



NOTICE of CHANGE dated 10/04/2026

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:

- *Update of the paragraph "Potential interfering markers: Cross-reactivity".*

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

PLEASE NOTE

The product batches identified by the following LOT numbers are still placed on the market as per IVDD till to their expiration dates, according to Article 110 of IVDR. If you have those product batches, please contact ELITechGroup staff to request the related previous revision of IFUs.

| PRODUCT REF. | Lot Number | Expiry date |
|--------------|------------|-------------|
| RTK601ING | C0125-009 | 31/07/2026 |

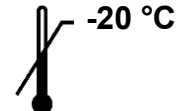
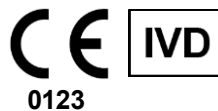


ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185
10149 Torino ITALIEN
Hauptniederlassung: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-
011 936 76 11
E-Mail: emd.support@elitechgroup.com

HCV ELITe MGB® Kit

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

REF RTK601ING



UDI 08033891487072

INHALTSVERZEICHNIS

| | |
|---|----------|
| VERWENDUNGSZWECK | Seite 1 |
| TESTPRINZIP | Seite 2 |
| BESCHREIBUNG DES PRODUKTS | Seite 2 |
| MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN | Seite 3 |
| ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN | Seite 3 |
| ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE | Seite 4 |
| WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN | Seite 4 |
| PROBEN UND KONTROLLEN | Seite 6 |
| VERFAHREN BEI ELITe InGenius | Seite 8 |
| VERFAHREN BEI ELITe BeGenius | Seite 14 |
| LEISTUNGSMERKMALE | Seite 19 |
| REFERENZEN | Seite 30 |
| GRENZEN DES VERFAHRENS | Seite 31 |
| FEHLERBEHEBUNG | Seite 32 |
| SYMBOLS | Seite 35 |
| ANWENDERHINWEISE | Seite 35 |
| HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ | Seite 36 |
| ANHANG: KURZANLEITUNG | Seite A |

VERWENDUNGSZWECK

Das Produkt **HCV ELITe MGB® Kit** ist ein *In-vitro*-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal als quantitativer Nukleinsäure-RT- (reverse Transkription) und Real-Time-PCR-Assay zum Nachweis und zur Quantifizierung der RNA des Hepatitis-C-Virus (HCV), die aus klinischen Proben extrahiert wurde, bestimmt ist.

Dieser Assay ist in Verbindung mit den Geräten **ELITe InGenius®** und **ELITe BeGenius®**, automatisierten und integrierten Systemen zur Extraktion, reversen Transkription, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation mit menschlichen Plasmaproben, die in EDTA oder in ACD und Serum entnommen wurden, validiert.

Das Produkt ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Behandlung von HCV-infizierten Personen, die sich einer antiviralen Therapie unterziehen, vorgesehen.

Bei der Interpretation der Ergebnisse müssen alle relevanten klinischen Beobachtungen und Laborbefunde herangezogen werden.

Das Produkt ist nicht zum Screening oder zum Nachweis des Vorhandenseins von oder die Exposition gegenüber übertragbaren Erregern in Blut, Blutbestandteilen, Zellen, Geweben, Organen oder deren

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

Derivaten bestimmt, um deren Eignung für Transfusionen, Transplantationen oder Zellverabreichung zu beurteilen. Das Produkt ist nicht zur Verwendung als diagnostischer Test zum Nachweis einer HCV-Infektion bestimmt.

TESTPRINZIP

Bei dem Assay handelt es sich um eine quantitative Ein-Schritt-Real-Time-PCR mit reverser Transkription, mit der die aus Proben isolierte HCV-RNA nachgewiesen, revers transkribiert und dann unter Verwendung eines kompletten Reaktionsgemischs, das Primer und Sonden mit ELITE MGB®-Technologie enthält, amplifiziert wird.

Die ELITE MGB-Sonden werden aktiviert, wenn sie mit den jeweiligen PCR-Produkten hybridisieren. **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius** überwachen den Fluoreszenzanstieg und berechnen die Schwellenwertzyklen (Ct) sowie die Schmelztemperaturen (Tm). Die Berechnung der HCV-Menge erfolgt auf der Grundlage einer gespeicherten Kalibrationskurve.

Bei den ELITE MGB-Sonden werden die Fluorophore im spiralförmig gefalteten, einzelsträngigen Zustand der Sonde gequencht. Die Fluorophore sind in der Sonden/Amplicon-Duplex aktiv, da der Quencher räumlich von dem Fluorophor getrennt ist. Es ist zu beachten, dass das Fluorophor während der PCR nicht abgespalten wird und für die Dissoziationsanalyse und die Berechnung der Schmelztemperatur verwendet werden kann.

BESCHREIBUNG DES PRODUKTS

Das 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 PCR-Gemisch, das Folgendes enthält:
 - spezifischen Primer und Sonde für die 5'-UTR-Region von **HCV**, nachgewiesen im Kanal **HCV**; die Sonde ist durch MGB® stabilisiert, durch Eclipse Dark Quencher® gequencht und mit einem FAM-Farbstoff markiert.
 - spezifische Primer und Sonde für die Internal Control (**IC**), die für eine Region der genomischen RNA des Phagen **MS2** spezifisch ist, nachgewiesen in Kanal **IC**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor® AP525 markiert.
 - Puffer, Magnesiumchlorid, Nukleotidtriphosphate und „Hot-start“-DNA-Polymerase. Jedes Röhrchen enthält **600 µl** Lösung, die für **24 Tests** ausreicht, sofern mindestens 5 Proben pro Lauf verarbeitet werden.
- **RT EnzymeMix**, ein optimiertes und stabilisiertes Gemisch aus Enzymen zur reversen Transkription. Jedes Röhrchen enthält **20 µl** Lösung, die für **48 Tests** ausreicht, sofern mindestens 5 Proben pro Lauf verarbeitet werden.

Der **HCV ELITE MGB Mix** enthält ausreichend Reagenzien für **96 Tests** auf **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius**, wobei 20 µl **HCV PCR Mix** und 0,3 µl **RT EnzymeMix** pro Reaktion verwendet werden.

- **HCV ELITE Standard**

Diese Komponente enthält die Unterkomponenten **HCV Q-PCR Standard**, vier stabilisierte Lösungen von Plasmid-DNA mit der amplifizierten HCV-5'-UTR-Region in **bekanntem Titer**. Der **HCV ELITE Standard** muss mit **HCV ELITE MGB Mix** auf **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius** zur Berechnung der Kalibrationskurve des Systems (Produktcharge und Gerät) für die HCV-Quantifizierung verwendet werden.

Die Plasmid-DNA-Konzentration wurde im UV-Spektrophotometer in Kopien/ml ermittelt und mittels eines Umrechnungsfaktors mit dem „WHO International Standard 6th HCV International Standard“ (NIBSC code 18/184, Vereinigtes Königreich) in Bezug gesetzt, der eine HCV-Quantifizierung in internationalen Einheiten pro ml (IU/ml) ermöglicht.

Der **HCV ELITE Standard** enthält ausreichend Reagenzien für **2 Läufe auf ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius**, wobei 20 µl pro Reaktion verwendet werden.

- **HCV - ELITE Positive Control**

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

Diese Komponente enthält die Unterkomponente **HCV Positive Control**, eine stabilisierte Lösung von Plasmid-DNA mit der amplifizierten 5'-UTR-Region in **bekanntem Titer**. Die **HCV Positive Control** muss mit **HCV ELITE MGB Mix** auf **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius** verwendet werden, um Kontrolldiagramme zur Verifizierung des Systems (Produktcharge und Gerät) zu erstellen.

Die **HCV Positive Control** enthält ausreichend Reagenzien für **8 Läufe auf ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius (4 Läufe pro Röhrchen)**, wobei 20 µl pro Reaktion verwendet werden.

- **HCV Internal Control**

Diese Komponente enthält die Unterkomponente **HCV CPE** (exogene Internal Control), eine stabilisierte Lösung der genomischen RNA des MS2-Phagen. Der **HCV CPE** wird zu den Extraktionsreagenzien hinzugefügt, um die Ergebnisse der HCV-negativen Proben zu bestätigen.

Die **HCV Internal Control** enthält ausreichend Reagenzien für **96 Tests auf ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius (12 Tests pro Röhrchen)**, wobei 10 µl pro Extraktion verwendet werden.

Der **HCV ELITE MGB Kit** kann auch in Verbindung mit gleichwertigen Geräten verwendet werden.

MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE 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 Real-Time-PCR in Röhrchen mit NATURFARBENEM Verschluss | 4 x 600 µl | - |
| | RT EnzymeMix Art.-Nr. RTS003-RT | Enzyme zur reversen 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 NATURFARBENEM Verschluss | 8 x 160 µl | - |

Hinweis: Die Konzentrationen der vier **Q – PCR Standards** sind in Kopien/Reaktion (10⁵ Kopien/Reaktion, 10⁴ Kopien/Reaktion, 10³ Kopien/Reaktion, 10² Kopien/Reaktion) ausgedrückt.

ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN

- Laminar-Flow-Haube.
- Puderfreie Einweghandschuhe aus Nitril oder einem ähnlichen Material.
- Vortex-Mixer.
- Tischzentrifuge (~3.000 U/min).
- Tisch-Mikrozentrifuge (~13.000 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).
- Sterile 2,0-ml-Röhrchen mit Schraubverschluss (Sarstedt, Deutschland, Art.-Nr. 72.694.005).
- Hochreines Wasser für die Molekularbiologie.

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE

Die Reagenzien für die Extraktion von Proben-RNA und die Verbrauchsmaterialien sind **nicht** im Lieferumfang dieses Produkts enthalten. Für die automatisierte Nukleinsäureextraktion, reverse Transkription, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation von Proben werden die folgenden Produkte benötigt:

| Geräte und Software | Produkte und Reagenzien |
|---|---|
| <p>ELITE InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, Art.-Nr. INT030)</p> <p>ELITE InGenius Software, Version 1.3.0.17 (oder später)</p> <p>HCV ELITE_PC, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Positive Control-Analyse</p> <p>HCV ELITE_NC, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Negative Control-Analyse</p> <p>HCV ELITE_STD, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Kalibratorenanalyse</p> <p>HCV ELITE_PL_600_50, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Plasmaproben-Analyse</p> <p>HCV ELITE_Se_600_50, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Serumproben-Analyse</p> | <p>ELITE InGenius SP 1000 (EG SpA, Art.-Nr. INT033SP1000)</p> <p>ELITE InGenius SP 200 Consumable Set (EG SpA, Art.-Nr. INT032CS)</p> <p>ELITE InGenius PCR Cassette (EG SpA, Art.-Nr. INT035PCR),</p> <p>300 µL Filter Tips Axygen (Corning Life Sciences Inc., Art.-Nr. TF-350-L-R-S), nur mit ELITE InGenius</p> <p>1000 µL Filter Tips Tecan (Tecan, Schweiz, Art.-Nr. 30000631) nur mit ELITE BeGenius</p> <p>ELITE InGenius® Waste Box (EG SpA, Art.-Nr. F2102-000)</p> |
| <p>ELITE BeGenius (EG SpA., Art.-Nr. INT040)</p> <p>ELITE BeGenius Software, Version 2.1.0. (oder später)</p> <p>HCV ELITE_Be_PC, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Positive Control-Analyse</p> <p>HCV ELITE_Be_NC, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Negative Control-Analyse</p> <p>HCV ELITE_Be_STD, Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Kalibratorenanalyse</p> <p>HCV ELITE_Be_PL_600_50, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Plasmaproben-Analyse</p> <p>HCV ELITE_Be_Se_600_50, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Serumproben-Analyse</p> | |

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

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

Allgemeine Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Alle biologischen Proben sind so zu handhaben und zu entsorgen, als wären sie infektiös. Direkten Kontakt mit biologischen Proben vermeiden. Verspritzen und Aerosolbildung vermeiden. Röhrchen, Spitzen und andere 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.

Alle zur Durchführung des Tests verwendeten Reagenzien und Materialien sind so zu handhaben und zu entsorgen, als wären sie 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. Extraktionsreagenzien dürfen nicht mit Natriumhypochlorit (Bleiche) in Kontakt kommen.

Geeignete Schutzkleidung und Schutzhandschuhe sowie Augen-/Gesichtsschutz 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 bereitgestellten Anweisungen aufmerksam lesen.

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

Bei der Durchführung des Tests die bereitgestellten Produkthanweisungen befolgen.

Das Produkt nicht nach dem angegebenen Ablaufdatum verwenden.

Es dürfen nur mit dem Produkt bereitgestellte und vom Hersteller empfohlene Reagenzien verwendet werden.

Keine Reagenzien aus unterschiedlichen Chargen verwenden.

Keine Reagenzien anderer Hersteller verwenden.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen für die Molekularbiologie

Molekularbiologische Verfahren dürfen nur von qualifizierten und geschulten Fachkräften durchgeführt werden, um fehlerhafte Ergebnisse zu vermeiden, insbesondere im Hinblick auf den Nukleinsäureabbau in den Proben oder die Probenkontamination durch PCR-Produkte.

Es werden Laborkittel, Handschuhe und Werkzeuge benötigt, die speziell für den jeweiligen Arbeitslauf vorgesehen sind.

Die Proben müssen geeignet und möglichst für diese Art der Analyse bestimmt sein. Proben müssen unter einer Laminar-Flow-Haube gehandhabt werden. Die zur Verarbeitung der Proben verwendeten Pipetten dürfen ausschließlich für diesen Zweck verwendet werden. Die Pipetten müssen entweder Direktverdrängungspipetten sein oder zusammen 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 Sicherheitswerkbank gehandhabt werden. Die Pipetten, die für die Handhabung der Reagenzien verwendet werden, dürfen nur für diesen Zweck verwendet werden. Die Pipetten müssen entweder Direktverdrängungspipetten sein oder zusammen 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 minimiert wird, um die Möglichkeit einer Kontamination zu vermeiden.

Die PCR-Kassette (PCR Cassette) muss vorsichtig behandelt werden und darf niemals geöffnet werden, um die Diffusion von PCR-Produkten in die Umgebung und die Kontamination der Proben und Reagenzien zu vermeiden.

Komponentenspezifische Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

| Komponente (Unterkomponente) | Umgebungstemperatur bei Lagerung | Haltbarkeit nach Anbruch | Gefrier- und Auftauzyklen | On-Board-Stabilität (ELITE InGenius und ELITE BeGenius) |
|---|---|--------------------------------|---|---|
| HCV ELITE MGB Mix (HCV PCR Mix) | -20°C oder darunter (lichtgeschützt) | 60 Tage | bis zu fünf | nicht anwendbar |
| HCV ELITE MGB Mix (RT EnzymeMix) | -20°C oder darunter | 60 Tage | bis zu zehn Mal für bis zu zehn Minuten bei +2 bis +8 °C | nicht anwendbar |
| HCV ELITE Standard (HCV Q-PCR Standard) | -20°C oder darunter | 60 Tage | bis zu zwei | 2 separate Läufe von jeweils 2 Stunden |
| HCV ELITE - Positive Control (HCV Positive Control) | -20°C oder darunter | 60 Tage | bis zu vier | 4 separate Läufe von jeweils 3 Stunden |
| HCV ELITE Internal Control (HCV CPE) | -20°C oder darunter | 60 Tage | bis zu sechs | 6 separate Läufe von jeweils 3 Stunden |

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

PROBEN UND KONTROLLEN**Proben**

Dieses Produkt ist für die Verwendung auf dem **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius** mit den folgenden klinischen Proben, die gemäß den Laborrichtlinien identifiziert und gehandhabt und unter den folgenden Bedingungen entnommen, transportiert und gelagert wurden, bestimmt.

| Probe | Anforderungen an die Entnahme | Transport-/Lagerbedingungen | | | |
|--------|-------------------------------|----------------------------------|------------|-------------|-------------|
| | | +16 / +26 °C (Raumtemperatur) | +2 / +8 °C | -20 ± 10 °C | -70 ± 15 °C |
| Plasma | EDTA oder ACD | ≤ 1 Tag | ≤ 3 Tage | ≤ 1 Monat | ≤ 6 Monate |
| Serum | - | ≤ 1 Tag | ≤ 5 Tage | ≤ 1 Monat | ≤ 6 Monate |

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 vor der Extraktion aufgetaut werden, um einen möglichen Nukleinsäureabbau zu vermeiden.

Zum Testen von Proben mit dem **ELITE InGenius** und dem **ELITE BeGenius** müssen die folgenden Assay-Protokolle (Assay Protocol) verwendet werden. Diese IVD-Protokolle wurden speziell mit ELITE MGB Kits und **ELITE InGenius** oder **ELITE BeGenius** mit den angegebenen Matrices validiert.

Assay-Protokolle für HCV ELITE MGB Kit

| Probe | Gerät | Name des Assay-Protokolls | Bericht | Eigenschaften |
|--------|-----------------------|-------------------------------|---------------------------------------|---|
| Plasma | ELITE InGenius | HCV ELITE_PL_600_50 | Positiv / Kopien/ml / IU/ml / Negativ | Extraktionseingangsvolumen: 600 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 50 µl Internal Control: 10 µl Sonifikation: NEIN Verdünnungsfaktor: 1,7 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl |
| | ELITE BeGenius | HCV ELITE_Be_PL_600_50 | Positiv / IU/ml / Kopien/ml / Negativ | Extraktionseingangsvolumen: 600 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 50 µl Internal Control: 10 µl Sonifikation: NEIN Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl |
| Serum | ELITE InGenius | HCV ELITE_Se_600_50 | Positiv / Kopien/ml / IU/ml / Negativ | Extraktionseingangsvolumen: 600 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 50 µl Internal Control: 10 µl Sonifikation: NEIN Verdünnungsfaktor: 1,7 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl |
| | ELITE BeGenius | HCV ELITE_Be_Se_600_50 | Positiv / IU/ml / Kopien/ml / Negativ | Extraktionseingangsvolumen: 600 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 50 µl Internal Control: 10 µl Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl |

Bei allen Protokollen müssen 600 µl Probe in ein Extraktionsröhrchen (bei ELITE InGenius) bzw. ein 2-ml-Sarstedt-Röhrchen (bei ELITE BeGenius) überführt werden.

Hinweis: Das Pipettieren in das **Extraktionsröhrchen** oder das **2-ml-Sarstedt-Röhrchen** kann

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

Kontamination verursachen. Die geeigneten Pipetten verwenden und alle im Abschnitt „Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen“ aufgeführten Empfehlungen befolgen.

Aufgereinigte Nukleinsäuren können bei Raumtemperatur 16 Stunden und bei -20 °C oder darunter höchstens einen Monat aufbewahrt werden.

Daten zu störenden Substanzen sind im Abschnitt „Leistungsmerkmale“ sind „Potenziell interferierende Substanzen“ aufgeführt.

Verwenden Sie kein Plasma, das in Heparin entnommen wurde, da dieses bekanntlich die reverse Transkription und PCR hemmt.

Verwenden Sie kein hämolytisches Plasma, da Hämoglobin die PCR-Reaktion hemmt.

PCR-Kalibratoren und -Kontrollen

Für jede Charge des PCR-Reagenzes muss die Kalibrationskurve erstellt und genehmigt werden.

- Für die Kalibrationskurve die vier im Lieferumfang dieses Kits enthaltenen Konzentrationen des Produkts **HCV ELITE Standard** mit dem Assay-Protokoll **HCV ELITE_STD** oder **HCV ELITE_Be_STD** verwenden.

Die Ergebnisse der PCR-Kontrollen müssen für jede Charge des PCR-Reagenzes erstellt und genehmigt werden.

- Für die Positive Control das in diesem Kit enthaltene Produkt **HCV - ELITE Positive Control** mit dem Assay-Protokoll **HCV ELITE_PC** oder **HCV ELITE_Be_PC** verwenden.
- Für die Negative Control hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) mit dem Assay-Protokoll **HCV ELITE_NC** oder **HCV ELITE_Be_NC** verwenden.

Hinweis: ELITE InGenius und **ELITE BeGenius** ermöglichen die Erstellung und Speicherung der Kalibrationskurve und die Validierung der PCR-Kontrollen für jede PCR-Reagenziencharge. Kalibrierungskurven verfallen nach **60 Tagen**, danach muss die Kalibration erneut durchgeführt werden. Die Ergebnisse der PCR-Kontrollen verfallen nach **15 Tagen**, danach müssen die Positive Control und die Negative Control erneut durchgeführt werden.

Die Kalibratoren und PCR-Kontrollen müssen erneut generiert werden, wenn eines der folgenden Ereignisse eintritt:

- eine neue Reagenziencharge wird verwendet,
- die Ergebnisse der Qualitätskontrollanalyse (siehe nächster Abschnitt) liegen außerhalb der Spezifikation,
- es werden größere Wartungs- oder Instandhaltungsarbeiten an **ELITE InGenius** oder **ELITE BeGenius** durchgeführt.

Qualitätskontrollen

Es wird empfohlen, das Extraktions- und PCR-Verfahren zu überprüfen. Es können archivierte Proben oder zertifiziertes Referenzmaterial verwendet werden. Externe Kontrollen sind gemäß den einschlägigen Anforderungen der lokalen, staatlichen und föderalen Akkreditierungsorganisationen zu verwenden.

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

VERFAHREN BEI ELITE InGenius

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

| SCHRITT 1 | Prüfung der Systembereitschaft | |
|-----------|--|---|
| SCHRITT 2 | Einrichtung des Laufs | A) Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR]) |
| | | B) Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR]) |
| | | C) Kalibrationslauf (PCR Only [nur PCR]) |
| | | D) Lauf für die Positive Control und Negative Control (PCR Only [nur PCR]) |
| SCHRITT 3 | Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse | A) Validierung der Kalibrationskurve |
| | | B) Validierung der Ergebnisse der Positive Control und der Negative Control |
| | | C) Validierung der Probenergebnisse |
| | | D) Ausgabe des Probenergebnisberichts |

SCHRITT 1 – Prüfung der Systembereitschaft

Vor Beginn des Laufs:

- **ELITE InGenius** einschalten und den Modus „**CLOSED**“ (geschlossen) auswählen,
- auf der Startseite im Menü „Calibration“ (Kalibration) bestätigen, dass die Kalibratoren (**HCV Q-PCR Standard**) 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 in den folgenden Abschnitten beschrieben durchführen,
- auf der Startseite im Menü „Controls“ (Kontrollen) bestätigen, dass die PCR-Kontrollen (**HCV Positive Control, HCV Negative Control**) für die zu verwendende Charge des **HCV PCR Mix** genehmigt und gültig (Status) sind. Wenn keine gültigen PCR-Kontrollen für die Charge des **HCV PCR Mix** verfügbar sind, die PCR-Kontrollen wie in den folgenden Abschnitten beschrieben durchführen,
- den Typ des Laufs auswählen, dazu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche zur Einrichtung des Laufs befolgen und die von EG SpA bereitgestellten Assay-Protokolle verwenden (siehe „Proben und Kontrollen“).

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

SCHRITT 2 – Einrichtung des Laufs

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

- A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR]),
- B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR]),
- C. Kalibrationslauf (PCR Only [nur PCR]),
- D. Lauf für die Positive Control und Negative Control (PCR Only [nur PCR]).

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

Hinweis: **ELITE InGenius** kann mit dem „Laboratory Information System“ (Laborinformationssystem - LIS) verbunden werden, worüber die Laufinformationen heruntergeladen werden können. Weitere Informationen finden Sie im Gerätehandbuch.

Vor dem Einrichten eines Laufs:

1. Die benötigten **HCV PCR Mix**-Röhrchen 30 Minuten bei Raumtemperatur auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für **24 Tests** unter optimalen Bedingungen (mindestens 5 Tests pro Lauf). Dreimal durch Vortexen bei niedriger Drehzahl 10 Sekunden lang mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

Hinweis: Den **PCR Mix** lichtgeschützt auftauen lassen, da dieses Reagenz lichtempfindlich ist.

- Die benötigten **RT EnzymeMix** Röhrchen herausnehmen. Jedes Röhrchen reicht aus für **48 Tests** unter optimalen Bedingungen (mindestens 5 Tests pro Lauf). Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

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

- Ein 2-ml-Röhrchen (Sarstedt, Art.-Nr. 72.694.005, nicht im Lieferumfang des Kits enthalten) für das **komplette Reaktionsgemisch** zubereiten und mit einem Permanentmarker beschriften.
- Die benötigten Volumina von **HCV PCR Mix** und **RT EnzymeMix** für die Zubereitung des **kompletten Reaktionsgemischs** auf Grundlage der Anzahl (N) an zu analysierenden Proben berechnen, wie in der nachstehenden Tabelle beschrieben.

| Probenanzahl (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 |

- Das **komplette Reaktionsgemisch** zubereiten: dazu die errechneten Volumina der zwei Komponenten in das beschriftete 2-ml-Röhrchen überführen. Dreimal durch Vortexen bei niedriger Drehzahl 10 Sekunden lang mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

Hinweis: Das **komplette Reaktionsgemisch** kann innerhalb von **7 Stunden** verwendet werden, wenn es in einem gekühlten Block aufbewahrt wird (für 2 Läufe von je 3 Stunden und für die Zeit, die zum Starten eines dritten Laufs benötigt wird). Das komplette Reaktionsgemisch **darf nicht** zur Wiederverwendung aufbewahrt werden.**Hinweis:** Das **komplette Reaktionsgemisch** ist lichtempfindlich und darf daher keinem direkten Licht ausgesetzt werden.

Zum Einrichten eines der vier Lauftypen die folgenden Schritte unter Beachtung der grafischen Benutzeroberfläche ausführen:

| | A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR]) | B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR]) |
|---|---|--|
| 1 | Proben identifizieren und, falls erforderlich, auf Raumtemperatur auftauen, vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Für diesen Assay müssen 600 μl Probe in ein zuvor etikettiertes Extraktionsröhrchen überführt werden. ELITE InGenius behält überschüssiges Volumen im Extraktionsröhrchen. Die benötigten CPE-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen . Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. | Elution Tube (Elutionsröhr) mit den extrahierten Nukleinsäuren auf Raumtemperatur auftauen . Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. |
| 2 | Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen. | Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen. |
| 3 | Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 1000 μl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 50 μl beträgt. | Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 1000 μl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 50 μl beträgt. |
| 4 | Für jede Probe eine Spur zuweisen und unter „SampleID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen. | Für jede Probe eine Spur zuweisen und unter „SampleID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen. |
| 5 | Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“). | Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“). |
| 6 | Sicherstellen, dass unter „Protocol“ (Protokoll) Folgendes | In der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur |

HCV ELITe MGB® Kit

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

REF RTK601ING

| | A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR]) | B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR]) |
|----|--|---|
| | angezeigt wird: „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR). | PCR) auswählen. |
| 7 | Als Proben-Ladeposition „Extraction Tube“ (Extraktionsröhrchen) in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) auswählen. Sicherstellen, dass der Verdünnungsfaktor (Dilution factor) „1,7“ beträgt. | Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr [untere Reihe]) lautet. Sicherstellen, dass der Verdünnungsfaktor (Dilution factor) „1,7“ beträgt. |
| 8 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 9 | CPE und das komplette Reaktionsgemisch gemäß der „Load List“ (Liste Laden) auf den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden und die Chargennummer und das Ablaufdatum des CPE und PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben. | Das komplette Reaktionsgemisch gemäß der „Load List“ (Liste Laden) auf den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben. |
| 10 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 11 | Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen. | Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen. |
| 12 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 13 | PCR-Kassette, ELITe InGenius SP 1000 Extraktionskartuschen und alle benötigten Verbrauchsmaterialien und zu extrahierenden Proben laden . | PCR-Kassette und Elution Tube (Elutionsröhrchen) mit extrahierten Proben laden . |
| 14 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 15 | Schließen Sie die Gerätetür. | Schließen Sie die Gerätetür. |
| 16 | „Start“ (Starten) drücken. | „Start“ (Starten) drücken. |

| | C. Kalibrationslauf (PCR Only [nur PCR]) | D. Lauf für die Positive Control und Negative Control (PCR Only [nur PCR]) |
|---|---|---|
| 1 | Die Q-PCR Standard-Röhrchen auftauen (Cal1: Q-PCR Standard 10 ² , Cal2: Q-PCR Standard 10 ³ , Cal3: Q-PCR Standard 10 ⁴ , Cal4: Q-PCR Standard 10 ⁵) 30 Minuten bei Raumtemperatur. Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. | Positive Control-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen . Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Die Negative Control vorbereiten: dazu mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie in ein Elutionsröhrchen überführen, das im Lieferumfang des ELITe InGenius SP 1000 Consumable Set enthalten ist. |
| 2 | Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen. | Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen. |
| 3 | Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 1000 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 50 µl beträgt. | Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 1000 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 50 µl beträgt. |
| 4 | Für den Q-PCR Standard die Spur („Track“) zuweisen, das Assay Protocol (Assay-Protokoll) (siehe „Proben und Kontrollen“) in der Spalte „Assay“ auswählen und die Reagenzien-Chargennummer und das Verfallsdatum eingeben. | Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“). Die Chargennummer und das Ablaufdatum der Positive Control und des hochreinen Wassers für die Molekularbiologie eingeben. |
| 5 | Sicherstellen, dass in der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) ausgewählt ist. | Sicherstellen, dass in der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) ausgewählt ist. |
| 6 | Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr [untere Reihe]) lautet. | Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr [untere Reihe]) lautet. |
| 7 | Das komplette Reaktionsgemisch gemäß der | Das komplette Reaktionsgemisch gemäß der „Load |

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

| | C. Kalibrationslauf (PCR Only [nur PCR]) | D. Lauf für die Positive Control und Negative Control (PCR Only [nur PCR]) |
|----|---|---|
| | „Load List“ (Liste Laden) auf den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben. | List“ (Liste Laden) auf den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben. |
| 8 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 9 | Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen. | Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen. |
| 10 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 11 | Die PCR-Kassette und die Q-PCR-Standard-Röhrchen laden. | PCR-Kassette, Positive Control und Negative Control laden. |
| 12 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 13 | Schließen Sie die Gerätetür. | Schließen Sie die Gerätetür. |
| 14 | „Start“ (Starten) drücken. | „Start“ (Starten) drücken. |

Nach Beendigung des Laufs ermöglicht **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 **Elution Tube** (Elutionsröhrchen) aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen, gekennzeichnet und maximal einen Monat bei -20 °C aufbewahrt werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

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

Hinweis: Am Ende des Laufs kann der übrige **Q - PCR Standard** aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und bei -20 °C oder darunter aufbewahrt werden. Verschütten des **Q - PCR Standard** vermeiden.

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

Hinweis: Am Ende des Laufs müssen die **PCR-Kassette** und die anderen Verbrauchsmaterialien unter Berücksichtigung sämtlicher gesetzlicher und umweltrechtlicher Vorschriften entsorgt werden. Ein Verschütten der Reaktionsprodukte vermeiden.

SCHRITT 3 – Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

ELITE InGenius 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 Ergebnisse und die Laufinformationen dargestellt. Über diesen Bildschirm können Ergebnisse genehmigt und Berichte („Sample Report“ (Probenbericht) oder „Track Report“ (Spurbericht)) ausgedruckt oder gespeichert werden. Weitere Informationen finden Sie im Gerätehandbuch.

Hinweis: **ELITE InGenius** kann mit dem „Laboratory Information System“ (Laborinformationssystem – LIS) verbunden werden, worüber die Laufinformationen heruntergeladen werden können. Weitere Informationen finden Sie im Gerätehandbuch.

ELITE InGenius generiert Ergebnisse mithilfe des **HCV ELITE MGB Kit** und geht dabei folgendermaßen vor:

- A. Validierung der Kalibrationskurve,
- B. Validierung der Ergebnisse der Positive Control und der Negative Control,
- C. Validierung der Probenergebnisse,

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

D. Ausgabe des Probenergebnisberichts.

A. Validierung der Kalibrationskurve

Die **ELITE InGenius Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse für die Zielsequenzen 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.

Die Kalibrationskurve läuft **nach 60 Tagen** ab.

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 Kalibrator-Amplifikationsreaktionen 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.

B. Validierung der Ergebnisse des Amplifikationslaufs für die Positivkontrolle und Negativkontrolle

Die **ELITE InGenius Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse für die Zielsequenzen der Reaktionen der Positive Control und der Negative Control mit den Parametern der Assay-Protokolle (Assay Protocols) **HCV ELITE PC** und **HCV ELITE NC**. Die resultierenden Ct-Werte werden in Konzentrationswerte umgerechnet und zur Überprüfung des Systems (Reagenziencharge und Gerät) herangezogen.

Die Ergebnisse der Positive Control und Negative Control, die für die PCR-Reagenziencharge 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 der 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 initialen Regelkarte werden vier genehmigte Ergebnisse der Positive Control und Negative Control verwendet. Für darauf folgende Kontrollen werden die Ergebnisse von der Software analysiert, um sicherzustellen, dass die Systemleistungen innerhalb der Akzeptanzkriterien liegen, die in den Kontrollendiagrammen angezeigt sind. Weitere Informationen finden Sie im Gerätehandbuch.

Hinweis: Erfüllt das Ergebnis der Positive Control bzw. Negative Control nicht die Annahmekriterien, 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: Ist das Ergebnis der Positive Control bzw. Negative Control ungültig und wurden die Proben in denselben Lauf einbezogen, können die Proben genehmigt werden; ihre Ergebnisse werden jedoch nicht validiert. In diesem Fall müssen alle fehlgeschlagenen Kontrollen und Proben wiederholt werden.

C. Validierung der Probenergebnisse

Die **ELITE InGenius Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse für die Zielsequenz (Kanal **HCV**) und die Internal Control (Kanal **IC**) mit den Assay-Protokoll-Parametern **HCV ELITE PL_600_50** und **HCV ELITE Se_600_50**. Die resultierenden Ct-Zielwerte werden in Konzentrationswerte umgerechnet.

Die Ergebnisse werden auf dem Bildschirm „Results Display“ (Ergebnisanzeige) angezeigt.

Die Probenergebnisse können genehmigt werden, wenn die drei Bedingungen in der nachfolgenden Tabelle erfüllt sind.

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

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

Die Probenergebnisse werden von der **ELITE InGenius-Software** anhand der Assay-Protocol-Parameter automatisch interpretiert. Die möglichen Ergebnismeldungen sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt.

Für jede Probe meldet das System eine Kombination aus den folgenden Meldungen, die angeben, ob die Pathogen-RNAs nachgewiesen wurden oder nicht.

| 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) | In der Probe wurde HCV-RNA innerhalb des Messbereichs des Assays nachgewiesen , ihre Konzentration wird angezeigt. |
| HCV:RNA Detected, quantity below "LLoQ" copies / mL or IU / mL (HCV: RNA erkannt, Menge unter „LLoQ“ Kopien/ml oder IU/ml) | In der Probe wurde HCV-RNA nachgewiesen , ihre Konzentration liegt unterhalb der unteren Bestimmungsgrenze des Assays. |
| HCV:RNA Detected, quantity beyond "ULoQ" copies / mL or IU / mL (HCV: RNA erkannt, Menge über „ULoQ“ Kopien/ml oder IU/ml) | In der Probe wurde HCV-RNA nachgewiesen , ihre Konzentration liegt oberhalb der oberen Bestimmungsgrenze des Assays. |
| 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 die Ziel-RNA getestet oder die Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays. |
| Invalid-Retest Sample (Ungültig – Probe erneut testen) | Ungültiges Testergebnis durch fehlerhafte Internal Control (z. B. aufgrund von falscher Extraktion, Verschleppung von Inhibitoren). Der Test sollte wiederholt werden. |

Als „Invalid - Retest Sample“ (Ungültig - Probe erneut testen) ausgegebene Proben: In diesem Fall wurde die Internal-Control-RNA möglicherweise aufgrund von Problemen beim Probenentnahme-, Extraktions-, RT- (reverse Transkription) oder PCR-Schritt nicht effizient erkannt (z. B. falsche Probenahme, Abbau oder Verlust von RNA während der Extraktion oder 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. (siehe „Fehlerbehebung“).

Als „HCV:RNA Not Detected or below "LoD" copies / mL or IU / mL“ (HCV: RNA nicht erkannt oder unter „LoD“ Kopien/ml oder IU/ml) ausgegebene Proben sind für die Analyse geeignet, HCV-RNA wurde jedoch nicht nachgewiesen. In diesem Fall kann entweder die Probe für HCV-RNA negativ sein oder die HCV-RNA ist bei einer Konzentration unter der Nachweisgrenze des Assays vorhanden (siehe „Leistungsmerkmale“).

HCV-RNA-positive Proben mit einer Konzentration unter der Nachweisgrenze (und der unteren Bestimmungsgrenze) des Assays werden, falls nachgewiesen, als „HCV:RNA Detected, quantity below "LLoQ" copies / mL or IU / mL“ (HCV: RNA erkannt, Menge unter der unteren Bestimmungsgrenze in Kopien/ml oder IU/ml) ausgegeben (siehe „Leistungsmerkmale“).

HCV-RNA-positive Proben innerhalb des linearen Messbereichs (siehe „Leistungsmerkmale“) werden erkannt und als „HCV:RNA Detected, quantity equal to "XXX" copies / mL or IU / mL“ (HCV: RNA erkannt, Menge gleich „XXX“ Kopien/ml oder IU/ml) ausgegeben.

HCV-RNA-positive Proben, die oberhalb der oberen Bestimmungsgrenze liegen, werden als „HCV:RNA Detected, quantity beyond "ULoQ" copies / mL or IU / mL“ (HCV: RNA erkannt, Menge über „ULoQ“ Kopien/ml oder IU/ml) ausgegeben und sind nicht zur Quantifizierung geeignet. Falls erforderlich muss die Probe vor der Extraktion oder dem PCR-Test verdünnt und erneut getestet werden, um Ergebnisse innerhalb des linearen Messbereichs des Assays zu erzielen.

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

Hinweis: Bei der Interpretation der mit dem Assay erhaltenen Ergebnisse müssen alle relevanten klinischen Beobachtungen und Laborbefunde herangezogen werden.

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

D. Ausgabe des Probenergebnisberichts

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

Der „Sample Report“ zeigt die Ergebnisdetails 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.

VERFAHREN BEI ELITE BeGenius

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

| SCHRITT 1 | Prüfung der Systembereitschaft | |
|-----------|--|---|
| SCHRITT 2 | Einrichtung des Laufs | A) Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR]) |
| | | B) Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR]) |
| | | C) Kalibrationslauf (PCR Only [nur PCR]) |
| | | D) Lauf für die Positive Control und Negative Control (PCR Only [nur PCR]) |
| SCHRITT 3 | Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse | A) Validierung der Kalibrationskurve |
| | | B) Validierung der Ergebnisse der Positive Control und der Negative Control |
| | | C) Validierung der Probenergebnisse |
| | | D) Ausgabe des Probenergebnisberichts |

SCHRITT 1 – Prüfung der Systembereitschaft

Vor Beginn des Laufs:

- **ELITE BeGenius** einschalten und den Modus „**CLOSED**“ (geschlossen) auswählen,
- auf der Startseite im Menü „Calibrations“ (Kalibrationen) bestätigen, dass die Kalibratoren (**HCV Q-PCR Standard**) 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 in den folgenden Abschnitten beschrieben durchführen,

auf der Startseite im Menü „Controls“ (Kontrollen) bestätigen, dass die PCR-Kontrollen (**HCV Positive Control, HCV Negative Control**) für die zu verwendende Charge des **HCV PCR Mix** genehmigt und gültig (Status) sind. Wenn keine gültigen PCR-Kontrollen für die Charge **HCV PCR Mix** verfügbar sind, die PCR-Kontrollen wie in den folgenden Abschnitten beschrieben durchführen,

- den Typ des Laufs auswählen, dazu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche zur Einrichtung des Laufs befolgen und die von EG SpA bereitgestellten Assay-Protokolle verwenden (siehe „Proben und Kontrollen“).

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

SCHRITT 2 – Einrichtung des Laufs

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

A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR]),

HCV ELITe MGB® Kit

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

REF RTK601ING

- B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR]),
- C. Kalibrationslauf (PCR Only [nur PCR]),
- D. Lauf 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 mit dem „Laboratory Information System“ (Laborinformationssystem – LIS) verbunden werden, worüber die Laufinformationen heruntergeladen werden können. Weitere Informationen finden Sie im Gerätehandbuch.

Vor dem Einrichten eines Laufs:

1. Die benötigten **HCV PCR Mix**-Röhrchen 30 Minuten bei Raumtemperatur auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für **24 Tests** unter optimalen Bedingungen (mindestens 5 Tests pro Lauf). Dreimal durch Vortexen bei niedriger Drehzahl 10 Sekunden lang mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

Hinweis: Den **PCR Mix** lichtgeschützt auftauen lassen, da dieses Reagenz lichtempfindlich ist.

2. Die benötigten **RT EnzymeMix** Röhrchen herausnehmen. Jedes Röhrchen reicht aus für **48 Tests** unter optimalen Bedingungen (mindestens 5 Tests pro Lauf). Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

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

3. Ein 2-ml-Röhrchen (Sarstedt Art.-Nr. 72.694.005, nicht im Lieferumfang des Kits enthalten) für das **komplette Reaktionsgemisch** zubereiten und mit einem Permanentmarker beschriften.
4. Die benötigten Volumina von **HCV PCR Mix** und **RT EnzymeMix** für die Zubereitung des **kompletten Reaktionsgemischs** auf Grundlage der Anzahl (N) an zu analysierenden Proben berechnen, wie in der nachstehenden Tabelle beschrieben.

| Probenanzahl (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 |
| $13 \leq N \leq 18$ | $(N + 3) \times 20 \mu\text{l}$ | $(N + 3) \times 0,3 \mu\text{l}$ |
| $19 \leq N \leq 23$ | $(N + 4) \times 20 \mu\text{l}$ | $(N + 4) \times 0,3 \mu\text{l}$ |
| $N = 24$ | 580 μl | 8,7 μl |

5. Das **komplette Reaktionsgemisch** zubereiten: dazu die errechneten Volumina der zwei Komponenten in das beschriftete 2-ml-Röhrchen überführen. Dreimal durch Vortexen bei niedriger Drehzahl 10 Sekunden lang mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

Hinweis: Das **komplette Reaktionsgemisch** kann innerhalb von **7 Stunden** verwendet werden, wenn es in einem gekühlten Block aufbewahrt wird (für 2 Läufe von je 3 Stunden und für die Zeit, die zum Starten eines dritten Laufs benötigt wird). Das komplette Reaktionsgemisch **darf nicht** zur Wiederverwendung aufbewahrt werden.

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

Zum Einrichten eines der vier Lauftypen die folgenden Schritte unter Beachtung der grafischen Benutzeroberfläche ausführen:

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

| | A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR]) | B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR]) |
|----|---|---|
| 1 | <p>Proben identifizieren und, falls erforderlich, auf Raumtemperatur auftauen, vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.</p> <p>Für diesen Test müssen 600 µl Probe in ein zuvor etikettiertes 2-ml-Sarstedt-Röhrchen (nicht im Lieferumfang enthalten) überführt werden. ELITE BeGenius behält überschüssiges Volumen im 2-ml-Sarstedt-Röhrchen.</p> <p>Die benötigten CPE-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.</p> | <p>Falls erforderlich, das Elutionsröhrchen mit den extrahierten Nukleinsäuren auf Raumtemperatur auftauen. Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.</p> |
| 2 | Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen. | Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen. |
| 3 | Alle Racks aus der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen. | Die „Racks“ aus „Lane 1, 2 und 3 (L1, L2 und L3)“ der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen. |
| 4 | Den Laufmodus („Run mode“) wählen: „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR). | Den Laufmodus („Run mode“) wählen: „PCR Only“ (Nur PCR). |
| 5 | Die Proben in das „Sample Rack“ (Probenständer) laden . (Hinweis: Wenn als Sekundärrohrrchen „2 mL Tubes“ (2-ml-Röhrchen) geladen werden, verwenden Sie die blauen Adapter für das „Sample Rack“ [Probenständer]). | Die Proben in das „Elution Rack“ (Elutionsablage) laden. |
| 6 | Das „ Sample Rack “ in die „Cooler Unit“ einsetzen , beginnend mit „Lane 5“ (L5). Unter „Sample ID“ (SID) die Proben-ID für jede verwendete „Position“ eingeben. (Beim Laden von Sekundärrohrrchen „2-ml-Röhrchen“ angeben. Bei Sekundärrohrrchen ohne Barcode die Proben-ID manuell eingeben. | Das „Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ einsetzen, beginnend mit „Lane 3“ (L3). Für jede „Position“ die „Sample ID“ (Proben-ID), die „Sample Matrix“ (Probenmatrix), das „Extraction Kit“ (Extraktionskit) und das „Extracted eluate vol.“ (extrahierte Eluatvolumen) eingeben. |
| 7 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 8 | Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 600 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 50 µl beträgt. | Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 600 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 50 µl beträgt. |
| 9 | Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“). | Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“). |
| 10 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 11 | Bei Verarbeitung von mehr als 12 Proben das Verfahren ab Punkt 6 wiederholen. | Bei Verarbeitung von mehr als 12 Proben das Verfahren ab Punkt 6 wiederholen. |
| 12 | Die „ Elution tubes “ (Elutionsröhrchen) in das „Elution Rack“ (Elutionsablage) laden (Elutionsröhrchen können zur Verbesserung der Rückverfolgbarkeit mit einem Barcode etikettiert werden). | Nicht anwendbar. |
| 13 | Das „Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ einsetzen, beginnend mit „Lane 3“ (L3). Bei Verarbeitung von mehr als 12 Proben das Verfahren wiederholen und dabei „Lane 2“ (L2) verwenden. | Nicht anwendbar. |
| 15 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Nicht anwendbar. |
| 16 | CPE und das komplette Reaktionsgemisch in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenzrack/Elutionsablage) laden . | Das komplette Reaktionsgemisch in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) laden . |
| 17 | Das „Reagent/Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ in „Lane 2“ (L2), falls verfügbar, oder in „Lane 1“ (L1) einsetzen. Für jeden PCR-Mix und/oder CPE unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben. | Das „Reagent/Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ in „Lane 2“ (L2), falls verfügbar, oder in „Lane 1“ (L1) einsetzen. Für jeden PCR-Mix unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben. |
| 18 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 19 | Die Spitzen in dem/den „Tip Rack(s)“ (Spitzenständer/n) im „Inventory Area“ (Invetarbereich) prüfen und Spitzenständer | Die Spitzen in dem/den „Tip Rack(s)“ (Spitzenständer/n) im „Inventory Area“ (Invetarbereich) |

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

| | A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR]) | B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR]) |
|----|---|---|
| | ggf. ersetzen. | prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen. |
| 20 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 21 | Das „PCR Rack“ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) laden . | Das „PCR Rack“ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) laden . |
| 22 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 23 | Den „Extraction Rack“ (Extraktionsrack) mit den „ELITE InGenius SP 1000“ Extraktionskartuschen und die für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden . | Nicht anwendbar. |
| 24 | Schließen Sie die Gerätetür. | Schließen Sie die Gerätetür. |
| 25 | „Start“ (Starten) drücken. | „Start“ (Starten) drücken. |

| | C. Kalibrationslauf (PCR Only [nur PCR]) | D. Lauf für die Positive Control und Negative Control (PCR Only [nur PCR]) |
|----|--|---|
| 1 | Die Q-PCR Standard-Röhrchen auftauen (Cal1: Q-PCR Standard 10 ² , Cal2: Q-PCR Standard 10 ³ , Cal3: Q-PCR Standard 10 ⁴ , Cal4: Q-PCR Standard 10 ⁵) 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen . Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. | Die Positive Control-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen . Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Die Negative Control vorbereiten: dazu mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie in ein Elutionsröhrchen überführen, das im Lieferumfang des ELITE InGenius SP 1000 Consumable Set enthalten ist. |
| 2 | Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen. | Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen. |
| 3 | Die „Racks“ aus „Lane 1, 2 und 3 (L1, L2 und L3)“ der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen. | Die „Racks“ aus „Lane 1, 2 und 3 (L1, L2 und L3)“ der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen. |
| 4 | Den Rund Mode („run mode“) wählen: „PCR Only“ (Nur PCR). | Den Laufmodus („Run mode“) wählen: „PCR Only“ (Nur PCR) |
| 5 | Die Q-PCR Standard-Röhrchen in das „Elution Rack“ (Elutionsablage) laden . | Die Röhrchen für die Positive Control und Negative Control in das „Elution Rack“ (Elutionsablage) laden . |
| 6 | Das „ Elution Rack “ in die „Cooler Unit“ einsetzen , beginnend mit „Lane 3“ (L3). Falls erforderlich, für jede „Position“ unter „Reagent name“ den Reagenznamen, unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben. | Das „ Elution Rack “ in die „Cooler Unit“ einsetzen , beginnend mit „Lane 3“ (L3). Falls erforderlich, für jede „Position“ unter „Reagent name“ den Reagenznamen, unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben. |
| 7 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 8 | Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 600 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 50 µl beträgt. | Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 600 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 50 µl beträgt. |
| 9 | Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“). | Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“). |
| 10 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 11 | Das komplette Reaktionsgemisch in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) laden . | Das komplette Reaktionsgemisch in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) laden . |
| 12 | Das „ Reagent/Elution Rack “ in die „Cooler Unit“ in „Lane 2“ (L2) einsetzen . Für jeden PCR-Mix unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben. | Das „ Reagent/Elution Rack “ in die „Cooler Unit“ in „Lane 2“ (L2) einsetzen. Für jeden PCR-Mix unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben. |
| 13 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 14 | Die Spitzen in den Spitzenständern („Tip Racks“) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen. | Die Spitzen in den Spitzenständern („Tip Racks“) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen. |
| 15 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

| | C. Kalibrationslauf (PCR Only [nur PCR]) | D. Lauf für die Positive Control und Negative Control (PCR Only [nur PCR]) |
|----|---|---|
| 16 | Das „PCR Rack“ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) laden . | Das „PCR Rack“ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) laden . |
| 17 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 18 | Schließen Sie die Gerätetür. | Schließen Sie die Gerätetür. |
| 19 | „Start“ (Starten) drücken. | „Start“ (Starten) drücken. |

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 muss die übrige extrahierte Probe im **Elution Tube** (Elutionsröhrchen) aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen, gekennzeichnet und maximal einen Monat bei -20 ± 10 °C gelagert werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

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

Hinweis: Am Ende des Laufs kann der übrige **Q-PCR Standard** aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und bei -20 °C oder darunter aufbewahrt werden. Verschütten des Q-PCR Standard vermeiden.

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

Hinweis: Am Ende des Laufs müssen die **PCR-Kassette** und die anderen Verbrauchsmaterialien unter Berücksichtigung sämtlicher gesetzlicher und umweltrechtlicher Vorschriften entsorgt werden. Ein Verschütten der Reaktionsprodukte vermeiden.

SCHRITT 3 – Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

ELITE BeGenius überwacht die Fluoreszenzsignale der Zielsequenz und der Internal Control 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 Ergebnisse und die Laufinformationen dargestellt. Über diesen Bildschirm können Ergebnisse genehmigt und Berichte („Sample Report“ (Probenbericht) oder „Track Report“ (Spurbericht)) ausgedruckt oder gespeichert werden. Weitere Informationen finden Sie im Gerätehandbuch.

Hinweis: **ELITE BeGenius** kann mit dem „Laboratory Information System“ (Laborinformationssystem – LIS) verbunden werden, worüber die Laufinformationen heruntergeladen werden können. Weitere Informationen finden Sie im Gerätehandbuch.

ELITE BeGenius generiert Ergebnisse mithilfe des **HCV ELITE MGB Kit** und geht dabei folgendermaßen vor:

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

Hinweis: Einzelheiten sind dem entsprechenden Abschnitt unter **Verfahren** bei **ELITE InGenius** zu entnehmen.

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

LEISTUNGSMERKMALE**Nachweisgrenze (LoD)**

Die Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) des Assays wurde auf dem ELITE InGenius-Gerät bestimmt, indem ein Panel von HCV-negativem ACD-Plasma getestet wurde, das mit zertifiziertem Referenzmaterial von HCV (6th WHO International Standard, NIBSC) dotiert war. Die Ergebnisse wurden einer Probit-Regressionsanalyse unterzogen, und die LoD wurde als die Konzentration geschätzt, die einer 95 %igen Wahrscheinlichkeit eines positiven Ergebnisses entspricht.

Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen aufgeführt.

| Nachweisgrenze (IU/ml) bei ACD-Plasmaproben und ELITE InGenius | | | |
|--|-----|-------------------------|------------|
| Ziel | LoD | 95 % Konfidenzintervall | |
| | | Untergrenze | Obergrenze |
| HCV | 26 | 19 | 48 |

Die Nachweisgrenze in Kopien/ml bei ACD-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 ACD-Plasmaproben und ELITE InGenius | | | |
|--|-----|-------------------------|------------|
| Ziel | LoD | 95 % Konfidenzintervall | |
| | | Untergrenze | Obergrenze |
| HCV | 11 | 8 | 20 |

Zur Bestätigung des berechneten LoD-Werts wurden auf ELITE InGenius und ELITE BeGenius ein Pool aus ACD-Plasmaproben, ein Pool aus EDTA-Plasmaproben und ein Pool aus Serumproben, die mit zertifiziertem HCV-Referenzmaterial in der angegebenen Konzentration dotiert waren, getestet.

Die erhaltenen Ergebnisse bestätigten die behauptete Konzentration für das Zielgen des HCV ELITE MGB Kit sowohl bei ELITE BeGenius als auch bei ELITE InGenius.

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

Die Matrixäquivalenz des HCV ELITE MGB Kit wurde anhand von gepaarten Proben (desselben Spenders) von EDTA- und ACD-Plasma sowie EDTA-Plasma und Serum auf ELITE InGenius überprüft.

Für 30 Proben, die mit einem CE-IVD-gekennzeichneten Immunoassay negativ auf HCV getestet wurden, wurden die negative prozentuale Übereinstimmung (NPA) und der Variationskoeffizient (VK %) der Ct-Werte der Internal Control bewertet.

Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen aufgeführt.

| Probe | Anzahl | Positiv | Negativ | NPA | IC Ct VK % | Gesamt-IC Ct VK % |
|-------------|--------|---------|---------|-------|---------------|----------------------|
| EDTA-Plasma | 30 | 0 | 30 | 100 % | 0,89 | 0,95 |
| ACD-Plasma | 30 | 0 | 30 | | 1,02 | |

| Probe | Anzahl | Positiv | Negativ | NPA | HCV Ct VK % | Gesamt-HCV Ct VK % |
|-------------|--------|---------|---------|-------|----------------|-----------------------|
| EDTA-Plasma | 30 | 30 | 0 | 100 % | 0,90 | 1,11 |
| Serum | 30 | 30 | 0 | | 1,28 | |

Für 30 Proben, die mit zertifiziertem Referenzmaterial (6th WHO HCV International Standard, NIBSC) dotiert waren, wurden die positive prozentuale Übereinstimmung (PPA) und der Variationskoeffizient (VK %) der HCV-Ct-Werte bewertet.

Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen aufgeführt.

| Probe | Anzahl | Positiv | Negativ | PPA | HCV Ct VK % | Gesamt-HCV Ct VK % |
|-------------|--------|---------|---------|-------|----------------|-----------------------|
| EDTA-Plasma | 30 | 30 | 0 | 100 % | 1,96 | 1,79 |
| ACD-Plasma | 30 | 30 | 0 | | 1,60 | |

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

| Probe | Anzahl | Positiv | Negativ | PPA | HCV Ct VK % | Gesamt-HCV Ct VK % |
|-------------|--------|---------|---------|-------|----------------|-----------------------|
| EDTA-Plasma | 30 | 30 | 0 | 100 % | 1,84 | 1,81 |
| Serum | 30 | 30 | 0 | | 1,77 | |

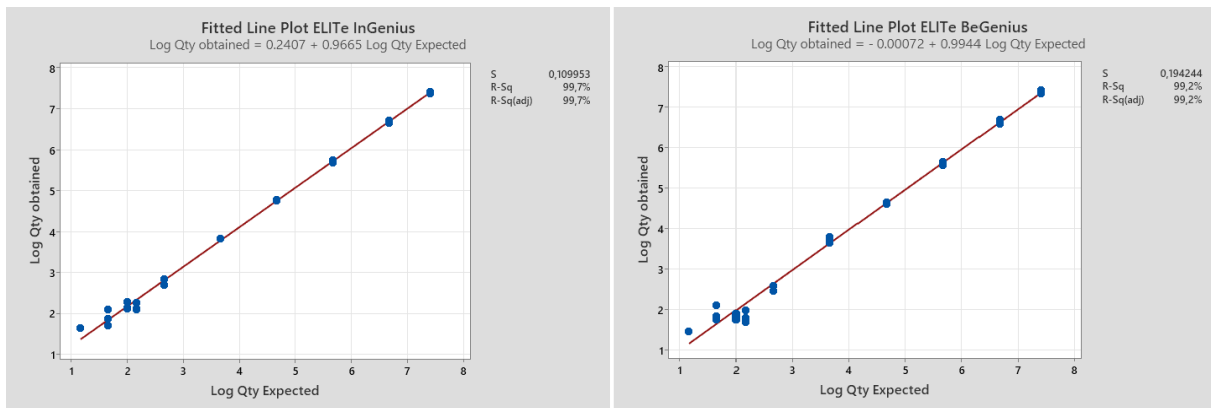
In diesen Tests wiesen sowohl die 30 gepaarten EDTA-Plasma- und ACD-Plasmaproben als auch die 30 gepaarten EDTA-Plasma- und Serumproben bei der Analyse mit dem HCV ELITE MGB® Kit in Kombination mit ELITE InGenius gleichwertige Leistungen auf.

Weitere Matrixäquivalenz-Tests wurden bei der im folgenden Abschnitt angegebenen Untersuchung des linearen Messbereichs durchgeführt.

Linearer Messbereich

Der lineare Messbereich des Assays wurde zusammen mit Plasmaproben auf Elite InGenius und ELITE BeGenius mithilfe einer Reihe von Verdünnungen von HCV-Referenzmaterial (AcroMetrix) in negativen EDTA-Plasmaproben bestimmt.

Die Ergebnisse sind in den folgenden Abbildungen aufgeführt.



Der lineare Messbereich als Kopien/ml für EDTA-Plasma wird unter Anwendung des spezifischen Umrechnungsfaktors berechnet, der im folgenden Abschnitt angegeben ist.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

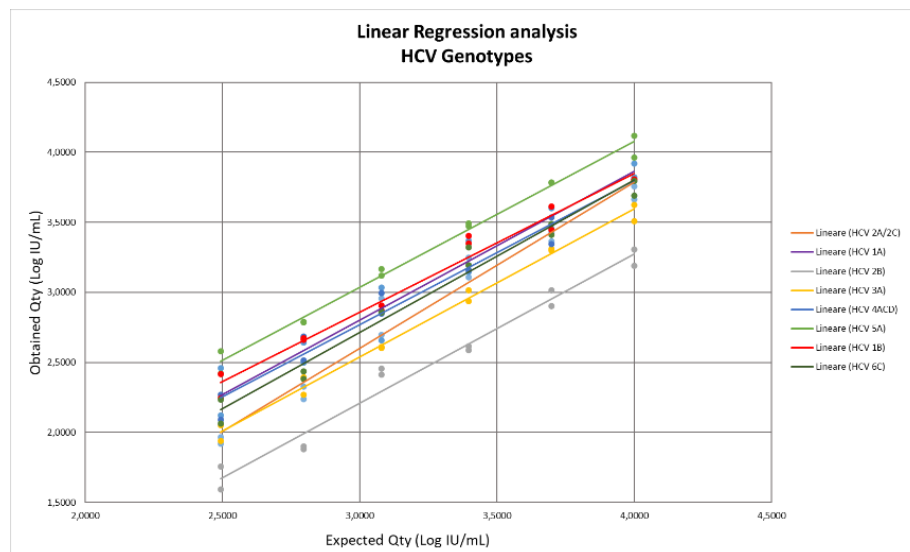
| Linearer Messbereich für HCV ELITE MGB Kit und ELITE InGenius und ELITE BeGenius | |
|--|----------------------|
| Untere Grenze | Obere Grenze |
| 26 IU/ml | 25.000.001 IU/ml |
| 11 Kopien/ml | 10.416.667 Kopien/ml |

Für die wichtigsten HCV-Genotypen (1, 2, 3, 4, 5, 6) wurde die Linearität der Quantifizierung durch Analyse von negativem EDTA-Plasma, das mit HCV-Referenzmaterial (SeraCare) dotiert war, verifiziert. Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung aufgeführt.

HCV ELITe MGB® Kit

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

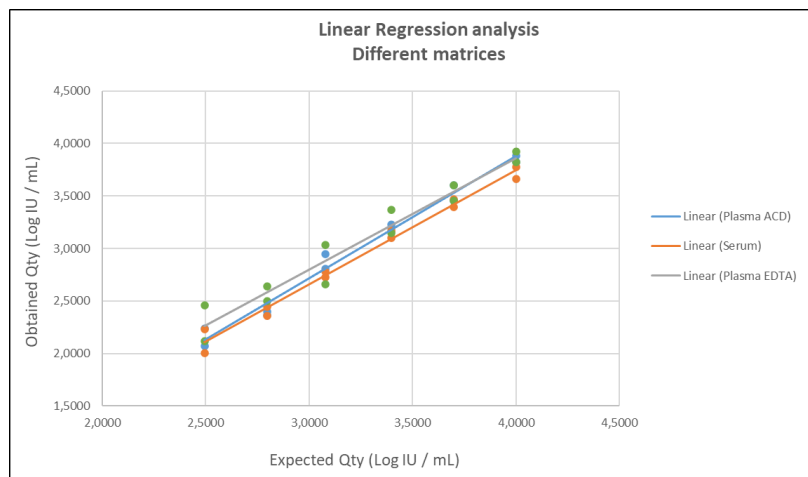
REF RTK601ING



Die 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 $\pm 0,5$ 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. Dieselben Proben wurden jedoch von „cobas® HCV for use on the 6800 Systems“ (Roche Diagnostics) zu niedrig angesetzt.

Die Linearität des Assays wurde mittels Analyse von negativem EDTA-Plasma, negativem ACD-Plasma und negativem Serum, das mit HCV-Referenzmaterial (6th WHO International Standard, NIBSC) dotiert war, verifiziert.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung aufgeführt.



Die Linearität des Assays wurde für EDTA-Plasma, ACD-Plasma und Serum verifiziert; dabei lagen die quantitativen Ergebnisse innerhalb von $\pm 0,5$ log IU/ml und R² bei 0,950, 0,984 bzw. 0,987.

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

Unsicherheit der Standardkurve

Der Unsicherheitswert der Standardkurve wurde durch Kombination der zufälligen Fehler (SD) aller Levelquantifizierungen und Multiplikation mit dem Abdeckungsfaktor $k = 2$ (erweiterte kombinierte Unsicherheit) berechnet und beträgt 0,1416 log Kopien/Reaktion.

| Standardkurven-Levels | Theoretisch | SD | Erweiterte kombinierte Unsicherheit |
|-----------------------|---------------------|--------|-------------------------------------|
| | Log Kopien/Reaktion | | |
| HCV Standard 10^5 | 5,0000 | 0,0652 | 0,1416 |
| HCV Standard 10^4 | 4,0000 | 0,0641 | |
| HCV Standard 10^3 | 3,0000 | 0,0489 | |
| HCV Standard 10^2 | 2,0000 | 0,0964 | |

Inklusivität: Nachweis- und Quantifizierungseffizienz bei verschiedenen Genotypen

Die Inklusivität des Assays als die Nachweiseffizienz für verschiedene Genotypen des HCV wurde mittels *In-silico*-Analyse der in den Nukleotid-Datenbanken verfügbaren Sequenzen bewertet. Die Analyse zeigte eine Sequenzerhaltung und ein Nichtvorhandensein signifikanter Mutationen. Daher wird ein effizienter Nachweis für die verschiedenen Stämme oder Isolate erwartet.

Die Inklusivität des Assays wurde durch Testen dreier Panels von HVC-Referenzmaterial (Seracare, AccuTrak, Qnostics) bei 3 x LoD verifiziert.

Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen aufgeführt.

| AccuTrak HCV RNA Genotype Performance Panel (SeraCare) | | |
|---|-----------------|------------------|
| Proben-ID | Pos. / Wiederh. | Ergebnis |
| HCV 1a | 3/3 | HCV nachgewiesen |
| HCV 1b | 3/3 | HCV nachgewiesen |
| HCV 2a/2c | 3/3 | HCV nachgewiesen |
| HCV 2b | 3/3 | HCV nachgewiesen |
| HCV 3a | 3/3 | HCV nachgewiesen |
| DHCV 4acd | 3/3 | HCV nachgewiesen |
| HCV 5a | 3/3 | HCV nachgewiesen |
| HCV 6c | 3/3 | HCV nachgewiesen |
| HCV Genotype Evaluation Panel (Qnostics) | | |
| Proben-ID | Pos. / Wiederh. | Ergebnis |
| HCV 1a | 3/3 | HCV nachgewiesen |
| HCV 1b | 3/3 | HCV nachgewiesen |
| HCV 2b | 3/3 | HCV nachgewiesen |
| HCV 3a | 3/3 | HCV nachgewiesen |
| HCV 4a | 3/3 | HCV nachgewiesen |
| HCV 5a | 3/3 | HCV nachgewiesen |
| HCV 6a | 3/3 | HCV nachgewiesen |
| Non WHO Reference Material 4th HCV RNA Genotype Panel (NIBSC) | | |
| Proben-ID | Pos. / Wiederh. | Ergebnis |
| HCV 1a | 3/3 | HCV nachgewiesen |
| HCV 1b | 3/3 | HCV nachgewiesen |
| HCV 2i | 3/3 | HCV nachgewiesen |
| HCV 3a | 3/3 | HCV nachgewiesen |
| HCV 4r | 3/3 | HCV nachgewiesen |
| HCV 5a | 3/3 | HCV nachgewiesen |
| HCV 6l | 3/3 | HCV nachgewiesen |

Alle Proben wurden mit dem HCV ELITE MGB® Kit auf ELITE InGenius korrekt als positiv erkannt und innerhalb von $\pm 0,5$ log quantifiziert.

HCV ELITe MGB® Kit

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

REF RTK601ING

Potenziell interferierende Marker: Kreuzreaktivität

Die potenzielle Kreuzreaktivität mit unbeabsichtigten Organismen, die in klinischen Proben vorkommen können, wurde für den Assay durch eine *In-silico*-Analyse bewertet. Die Analyse ergab keine signifikante Homologie mit anderen unbeabsichtigten Organismen (Viren, Bakterien, Protozoen und Pilze). Es wird daher keine Kreuzreaktivität erwartet.

Das Fehlen einer Kreuzreaktivität mit anderen Organismen wurde auch durch die Analyse eines Panels unbeabsichtigter Organismen (ATCC, NIBSC, Vircell und ZeptoMetrix) mit hohem Titer überprüft. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

| Proben-ID | Pos. / Wiederh. | Ergebnis |
|------------------------------|-----------------|------------------------|
| HIV1 | 0/3 | Keine Kreuzreaktivität |
| HIV2 | 0/3 | Keine Kreuzreaktivität |
| HTLVI | 0/3 | Keine Kreuzreaktivität |
| HTLVII | 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 |
| 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 |
| WNV (NIBSC) | 0 / 12 | Keine Kreuzreaktivität |
| WNV (ATCC) | 0 / 3 | Keine Kreuzreaktivität |
| WNV (Vircell) | 0 / 5 | Keine Kreuzreaktivität |
| DV1 | 0 / 5 | Keine Kreuzreaktivität |
| DV2 | 0 / 5 | Keine Kreuzreaktivität |
| DV3 (Vircell) | 0 / 5 | Keine Kreuzreaktivität |
| DV3 (ATCC) | 0 / 3 | Keine Kreuzreaktivität |
| DV4 | 0 / 5 | Keine Kreuzreaktivität |
| Yellow Fever Virus | 0 / 5 | Keine Kreuzreaktivität |
| Zika Virus Asian | 0 / 5 | Keine Kreuzreaktivität |
| Zika Virus | 0 / 5 | Keine Kreuzreaktivität |
| Chikungunya virus | 0 / 5 | Keine Kreuzreaktivität |

Alle getesteten potenziell interferierenden Marker wiesen für die HCV-Zielamplifikation mit dem HCV ELITe MGB Kit keine Kreuzreaktivität auf.

Potenziell interferierende Marker: Inhibition

Die potenzielle Inhibition unbeabsichtigter Organismen, die in klinischen Proben vorkommen können, wurde für den Assay durch die Analyse von Panels unbeabsichtigter Organismen (ATCC, NIBSC, ZeptoMetrix) bei 3 x LoD bewertet.

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 | 3/3 | Keine Interferenz |
| HIV2 | 3/3 | Keine Interferenz |
| HTLVI | 3/3 | Keine Interferenz |
| HTLVII | 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 |
| 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 allen getesteten potenziell interferierenden Organismen wurde im Test mit dem HCV ELITe MGB Kit keine Inhibition des Nachweises und der Quantifizierung des HCV-Zielorganismus nachgewiesen.

Potenziell interferierende Substanzen: Inhibition

Die potenzielle Inhibition interferierender Substanzen (endogen und exogen), die in klinischen Proben vorkommen können, wurde für den Assay durch die Analyse eines Panels von Substanzen in relevanten Konzentrationen in für die Zielorganismen positiven Plasmaproben bewertet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

| Probe | HCV Pos. / Wiederh. | Ergebnis |
|--------------------|---------------------|-------------------|
| Bilirubin | 3/3 | Keine Interferenz |
| Triglyzeride | 3/3 | Keine Interferenz |
| Hämoglobin hoch | 1/3 | Interferenz |
| Hämoglobin mittel | 3/3 | Interferenz |
| Hämoglobin niedrig | 3/3 | Keine Interferenz |
| Heparin | 0/3 | Interferenz |
| EDTA | 3/3 | Keine Interferenz |
| Ganciclovir | 3/3 | Keine Interferenz |
| Azithromycin | 3/3 | Keine Interferenz |
| Sofosbuvir | 3/3 | Keine Interferenz |
| Pibrentasvir | 3/3 | Keine Interferenz |
| Glecaprevir | 3/3 | Keine Interferenz |
| Ribavirin | 3/3 | Keine Interferenz |
| Velpatasvir | 3/3 | Keine Interferenz |

Die meisten getesteten Substanzen interferieren nicht mit der Amplifikation von HCV oder der internen Kontrolle.

Hinweis: Hämoglobin in mittlerer Konzentration (1,7–2,3 g/dl) gilt als interferierend, da es keine Quantifizierung der HCV-Zielsequenz mit mittleren Zielwerten der logarithmischen Größe innerhalb des von den internationalen Richtlinien geforderten Intervalls nach Addition oder Subtraktion des SEM-Wertes als Messfehler zulässt.

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

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

Kreuzkontamination

Die mögliche Kreuzkontamination während der Analyse wurde bewertet, indem 30 HCV-RNA-negative Plasmaproben im Wechsel mit 30 Plasmaproben, die mit zertifiziertem HCV-Referenzmaterial (ZeptoMetrix) dotiert waren, mit hohem Titer getestet wurden.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

| Proben | Anzahl | Positiv | Negativ |
|--|--------|---------|---------|
| ACD-Plasma dotiert auf 1×10^6 HCV IU/ml | 30 | 30 | 0 |
| ACD-Plasma, negativ auf HCV | 30 | 0 | 30 |

Bei diesem Test mit dem HCV ELITE MGB Kit wurde weder innerhalb der Läufe noch zwischen den Läufen eine Kreuzkontamination festgestellt.

Fehlerrate des Gesamtsystems

Zur Bewertung der Fehlerrate des Gesamtsystems für den Assay wurde ein Panel von mit zertifiziertem Referenzmaterial (6th WHO International Standard, NISBC) in einer Konzentration von 3 x LoD (zirka 78 IU/ml) dotierten Proben auf ELITE InGenius und ELITE BeGenius getestet.

Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen zusammengefasst.

| ELITE InGenius – Fehlerrate des Gesamtsystems | | | | | |
|---|--------|--------------------------|---------|---------|------------------------------|
| Proben | Anzahl | Theoretischer Wert IU/ml | Positiv | Negativ | Fehlerrate des Gesamtsystems |
| EDTA-Plasma, mit HCV dotiert | 100 | 78 | 100 | 0 | 0 % |
| ACD-Plasma, mit HCV dotiert | 30 | 78 | 30 | 0 | 0 % |
| Serum, mit HCV dotiert | 30 | 78 | 30 | 0 | 0 % |

| ELITE BeGenius – Fehlerrate des Gesamtsystems | | | | | |
|---|--------|--------------------------|---------|---------|------------------------------|
| Matrix | Anzahl | Theoretischer Wert IU/ml | Positiv | Negativ | Fehlerrate des Gesamtsystems |
| EDTA-Plasma, mit HCV dotiert | 100 | 78 | 100 | 0 | 0 % |

Bei diesem Test mit dem HCV ELITE MGB Kit lieferte keine der getesteten HCV-RNA-positiven Proben falsch-negative Ergebnisse. Bei diesem Test lag die Fehlerrate des Gesamtsystems bei 0 %.

Wiederholpräzision

Zur Bewertung der Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs und der laufübergreifenden Wiederholpräzision des Assays wurde auf ELITE InGenius und ELITE BeGenius eine Reihe von Plasmaproben analysiert, einschließlich einer negativen Probe und zweier Proben, die mit zertifiziertem HCV-Referenzmaterial (6th WHO International Standard, NIBSC) dotiert waren.

Ein Beispiel für die Ergebnisse der Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs (an einem Tag) ist in den nachstehenden Tabellen aufgeführt.

| Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs bei ELITE InGenius (Tag 1) | | | | | | | | |
|---|--------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------|------|
| Probe | Anzahl | HCV | | | | Internal Control | | |
| | | Mittlerer Ct-Wert | Mittlerer Ct-Wert | Mittlerer Ct-Wert | % Übereinstimmung | Mittlerer Ct-Wert | SD | VK % |
| Negativ | 8 | - | - | - | 100 % | 27,43 | 0,21 | 0,78 |
| 3X LOD | 8 | 37,28 | 0,34 | 0,92 | 100 % | | | |
| 10X LOD | 8 | 35,37 | 0,43 | 1,23 | 100 % | | | |

| Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs bei ELITE BeGenius (Tag 1) | | | | | | | | |
|---|--------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------|------|
| Probe | Anzahl | HCV | | | | Internal Control | | |
| | | Mittlerer Ct-Wert | Mittlerer Ct-Wert | Mittlerer Ct-Wert | % Übereinstimmung | Mittlerer Ct-Wert | SD | VK % |
| Negativ | 8 | - | - | - | 100 % | 27,87 | 0,30 | 1,08 |
| 3X LOD | 8 | 37,83 | 1,15 | 3,05 | 100 % | | | |
| 10X LOD | 8 | 35,45 | 0,30 | 0,85 | 100 % | | | |

Ein Beispiel für die Ergebnisse der laufübergreifenden Wiederholpräzision (an zwei Tagen) ist in den nachstehenden Tabellen aufgeführt.

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

Laufübergreifende Wiederholpräzision bei ELITE InGenius (Tag 1 + Tag 2)

| Probe | Anzahl | HCV | | | | Internal Control | | |
|---------|--------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------|------|
| | | Mittlerer Ct-Wert | Mittlerer Ct-Wert | Mittlerer Ct-Wert | % Übereinstimmung | Mittlerer Ct-Wert | SD | VK % |
| Negativ | 16 | - | - | - | 100 % | 27,41 | 0,18 | 0,66 |
| 3X LOD | 16 | 37,37 | 0,67 | 1,78 | 100 % | | | |
| 10X LOD | 16 | 35,40 | 0,43 | 1,22 | 100 % | | | |

Laufübergreifende Wiederholpräzision bei ELITE BeGenius(Tag 1 + Tag 2)

| Probe | Anzahl | HCV | | | | Internal Control | | |
|---------|--------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------|------|
| | | Mittlerer Ct-Wert | Mittlerer Ct-Wert | Mittlerer Ct-Wert | % Übereinstimmung | Mittlerer Ct-Wert | SD | VK % |
| Negativ | 16 | - | - | - | 100 % | 27,89 | 0,31 | 1,10 |
| 3X LOD | 16 | 37,68 | 0,25 | 2,31 | 100 % | | | |
| 10X LOD | 16 | 35,54 | 0,10 | 0,96 | 100 % | | | |

Beim Test der Wiederholpräzision erkannte der HCV ELITE MGB Kit die Zielsequenz und wies eine maximale Variabilität der Ct-Zielwerte als VK % gleich 3,05 % aus.

Vergleichspräzision

Zur Bewertung der standortübergreifenden Vergleichspräzision des Assays wurde auf ELITE InGenius ein Panel von negativen oder mit HCV (6th WHO International Standard, NIBSC) dotierten Plasmaproben analysiert.

Eine Übersicht der standortübergreifenden Vergleichspräzision (an zwei Standorten) ist in den nachfolgenden Tabellen dargestellt.

Standortübergreifende Vergleichspräzision bei ELITE InGenius

| Probe | Anzahl | HCV | | | | Internal Control | | |
|----------|--------|-------------------|------|------|-------------------|-----------------------|---------------|-----------------|
| | | Mittlerer Ct-Wert | SD | VK % | % Übereinstimmung | Mittelwert IC Ct-Wert | SD IC Ct-Wert | VK % IC Ct-Wert |
| Negativ | 24 | Unbestimmt | - | - | 100 % | 28,15 | 0,58 | 2,06 |
| 3 x LoD | 24 | 36,89 | 0,55 | 1,48 | 100 % | | | |
| 10 x LoD | 24 | 35,03 | 0,46 | 1,32 | 100 % | | | |

Beim Test der standortübergreifenden Vergleichspräzision erkannte der HCV ELITE MGB Kit die Zielsequenz und wies eine maximale Variabilität der Ct-Zielwerte als VK % gleich 1,48 % aus.

Zur Bewertung der Vergleichspräzision des Assays mit ELITE BeGenius und ELITE InGenius wurde ein Panel aus negativen bzw. mit HCV (6th WHO International Standard, NIBSC) dotierten Plasmaproben analysiert.

Eine Übersicht der geräteübergreifenden Vergleichspräzision (bei drei Geräten) ist in den nachfolgenden Tabellen dargestellt.

Geräteübergreifende Vergleichspräzision bei ELITE InGenius

| Probe | Anzahl | HCV | | | | Internal Control | | |
|----------|--------|-------------------|------|------|-------------------|-------------------|------|------|
| | | Mittlerer Ct-Wert | SD | VK % | % Übereinstimmung | Mittlerer Ct-Wert | SD | VK % |
| Negativ | 24 | Unbestimmt | - | - | 100 % | 27,69 | 0,34 | 1,24 |
| 3 x LoD | 24 | 37,03 | 0,53 | 1,44 | 100 % | | | |
| 10 x LoD | 24 | 33,97 | 0,38 | 1,11 | 100 % | | | |

Geräteübergreifende Vergleichspräzision bei ELITE BeGenius

| Probe | Anzahl | HCV | | | | Internal Control | | |
|----------|--------|-------------------|------|------|-------------------|-------------------|------|------|
| | | Mittlerer Ct-Wert | SD | VK % | % Übereinstimmung | Mittlerer Ct-Wert | SD | VK % |
| Negativ | 24 | Unbestimmt | - | - | 100 % | 28,52 | 0,61 | 2,13 |
| 3 x LoD | 23 | 38,00 | 0,71 | 1,86 | 100 % | | | |
| 10 x LoD | 24 | 36,44 | 0,67 | 1,84 | 100 % | | | |

Eine Übersicht der chargenübergreifenden Vergleichspräzision (bei drei Chargen) ist in den

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

nachfolgenden Tabellen dargestellt.

| Chargenübergreifende Vergleichspräzision bei ELITE InGenius | | | | | | | | |
|---|--------|-------------------|------|------|-------------------|-------------------|------|------|
| Probe | HCV | | | | | Internal Control | | |
| | Anzahl | Mittlerer Ct-Wert | SD | VK % | % Übereinstimmung | Mittlerer Ct-Wert | SD | VK % |
| Negativ | 48 | Unbestimmt | - | - | 100 % | 27,70 | 0,33 | 1,20 |
| 3 x LoD | 48 | 37,32 | 0,64 | 1,72 | 100 % | | | |
| 10 x LoD | 48 | 35,44 | 0,38 | 1,07 | 100 % | | | |

| Chargenübergreifende Vergleichspräzision bei ELITE BeGenius | | | | | | | | |
|---|--------|-------------------|------|------|-------------------|-------------------|------|------|
| Probe | HCV | | | | | Internal Control | | |
| | Anzahl | Mittlerer Ct-Wert | SD | VK % | % Übereinstimmung | Mittlerer Ct-Wert | SD | VK % |
| Negativ | 48 | Unbestimmt | - | - | 100 % | 28,20 | 0,40 | 1,41 |
| 3 x LoD | 48 | 37,60 | 0,71 | 1,88 | 100 % | | | |
| 10 x LoD | 48 | 35,78 | 0,48 | 1,33 | 100 % | | | |

Beim Test der geräteübergreifenden und der chargenübergreifenden Vergleichspräzision erkannte der HCV ELITE MGB Kit alle Proben wie erwartet korrekt und wies eine maximale Variabilität der Ct-Zielwerte als VK % gleich 1,88 % aus.

Faktor für die Umrechnung in internationale Einheiten

Der Umrechnungsfaktor zur Angabe der quantitativen Ergebnisse von Kopien/ml in internationale Einheiten (IU) / ml wurde unter Verwendung des zertifizierten kalibrierten Referenzmaterials „6th WHO HCV International Standard“ (NIBSC) verifiziert.

Als Umrechnungsfaktor wurde 2,4 IU/Kopie ermittelt.

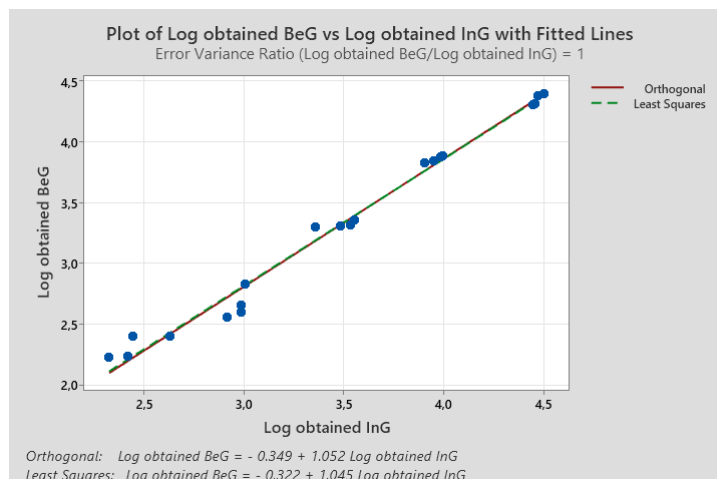
Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabelle zusammengefasst.

| 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 | |
| 31.623 | 4,5000 | 27 | 13.233 | 31.254 | 4,4807 | +0,0193 |
| 10000 | 4,0000 | 27 | 4.482 | 10.595 | 4,0133 | +0,0133 |
| 3162 | 3,5000 | 27 | 1414 | 3.342 | 3,5091 | -0,0091 |
| 1000 | 3,0000 | 27 | 439 | 1036 | 2,9969 | +0,0031 |

Da die Gleichwertigkeit zwischen EDTA-Plasma, ACD-Plasma und Serum zuvor bewiesen wurde, kann der Umrechnungsfaktor auf alle drei Matrices angewandt werden.

Der Umrechnungsfaktor von Kopien/ml in internationale Einheiten (IU) / ml zur Angabe der quantitativen Ergebnisse wurde auf den **Geräten ELITE BeGenius** und **ELITE InGenius** unter Verwendung des zertifizierten kalibrierten Referenzmaterials (6th WHO International Standard, NIBSC) verifiziert.

Die erhaltenen Ergebnisse wurden mittels orthogonaler und linearer Regression analysiert, um ihre Korrelation zu berechnen.



HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

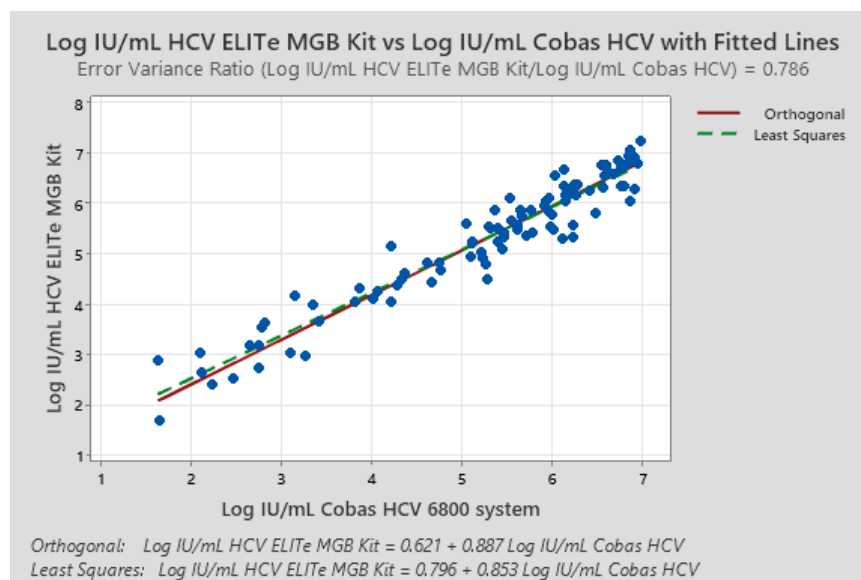
Die orthogonale Regressionsanalyse ergab einen Achsenabschnitt von -0,3494 (95%-KI: -0,5546 bis 0,1442) und eine Steigung von 1,0523 (95%-KI: 0,9943 bis 1,1103). Die Analyse der linearen Regression ergab einen R²-Wert von 0,985.

Diagnostische Sensitivität: Methodenkorrelation

Die diagnostische Sensitivität des Assays, die durch eine Korrelationsanalyse verschiedener Methoden ermittelt wurde, wurde an drei verschiedenen Standorten durch die Analyse HCV-RNA-positiver klinischer Proben von Patienten, die sich einer antiviralen Therapie unterzogen und deren Viruslast innerhalb des Messbereichs des HCV ELITE MGB Kit und CE/IVD-gekennzeichnete molekular diagnostischer Referenzmethoden lag, mit **ELITE InGenius** bewertet. Die mit dem HCV ELITE MGB Kit und der Referenzmethode erhaltenen Ergebnisse wurden mittels Deming- und linearer Regression analysiert.

Die Korrelationsstudie wurde an einem Standort mit 95 HCV-RNA-positiven klinischen EDTA-Plasmaproben durchgeführt, wobei „cobas® HCV for use on the 6800 System“ als Vergleichsmethode herangezogen wurde.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung zusammengefasst.



In diesem Test ergab die Deming-Regressionanalyse eine Steigung von 0,887 (95%-KI: 0,836; 0,938) und einen Achsenabschnitt von 0,621 (95%-KI: 0,345 bis 0,896). Die Analyse der linearen Regression ergab einen R²-Wert von 0,926.

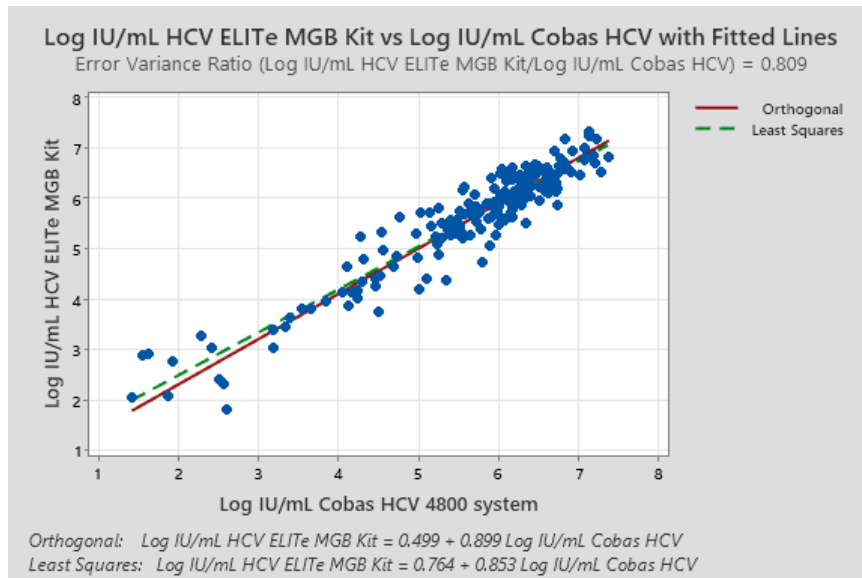
Die Korrelationsstudie wurde an zwei weiteren Standorten mit 184 HCV-RNA-positiven klinischen EDTA-Plasma- und Serumproben durchgeführt, wobei „cobas® HCV for use on the 4800 System“ als Vergleichsmethode herangezogen wurde.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung zusammengefasst.

HCV ELITe MGB® Kit

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

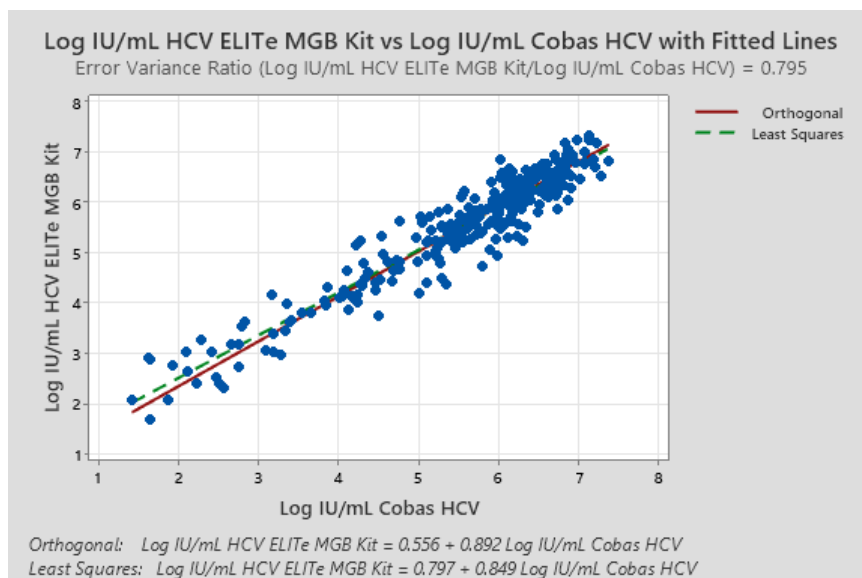
REF RTK601ING



In diesem Test ergab die Deming-Regressionsanalyse eine Steigung von 0,899 (95%-KI: 0,856; 0,943) und einen Achsenabschnitt von 0,499 (95%-KI: 0,245 bis 0,753). Die Analyse der linearen Regression ergab einen R²-Wert von 0,899.

Da zwei Referenzmethoden („cobas® HCV for use on the 4800 System“ und „cobas® HCV for use on the 6800 System“, Roche Diagnostics) gleichwertige Leistungen aufweisen, wurde die Korrelationsstudie auch mit den zusammengefassten Ergebnissen, die an den drei verschiedenen Standorten erhalten worden waren, durchgeführt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung zusammengefasst.



In diesem Test ergab die Deming-Regressionsanalyse eine Steigung von 0,892 (95%-KI: 0,858; 0,926) und einen Achsenabschnitt von 0,556 (95%-KI: 0,363 bis 0,749). Die Analyse der linearen Regression ergab einen R²-Wert von 0,905.

Da **ELITe BeGenius** gleichwertige analytische Leistungen wie **ELITe InGenius** aufweist, ist die diagnostische Güte der auf den beiden Geräten durchgeführten Tests ebenfalls als gleichwertig anzusehen. Daher gilt die mit **ELITe InGenius** erhaltene diagnostische Sensitivität des Assays auch für **ELITe BeGenius**.

Diagnostische Spezifität: Bestätigung negativer Proben

Die diagnostische Spezifität des Assays, die durch negative prozentuale Übereinstimmung ermittelt wurde, wurde an drei verschiedenen Standorten durch die Analyse HCV-RNA-negativer klinischer Proben,

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

die mittels CE/IVD-gekennzeichneter molekulardiagnostischer Referenzmethoden getestet wurden, mit **ELITE InGenius** bewertet.

Die Ergebnisse der Studie zur diagnostischen Spezifität nach Diskrepanzanalyse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst, sowohl differenziert nach der Referenzmethode („cobas® HCV for use on the 4800 System“ und „cobas® HCV for use on the 6800 System“, Roche Diagnostics) als auch zusammengefasst, da sie gleichwertige Leistungen aufweisen.

| HCV-RNA-negative EDTA-Plasma- und Serumproben | Anzahl | Positiv | Negativ | Diagnostische Spezifität |
|--|--------|---------|---------|--------------------------|
| Referenz: cobas HCV for use on the 6800 System | 100 | 0 | 100 | 100 % |
| Referenz: cobas HCV for use on the 4800 System | 222 | 5 | 217 | 97,7 % |
| Zusammengefasste Ergebnisse | 322 | 5 | 317 | 98,4 % |

Fünf Proben ergaben abweichend positive Ergebnisse mit niedrigen Titern (4 von 5 Proben wiesen Titer unter der Nachweisgrenze des HCV ELITE MGB Kit und der Referenzmethoden auf), die zufällig positive Ergebnisse generieren können.

Da **ELITE BeGenius** gleichwertige analytische Leistungen wie **ELITE InGenius** aufweist, ist die diagnostische Güte der auf den beiden Geräten durchgeführten Tests ebenfalls als gleichwertig anzusehen. Daher gilt die mit **ELITE InGenius** erhaltene diagnostische Spezifität des Assays auch für **ELITE BeGenius**.

Hinweis: Die vollständigen Daten und Ergebnisse der Tests, die zur Bewertung der Leistungsmerkmale des Produkts mit Matrizes und dem Gerät durchgeführt wurden, sind in der technischen Dokumentation für das „HCV ELITE MGB® Kit“, FTP601ING, aufgeführt.

REFERENZEN

- P. Halfon et al. (2006) *J Clin Microbiology* 44: 2507 – 2511
K. Linnet et al. (2004) *Clin. Chem.* 50: 732 - 740.
E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e30.
WHO Prequalification of In Vitro Diagnostics Public Report (WHO PQ Public Report), number PQDx 0465-118-00, 03/2021, version 1,0.
<https://ltd.aruplab.com> (test number 3000572).
<https://mayocliniclabs.com> (Test-ID: HCVQN).
H. H. Kessler et al. (2001) *J. Clin. Microb.* 39: 1788 - 1790.
K. Sener et al. (2010) *J. Clin. Lab. Analysis* 24: 134 - 138.
C. Baleriola et al. (2011) *J. Clin. Microbiol.* 49: 3163 – 3167
WHO (World Health Organization), 2018, Guidelines for the care and treatment of persons diagnosed with chronic hepatitis C virus infection.
CDC (Centers for Disease Control and Prevention), 2020, CDC Recommendations for Hepatitis C Screening Among Adults — United States, 2020.
AASLD (American Association for the study of liver diseases) and IDSA (The Infectious Diseases Society of America), 2022, HCV Guidance: Recommendations for testing, managing and treating Hepatitis C.
EASL (European Association for the Study of the Liver), 2020, EASL recommendations on treatment of Hepatitis C 2020”, *Journal of Hepatology*.
Ministero della Salute, 2022, Linee di indirizzo Nazionali sui percorsi diagnostico terapeutici assistenziali per l'infezione da virus dell'epatite C.

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

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 müssen aus Vollblut gewonnen werden, das bei Raumtemperatur oder bei +2 bis +8 °C nicht länger als 24 Stunden 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 liegen keine Daten zur Produktleistung mit anderen klinischen Proben, wie z. B. Vollblut, vor.

Dieses Produkt ist nicht zum Screening oder zum Nachweis des Vorhandenseins von oder die Exposition gegenüber übertragbaren Erregern in Blut, Blutbestandteilen, Zellen, Geweben, Organen oder deren Derivaten bestimmt, um deren Eignung für Transfusionen, Transplantationen oder Zellverabreichung zu beurteilen.

Das Produkt ist nicht zur Verwendung als diagnostischer Test zum Nachweis einer HCV-Infektion bestimmt.

Die mit diesem Produkt erhaltenen Ergebnisse hängen von der ordnungsgemäßen Durchführung von Identifizierung, Entnahme, Transport, Lagerung und Verarbeitung der Proben ab. Zur Vermeidung falscher Ergebnisse ist es daher notwendig, bei diesen Schritten sorgfältig vorzugehen und die dem Produkt beiliegende Gebrauchsanweisung sorgfältig zu befolgen.

Aufgrund ihrer hohen analytischen Sensitivität ist die bei diesem Produkt verwendete Real-Time-PCR-Methode empfindlich für Kontaminationen durch positive klinische Proben, Positivkontrollen und PCR-Produkte. Kreuzkontamination führt zu falsch-positiven Ergebnissen. Das Produktformat ist so gestaltet, dass Kreuzkontamination begrenzt wird. Trotzdem kann Kreuzkontamination 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 ernststen Folgen für den Anwender und andere Personen vermieden werden.

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

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

Zur Vermeidung falscher Ergebnisse darf dieses Produkt nur von professionellem, qualifiziertem Personal, das im Umgang mit molekularbiologischen Techniken wie Extraktion, reverse Transkription, PCR und Nachweis von Nukleinsäuren geschult ist, verwendet 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.

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 zeigt, 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, Insertionen oder Deletionen in der Primer- oder Sondenbindungsregion

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

der RNA können den Nachweis und die Quantifizierung der Ziel-RNA beeinträchtigen.

Wie bei allen anderen diagnostischen Produkten müssen die mit diesem Produkt erhaltenen Ergebnisse in Kombination mit allen relevanten klinischen Beobachtungen und Laborbefunden interpretiert werden.

Wie bei allen diagnostischen Produkten besteht auch bei diesem Produkt ein Restrisiko von ungültigen oder fehlerhaften 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. Dieses Restrisiko im Zusammenhang mit dem Verwendungszweck des Produkts wurde jedoch gegen den potenziellen Nutzen für den Patienten abgewogen und als akzeptabel eingestuft.

FEHLERBEHEBUNG

| Ungültige Reaktion von Q-PCR Standard, Standardkurve oder Positive Control | |
|--|--|
| 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 Komponenten. | Das komplette Reaktionsgemisch nicht für mehr als 3 aufeinander folgende Läufe verwenden (7 Stunden im gekühlten Reagenzienblock oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix 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 Komponenten verwenden. |
| Abbau von Q-PCR Standards oder Positive Control. | Den Q-PCR Standard nicht für mehr als 2 unabhängige Läufe verwenden (jeweils 2 Stunden im Extraktionsbereich oder in der Cooler Unit). Die Positive Control nicht für mehr als 4 unabhängige Arbeitsläufe verwenden (jeweils 3 Stunden im Extraktionsbereich oder in der Cooler Unit). 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 der Negativkontrolle. | Die Negativkontrolle nicht für mehr als 1 Lauf verwenden. Ein neues Aliquot hochreines Wasser für die Molekularbiologie verwenden. |
| Kontamination des kompletten Reaktionsgemischs oder seiner Komponenten. | Das komplette Reaktionsgemisch erneut zubereiten. Ein neues Aliquot Komponenten verwenden. |
| Kontamination des Extraktionsbereichs, der Racks, des Bestandsblocks oder der Cooler Unit. | Oberflächen mit wässrigen Reinigungsmitteln reinigen, Laborkittel waschen, verwendete Röhrchen und Spitzen austauschen. |
| Gerätefehler. | Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren. |

Ungültige Probenreaktion

| Mögliche Ursachen | Abhilfemaßnahmen |
|---|--|
| Einstellfehler des Geräts. | Position von komplettem Reaktionsgemisch, Internal Control und Probe kontrollieren. Volumina von komplettem Reaktionsgemisch, Internal Control und 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 Komponenten. | Das komplette Reaktionsgemisch nicht für mehr als 3 aufeinander folgende Läufe verwenden (7 Stunden im gekühlten Reagenzienblock oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix 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 Komponenten verwenden. |
| Abbau der Vorlage für die Internal Control. | Ein neues Aliquot der Internal Control verwenden. |
| Inhibition durch Störsubstanzen in der Probe. | 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. |

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

| Anomale Dissoziationskurve | |
|--|---|
| Mögliche Ursachen | Abhilfemaßnahmen |
| Fehlen eines definierten Peaks. Definierter Peak, Tm-Wert unterscheidet sich jedoch von dem der anderen Proben und dem der Standards oder der Positive Control. | Kontrollieren, ob der Ct-Zielwert unter 30 liegt. Große Menge an Amplifikationsprodukt am Ende der Reaktion kann die Schmelzkurvenanalyse beeinträchtigen. Die Probenamplifikation wiederholen, um das Vorhandensein von Ziel-DNA mit einer möglichen Mutation zu bestätigen. Die Ziel-DNA in der Probe sollte sequenziert werden, um die Mutation zu bestätigen. |
| Fehler bei der Berechnung des Ct-Werts | |
| Mögliche Ursachen | Abhilfemaßnahmen |
| Zu hohe Konzentration von Ziel-DNA in der Probe oder Probe mit anomalem Fluoreszenzsignal. | Wenn im PCR-Diagramm eine signifikante Amplifikation zu beobachten ist, entsprechende Spur für die Probe auswählen und Ergebnis manuell als positiv bestätigen. Wenn im PCR-Diagramm keine Amplifikation zu beobachten ist, entsprechende Spur für die Probe auswählen und Ergebnis manuell als negativ bestätigen oder als ungültig belassen. 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. - Extraktion der Probe mit einer 1:10-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „Extract + PCR“-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen. |
| Ungewöhnlich hoher Anteil positiver Ergebnisse innerhalb ein und desselben Laufs (Reaktionen mit ähnlich späten Ct-Werten) | |
| Mögliche Ursachen | Abhilfemaßnahmen |
| Kontamination von Probe zu Probe bei Präanalyseschritten. | Mikropipette nach dem Pipettieren jeder Probe mit frischer 3%iger Natriumhypochloritlösung (Bleiche) oder DNA/RNA-Cleaner reinigen. Keine Pasteur-Pipetten verwenden. Die Pipetten müssen entweder Direktverdrängungspipetten sein oder zusammen mit Aerosolfilterspitzen verwendet werden. Proben in die letzten Positionen der Geräte einsetzen, wie auf der Benutzeroberfläche angegeben. Die von der Software angegebene Ladefolge beachten. |
| Kontamination der Laborumgebung. | Alle Oberflächen, die mit dem Bediener und den Proben (einschließlich Pipetten) in Kontakt kommen, mit frischer 3%iger Natriumhypochloritlösung (Bleiche) oder DNA/RNA-Cleaner reinigen. Einen UV-Dekontaminationszyklus durchführen. Das komplette Reaktionsgemisch erneut zubereiten und/oder ein neues Aliquot von CPE verwenden. |

HCV ELITe MGB® Kit

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

REF RTK601ING

SYMBOLE



Katalognummer.



Temperaturobergrenze.



Chargenbezeichnung.



Verwendbar bis (letzter Tag des Monats).



In-vitro-Diagnostikum.



Erfüllt die Anforderungen der Verordnung (EU) 2017/746 über *In-vitro*-Diagnostika (IVDR).
Zertifizierung ausgestellt von der TÜV SÜD Product Service GmbH, Deutschland.



Unique Device Identification, eindeutige Geräteerkennung



Ausreichend für „N“ Tests



Gebrauchsanweisung beachten.



Inhalt.



Vor Sonneneinstrahlung schützen.



Hersteller.

ANWENDERHINWEISE

Jeder schwerwiegende Zwischenfall, der im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetreten ist, muss dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedsstaates, in dem der Anwender und/oder der Patient ansässig ist, gemeldet werden. Zum Zeitpunkt der aktuellen Überarbeitung der Gebrauchsanweisung lag kein schwerwiegender Zwischenfall oder Rückruf mit Auswirkungen auf die Produktleistung und Gerätesicherheit vor.

Eine „Zusammenfassung der Unbedenklichkeit und der Leistung“ wird der Öffentlichkeit über die Europäische Datenbank für Medizinprodukte (Eudamed) zur Verfügung gestellt, sobald dieses Informatiksystem funktionsfähig ist. Vor der Veröffentlichung des Hinweises über die vollständige Funktionsfähigkeit von Eudamed wird die „Zusammenfassung der Sicherheit und Leistung“ der Öffentlichkeit auf Anfrage per E-Mail an emd.support@elitechgroup.com ohne unnötige Verzögerung zur Verfügung gestellt.

HCV ELITe MGB® Kit

Reagenzien 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 EG SpA 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 7319022, 7348146, 7381818, 7541454, 7671218, 7718374, 7723038, 7759126, 7767834, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529 und der EP-Patente mit den Nummern 1687609, 1781675, 1789587, 2689031, 2714939, 2736916, 2997161 sowie durch anhängige Patentanmeldungen geschützt.

Die ELITe InGenius®- und die ELITe BeGenius® -Technologie sind 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.

cobas® ist eine eingetragene Marke von Roche Diagnostics.

MGB®, Eclipse Dark Quencher®, AquaPhluor®, ELITe MGB®, das ELITe MGB® Logo, ELITe InGenius® und ELITe BeGenius® sind eingetragene Marken der ELITechGroup in der Europäischen Union.

HCV ELITe MGB® Kit zur Verwendung mit Plattformen der Genius-Reihe®



Achtung, dieses Dokument ist eine vereinfachte Version der offiziellen Gebrauchsanweisung. Bitte lesen Sie vor dem Gebrauch das vollständige Dokument: www.elitechgroup.com

Verwendungszweck

Das Produkt **HCV ELITe MGB® Kit** ist ein *In-vitro*-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal als quantitativer Nukleinsäure-RT- (reverse Transkription) und Real-Time-PCR-Assay zum Nachweis und zur Quantifizierung der RNA des Hepatitis-C-Virus (HCV), die aus klinischen Proben extrahiert wurde, bestimmt ist.

Dieser Assay ist in Verbindung mit den Geräten ELITe InGenius® und ELITe BeGenius®, automatisierten und integrierten Systemen zur Extraktion, reversen Transkription, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation mit menschlichen Plasmaproben, die in EDTA oder in ACD entnommen wurden, validiert.

Das Produkt ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Behandlung von HCV-infizierten Personen, die sich einer antiviralen Therapie unterziehen, vorgesehen.

Bei der Interpretation der Ergebnisse müssen alle relevanten klinischen Beobachtungen und Laborbefunde herangezogen werden.

Das Produkt ist nicht zum Screening oder zum Nachweis des Vorhandenseins von oder die Exposition gegenüber übertragbaren Erregern in Blut, Blutbestandteilen, Zellen, Geweben, Organen oder deren Derivaten bestimmt, um deren Eignung für Transfusionen, Transplantationen oder Zellverabreichung zu beurteilen. Das 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.









Amplifizierte Sequenz

| Sequenz | Gen | Fluorophor | Kanal |
|------------------|-------------------|------------|-------|
| Ziel | HCV 5'-UTR-Region | FAM | HCV |
| Internal Control | MS2 | AP525 | IC |

Validierte Matrices

- › EDTA-Plasma oder ACD-Plasma
- › Serum

Kit-Inhalt

| 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 Röhrchen mit 600 µl 24 Reaktionen pro Röhrchen 96 Reaktionen pro Kit 5 Gefrier- und Auftauzyklen | RT EnzymeMix 2 Röhrchen mit 20 µl 48 Reaktionen pro Röhrchen, 96 Reaktionen pro Kit 10 Gefrier- und Auftauzyklen | Gebrauchsfertige Kalibratoren: 4 Konzentrationen 1 Sets à 4 Röhrchen mit 160 µl 2 Reaktionen pro Röhrchen 2 Reaktionen pro Kit 2 Gefrier- und Auftauzyklen | | Gebrauchsfertige Positive Control 2 Röhrchen mit 160 µl 4 Reaktionen pro Röhrchen 8 Reaktionen pro Kit 4 Gefrier- und Auftauzyklen | Gebrauchsfertige Internal Control 8 Röhrchen mit 160 µl 12 Extraktionen pro Röhrchen 96 Extraktionen pro Kit 6 Gefrier- und Auftauzyklen |

Maximale Haltbarkeitsdauer: **18 Monate**

Lagerungstemperatur: **-20 °C**

Weitere benötigte, nicht im Kit enthaltene Produkte

- › ELITe InGenius-Gerät: INT030
- › ELITe BeGenius-Gerät: INT040
- › ELITe InGenius SP 1000 Extraction Cartridge: INT033SP1000
- › ELITe InGenius PCR Cassette: INT035PCR
- › ELITe InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS
- › ELITe InGenius Waste Box: F2102-000
- › 300 µl Filterspitzen, Axigen: TF-350-L-R-S (nur ELITe InGenius)
- › 1000 µl Filterspitzen, Tecan: 30000631 (nur ELITe BeGenius)

Protokoll für ELITe InGenius und ELITe BeGenius

| | | | |
|---------------------------------------|----------------|---|--|
| › Probenvolumen | 600 µl | › Einheit des quantitativen Ergebnisses | Internationale Einheit: IU/ml Kopien: Kopien/ml |
| › HCV CPE-Volumen | 10 µl | | 2,4 IU/Kopie |
| › Gesamtes Elutionsvolumen | 50 µl | › Faktor für die Umrechnung in IU | 15 Tage 60 Tage |
| › PCR-Eingangsvolumen für die Elution | 20 µl 20 µl | › Häufigkeit der Kontrollen | |
| › Volumen des kompletten PCR-Mix | | › Häufigkeit der Kalibrierung | |

Leistungsdaten für ELITE InGenius und ELITE BeGenius

| Matrix | Nachweisgrenze | Diagnostische Sensitivität: Methodenkorrelation | Diagnostische Spezifität |
|---|--------------------------|--|--|
| Plasma/Serum | 26 IU/ml 11 Kopien/ml | R² = 0,905 <small>279 quantifizierte Proben</small> | 98,4 % <small>317 bestätigte Proben / 322 getestete Proben</small> |
| Referenzmethoden: „cobas® HCV for use on the 4800 Systems“ und „cobas® HCV for use on the 6800 Systems“, Roche Diagnostics. | | | |

Probenvorbereitung

Dieses Produkt ist für die Verwendung auf dem **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius** mit den folgenden klinischen Proben, die gemäß den Laborrichtlinien identifiziert und unter den folgenden Bedingungen entnommen, transportiert und gelagert wurden, bestimmt.

| Probentyp | Transport-/Lagerbedingungen | | | |
|----------------------------|----------------------------------|------------|------------|------------|
| | +16 / +26 °C (Raumtemperatur) | +2 / +8 °C | -20 ±10 °C | -70 ±15 °C |
| In EDTA entnommenes Plasma | ≤ 1 Tag | ≤ 3 Tage | ≤ 1 Monat | ≤ 6 Monate |
| Serum | ≤ 1 Tag | ≤ 5 Tage | ≤ 1 Monat | ≤ 6 Monate |

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

Verwenden Sie kein hämolytisches Plasma, da Hämoglobin die PCR-Reaktion hemmt.

Verfahren bei ELITE InGenius

Der Benutzer wird von der ELITE InGenius-Software zur Vorbereitung des Laufs Schritt für Schritt durch die grafische Benutzeroberfläche geführt. Alle Schritte: Extraktion, reverse Transkription, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation werden automatisch durchgeführt. Es stehen zwei Betriebsmodi zur Verfügung: vollständiger Lauf „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) und „PCR Only“ (Nur PCR).

Vor der Analyse

- ELITE InGenius einschalten. Mit dem Benutzernamen und Passwort anmelden. Den Modus „Closed“ (Geschlossen) wählen.
- Kalibratoren überprüfen: **Q-PCR Standard** im Menü „Calibration“ (Kalibrierung). Kontrollen überprüfen: **Positive Control** und **Negative Control** im Menü „Controls“ (Kontrollen).
Hinweis: Alle müssen ausgeführt und genehmigt worden sein und dürfen nicht abgelaufen sein.
- Die **PCR Mix-** und **CTRCPE-Röhrchen** auftauen. Vorsichtig vortexen 5 Sek. herunterzentrifugieren. Den **RT EnzymeMix** auf Eis oder in einem Kühlblock aufbewahren.

- Das komplette Reaktionsgemisch wie folgt vorbereiten:

| 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 |

- Vorsichtig vortexen 5 Sek. herunterzentrifugieren. Das komplette Reaktionsgemisch auf Eis oder in einem Kühlblock aufbewahren. Keinem direkten Licht aussetzen.

Verfahren 1 – Vollständiger Lauf: „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) (z. B. Proben)

- Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen
- Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingang: „1000 µL“, Elutionsvolumen: „50 µL“
- Die Proben-Barcodes mit dem tragbaren Barcodeleser scannen oder die Proben-ID eingeben
- Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: HCV ELITE_PL_600_50 oder HCV ELITE_Se_600_50
- Die Methode „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) und die „Sample Position“ (Probenposition) auswählen: Extraction Tube (Extraktionsröhrchen)
- Das komplette Reaktionsgemisch und die Internal-Control in den Inventory Block (Bestandsmanager) laden

| | | |
|--|--|--|
| 7. Folgendes laden: PCR-Kassette, Extraktionskartusche, Elution tube (Elutionsröhrchen), Spitzenkassette, Extraction Tube (Extraktionsröhrchen)-Rack | 8. Tür schließen. Analyselauf starten | 9. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern |
|--|--|--|

Hinweis: Wird der Modus „Extract Only“ (nur Extraktion) benötigt, zum Verfahren das Benutzerhandbuch des Geräts beachten.

Verfahren 2 – PCR Only (nur PCR) (z. B. Eluate, Standards, Kontrollen)

| | | |
|--|---|--|
| 1 bis 4: Das oben beschriebene Verfahren 1 befolgen (die Assay-Protokolle auswählen: HCV ELITE_PC und HCV ELITE_NC oder HCV ELITE_STD) | 5. Die Methode „PCR Only“ (Nur PCR) auswählen und die „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube“ (Elutionsröhrchen) einstellen | 6. Das komplette Reaktionsgemisch in den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden |
| 7. Folgendes laden: PCR-Kassettenrack und Elution tube (Elutionsröhrchen)-Rack mit den extrahierten Nukleinsäuren, Standards oder Kontrollen | 8. Tür schließen Analyselauf starten | 9. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern |

Verfahren bei ELITE BeGenius

Der Benutzer wird von der ELITE BeGenius-Software zur Vorbereitung des Laufs Schritt für Schritt durch die grafische Benutzeroberfläche geführt. Alle Schritte: Extraktion, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation werden automatisch durchgeführt. Es stehen zwei Betriebsmodi zur Verfügung: vollständiger Lauf „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) und „PCR Only“ (Nur PCR).

Vor der Analyse

| | | |
|--|--|--|
| 1. ELITE BeGenius einschalten. Mit dem Benutzernamen und Passwort anmelden. Den Modus „Closed“ (Geschlossen) wählen. | 2. Kalibratoren überprüfen: Q-PCR Standard im Menü „Calibration“ (Kalibrierung). Kontrollen überprüfen: Positive Control und Negative Control im Menü „Controls“ (Kontrollen). <i>Hinweis:</i> Alle müssen ausgeführt und genehmigt worden sein und dürfen nicht abgelaufen sein. | 3. Die PCR Mix - und CTRCPE -Röhrchen auftauen. Vorsichtig vortexen 5 Sek. herunterzentrifugieren. Den RT EnzymeMix auf Eis oder in einem Kühlblock aufbewahren. |
|--|--|--|

4. Das komplette Reaktionsgemisch wie folgt vorbereiten:

| 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 |
| 13 ≤ N ≤ 18 | (N + 3) x 20 µl | (N + 3) x 0,3 µl |
| 19 ≤ N ≤ 23 | (N + 4) x 20 µl | (N + 4) x 0,3 µl |
| N = 24 | 580 µl | 8,7 µl |

5. Vorsichtig vortexen
5 Sek. herunterzentrifugieren.
Das komplette Reaktionsgemisch auf Eis oder in einem Kühlblock aufbewahren. Keinem direkten Licht aussetzen.

Verfahren 1 – Vollständiger Lauf: Extract + PCR (Extraktion + PCR) (z. B. Proben)

| | | |
|---|---|--|
| 1. Auf dem Touchscreen „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen und anschließend auf den Laufmodus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) klicken. | 2. Das Sample Rack (Probenständer) mit den barcodierten Proben in die Cooler Unit einsetzen. Der Barcode-Scan ist bereits aktiv | 3. Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingang: „600 µL“, Elutionsvolumen: „50 µL“ |
| 4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: HCV ELITE_Be_PL_600_50 oder HCV ELITE_Be_Se_600_50 Hinweis: Bei Durchführung einer zweiten Extraktion die Schritte 2 bis 4 wiederholen | 5. Die Etiketten ausdrucken, um die leeren Elution Tubes (Elutionsröhrchen) mit einem Barcode zu versehen. Die Röhrchen in das Elution Rack (Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen | 6. Das komplette Reaktionsgemisch und den CPE in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsrack) laden und in die Cooler Unit einsetzen. |

| | | |
|--|--|---|
| 7. Das „PCR Rack“ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) und das „Extraction Rack“ (Extraktionsrack) mit den „ELITe InGenius SP 1000“ Extraktionskartuschen und die für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden. | 8. Tür schließen. Analyselauf starten | 9. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern |
|--|--|---|

Hinweis: Wird der Modus „Extract Only“ (nur Extraktion) benötigt, zum Verfahren das Benutzerhandbuch des Geräts beachten.

Verfahren 2 - PCR Only (nur PCR) (z. B. Eluate, Standards, Kontrollen)

| | | |
|---|--|---|
| 1. Auf dem Touchscreen „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen und anschließend auf den Run mode „PCR Only“ (Nur PCR) klicken | 2. Die barcodierten Röhrchen mit der extrahierten Nukleinsäure oder den Standards oder den Kontrollen in das Elution Rack (Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen | 3. Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingang: „600 µL“, Elutionsvolumen: „50 µL“ |
| 4. Das Assay-Protokoll („Assay Protocol“) auswählen (HCV ELITe_Be_PC und HCV ELITe_Be_NC oder HCV ELITe_Be_STD) | 5. Das komplette Reaktionsgemisch in das Reagenzrack laden und in die Cooler Unit einsetzen | 6. „PCR Rack“ mit „PCR Cassette“(PCR-Kassette) laden. |
| 7. Tür schließen. Analyselauf starten | 8. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern | |