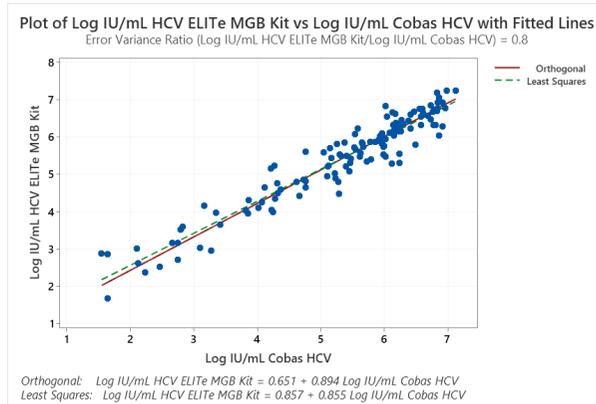
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

- Standort 2: 32 HCV-RNA-positive, in EDTA entnommene klinische Plasmaproben,

Für die Testung jeder Probe wurde das gesamte Analyseverfahren, die Extraktion, reverse Transkription, Amplifikation, Detektion und Ergebnisinterpretation, mit den Produkten der ELITechGroup S.p.A. und den Referenzmethoden durchgeführt. Zur Berechnung der Korrelation zwischen den Methoden wurden die mit dem HCV ELITe MBG Kit und den Referenzmethoden erhaltenen Ergebnisse mittels orthogonaler und linearer Regression analysiert.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung zusammengefasst.



In diesem Test ergab die Deming-Regressionsanalyse eine Steigung von 0,894 (95%-KI: 0,846–0,941) und einen Achsenabschnitt von 0,651 (95%-KI: 0,391–0,911). Die Analyse der linearen Regression ergab einen R²-Wert von 0,916.

Diagnostische Spezifität: Bestätigung negativer Proben

Die diagnostische Spezifität des Assays als die negative prozentuale Übereinstimmung von mit unterschiedlichen Methoden erhaltenen Ergebnisse wurde durch die Analyse HCV-RNA-negativer klinischer Proben, die mit CE/IVD-gekennzeichneten molekular-diagnostischen Referenzmethoden („cobas® HCV for use on the 4800 Systems“ und „cobas® HCV for use on the 6800 Systems“, Cobas HCV, Roche Diagnostics) getestet wurden, bewertet. Da **ELITe BeGenius** gleichwertige analytische Leistungen wie ELITe InGenius aufweist, ist die diagnostische Güte der auf den beiden Instrumenten durchgeführten Tests ebenfalls als gleichwertig anzusehen. Daher gilt die mit ELITe InGenius erhaltene diagnostische Spezifität des Assays auch für ELITe BeGenius.

Die Studie zur diagnostischen Spezifität wurde an zwei verschiedenen Standorten mit den folgenden 135 in EDTA entnommenen Plasmaproben durchgeführt:

- Standort 1: 100 HCV-RNA-negative, in EDTA entnommene klinische Plasmaproben.
- Standort 2: 35 HCV-RNA-negative, in EDTA entnommene klinische Plasmaproben.

Für die Testung jeder Probe wurde das gesamte Analyseverfahren, die Extraktion, reverse Transkription, Amplifikation, Detektion und Ergebnisinterpretation, mit den Produkten der ELITechGroup S.p.A. durchgeführt. Die mit dem HCV ELITe MBG Kit erhaltenen Ergebnisse wurden analysiert, um die negative prozentuale Übereinstimmung mit den Referenzmethoden zu berechnen.

Die Ergebnisse nach Diskrepanzanalyse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

Proben	Anzahl	Positiv	Negativ	Ungültig	Diagnostische Spezifität
In EDTA entnommenes, HCV-RNA-negatives Plasma	135	0	135	0	100 %

Bei diesem Test wurden alle Proben als negativ bestätigt. Die diagnostische Spezifität des HCV ELITe MBG Kit betrug 100 %.

Der Ct-Grenzwert für die Internal Control (IC Ct) wurde auf 31 festgelegt.

HCV ELITe MGB® Kit

Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTK601ING

Hinweis: Die vollständigen Daten und Ergebnisse der Tests, die zur Bewertung der Leistungsmerkmale des Produkts mit Matrizen und Geräten durchgeführt wurden, sind in Abschnitt 7 der technischen Dokumentation des „HCV ELITe MGB Kit“, FTP 601ING, aufgeführt.

QUELLENANGABEN

P. Halfon et al. (2006) *J Clin Microbiology* **44**: 2507 – 2511

E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* **35**: e30

K. Linnet et al. (2004) *Clin. Chem.* **50**: 732 - 740.

GRENZEN DES VERFAHRENS

Dieses Produkt darf nur mit den folgenden klinischen Proben verwendet werden: In EDTA oder ACD entnommenes Plasma, Serum.

In EDTA oder ACD entnommenes Plasma und Serum können aus Vollblut gewonnen werden, das nicht länger als 24 Stunden bei +2 bis +25 °C gelagert wurde.

Kein in Heparin entnommenes Plasma zusammen mit diesem Produkt verwenden: Heparin hemmt die Amplifikationsreaktion von Nukleinsäuren und führt zu ungültigen Ergebnissen.

Kein hämolytisches Plasma zusammen mit diesem Produkt verwenden: Hämoglobin hemmt die Amplifikationsreaktion von Nukleinsäuren und führt zu ungültigen Ergebnissen.

Derzeit keine Daten zu Produktleistungen mit anderen klinischen Proben, wie z. B. Vollblut, vor.

Dieses Produkt ist nicht für den Einsatz als Screening-Test auf das Vorhandensein von HCV in Blut oder Blutprodukten oder als diagnostischer Test zur Bestätigung des Vorliegens einer HCV-Infektion bestimmt.

Die mit diesem Produkt erhaltenen Ergebnisse hängen von der angemessenen Identifizierung, Entnahme, Transportierung, Aufbewahrung und Verarbeitung der Proben ab. Zur Vermeidung falscher Ergebnisse ist es daher notwendig, bei diesen Schritten vorsichtig vorzugehen und die den Produkten beiliegende Gebrauchsanweisung sorgfältig zu befolgen.

Aufgrund ihrer hohen analytischen Sensitivität ist die bei diesem Produkt verwendete Methode zur Echtzeit-Amplifikation empfindlich für Kreuzkontaminationen durch die positiven Proben, die Positive Control und die gleichen Amplifikationsprodukte. Kreuzkontaminationen führen zu falsch-positiven Ergebnissen. Durch das Produktformat werden Kreuzkontaminationen begrenzt. Trotzdem können Kreuzkontaminationen nur durch Beachtung der guten Laborpraxis und der vorliegenden Gebrauchsanweisung vermieden werden.

Dieses Produkt darf nur von qualifiziertem Personal, das im Umgang mit potenziell infektiösen biologischen Proben und als gefährlich klassifizierten chemischen Präparaten geschult ist, verwendet werden. Dadurch sollen Unfälle mit möglicherweise ernstesten Folgen für den Anwender und andere Personen vermieden werden.

Die Verwendung dieses Produkts erfordert Arbeitskleidung und Arbeitsbereiche, die für den Umgang mit potenziell infektiösen biologischen Proben und als gefährlich klassifizierten chemischen Präparaten geeignet sind, um Unfälle mit möglicherweise ernstesten Folgen für den Anwender und andere Personen zu vermeiden.

Dieses Produkt macht das Tragen von Spezialkleidung und das Verwenden von für die Einrichtung des Arbeitslaufs vorgesehenen Instrumente erforderlich, um falsch-positive Ergebnisse zu vermeiden.

Dieses Produkt darf nur von professionellem, qualifiziertem Personal, das im Umgang mit molekularbiologischen Techniken, wie Extraktion, Amplifikation und Nachweis von Nukleinsäuren geschult ist, verwendet werden. Dadurch sollen falsche Ergebnisse vermieden werden.

Eine räumliche Trennung von Vorbereitung des kompletten Reaktionsgemischs und die Extraktion/Amplifikation/Detektion von Amplifikationsprodukten ist zu beachten, um falsch-positive Ergebnisse zu vermeiden.

HCV ELite MGB® Kit
 Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die
 Real-Time-PCR

REF RTK601ING

Vor einer Umstellung auf eine neue Technologie sollten die Anwender aufgrund von inhärenten Unterschieden zwischen verschiedenen Technologien Korrelationsstudien zu den Methoden durchführen, um die Unterschiede zwischen den Technologien abschätzen zu können.

Ein mit diesem Produkt erhaltenes negatives Ergebnis bedeutet, dass die Ziel-RNA nicht in der RNA, die aus der Probe extrahiert wurde, nachgewiesen wurde. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass die Erregerlast unter dem Detektionslimit des Produkts liegt (siehe „Leistungsmerkmale“). In diesem Fall kann das Ergebnis falsch-negativ sein.

Mit diesem Produkt erhaltene Ergebnisse können manchmal aufgrund von Ausfällen der internen Kontrolle ungültig sein. In diesem Fall ist die Probe beginnend mit der Extraktion erneut zu testen, was zu einer Verzögerung der endgültigen Testergebnisse führen kann.

Etwaige Polymorphismen, Insertion oder Deletionen in der Primer- oder Sondenbindungsregion der Ziel-RNA können den Nachweis und die Quantifizierung der Ziel-RNA beeinträchtigen.

Wie bei allen diagnostischen Produkten müssen bei der Interpretation der mit diesem Test erhaltenen Ergebnisse alle klinischen Daten und sonstigen Laborbefunde des Patienten berücksichtigt werden.

Wie bei allen diagnostischen Produkten besteht auch bei diesem Produkt ein Restrisiko von ungültigen, falsch-positiven und falsch-negativen Ergebnissen. Dieses Restrisiko kann nicht eliminiert oder weiter minimiert werden. In manchen Fällen kann dieses Restrisiko zu falschen Entscheidungen mit potenziell gefährlichen Auswirkungen auf den Patienten beitragen.

FEHLERBEHEBUNG

Ungültige Reaktion des Q-PCR Standard oder der Positive Control	
Ungültige Standardkurve	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Einstellfehler des Geräts.	Position von komplettem Reaktionsgemisch, Q-PCR Standards und Positivkontrolle kontrollieren. Volumina von komplettem Reaktionsgemisch, Q-PCR Standards und Positivkontrolle kontrollieren.
Fehler bei der Zubereitung des kompletten Reaktionsgemischs.	Volumina der bei der Zubereitung des kompletten Reaktionsgemischs verwendeten Reagenzien kontrollieren.
Abbau des kompletten Reaktionsgemischs oder seiner Unterkomponenten.	Das komplette Reaktionsgemisch nicht für mehr als drei Läufe verwenden (7 Stunden im Bestandsbereich). Den RT EnzymeMix nicht länger als 10 Minuten bei Temperaturen über -20 °C aufbewahren. Das komplette Reaktionsgemisch nicht länger als 30 Minuten bei Raumtemperatur aufbewahren. Ein neues Aliquot Unterkomponenten verwenden.
Abbau von Q-PCR Standards oder Positive Control.	Den Q-PCR Standard nicht für mehr als 2 unabhängige Arbeitsläufe verwenden (jeweils 2 Stunden im Extraktionsbereich). Die Positive Control nicht für mehr als 4 unabhängige Arbeitsläufe verwenden (jeweils 3 Stunden im Extraktionsbereich). Neue Aliquote von Q-PCR Standards oder Positive Control verwenden.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

HCV ELite MGB® Kit
 Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die
 Real-Time-PCR

REF RTK601ING

Ungültige Reaktion der Negative Control	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Einstellfehler des Geräts.	Position des kompletten Reaktionsgemischs und der Negativkontrolle kontrollieren. Volumina des kompletten Reaktionsgemischs und der Negativkontrolle kontrollieren.
Kontamination des kompletten Reaktionsgemischs oder seiner Unterkomponenten.	Das komplette Reaktionsgemisch erneut zubereiten. Ein neues Aliquot Komponenten verwenden.
Kontamination der Negative Control.	Die Negative Control nicht für mehr als 1 Lauf verwenden. Ein neues Aliquot hochreines Wasser für die Molekularbiologie verwenden.
Kontamination des Extraktionsbereichs, von Racks oder des Bestandsblocks.	Oberflächen mit wässrigen Reinigungsmitteln reinigen, Laborkittel waschen, verwendete Teströhrchen und Spitzen austauschen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Ungültige Probenreaktion	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Einstellfehler des Geräts.	Position des kompletten Reaktionsgemischs und der Probe kontrollieren. Volumina des kompletten Reaktionsgemischs und der Probe kontrollieren.
Fehler bei der Zubereitung des kompletten Reaktionsgemischs.	Volumina der bei der Zubereitung des kompletten Reaktionsgemischs verwendeten Reagenzien kontrollieren.
Abbau des kompletten Reaktionsgemischs oder seiner Unterkomponenten.	Das komplette Reaktionsgemisch nicht für mehr als drei Läufe verwenden (7 Stunden im Bestandsbereich). Das komplette Reaktionsgemisch nicht länger als 30 Minuten bei Raumtemperatur aufbewahren. Den RT EnzymeMix nicht länger als 10 Minuten bei Temperaturen über -20 °C aufbewahren. Das komplette Reaktionsgemisch erneut zubereiten. Ein neues Aliquot Unterkomponenten verwenden.
Abbau der Templates für die Internal Control.	Ein neues Aliquot der Internal Control verwenden.
Inhibition durch die Probe störende Substanzen.	Amplifikation der eluierten Probe mit einer 1:2-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „PCR Only“-Lauf (nur PCR) wiederholen. Extraktion mit einer 1:2-Verdünnung der Probe in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „Extract + PCR“-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Fehler 30103	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Zu hohe Konzentration von Ziel-DNA in der Probe.	Wenn im PCR-Diagramm eine signifikante Amplifikation zu beobachten ist: - entsprechende Spur für die Probe auswählen und Ergebnis manuell bestätigen. Wenn ein Ct-Wert benötigt wird: - Amplifikation der eluierten Probe mit einer 1:10-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „PCR Only“-Lauf (nur PCR) wiederholen oder - Extraktion mit einer 1:10-Verdünnung der Primärprobe in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „Extract + PCR“-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen.

TH Error (Schwellenwert-Fehler), SDM Error (Fehler bei Maximum der zweiten Ableitung), Ct Error (Ct-Fehler)	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Probe mit anormaler Diagrammform.	Wenn im PCR-Diagramm eine signifikante Amplifikation zu beobachten ist, die Fehler generiert: - Amplifikation der eluierten Probe mit einer 1:10-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „PCR Only“-Lauf (nur PCR) wiederholen oder - Extraktion mit einer 1:10-Verdünnung der Primärprobe in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „Extract + PCR“-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen.

SYMBOLE

-  Katalognummer.
-  Temperaturobergrenze.
-  Chargenbezeichnung.
-  Verwendbar bis (letzter Tag des Monats).
-  *In-vitro*-Diagnostikum.
-  Erfüllt die Anforderungen der Europäischen Richtlinie 98/79/EG über *In-vitro*-Diagnostika. Zertifizierung ausgestellt von DEKRA Certification B.V., Niederlande.
-  Genügend für „n“ Tests.
-  Achtung, Gebrauchsanweisung beachten.
-  Inhalt.
-  Vor Sonneneinstrahlung schützen.
-  Hersteller.

HCV ELITE MGB® KitReagenzien für die reverse RNA-Transkription und die
Real-Time-PCR

REF RTK601ING

**HINWEIS AN DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE
LIZENZ**

Dieses Produkt enthält Reagenzien, die von Thermo Fisher Scientific hergestellt wurden und im Rahmen von Lizenzvereinbarungen zwischen ELITechGroup S.p.A. und deren Tochtergesellschaften und Thermo Fisher Scientific vertrieben werden. Im Kaufpreis dieses Produkts eingeschlossen sind eingeschränkte, nicht übertragbare Rechte zum Gebrauch nur dieser Produktmenge ausschließlich für Aktivitäten des Käufers mit direktem humandiagnostischem Bezug. Informationen zum Kauf einer Lizenz für dieses Produkt zu anderen als den oben genannten Zwecken sind erhältlich bei Licensing Department, Thermo Fisher Scientific. E-Mail: outlicensing@thermofisher.com.

ELITE MGB® Nachweisreagenzien sind durch eines oder mehrere der US-Patente mit den Nummern 6,127,121, 6,485,906, 6,660,845, 6,699,975, 6,727,356, 6,790,945, 6,949,367, 6,972,328, 7,045,610, 7,319,022, 7,368,549, 7,381,818, 7,662,942, 7,671,218, 7,715,989, 7,723,038, 7,759,126, 7,767,834, 7,897,736, 8,008,522, 8,067,177, 8,163,910, 8,389,745, 8,969,003, 8,980,855, 9,056,887, 9,085,800 und 9,169,256 und der EP-Patente mit den Nummern 1068358, 1144429, 1232157, 1261616 1430147, 1781675, 1789587, 1975256 und 2714939 sowie durch anhängige Patentanmeldungen geschützt.

Die ELITE InGenius- und ELITE BeGenius-Technologie ist durch Patente und Patentanmeldungen geschützt.

Diese eingeschränkte Lizenz erlaubt der Person oder Einrichtung, der das Produkt zur Verfügung gestellt wurde, das Produkt und die bei Verwendung des Produkts erzeugten Daten ausschließlich für die Humandiagnostik zu verwenden. Weder die ELITechGroup S.p.A. noch deren Lizenzgeber gewähren weitere, ausdrückliche oder stillschweigende Lizenzen für andere Zwecke.

TaqMan™ ist eine Marke von Thermo Fisher Scientific.

cobas® ist eine eingetragene Marke von Roche Diagnostics.

ELITE MGB®, das ELITE MGB®-Gerätelogo, ELITE InGenius® und ELITE BeGenius® sind eingetragene Marken der ELITechGroup in der Europäischen Union.



Caution, this document is a simplified version of the official instruction for use. This document is available only in English. Please refer to the complete document before use: www.elitechgroup.com

Intended use

The “HCV ELITe MGB® Kit” product is quantitative nucleic acids reverse transcription and amplification assay for the detection and the quantification of the RNA of Hepatitis C Virus (HCV) in RNA samples extracted from clinical specimens.

The assay is able to detect the RNA of HCV belonging to 1, 2, 3, 4, 5 and 6 genotypes.

The assay is validated in association with “ELITe InGenius®” and “ELITe BeGenius®” system starting from human plasma collected in EDTA or in ACD and serum samples.

The product is intended for use as an aid in the management of HCV-infected individuals undergoing antiviral therapy, together with patient’s clinical data and other laboratory test results.

Amplified sequence

Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
Target	HCV (5' UTR region)	FAM	HCV
Internal Control	MS2 phage	AP525	IC

Validated matrix

- › Plasma EDTA
- › Plasma ACD
- › Serum

Kit content

HCV ELITe MGB Mix		HCV ELITe Standard				HCV - ELITe Positive Control	HCV Internal Control
 X 4	 X 2				 X 1	 X 2	 X 8
HCV PCR Mix 4 tubes of 600 µL 96 reactions per kit 5 freeze-thaw cycles	RT Enzyme Mix 2 tubes of 20 µL 96 reactions per kit 10 freeze-thaw cycles	Ready-to-use Calibrators: 10 ⁵ , 10 ⁴ , 10 ³ , 10 ² 1 set of 4 tubes of 160 µL 2 freeze-thaw cycles				Ready-to-use PC 2 tubes of 160 µL 8 reactions per kit 4 freeze-thaw cycles	Ready-to-use IC 8 tubes of 160 µL 96 extractions per kit 12 freeze-thaw cycles

Maximum shelf-life: **18 months**

Storage Temperature: **-20 °C**

Material required not provided in the kit

- › ELITe InGenius instrument: INT030
- › ELITe InGenius SP 1000 Extraction Cartridge: INT033SP1000
- › ELITe InGenius PCR Cassette: INT035PCR
- › ELITe InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS
- › ELITe InGenius Waste Box: F2102-000
- › Filter Tips 300: TF-350-L-R-S
- › 1000 µL Filter Tips Tecan : 30180118

ELITe InGenius protocol

› Sample volume	600 µL	› Unit of quantitative result	International Unit: IU/mL
› HCV CPE volume	10 µL	› Conversion factor to IU	2.4 IU/copy
› Total elution volume	50 µL	› Frequency of controls	15 days
› PCR elution input volume	20 µL	› Frequency of calibration	60 days
› HCV PCR Mix volume	20 µL		

Performance

Matrix	Limit of Detection	Method Correlation	Diagnostic Specificity
Plasma / Serum	26 IU / mL 11 copies / mL	R² = 0.916 128 quantified samples	100% 135 confirmed samples / 135 tested samples

reference methods:

“cobas® HCV for use on the 4800 Systems” and

“cobas® HCV for use on the 6800 Systems”, Roche Diagnostics.

Sample preparation

Plasma samples collected in EDTA or ACD and Serum samples must be identified according to laboratory guidelines, transported and stored at room temperature (~+25 °C) for a maximum of three days or at +2 / +8 °C for a maximum of five days. Otherwise, they must be frozen and stored at ~-20 °C for a maximum of one month or at ~-70 °C for six months. Do not use Plasma collected in heparin in order to prevent inhibition of amplification reaction and frequent invalid results.

ELITE InGenius Procedures

The user is guided step-by-step by the ELITE InGenius software to prepare the run. All the steps: extraction, reverse transcription, amplification and result interpretation are automatically performed. Three operational mode are available: complete run, or extraction only, or PCR only.

Before analysis

1. Switch on ELITE InGenius.
Log in with username and password.
Select the mode "Closed".

2. Verify calibrators: **HCV Q-PCR Standard** in the "Calibration" menu.
Verify controls: **HCV Positive Control** and **HCV Negative Control** in the "Controls" menu.
Note: Both must have been run, approved and not expired.

3. Thaw the **HCV PCR Mix** and the **HCV CPE** tubes.
Vortex gently.
Spin down 5 sec.
Keep the **RT EnzymeMix** in ice

4. Prepare the complete reaction mixture

Sample Number (N)	HCV PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0.3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0.3 µL
N = 12	290 µL	4.4 µL

5. Vortex gently
Spin down 5 sec
Keep the complete reaction mixture in ice. Do not expose to direct light.

Procedure 1 - Complete run: Extraction + PCR

1. Select "Perform Run" on the touch screen

2. Verify the extraction volumes:
Input: "1000 µL", elution: "50 µL"

3. Scan the sample barcodes with hand-held barcode reader or type the sample ID

4. Select the "Assay protocol" of interest: HCV ELITE_PL_600_50 or HCV ELITE_Se_600_50

5. Select the method "Extract + PCR" and the sample position: Extraction Tube

6. Load the complete reaction mixture and the Internal Control in the inventory block

7. Load: PCR cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip Cassette, Extraction Tube racks

8. Close the door
Start the run

9. View, approve and store the results

Procedure 2 - PCR only

1 to 4: Follow the Complete Run procedure described above

5. Select the method "PCR only" and set the sample position "Elution Tube"

6. Load the complete reaction mixture in the inventory block

7. Load: PCR cassette rack and the Elution tube rack with the extracted nucleic acid

8. Close the door
Start the run

9. View, approve and store the results

Procedure 3 - Extraction only

1 to 4: Follow the Complete Run procedure described above

5. Select the method "Extraction Only" and set the sample position: Extraction Tube

6. Load the Internal Control in the inventory block

7. Load: Extraction cartridge, Elution tube, Tip cassette, Extraction Tube racks

8. Close the door
Start the run

9. Archive the eluate sample

ELITE BeGenius Procedures

The user is guided step-by-step by the ELITE BeGenius software to prepare the run. All the steps: extraction, amplification and result interpretation are automatically performed. Three operational mode are available: complete run, or extraction only, or PCR only.

Before analysis

- | | | |
|--|---|--|
| 1. Switch on ELITE InGenius.
Log in with username and password.
Select the mode "Closed". | 2. Verify calibrators: HCV Q-PCR Standard in the "Calibration" menu.
Verify controls: HCV Positive Control and HCV Negative Control in the "Controls" menu.
<i>Note:</i> Both must have been run, approved and not expired. | 3. Thaw the HCV PCR Mix and the HCV CPE tubes.
Vortex gently.
Spin down 5 sec.
Keep the RT EnzymeMix in ice |
|--|---|--|

4. Prepare the complete reaction mixture

Sample Number (N)	HCV PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0.3 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0.3 \mu\text{L}$
$N = 12$	290 μL	4.4 μL

- 5.** Vortex gently
Spin down 5 sec
Keep the complete reaction mixture in ice. Do not expose to direct light.

Procedure 1 - Complete run: Extraction + PCR

- | | | |
|---|---|--|
| 1. Select "Perform Run" on the touch screen | 2. Verify the extraction volumes:
Input: "600 μL ", elution: "50 μL " | 3. Scan the sample barcodes with handheld barcode reader or type the sample ID |
| 4. Select the "Assay protocol" of interest: HCV ELITE_Be_PL_600_50 or HCV ELITE_Be_Se_600_50 | 5. Select the method "Extract + PCR" and the sample position: Extraction Tube | 6. Load the complete reaction mixture and the Internal Control in the inventory block |
| 7. Load: PCR cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip Cassette, Extraction Tube racks | 8. Close the door
Start the run | 9. View, approve and store the results |

Procedure 2 - PCR only

- | | | |
|---|---|---|
| 1 to 4: Follow the Complete Run procedure described above | 5. Select the method "PCR only" and set the sample position "Elution Tube" | 6. Load the complete reaction mixture in the inventory block |
| 7. Load: PCR cassette rack and the Elution tube rack with the extracted nucleic acid | 8. Close the door
Start the run | 9. View, approve and store the results |

Procedure 3 - Extraction only

- | | | |
|---|--|--|
| 1 to 4: Follow the Complete Run procedure described above | 5. Select the method "Extraction Only" and set the sample position: Extraction Tube | 6. Load the Internal Control in the inventory block |
| 7. Load: Extraction cartridge, Elution tube, Tip cassette, Extraction Tube racks | 8. Close the door
Start the run | 9. Archive the eluate sample |