



NOTICE of CHANGE dated 01/08/2025

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«HIV1 ELITe MGB® Kit» Ref. RTK600ING

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

- Replacement of 2mL tube 953-217 and white cap 953-223 with 2mL tube 953-065 related to PCR Mix component tubes.

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
RTK600ING	C0724-001	31/10/2025
RTK600ING	C0125-008	31/08/2026

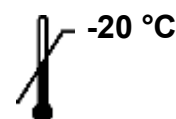
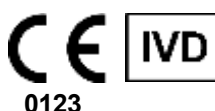


ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185
10149 Torino ITALIEN
Hauptniederlassung: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-
011 936 76 11
E-Mail: emd.support@elitechgroup.com

HIV1 ELITe MGB® Kit

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

REF RTK600ING



UDI 08033891487126

INHALTSVERZEICHNIS

VERWENDUNGSZWECK	Seite 1
TESTPRINZIP	Seite 2
BESCHREIBUNG DES PRODUKTS	Seite 2
MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN	Seite 3
ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERT E MATERIALIEN	Seite 3
ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE	Seite 4
WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN	Seite 4
PROBEN UND KONTROLLEN	Seite 5
VERFAHREN BEI ELITe InGenius	Seite 7
VERFAHREN BEI ELITe BeGenius	Seite 12
LEISTUNGSMERKMALE	Seite 16
REFERENZEN	Seite 26
GRENZEN DES VERFAHRENS	Seite 27
FEHLERBEHEBUNG	Seite 28
SYMBOL E	Seite 31
ANWENDERHINWEISE	Seite 31
HINWEIS AN DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ	Seite 32
ANHANG: KURZANLEITUNG	Seite A

VERWENDUNGSZWECK

Das Produkt **HIV1 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 humanen Immundefizienzvirus Typ 1 (HIV1), 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 ACD entnommen wurden, validiert.

Das Produkt ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Behandlung von HIV1-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 zur Verwendung als diagnostischer Test zum Nachweis einer HIV1-Infektion bestimmt.

TESTPRINZIP

Bei dem Assay handelt es sich um eine quantitative Ein-Schritt-Real-Time-PCR mit reverser Transkription, mit der aus Proben isolierte HIV1-RNA nachgewiesen, revers transkribiert und dann unter Verwendung eines kompletten Reaktionsgemischs amplifiziert wird, das Primer und Sonden mit ELITE MGB®- und TaqMan™ MGB®-Technologie enthält.

Die ELITE MGB- und TaqManMGB-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 HIV1-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 **HIV1 ELITE MGB Kit** umfasst die folgenden Komponenten:

- **HIV1 ELITE MGB Mix**

Diese Komponente enthält die folgenden zwei Unterkomponenten:

- **HIV1 PCR Mix**, ein optimiertes und stabilisiertes PCR-Gemisch, das Folgendes enthält:
 - spezifischen Primer und Sonden für **HIV1**, Polymerasegen (Integrase-Region), nachgewiesen im Kanal **HIV1**; die Sonden sind durch MGB® stabilisiert, durch Eclipse Dark Quencher® gequencht und mit einem FAM-Farbstoff markiert,
 - spezifische Primer und Sonden 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.

Das **HIV1 ELITE MGB Mix** enthält ausreichend Reagenzien für **96 Tests** auf **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius**, wobei 20 µl **HIV1 PCR Mix** und 0,3 µl **RT EnzymeMix** pro Reaktion verwendet werden.

- **HIV1 ELITE Standard**

Diese Komponente enthält die Unterkomponenten **HIV1 Q-PCR Standard**, vier stabilisierte Lösungen von Plasmid-DNA mit der amplifizierten HIV1-Polymerase-Genregion in **bekanntem Titer**. Der **HIV1 ELITE Standard** muss mit **HIV1 ELITE MGB Mix** auf **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius** zur Berechnung der Kalibrationskurve des Systems (Produktcharge und Gerät) für die HIV1-Quantifizierung verwendet werden.

Die Plasmid-DNA-Konzentration wurde im UV-Spektrophotometer in Kopien/ml ermittelt und mittels eines Umrechnungsfaktors mit dem „WHO International Standard 4th HIV-1 International Standard“ (NIBSC code 16/194, Vereinigtes Königreich) in Bezug gesetzt, der eine HIV1-Quantifizierung in internationalen Einheiten pro ml (IU/ml) ermöglicht.

Der **HIV1 ELITE Standard** enthält ausreichend Reagenzien für **2 Läufe auf ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius**, wobei 20 µl pro Reaktion verwendet werden.

- **HIV1 - ELITE Positive Control**

Diese Komponente enthält die Unterkomponente **HIV1 Positive Control**, eine stabilisierte Lösung von Plasmid-DNA mit der amplifizierten HIV1-Polymerase-Genregion in **bekanntem Titer**. Die **HIV1 Positive Control** muss mit **HIV1 ELITE MGB Mix** auf **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius** verwendet werden, um Kontrolldiagramme zur Verifizierung des Systems (Produktcharge und Gerät) zu erstellen.

HIV1 ELITE MGB® Kit

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

REF RTK600ING

Die **HIV1 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.

- **HIV1 Internal Control**

Diese Komponente enthält die Unterkomponente **HIV1 CPE** (exogene Internal Control), eine stabilisierte Lösung der genomischen RNA des MS2-Phagen. Der **HIV1 CPE** wird zu den Extraktionsreagenzien hinzugefügt, um die Ergebnisse der HIV1-negativen Proben zu bestätigen.

Die **HIV1 Internal Control** enthält ausreichend Reagenzien für **96 Tests auf ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius (12 Läufe pro Röhrchen)**, wobei 10 µl pro Extraktion verwendet werden.

Der **HIV1 ELITE MGB Kit** kann auch in Verbindung mit gleichwertigen Geräten verwendet werden.

MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN

Komponente	Unterkomponente	Beschreibung	Menge	Gefahrenklasse
HIV1 ELITE MGB Mix Art.-Nr. RTS600ING	HIV1 PCR Mix Art.-Nr. RTS600ING	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	-
HIV1 ELITE Standard Art.-Nr. STD600ING	HIV1 Q-PCR Standard 10 ⁵ Art.-Nr. STD600ING-5	Plasmidlösung in Röhrchen mit ROTEM Verschluss	1 x 160 µl	-
	HIV1 Q-PCR Standard 10 ⁴ Art.-Nr. STD600ING-4	Plasmidlösung in Röhrchen mit BLAUEM Verschluss	1 x 160 µl	
	HIV1 Q-PCR Standard 10 ³ Art.-Nr. STD600ING-3	Plasmidlösung in Röhrchen mit GRÜNEM Verschluss	1 x 160 µl	
	HIV1 Q-PCR Standard 10 ² Art.-Nr. STD600ING-2	Plasmidlösung in Röhrchen mit GELBEM Verschluss	1 x 160 µl	
HIV1 – ELITE Positive Control Art.-Nr. CTR600ING	HIV1 Positive Control Art.-Nr. CTR600ING	Plasmidlösung in Röhrchen mit SCHWARZEM Verschluss	2 x 160 µl	-
HIV1 Internal Control Art.-Nr. CPE600ING	HIV1 CPE Art.-Nr. CPE600ING	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.

HIV1 ELITe MGB® Kit**Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR****REF RTK600ING****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
ELITe InGenius (EG SpA, Art.-Nr. INT030) ELITe InGenius Software , Version 1.3.0.17 (oder später) HIV1 ELITe_STD , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Kalibratorenanalyse HIV1 ELITe_PC , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Positive Control-Analyse HIV1 ELITe_NC , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Negative Control-Analyse HIV1 ELITe_PL_600_50 , Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Plasmaproben-Analyse	ELITe InGenius SP 1000 (EG SpA, Art.-Nr. INT033SP1000) ELITe InGenius SP 200 Consumable Set (EG SpA, Art.-Nr. INT032CS) ELITe InGenius PCR Cassette (EG SpA, Art.-Nr. INT035PCR), 300 µL Filter Tips Axygen (Corning Life Sciences Inc., Art.-Nr. TF-350-L-R-S), nur mit ELITe InGenius 1000 µL Filter Tips Tecan (Tecan, Schweiz, Art.-Nr. 30180118) nur mit ELITe BeGenius ELITe InGenius® Waste Box (EG SpA, Art.-Nr. F2102-000)
ELITe BeGenius (EG SpA., Art.-Nr. INT040) ELITe BeGenius Software , Version 2.1.0. (oder später) HIV1 ELITe_Be_STD , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Kalibratorenanalyse HIV1 ELITe_Be_PC , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Positive Control-Analyse HIV1 ELITe_Be_NC , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Negative Control-Analyse HIV1 ELITe_Be_PL_600_50 , Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Plasmaproben-Analyse	

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.

Bei der Durchführung des Tests die bereitgestellten Produktanweisungen befolgen.

Das Produkt nicht nach dem angegebenen Ablaufdatum verwenden.

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

HIV1 ELITe MGB® Kit

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

REF RTK600ING

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)
HIV1 ELITe MGB Mix (HIV1 PCR Mix)	-20°C oder darunter (lichtgeschützt)	60 Tage	bis zu fünf	nicht anwendbar
HIV1 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
HIV1 ELITe Standard (HIV1 Q-PCR Standard)	-20°C oder darunter	60 Tage	bis zu zwei	2 separate Läufe von jeweils 2 Stunden
HIV1 - ELITe Positive Control (HIV1 Positive Control)	-20°C oder darunter	60 Tage	bis zu vier	4 separate Läufe von jeweils 3 Stunden
HIV1 Internal Control (HIV1 CPE)	-20°C oder darunter	60 Tage	bis zu sechs	6 separate Läufe von jeweils 3 Stunden

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	≤ 2 Tage	≤ 3 Tage	≤ 1 Monat	≤ 6 Monate

HIV1 ELITE MGB® Kit

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

REF RTK600ING

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 der angegebenen Matrix validiert.

Assay-Protokolle für HIV1 ELITE MGB Kit				
Probe	Gerät	Name des Assay Protocol (Assay-Protokoll)	Befund	Eigenschaften
Plasma	ELITE InGenius	HIV1 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
Plasma	ELITE BeGenius	HIV1 ELITE_Be_PL_600_50	Positiv / Kopien/ml / IU/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

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 **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.

PCR-Kalibratoren und -Kontrollen

- Für jede Charge des PCR-Reagenzes muss die Kalibrationskurve erstellt und genehmigt werden.
- Für die Kalibrationskurve die vier Konzentrationen des im Lieferumfang dieses Kits enthaltenen Produkts **HIV1 ELITE Standard** mit dem Assay-Protokoll **HIV1 ELITE_STD** oder **HIV1 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 **HIV1 - ELITE Positive Control** mit dem Assay-Protokoll **HIV1 ELITE_PC** oder **HIV1 ELITE_Be_PC** verwenden,
- Für die Negative Control hochreines Wasser (nicht in diesem Kit enthalten) mit dem Assay-Protokoll **HIV1 ELITE_NC** oder **HIV1 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.

VERFAHREN BEI ELITe InGenius

Das beim Gebrauch des **HIV1 - 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 (**HIV1 Q-PCR Standard**) für die zu verwendende Charge des **HIV1 PCR Mix** genehmigt und gültig (Status) sind. Wenn keine gültigen Kalibratoren für die Charge **HIV1 PCR Mix** verfügbar sind, Kalibration wie in den folgenden Abschnitten beschrieben durchführen,
- auf der Startseite im Menü „Controls“ (Kontrollen) bestätigen, dass die PCR-Kontrollen (**HIV1 Positive Control, HIV1 Negative Control**) für die zu verwendende Charge des **HIV1 PCR Mix** genehmigt und gültig (Status) sind. Wenn keine gültigen PCR-Kontrollen für die Charge **HIV1 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-Protokoll nicht im System geladen ist, wenden Sie sich an Ihren ELITechGroup Kundendienstvertreter vor Ort.

SCHRITT 2 – Einrichtung des Laufs

Das **HIV1 ELITe MGB Kit** kann mit **ELITe InGenius** für die Durchführung der folgenden Läufe verwendet werden:

- Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR]),
- Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR]),
- Kalibrationslauf (PCR Only [nur PCR]),
- 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 **HIV1 PCR Mix**-Röhrchen 30 Minuten auf 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 **HIV1 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)	HIV1 PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{l}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{l}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{l}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{l}$
$N = 12$	290 μl	4,4 μl

5. 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	<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 Assay müssen 600 μl Probe in ein zuvor etikettiertes Extraktionsröhrchen überführt werden. ELITe InGenius behält überschüssiges Volumen im Extraktionsröhrchen.</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>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.</p>
2	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.

HIV1 ELITe MGB® Kit

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

REF RTK600ING

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])
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 angezeigt wird: „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR).	In der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur 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)	Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und

	(siehe „Proben und Kontrollen“) in der Spalte „Assay“ auswählen und die Reagenzien-Chargennummer und das Verfallsdatum eingeben.	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 „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.	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.
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 ± 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 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 **HIV1 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.

A. Validierung der Kalibrationskurve

Die **ELITe InGenius Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse für die Zielsequenzen der Kalibratorreaktionen mit den **HIV1 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 Protocols (Assay-Protokolle) **HIV1 ELITe PC** und **HIV1 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 **HIV1**) und die Internal Control (Kanal **IC**) mit den Assay-Protokoll-Parametern **HIV1 ELITE_PL_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.

1) Kalibrationskurve	Status
HIV1 Q-PCR Standard	APPROVED (Genehmigt)
2) Positivkontrolle	Status
HIV1 Positive Control	APPROVED (Genehmigt)
3) Negative Control	Status
HIV1 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
HIV1:RNA Detected, quantity equal to „XXX“ copies / mL or IU / mL (HIV1:RNA erkannt, Menge gleich „XXX“ Kopien/ml oder IU/ml)	In der Probe wurde HIV1-RNA innerhalb des Messbereichs des Assays nachgewiesen , ihre Konzentration wird angezeigt.
HIV1:RNA Detected, quantity below „LLoQ“ copies / mL or IU / mL (HIV1:RNA erkannt, Menge unter „LLoQ“ Kopien/ml oder IU/ml)	In der Probe wurde HIV1-RNA nachgewiesen , ihre Konzentration liegt unterhalb der unteren Bestimmungsgrenze des Assays.
HIV1:RNA Detected, quantity beyond „ULoQ“ copies / mL or IU / mL (HIV1:RNA erkannt, Menge über „ULoQ“ Kopien/ml oder IU/ml)	In der Probe wurde HIV1-RNA nachgewiesen , ihre Konzentration liegt oberhalb der oberen Bestimmungsgrenze des Assays.
HIV1:RNA Not detected or below „LoD“ copies / mL or IU/mL (HIV1:RNA nicht erkannt oder Menge unter „LoD“ Kopien/ml oder IU/ml)	In der Probe wurde keine HIV1-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 „HIV1:RNA Not Detected or below „LoD“ copies/mL or IU/mL“ (HIV1:RNA nicht erkannt oder unter „LoD“ Kopien/ml oder IU/ml) ausgegebene Proben sind für die Analyse geeignet, HIV1-RNA wurde jedoch nicht nachgewiesen. In diesem Fall kann entweder die Probe für HIV1-RNA negativ sein oder HIV1-RNA ist bei einer Konzentration unter der Nachweisgrenze des Tests vorhanden (siehe „Leistungsmerkmale“).

HIV1:RNA-positive Proben mit einer Konzentration unter der Nachweisgrenze (und der unteren Bestimmungsgrenze) des Assays werden, falls nachgewiesen, als „HIV1:RNA Detected, quantity below „LLoQ“ copies / mL or IU / mL“ (HIV1: RNA erkannt, Menge unter LLoQ Kopien/ml oder IU/ml) ausgegeben

(siehe „Leistungsmerkmale“).

HIV1-RNA-positive Proben innerhalb des linearen Messbereichs (siehe „Leistungsmerkmale“) werden erkannt und als „HIV1:RNA Detected, quantity equal to “XXX” copies / mL or IU / mL“ (HIV1:RNA erkannt, Menge gleich „XXX“ Kopien/ml oder IU/ml) ausgegeben.

HIV1-RNA-positive Proben, die oberhalb der oberen Bestimmungsgrenze liegen, werden als „HIV1:RNA Detected, quantity beyond “ULoQ” copies / mL or IU / mL“ (HIV1: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.

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 **HIV1 ELITe MGB Kit** mit dem **ELITe BeGenius** anzuwendende Verfahren besteht aus drei Schritten:

SCHRITT 1	Prüfung der Systembereitschaft		
SCHRITT 2	Einrichtung des Laufs	des	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 „Calibration“ (Kalibration) bestätigen, dass die Kalibratoren (**HIV1 Q-PCR Standard**) für die zu verwendende Charge des **HIV1 PCR Mix** genehmigt und gültig (Status) sind. Wenn keine gültigen Kalibratoren für die Charge **HIV1 PCR Mix** verfügbar sind, Kalibration wie in den folgenden Abschnitten beschrieben durchführen,

auf der Startseite im Menü „Controls“ (Kontrollen) bestätigen, dass die PCR-Kontrollen (**HIV1 Positive Control, HIV1 Negative Control**) für die zu verwendende Charge des **HIV1 PCR Mix** genehmigt und gültig (Status) sind. Wenn keine gültigen PCR-Kontrollen für die Charge **HIV1 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-Protokoll nicht im System geladen ist, wenden Sie sich an Ihren ELITechGroup Kundendienstvertreter vor Ort.

SCHRITT 2 – Einrichtung des Laufs

Das **HIV1 ELITe MGB Kit** kann mit **ELITe BeGenius** für die Durchführung der folgenden Läufe verwendet werden:

- Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])
- Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR]),
- Kalibrationslauf (PCR Only [nur PCR]),
- 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:

- Die benötigten **HIV 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.

- 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 **HIV1 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)	HIV1 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

- 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

HIV1 ELITe MGB® Kit

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

REF RTK600ING

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 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. 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.	Falls erforderlich, die 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.
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 Sekundärröhrchen „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 Sekundärröhrchen „2-ml-Röhrchen“ angeben. Bei Sekundärröhrchen 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 CP 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.

HIV1 ELITe MGB® Kit

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

REF RTK600ING

19	Die Spitzen in dem/den „Tip Rack(s)“ (Spitzenständer/n) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in dem/den „Tip Rack(s)“ (Spitzenständer/n) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) 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	Die Spitzen in den Spitzenständern („Tip Racks“) im

	C. Kalibrationslauf (PCR Only [nur PCR])	D. Lauf für die Positive Control und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
	„Inventory Area“ (Invetarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	„Inventory Area“ (Invetarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.
15	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
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 .
	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
17	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.
18	„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 gelagert 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 **HIV1 ELITe MGB Kit** und geht dabei folgendermaßen vor:

- Validierung der Kalibrationskurve,
- Validierung der Ergebnisse der Positive Control und der Negative Control,
- Validierung der Probenergebnisse,
- Ausgabe des Probenergebnisberichts.

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

HIV1 ELITE MGB® Kit

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

REF RTK600ING**LEISTUNGSMERKMALE****Nachweisgrenze (LoD)**

Die Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) des Assays wurde auf dem ELITE InGenius-Gerät bestimmt, indem ein Panel von HIV1-negativem ACD-Plasma getestet wurde, das mit Referenzmaterial von HIV1 (4th 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			
Zielorganismus	LoD	95 % Konfidenzintervall	
		Untergrenze	Obergrenze
HIV1	60	40	122

Die Nachweisgrenze in Kopien/ml bei ACD-Plasma wurde unter Anwendung des spezifischen Umrechnungsfaktors (2,3 IU/Kopie) berechnet. Die analytische Sensitivität als Kopien/ml ist nachfolgend angegeben.

Nachweisgrenze (Kopien/ml) bei ACD-Plasmaproben und ELITE InGenius			
Zielorganismus	LoD	95 % Konfidenzintervall	
		Untergrenze	Obergrenze
HIV1	26	17	53

Zur Bestätigung des berechneten LoD-Werts wurden auf ELITE InGenius und ELITE BeGenius ein Pool aus ACD-Plasmaproben und ein Pool aus mit HIV1-Referenzmaterial in der angegebenen Konzentration dotierten EDTA-Plasmaproben getestet.

Die erhaltenen Ergebnisse bestätigten die behauptete Konzentration für das Zielgen des HIV1 ELITE MGB Kit sowohl bei ELITE BeGenius als auch bei ELITE InGenius.

Matrixäquivalenz: EDTA-Plasma vs. ACD-Plasma

Die Matrixäquivalenz des Assays wurde anhand von gepaarten Proben (desselben Spenders) von ACD-Plasma und EDTA-Plasma auf ELITE InGenius überprüft.

Für 30 Proben, die mit einem CE-IVD-gekennzeichneten Immunoassay negativ auf HIV 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	1	29	96,7 %	1,80	1,81
ACD-Plasma	30	0	30		1,81	

Probe	Anzahl	Positiv	Negativ	PPA	HIV1 Ct VK %	Gesamt-HIV1 Ct VK %
EDTA-Plasma	30	30	0	100 %	1,81	1,53
ACD-Plasma	30	0	30		1,81	

In diesen Tests wiesen die 30 gepaarten EDTA- und ACD-Plasmaproben bei der Analyse mit dem HIV1 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

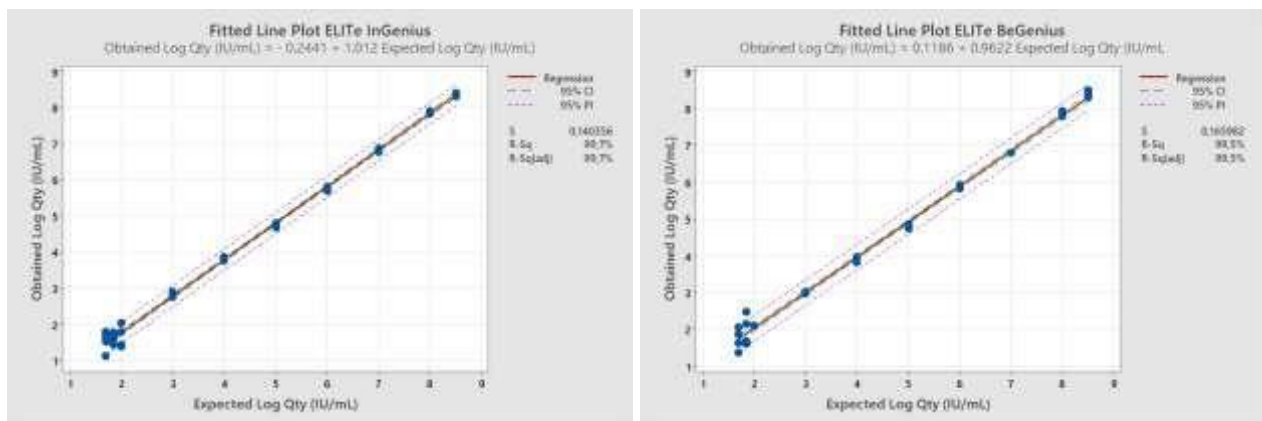
Der lineare Messbereich des Assays wurde zusammen mit Plasmaproben auf ELITE InGenius und ELITE BeGenius mithilfe einer Reihe von Verdünnungen von Referenzmaterial von HIV1 Gruppe M Subtyp B (ZeptoMetrix) in negativen EDTA-Plasmaproben bestimmt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung aufgeführt.

HIV1 ELITE MGB® Kit

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

REF RTK600ING



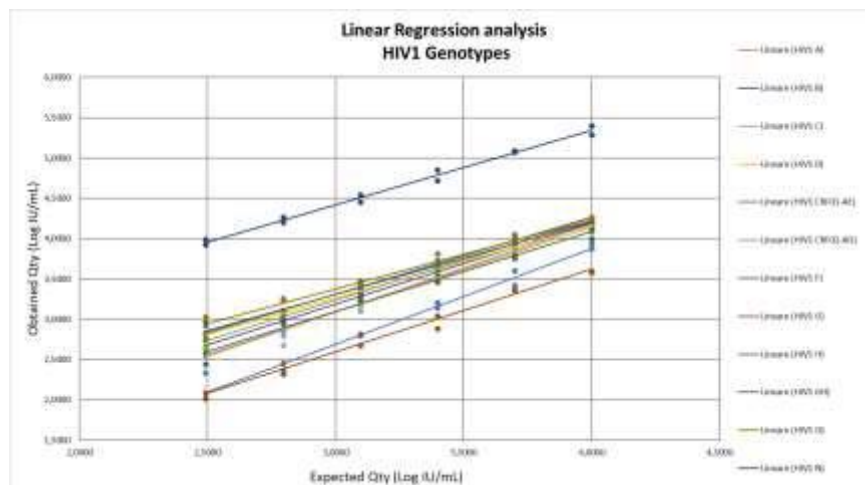
Der lineare Messbereich als Kopien/ml für EDTA-Plasma wird unter Anwendung des spezifischen Umrechnungsfaktors berechnet, der im folgenden Abschnitt angegeben ist.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Linearer Messbereich für EDTA-Plasmaproben und ELITE InGenius	
Untere Grenze	Obere Grenze
60 IU/ml	319.300.795 IU/ml
26 Kopien/ml	138.826.433 Kopien/ml

Für die wichtigsten HIV-Genotypen (Gruppe M Subtyp A, C, D, CRF01-AE, F, G, GH, H, CRF02-AG, Gruppe O und Gruppe N) wurde der lineare Messbereich durch die Analyse mit HIV-Referenzmaterial (HIV-1 Subtypen-Panel, Institut für Virologie, Universitätsklinikum Erlangen) dotierter negativer EDTA-Plasmaproben verifiziert.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung aufgeführt.



Die Linearität des Assays wurde für die wichtigsten HIV1-Genotypen (Gruppe M Subtyp A, C, D, CRF01-AE, F, G, GH, H, CRF02-AG, Gruppe O und Gruppe N) bestätigt: Dabei lagen der R²-Wert im Bereich zwischen 0,972 und 0,999 und die quantitativen Ergebnisse innerhalb von $\pm 0,5$ log IU/ml mit Ausnahme der HIV1-Gruppe N, die im Vergleich zum theoretischen Wert um zirka 1,5 log IU/ml zu hoch angesetzt war. Diese Probe wurde jedoch auch von „cobas® HIV-1 for use on the 6800 Systems“ (Roche Diagnostics) überschätzt.

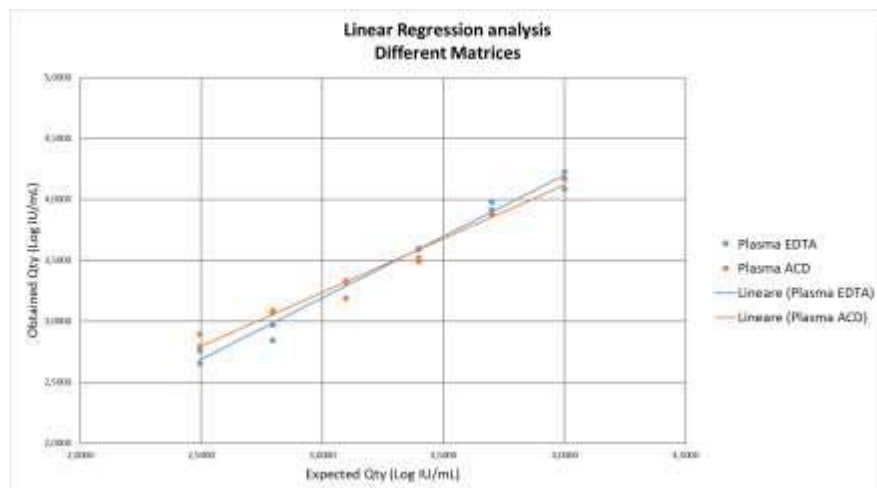
Der lineare Messbereich wurde mittels Analyse negativer EDTA-Plasmaproben und negativer ACD-Plasmaproben, die mit Referenzmaterial von HIV1 Gruppe M Subtyp B (ZeptoMetrix) dotiert waren, verifiziert. Als Referenz wurden entsprechende Ergebnisse von Tests mit EDTA-Plasma angegeben.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung aufgeführt.

HIV1 ELITe MGB® Kit

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

REF RTK600ING



Die Linearität des Assays wurde für EDTA-Plasma und ACD-Plasma bestätigt; dabei lagen die quantitativen Ergebnisse innerhalb von $\pm 0,5$ log IU/ml und R^2 bei 0,984 bzw. 0,980.

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 0,1348 log Kopien/Reaktion.

Standardkurven-Levels	Theoretisch	SD	Erweiterte kombinierte Unsicherheit
	Log Kopien/Reaktion		
HIV1 Standard 10^5	5,0000	0,0535	0,1348
HIV1 Standard 10^4	4,0000	0,0602	
HIV1 Standard 10^3	3,0000	0,0600	
HIV1 Standard 10^2	2,0000	0,0899	

Inklusivität: Nachweis- und Quantifizierungseffizienz bei verschiedenen Genotypen

Die Inklusivität des Assays als die Nachweiseffizienz für verschiedene Genotypen des HIV1 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 zweier Panels von HIV-Referenzmaterial (WHO und Erlangen) bei 3 x LoD verifiziert.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

1st WHO International Reference Panel for HIV-1 CRF's			
Subtyp/Gruppe	Stamm	Pos. / Wiederh.	Ergebnis
Gruppe O	BCF01	3/3	HIV1 erkannt
CRF11 GJ	MP1307	3/3	HIV1 erkannt
CRF02-AG	P1261	3/3	HIV1 erkannt
CRF01-AE	CM244	3/3	HIV1 erkannt
CRF01 A,G,J,U	96CM1849	3/3	HIV1 erkannt
CRF BG 24	X2456	3/3	HIV1 erkannt
Subtyp J	SE9173	3/3	HIV1 erkannt
Subtyp C	X1936	3/3	HIV1 erkannt
Subtyp G	P962	3/3	HIV1 erkannt
CRF ADG	24203	3/3	HIV1 erkannt

HIV-1 Subtypen-Panel, Erlangen			
Proben-ID	Stamm	Pos. / Wiederh.	Ergebnis
HIV1 A1	92UG029	3/3	HIV1 erkannt
HIV1 A2	00KE_KER2018	3/3	HIV1 erkannt
HIV1 B1	92TH026	3/3	HIV1 erkannt
HIV1 B2	90TH_BK132	3/3	HIV1 erkannt

HIV1 ELITe MGB® Kit

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

REF RTK600ING

HIV-1 Subtypen-Panel, Erlangen			
Proben-ID	Stamm	Pos. / Wiederh.	Ergebnis
HIV1 C1	92BR025	3/3	HIV1 erkannt
HIV1 C2	99ET_14	3/3	HIV1 erkannt
HIV1 D1	92UG021	3/3	HIV1 erkannt
HIV1 D2	92UG035	3/3	HIV1 erkannt
HIV1 D3	92UG024	3/3	HIV1 erkannt
HIV1 E1	92TH022	3/3	HIV1 erkannt
HIV1 F1	93BR029	3/3	HIV1 erkannt
HIV1 F2	93BR020	3/3	HIV1 erkannt
HIV1 G	RU570	3/3	HIV1 erkannt
HIV1 H	VI525	3/3	HIV1 erkannt
HIV1 GH	VI557	3/3	HIV1 erkannt
HIV1 AG1	01CM.0005BBY	3/3	HIV1 erkannt
HIV1 AG2	01CM.0008BBY	3/3	HIV1 erkannt
HIV1 N	YBF30	3/3	HIV1 erkannt
HIV1 O1	MVP5180	3/3	HIV1 erkannt
HIV1 O2	CA-9	3/3	HIV1 erkannt

Alle Proben wurden mit dem HIV1 ELITe MGB® Kit korrekt als positiv erkannt und innerhalb von $\pm 0,5$ log quantifiziert.

Potenziell interferierende Marker: Kreuzreaktivität

Die potenzielle Kreuzreaktivität mit unbeabsichtigten Organismen, die in klinischen Proben vorkommen können, wurde durch eine *In-silico*-Analyse bewertet. Die Analyse ergab keine signifikante Homologie mit anderen unbeabsichtigten Organismen (Viren, Bakterien, Protozoen und Pilze), mit Ausnahme von HIV2, dem am engsten verwandten Organismus mit HIV1, bei dem die Homologie beinahe 80 % betrug. Es ist daher eine Kreuzreaktivität zu erwarten.

Das Fehlen einer Kreuzreaktivität mit potenziell interferierenden Organismen wurde auch durch die Analyse des Panels unbeabsichtigter Organismen (ATCC, NIBSC, ZeptoMetrix) mit hohem Titer überprüft.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Proben-ID	HIV1 Pos. / Wiederh.	Ergebnis
HIV2	3/3	Kreuzreaktivität
HTLV1	0/6	Keine Kreuzreaktivität
HTLV2	0/6	Keine Kreuzreaktivität
CMV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
EBV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HAV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HBV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HCV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HEV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HSV1	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HSV2	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HHV6	0/3	Keine Kreuzreaktivität
VZV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Influenza A	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Influenza B	0/3	Keine Kreuzreaktivität
RSV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
ADV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
WNV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
DV3	0/3	Keine Kreuzreaktivität
EV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
PVB19	0/3	Keine Kreuzreaktivität
<i>Staphylococcus aureus</i>	0/3	Keine Kreuzreaktivität
<i>Candida albicans</i>	0/3	Keine Kreuzreaktivität

Alle getesteten potenziell interferierenden Marker wiesen für die HIV1-Zielamplifikation mit dem HIV1 ELITe MGB Kit keine Kreuzreaktivität auf, bei HIV2 können jedoch positive Ergebnisse mit einer 2.000-mal geringeren Quantifizierung als der theoretische HIV2-Titer ausgegeben werden.

Potenziell interferierende Marker: Inhibition

HIV1 ELITe MGB® Kit

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

REF RTK600ING

Die potenzielle Inhibition unbeabsichtigter Organismen, die in klinischen Proben vorkommen können, wurde für den Assay durch die Analyse eines Panels unbeabsichtigter Organismen verschiedener Anbieter (ATCC, NIBSC, ZeptoMetrix) bewertet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Proben-ID	HIV1 Pos. / Wiederh.	Ergebnis
HIV2	3/3	Keine Interferenz
HTLV1	3/3	Keine Interferenz
HTLV2	3/3	Keine Interferenz
CMV	3/3	Keine Interferenz
EBV	3/3	Keine Interferenz
HAV	3/3	Keine Interferenz
HBV	3/3	Keine Interferenz
HCV	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 HIV1 ELITe MGB Kit keine Inhibition des Nachweises und der Quantifizierung des HIV1-Zielorganismus nachgewiesen.

Hinweis: Selbst HIV2 hemmt den HIV1-Nachweis nicht und kann aufgrund der HIV2-Kreuzreaktivität eine HIV1-Überquantifizierung in Proben von doppelt infizierten Personen verursachen.

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	HIV1 Pos. / Wiederh.	Ergebnis
EDTA	3/3	Keine Interferenz
Heparin	0/3	Interferenz
Hämolytisches Blut hoch	3/3	Keine Interferenz
Lipämisches Plasma	3/3	Keine Interferenz
Ikterisches Plasma	3/3	Keine Interferenz
Ganciclovir	3/3	Keine Interferenz
Azithromycin	3/3	Keine Interferenz
Abacavir	3/3	Keine Interferenz
Emtricitabin	3/3	Keine Interferenz
Lamivudin	3/3	Keine Interferenz
Tenofovir	3/3	Keine Interferenz
Doravirin	3/3	Keine Interferenz
Efavirenz	3/3	Keine Interferenz
Rilpivirin	3/3	Keine Interferenz
Atazanavir	3/3	Keine Interferenz
Darunavir	3/3	Keine Interferenz
Bictegravir	3/3	Keine Interferenz
Elvitegravir	3/3	Keine Interferenz
Maraviroc	3/3	Keine Interferenz

Die meisten getesteten Substanzen interferieren nicht mit der Amplifikation von HIV1 oder der internen Kontrolle.

HIV1 ELITE MGB® Kit

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

REF RTK600ING

Es wurde zwar bestätigt, dass Heparin in der Lage ist, die Amplifikation von HIV1 zu hemmen, doch aufgrund des Ct-Grenzwerts der Internal Control (IC-Ct < 33) wurden die Probenergebnisse als „ungültig“ und nicht „falsch-negativ“ ausgegeben.

Kreuzkontamination

Die mögliche Kreuzkontamination während der Analyse wurde bewertet, indem 30 HIV1-RNA-negative Plasmaproben im Wechsel mit 30 Plasmaproben, die mit zertifiziertem HIV1-Referenzmaterial (ZeptoMetrix) dotiert waren, mit hohem Titer getestet wurden.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Proben	Anzahl	Negativ	Positiv
ACD-Plasma dotiert auf 1×10^6 HIV1 IU/ml	30	0	30
ACD-Plasma, negativ auf HIV1	30	30	0

Bei diesem Test mit dem HIV1 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 (PEI) in einer Konzentration von $3 \times \text{LoD}$ (zirka 180 IU/ml) dotierten Proben auf ELITE InGenius und ELITE BeGenius getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

ELITE InGenius – Fehlerrate des Gesamtsystems					
Proben	Anzahl	Theoretischer Wert IU/ml	Negativ	Positiv	Fehlerrate des Gesamtsystems
EDTA-Plasma, mit HIV1 dotiert	100	180	0	100	0 %
ACD-Plasma, mit HIV1 dotiert	30	180	0	30	0 %

ELITE BeGenius – Fehlerrate des Gesamtsystems					
Proben	Anzahl	Theoretischer Wert IU/ml	Negativ	Positiv	Fehlerrate des Gesamtsystems
EDTA-Plasma, mit HIV1 dotiert	100	180	0	100	0 %

Bei dem Test mit dem HIV1 ELITE MGB Kit lieferte keine der getesteten HIV1-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 HIV1-Referenzmaterial (4th 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	HIV1					Internal Control		
	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	8	Unbestimmt	-	-	100 %	29,15	0,30	1,04
3 x LoD	8	35,02	0,40	1,14	100 %			
10 x LoD	8	33,67	0,46	1,36	100 %			

Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs bei ELITE BeGenius (Tag 1)								
Probe	HIV1					Internal Control		
	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	8	Unbestimmt	-	-	100 %	29,71	0,40	1,34
3 x LoD	8	35,90	0,72	2,02	100 %			
10 x LoD	8	33,94	0,62	1,83	100 %			

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

HIV1 ELITe MGB® Kit

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

REF RTK600ING**Laufübergreifende Wiederholpräzision bei ELITe InGenius (Tag 1 + Tag 2)**

Probe	HIV1					Internal Control		
	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	16	Unbestimmt	-	-	100 %	29,05	0,32	1,10
3 x LoD	16	35,09	0,27	0,78	100 %			
10 x LoD	16	33,68	0,36	1,07	100 %			

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

Probe	HIV1					Internal Control		
	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	16	Unbestimmt	-	-	100 %	29,78	0,32	1,06
3 x LoD	16	35,99	0,59	1,64	100 %			
10 x LoD	16	34,11	0,51	1,49	100 %			

Beim Test der Wiederholpräzision erkannte der HIV1 ELITe MGB Kit die Zielsequenz und wies eine maximale Variabilität der Ct-Zielwerte als VK% gleich 1,64 % aus.

Vergleichspräzision

Zur Bewertung der standortübergreifenden Vergleichspräzision des Assays wurde auf ELITe InGenius ein Panel von negativen oder mit HIV1 (4th WHO International Standard, NIBSC) dotierten Plasmaproben analysiert.

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

Standortübergreifende Vergleichspräzision bei ELITe InGenius

Probe	HIV1					Internal Control		
	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	24	Unbestimmt	-	-	100 %	29,51	0,40	1,36
3 x LoD	24	35,01	0,66	1,88	100 %			
10 x LoD	24	33,34	0,23	0,68	100 %			

Beim Test der standortübergreifenden Vergleichspräzision erkannte der HIV1 ELITe MGB Kit die Zielsequenz und wies eine maximale Variabilität der Ct-Zielwerte als VK% gleich 1,88 % aus.

Zur Bewertung der Vergleichspräzision des Assays mit ELITe BeGenius und ELITe InGenius wurde ein Panel aus negativen bzw. mit HIV1 (4th 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	HIV1					Internal Control		
	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	24	Unbestimmt	-	-	100 %	29,36	0,61	2,09
3 x LoD	24	35,17	0,47	1,34	100 %			
10 x LoD	24	33,76	0,30	0,88	100 %			

Geräteübergreifende Vergleichspräzision bei ELITe BeGenius

Probe	HIV1					Internal Control		
	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	24	Unbestimmt	-	-	100 %	29,97	0,74	2,47
3 x LoD	24	35,86	0,59	1,65	100 %			
10 x LoD	24	34,12	0,41	1,19	100 %			

HIV1 ELITE MGB® Kit

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

REF RTK600ING

Eine Übersicht der chargenübergreifenden Vergleichspräzision (bei drei Chargen) ist in den nachfolgenden Tabellen dargestellt.

Chargenübergreifende Vergleichspräzision bei ELITE InGenius								
Probe	HIV1					Internal Control		
	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	48	Unbestimmt	-	-	100 %	29,17	0,68	2,34
3 x LoD	48	35,14	0,63	1,81	100 %			
10 x LoD	48	33,64	0,41	1,22	100 %			

Chargenübergreifende Vergleichspräzision bei ELITE BeGenius								
Probe	HIV1					Internal Control		
	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	48	Unbestimmt	-	-	100 %	29,92	0,56	1,87
3 x LoD	48	35,79	0,67	1,87	100 %			
10 x LoD	48	34,06	0,33	0,98	100 %			

Beim Test der geräteübergreifenden und der chargenübergreifenden Vergleichspräzision erkannte der HIV1 ELITE MGB Kit alle Proben wie erwartet korrekt und wies eine maximale Variabilität der Ct-Zielwerte als VK% gleich 1,87 % 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 „4th WHO HIV1 International Standard“ (NIBSC) verifiziert.

Als Umrechnungsfaktor wurde 2,3 IU/Kopie ermittelt.

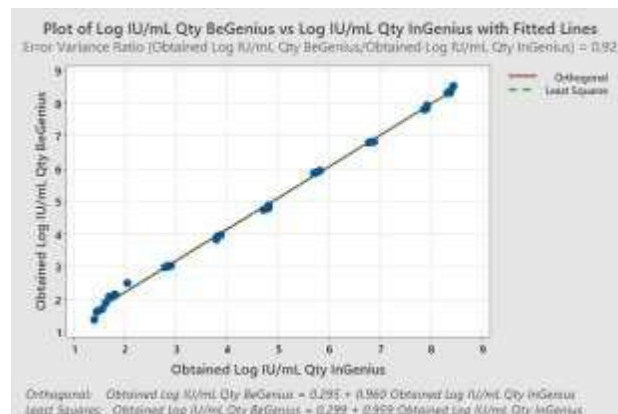
Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabelle zusammengefasst.

Umrechnungsfaktor in internationalen Einheiten, Fc = 2,3 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	
10.000	4,0000	27	4.052	9.320	3,9623	+0,0377
3.162	3,5000	26	1.379	3.172	3,4913	+0,0087
1.000	3,0000	27	500	1.149	3,0494	-0,0494
316	2,5000	27	156	359	2,5366	-0,0366

Da die Gleichwertigkeit zwischen EDTA-Plasma und ACD-Plasma zuvor bewiesen wurde, kann der Umrechnungsfaktor auf die beiden 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 (4th WHO International Standard, NIBSC) verifiziert.

Zur Berechnung der Korrelation wurden die erhaltenen Ergebnisse mittels orthogonaler und linearer Regression analysiert.



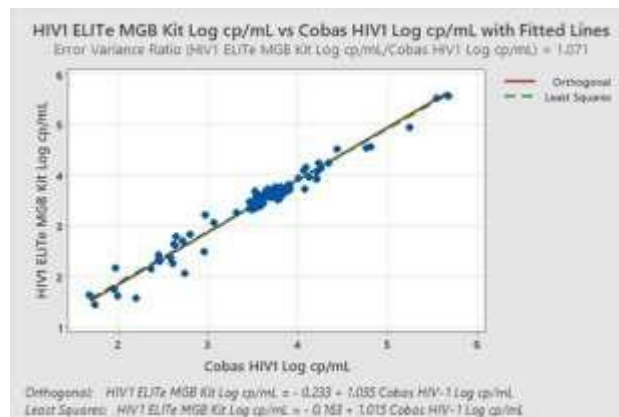
Die orthogonale Regressionsanalyse ergab einen Achsenabschnitt von - 0,066 (95%-KI: -0,194 bis 0,061) und eine Steigung von 0,998 (95%-KI: 0,953 bis 1,042). Die Analyse der linearen Regression ergab einen R²-Wert von 0,991.

Diagnostische Sensitivität: Methodenkorrelation

Die diagnostische Sensitivität des Assays, die durch eine Korrelationsanalyse verschiedener Methoden ermittelt wurde, wurde an drei verschiedenen Standorten durch die Analyse HIV1-RNA-positiver klinischer Proben von Patienten, die sich einer antiviralen Therapie unterzogen und deren Viruslast innerhalb des Messbereichs des HIV1 ELITE MGB Kit und CE/IVD-gekennzeichneter molekulardiagnostischer Referenzmethoden lag, mit **ELITE InGenius** bewertet. Die mit dem HIV1 ELITE MGB Kit und der Referenzmethode erhaltenen Ergebnisse wurden mittels orthogonaler und linearer Regression analysiert.

Die Korrelationsstudie wurde an einem Standort mit 87 HIV1-RNA-positiven klinischen EDTA-Plasmaproben durchgeführt, wobei „cobas® HIV-1 for use on the 6800 System“ als Vergleichsmethode herangezogen wurde.

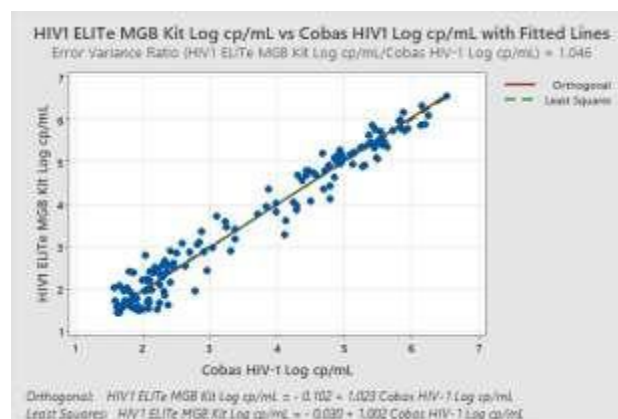
Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung zusammengefasst.



In diesem Test ergab die orthogonale Regressionsanalyse eine Steigung von 1,035 (95%-KI: 0,991; 1,078) und einen Achsenabschnitt von -0,233 (95%-KI: -0,390 bis -0,075). Die Analyse der linearen Regression ergab einen R²-Wert von 0,962.

Die Korrelationsstudie wurde an zwei weiteren Standorten mit 150 HIV1-RNA-positiven klinischen EDTA-Plasmaproben durchgeführt, wobei „cobas® HIV-1 for use on the 4800 System“ als Vergleichsmethode herangezogen wurde.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung zusammengefasst.



In diesem Test ergab die orthogonale Regressionsanalyse eine Steigung von 1,023 (95%-KI: 0,989; 1,056) und einen Achsenabschnitt von -0,102 (95%-KI: -0,229 bis 0,026). Die Analyse der linearen Regression ergab einen R²-Wert von 0,961.

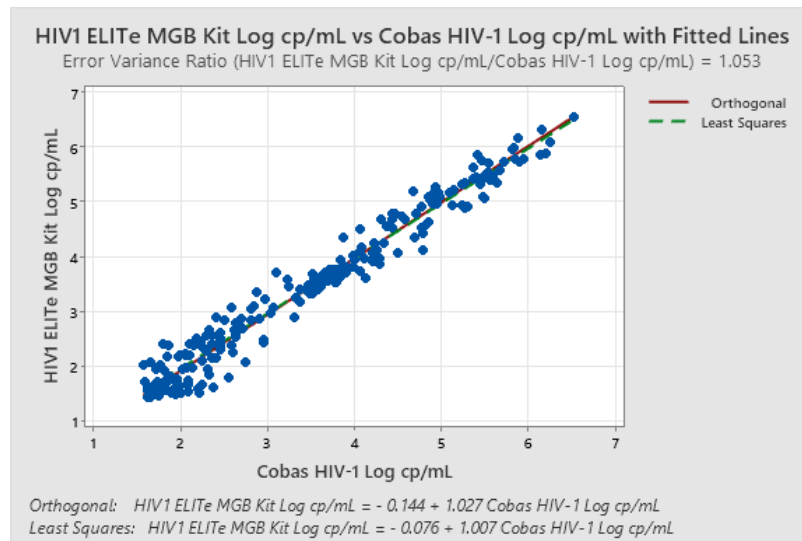
Da zwei Referenzmethoden („cobas® HIV-1 for use on the 4800 System“ und „cobas® HIV-1 for use on the 6800 System“, Roche Diagnostics) gleichwertige Leistungen aufweisen, wurde die Korrelationsstudie auch mit den zusammengefassten Ergebnissen, die an den drei verschiedenen Standorten erhalten worden waren, durchgeführt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung zusammengefasst.

HIV1 ELITE MGB® Kit

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

REF RTK600ING



In diesem Test ergab die orthogonale Regressionsanalyse eine Steigung von 1,027 (95%-KI: 1,001; 1,052) und einen Achsenabschnitt von -0,144 (95%-KI: -0,241 bis -0,047). Die Analyse der linearen Regression ergab einen R²-Wert von 0,963.

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 HIV1-RNA-negativer klinischer Proben, 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® HIV-1 for use on the 4800 System“ und „cobas® HIV-1 for use on the 6800 System“, Roche Diagnostics) als auch zusammengefasst, da sie gleichwertige Leistungen aufweisen.

HIV1-RNA-negative EDTA-Plasmaproben	Anzahl	Positiv	Negativ	Diagnostische Spezifität
Referenz: cobas HIV-1 for use on the 6800 System	90	0	90	100 %
Referenz: cobas HIV-1 for use on the 4800 System	159	3	156	98,1 %
Zusammengefasste Ergebnisse	249	3	246	98,8 %

Drei Proben ergaben abweichend positive Ergebnisse mit einem Titer unter der Nachweisgrenze des HIV1 ELITE MGB Kit und der Referenzmethoden. Diese Proben können zufällig positive Ergebnisse generieren.

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 der Matrix und dem Gerät durchgeführt wurden, sind in der technischen Produktdokumentation „HIV1 ELITE MGB Kit“, FTP 600ING, aufgeführt.

REFERENZEN

J. Müller et al. (2007) *J. Virol. Methods* 142: 127 - 135.

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

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

DHHS Guidelines 2019: "Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents with HIV".

WHO Prequalification of In Vitro Diagnostics Public Report (WHO PQ Public Report), number PQDx 0365-118-00, 10/2020, version 20.

<https://ltd.aruplab.com> (test number 3000867).

B. Amellal et al. (2008) *HIV Medicine*, 9: 790-793.

K. Sebire et al. (1998), *J. Clin. Microbiol.*, 36: 493-498.

C. Ginocchio et al. (1997), *J. Clin. Microbiol.*, 35: 2886-2893.

C. Baleriola et al. (2011), *J. Clin. Microbiol.*, 49: 3163-3167.

GRENZEN DES VERFAHRENS

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

In EDTA oder ACD entnommenes Plasma muss 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.

Derzeit liegen keine Daten zur Produktleistung mit anderen klinischen Proben, wie z. B. Vollblut, Serum oder Liquor (CSF) 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 HIV-Infektion bestimmt.

Dieses Produkt zeigt eine Kreuzreaktivität mit HIV2, die positive Ergebnisse mit einer 2.000-mal geringeren Quantifizierung als der theoretische HIV2-Titer aufweisen kann. Dennoch stellt die Kreuzreaktivität mit HIV2 aufgrund des Verwendungszwecks des Produkts, der HIV2-Epidemiologie und der Implementierung eindeutiger diagnostischer Algorithmen (z. B. CDC), die darauf abzielen, eine HIV1- von einer HIV2-Infektion zu unterscheiden, kein echtes Problem dar. Der HIV1 ELITe MGB Kit ist jedoch nicht optimal als Hilfsmittel bei der Behandlung von doppelt mit HIV1 und HIV2 infizierten Personen geeignet. In diesem Fall hemmt HIV2 den HIV1-Nachweis nicht und kann aufgrund der HIV2-Kreuzreaktivität eine HIV1-Überquantifizierung verursachen.

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 ernsten 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 ernsten 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 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.

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 Inventory Block (Bestandsmanager) oder der Cooler Unit.	Oberflächen mit wässrigen Reinigungsmitteln reinigen, Laborkittel waschen, verwendete Röhrchen und Spitzen austauschen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

HIV1 ELITe MGB® Kit

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

REF RTK600ING

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.

Anomale Dissoziationskurve	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Fehlen eines definierten Peaks. Definierter Peak, T _m -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.

HIV1 ELITe MGB® Kit

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

REF RTK600ING

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.

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 Gerätekennung



Ausreichend für „N“ Tests



Vorsicht, 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.

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.

TaqMan™ ist eine Marke von Thermo Fisher Scientific.

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.

HIV1 ELITE MGB® Kit used in association with Genius series®

Ref: RTK600ING



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

Intended use

The product **HIV1 ELITE MGB® Kit** is an in vitro diagnostic medical device intended to be used by healthcare professionals as quantitative nucleic acids reverse transcription and Real-Time PCR assay for the detection and quantification of the RNA of Human Immunodeficiency Virus type 1 (HIV1), extracted from clinical specimens.

The assay is validated in association with ELITE InGenius® and ELITE BeGenius® instruments, automated and integrated systems for extraction, reverse transcription, Real-Time PCR and results interpretation, using human specimens of plasma collected in EDTA or in ACD.

The product is intended for use as an aid in the management of HIV1-infected individuals undergoing antiviral therapy.

The results must be interpreted in combination with all relevant clinical observations and laboratory outcomes.

The product is not intended to be used for screening or to detect the presence or the exposure to transmissible agents in blood, blood components, cells, tissues, organs or any of their derivatives in order to assess their suitability for transfusion, transplantation or cell administration. The product is not intended for use as a diagnostic test to confirm the presence of HIV1 infection.

Amplified sequence



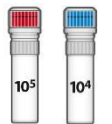


Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
Target	HIV1 polymerase gene (integrase region)	FAM	HIV1
Internal Control	MS2	AP525	IC

Validated matrix

› Plasma EDTA

› Plasma ACD

Kit content

HIV1 ELITE MGB Mix		HIV1 ELITE Standard		HIV1 - ELITE Positive Control	HIV1 Internal Control
 X 4	 X 2	 X 1		 X 2	 X 8
HIV PCR Mix 4 tubes of 600 µL 96 reactions per kit 5 freeze-thaw cycles	RT Enzyme Mix 2 tubes of 20 µL 96 reactions per kit 10 freeze-thaw cycles	Ready-to-use Calibrators: 10 ⁵ , 10 ⁴ , 10 ³ , 10 ² 1 set of 4 tubes of 160 µL 2 freeze-thaw cycles		Ready-to-use PC 2 tubes of 160 µL 8 reactions per kit 4 freeze-thaw cycles	Ready-to-use IC 8 tubes of 160 µL 96 extractions per kit 12 freeze-thaw cycles

Maximum shelf-life: **18 months**

Storage Temperature: **-20 °C**

Material required not provided in the kit

- › ELITE InGenius instrument: INT030
- › ELITE BeGenius instrument: 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
- › Filter Tips 300 µL: TF-350-L-R-S (ELITE InGenius only)
- › 1000 µL Filter Tips Tecan: 30180118 (ELITE BeGenius only)

ELITE InGenius and ELITE BeGenius protocol

› Sample volume	600 µL	› Unit of quantitative result	International Unit: IU/mL
› HIV1 CPE volume	10 µL	› Conversion factor to IU	Copies: Copies/mL
› Total elution volume	50 µL	› Frequency of controls	2.3 IU/copy
› PCR elution input volume	20 µL	› Frequency of calibration	15 days
› Complete PCR Mix volume	20 µL		60 days

ELITE InGenius and ELITE BeGenius Performance

Matrix	Limit of Detection	Diagnostic Sensitivity: Method Correlation	Diagnostic Specificity
Plasma	60 IU / mL 26 copies / mL	R² = 0.963 237 quantified samples	98.8% 246 confirmed samples / 249 tested samples

reference methods:

“cobas® HIV1 for use on the 4800 Systems” and

“cobas® HIV1 for use on the 6800 Systems”, Roche Diagnostics.

Sample preparation

This product is intended for use on the **ELITE InGenius®** and **ELITE BeGenius®** with the following clinical specimens identified according to laboratory guidelines, and collected, transported, and stored under the following conditions.

Sample type	Transport/Storage conditions			
	+16 / +26 °C (room temperature)	+2 / +8 °C	-20 ±10 °C	-70 ±15 °C
Plasma samples collected in EDTA or ACD	≤ 2 days	≤ 3 days	≤ 1 month	≤ 6 months

Do not use Plasma collected in heparin to prevent inhibition of amplification reaction and frequent invalid results.

ELITE InGenius Procedures

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

Before analysis

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

4. Prepare the complete reaction mixture

Sample Number (N)	HIV1 PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0.3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0.3 µL
N = 12	290 µL	4.4 µL

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

Procedure 1 - Complete run: Extraction +PCR

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: "1000 µL", elution: "50 µL"	3. Scan the sample barcodes with hand-held barcode reader or type the sample ID
4. Select the "Assay protocol" of interest: HIV1 ELITE_PL_600_50	5. Select the method "Extract + PCR" and the sample position: Extraction Tube	6. Load the complete reaction mixture and the Internal Control in the inventory block
7. Load: PCR cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip Cassette, Extraction Tube racks	8. Close the door Start the run	9. View, approve and store the results

Procedure 2 - PCR only

1 to 4: Follow the Complete Run procedure described above (select the Assay Protocols: HIV1 ELITE_PC and HIV1 ELITE_NC or HIV1 ELITE_STD)	5. Select the method "PCR only" and set the sample position "Elution Tube"	6. Load the complete reaction mixture in the inventory block
7. Load: PCR cassette rack and the Elution tube rack with the extracted nucleic acid	8. Close the door Start the run	9. View, approve and store the results

Procedure 3 - Extraction only

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

ELiTe BeGenius Procedures

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

Before analysis

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

4. Prepare the complete reaction mixture

Sample Number (N)	HIV1 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. Vortex gently
Spin down 5 sec
Keep the complete reaction mixture in ice. Do not expose to direct light.

Procedure 1 - Complete run: Extraction + PCR

1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «Extraction and PCR»	2. Insert the Sample Rack with the barcoded samples in the cooling area. The barcode scan is already active	3. Verify the extraction volumes: Input: "600 µL", Eluate: "50 µL"
4. Select the "Assay protocol" of interest: HIV1 ELiTe_Be_PL_600_50	5. Print the labels to barcode the empty elution tubes. Load the tubes in the Elution Rack and insert it in the cooling area	6. Load the complete reaction mixture and the CPE in Reagent Rack and insert it in the cooling area
Note: if a second extraction is performed repeat steps from 2 to 4		
7. Load: Filter Tips, Extraction rack, and PCR rack	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results

Procedure 2 - PCR only

1. Select "Perform Run" on the touch screen and the click on the run mode «PCR Only»	2. Load the extracted nucleic acid barcoded tubes in the Elution Rack and insert it in the cooling area	3. Select the "Assay protocol" of interest (HIV1 ELiTe_Be_PC and HIV1 ELiTe_Be_NC or HIV1 ELiTe_Be_STD)
4. Load the complete reaction mixture in Reagent Rack and insert it in the cooling area Load filter tips and the PCR rack	5. Close the door. Start the run	6. View, approve and store the results

Procedure 3 - Extraction only

1 to 4 : Follow the Complete Run procedure described above	5. Select the protocol "Extraction Only" in the Assay Protocol selection screen.	6. Load the CPE in the Elution Rack and insert it in the cooling area
7. Load : Filter Tips and the Extraction Rack	8. Close the door Start the run	9. Archive the eluate sample