



ELITechGroup S.p.A.  
C.so Svizzera, 185  
10149 Torino ITALIA

Uffici: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76 11  
E-mail: [emd.support@elitechgroup.com](mailto:emd.support@elitechgroup.com)  
Sito internet: [www.elitechgroup.com](http://www.elitechgroup.com)

## NOTICE of CHANGE dated 07/06/2024

### IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

#### «HBV ELITe MGB Kit» Ref. RTK602ING

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

- *Assay Principle: Typo correction of region name of HBV polymerase gene.*
- *Other products required: note regarding availability of HBV ELITe Standard (Ref STD602ING) and HBV - ELITe Positive Control (Ref CTR602ING) as separate products.*
- *Warning and Precautions specific for the components: extension of the period of use of each reagent tube up to 60 days from first opening.*
- *Product Description: plasmid DNA concentration also correlated to the "5th WHO International Standard for HBV DNA for NAT".*

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

### PLEASE NOTE



LA REVISIONE DI QUESTO IFU E' COMPATIBILE ANCHE CON LA VERSIONE PRECEDENTE DEL KIT



THE REVIEW OF THIS IFU IS ALSO COMPATIBLE WITH THE PREVIOUS VERSION OF THE KIT



CET IFU MIS A JOUR ANNULE ET REMPLACE ET EST PARFAITEMENT COMPATIBLE AVEC LA VERSION PRECEDENTE DU KIT



LA REVISIÓN DE ESTE IFU ES COMPATIBLE TAMBIÉN CON LA VERSIÓN ANTERIOR DEL KIT



A REVISÃO DO ESTE IFU ÉTAMBÉM COMPATÍVEL COM A VERSÃO ANTERIOR DO KIT



DIESE FASSUNG DER GEBRAUCHSANLEITUNG IST KOMPATIBEL MIT DER VORHERIGEN VERSION DES TESTKITS



## HBV ELITE MGB® Kit

### Reagenzien für die DNA-Amplifikation in Echtzeit

REF RTK602ING



### INHALT

#### VERWENDUNGSZWECK

#### TESTPRINZIP

#### PRODUKTBESCHREIBUNG

#### IM LIEFERUMFANG DES PRODUKTS ENTHALTENE MATERIALIEN

#### BENÖTIGTE MATERIALIEN (NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN)

#### ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE

#### WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

#### ELITE INGENIUS

#### PROBEN UND KONTROLLEN

#### VORGEHENSWEISE

#### ELITE BEGENIUS

#### PROBEN UND KONTROLLEN

#### VORGEHENSWEISE

#### LEISTUNGSMERKMALE BEI ELITE INGENIUS und ELITE BEGENIUS

#### REFERENZEN

#### GRENZEN DES VERFAHRENS

#### FEHLERBEHEBUNG

#### SYMBOLS

#### HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ

#### ANHANG: KURZANLEITUNG

Seite 1

Seite 2

Seite 3

Seite 4

Seite 4

Seite 4

Seite 5

Seite 7

Seite 7

Seite 8

Seite 16

Seite 16

Seite 17

Seite 23

Seite 37

Seite 38

Seite 39

Seite 41

Seite 41

Seite A

### VERWENDUNGSZWECK

Das **HBV ELITE MGB® Kit** ist ein Nukleinsäure-Amplifikationstest zum **Nachweis und zur Quantifizierung** von DNA des Hepatitis-B-Virus (**HBV**), die aus klinischen Proben extrahiert wurde.

Der Test dient zum Nachweis der HBV-Genotypen A, B, C, D, E, F, G, H, I und RF.

Der Test ist in Verbindung mit den Systemen **ELITE InGenius®** und **ELITE BeGenius®** validiert, unter Verwendung von (in EDTA oder ACD entnommenem) humanem Plasma und Serum.

Das Produkt ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Behandlung von HBV-infizierten Personen, die sich einer antiviralen Therapie unterziehen, vorgesehen. Bei der Interpretation der Ergebnisse müssen alle relevanten klinischen Beobachtungen und Laborbefunde herangezogen werden.

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

## HBV ELITE MGB® Kit

### Reagenzien für die DNA-Amplifikation in Echtzeit

REF RTK602ING

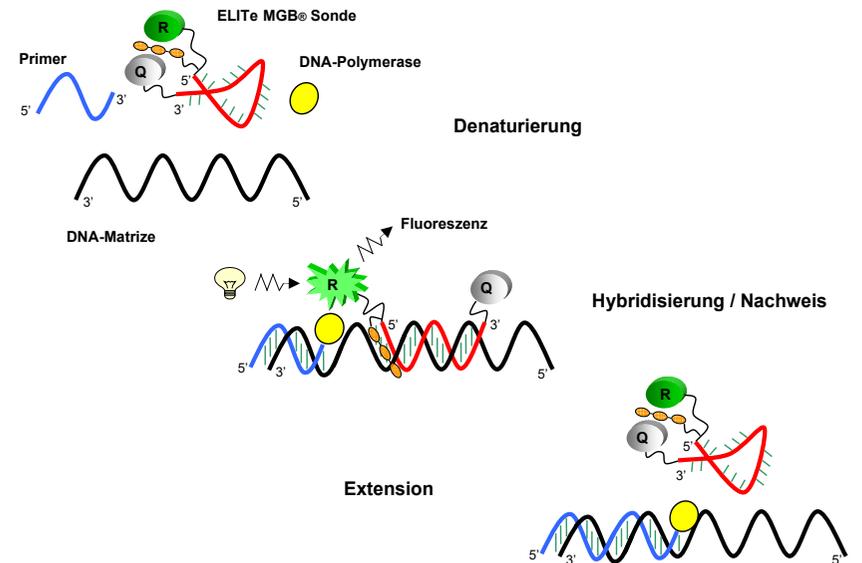
### TESTPRINZIP

Der Assay ist eine quantitative Echtzeit-PCR, die mit **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius**, automatisierten und integrierten Systemen zur Extraktion, Amplifikation und zum Nachweis von Nukleinsäuren sowie zur Ergebnisinterpretation, validiert wird.

HBV-DNA wird aus Serum- oder (in EDTA oder ACD entnommenen) Plasmaproben isoliert und anschließend in einer Echtzeit-PCR mit **HBV PCR Mix** amplifiziert. Die Assayreagenzien enthalten Primer und Sonden, die an das HBV-Polymerasegen (P-Gen) binden. Die HBV-Sonde verwendet die ELITE MGB-Technologie und ist mit FAM-Fluorophor markiert. Darüber hinaus sind in den Assayreagenzien für eine heterologe Internal-Control-Zielssequenz spezifische Primer und Sonden enthalten. Die Internal-Control-Sonde verwendet ebenfalls die ELITE MGB-Technologie und ist mit AquaPhluor® 525 (AP525) markiert. Die exogene Internal Control, IC2, wird dem Lysepuffer hinzugefügt und dient zur Überwachung der Extraktion und der PCR-Effizienz.

Die HBV- und Internal-Control-spezifischen Sonden werden aktiviert, wenn sie mit den jeweiligen PCR-Produkten hybridisieren. ELITE InGenius überwacht den Fluoreszenzanstieg und berechnet den Ct-Wert und die Menge auf der Grundlage einer gespeicherten Kalibrationskurve.

Die ELITE MGB-Technologie ist in der nachfolgenden Abbildung dargestellt. Die Fluorophore werden 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.



**PRODUKTBESCHREIBUNG**

Das **HBV ELITe MGB Kit** umfasst die folgenden Komponenten:

• **HBV ELITe MGB Mix**

Der **HBV ELITe MGB Mix** enthält die Unterkomponente **HBV PCR Mix**, ein optimiertes und stabilisiertes PCR-Gemisch, das in **acht gebrauchsfertige Röhrchen** aliquotiert ist. Jedes Röhrchen enthält **280 µl** und reicht für **12 Tests** mit dem **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius** aus, wenn mindestens 2 Proben pro Lauf verarbeitet werden.

Primer und Sonden für HBV sind spezifisch für das Polymerasegen (P-Gen) von **HBV**. Die HBV-Sonde ist durch den **MGB®** stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher® gequencht und für den Nachweis im Kanal 1 von **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius** mit dem FAM-Fluorophor markiert.

Die Primer und die Sonde für die exogene Internal Control sind für die künstliche Sequenz **IC2** spezifisch. Die IC2-Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und für den Nachweis im Kanal 2 von **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius** mit dem AP525-Fluorophor markiert.

Der **HBV PCR Mix** enthält außerdem Puffer, Magnesiumchlorid, Nukleotidtriphosphate und „Hot-start“-DNA-Polymerase.

Der **HBV ELITe MGB Mix** enthält ausreichend Reagenz für **96 Tests mit ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius**, wobei 20 µl pro Reaktion verwendet werden.

• **HBV ELITe Standard**

Der **HBV ELITe Standard** enthält die Unterkomponenten **HBV Q-PCR Standards**, vier stabilisierte Plasmid-DNA-Lösungen mit der HBV-Polymerase-Genregion mit **bekanntem Titer**, die in **gebrauchsfertige Röhrchen** aliquotiert sind. Jedes Röhrchen enthält **160 µl** Lösung, die für **2 Läufe** ausreicht. Die **HBV Q-PCR Standards** müssen mit dem **HBV PCR Mix** auf **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius** verwendet werden, um die Kalibrationskurve des Systems (Produktcharge und Gerät) für die HBV-Quantifizierung zu erstellen.

Die Plasmid-DNA-Konzentration wurde durch UV-Spektroskopie als Kopien/ml bestimmt und mittels eines Umrechnungsfaktors mit dem „4th WHO International Standard for HBV DNA for NAT“ (NIBSC code 10/266, Vereinigtes Königreich) in Bezug gesetzt, der eine HBV-Quantifizierung in internationalen Einheiten pro ml (IU/ml) ermöglicht.

Außerdem entspricht die Plasmid-DNA-Konzentration in Bezug auf den Umrechnungsfaktor in internationale Einheiten dem „5th WHO International Standard for HBV DNA for NAT“ (NIBSC, UK, Code 22/120), wie im Kapitel „Leistungsmerkmale“ angegeben.

Der **HBV ELITe Standard** enthält ausreichend Material für **2 Läufe auf ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius**, wobei 20 µl pro Reaktion verwendet werden.

• **HBV - ELITe Positive Control**

Die **HBV - ELITe Positive Control** enthält die Unterkomponente **HBV Positive Control**, eine stabilisierte Plasmid-DNA-Lösung mit der HBV-Polymerase-Genregion, die in **zwei gebrauchsfertige Röhrchen** aliquotiert ist. Jedes Röhrchen enthält **160 µl** Lösung, die für **4 Läufe** ausreicht. Die **HBV Positive Control** muss mit dem **HBV PCR Mix** auf **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius** verwendet werden, um Kontrolldiagramme zur Verifizierung des Systems (Produktcharge und Gerät) zu erstellen.

Die **HBV - ELITe Positive Control** enthält ausreichend Material für **8 Läufe auf ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius**, wobei 20 µl pro Reaktion verwendet werden.

• **HBV Internal Control**

Die **HBV Internal Control** enthält die Unterkomponente **HBV CPE** (exogene Internal Control), eine stabilisierte Plasmid-DNA-Lösung, die die künstliche IC2-Sequenz enthält und in **acht gebrauchsfertige Röhrchen** aliquotiert ist. Jedes Röhrchen enthält **160 µl** Lösung, die für **12 Proben** ausreicht, wenn mindestens 2 Proben pro Lauf bearbeitet werden. Der **HBV CPE** wird den Extraktionsreagenzien hinzugefügt, mit Proben-Nukleinsäuren aufgereinigt und anschließend für die Echtzeit-PCR zur Validierung der Ergebnisse HBV-negativer Proben mit **HBV PCR Mix** kombiniert.

Die **HBV Internal Control** enthält ausreichend Material für **96 Tests mit ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius**, wobei 10 µl pro Extraktion verwendet werden.

**IM LIEFERUMFANG DES PRODUKTS ENTHALTENE MATERIALIEN**

Komponente	Unterkomponente	Beschreibung	Menge	Gefahrenklassen
<b>HBV ELITe MGB Mix</b> Art.-Nr. <b>RTS602ING</b>	HBV PCR Mix Art.-Nr. <b>RTS602ING</b>	Gemisch aus Reagenzien für Echtzeit-PCR mit <b>WEISSEM Verschluss</b>	<b>8 x 280 µl</b>	-
<b>HBV ELITe Standard</b> Art.-Nr. <b>STD602ING</b>	HBV Q-PCR Standards 10 <sup>5</sup> Art.-Nr. <b>STD602ING-5</b>	Plasmidlösung in Röhrchen mit <b>ROTEM Verschluss</b>	<b>1 x 160 µl</b>	-
	HBV Q-PCR Standards 10 <sup>4</sup> Art.-Nr. <b>STD602ING-4</b>	Plasmidlösung in Röhrchen mit <b>BLAUEM Verschluss</b>	<b>1 x 160 µl</b>	
	HBV Q-PCR Standards 10 <sup>3</sup> Art.-Nr. <b>STD602ING-3</b>	Plasmidlösung in Röhrchen mit <b>GRÜNEM Verschluss</b>	<b>1 x 160 µl</b>	
	HBV Q-PCR Standards 10 <sup>2</sup> Art.-Nr. <b>STD602ING-2</b>	Plasmidlösung in Röhrchen mit <b>GELBEM Verschluss</b>	<b>1 x 160 µl</b>	
<b>HBV - ELITe Positive Control</b> Art.-Nr. <b>CTR602ING</b>	HBV Positive Control Art.-Nr. <b>CTR602ING</b>	Plasmidlösung in Röhrchen mit <b>SCHWARZEM Verschluss</b>	<b>2 x 160 µl</b>	-
<b>HBV Internal Control</b> Art.-Nr. <b>CPE602ING</b>	HBV CPE Art.-Nr. <b>CPE602ING</b>	Lösung mit Plasmid-DNAs und genomischer RNA von MS2-Phage mit <b>NEUTRALEM Verschluss</b>	<b>8 x 160 µl</b>	-

**BENÖTIGTE MATERIALIEN (NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN)**

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

**ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE**

Die Reagenzien für die Extraktion von Proben-DNA und die Verbrauchsmaterialien sind **nicht** im Lieferumfang dieses Kits enthalten.

Für die Nukleinsäureextraktion und Probenanalyse mit dem **«ELITe InGenius»** (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT030) werden die folgenden Produkte benötigt:

- „**ELITe InGenius® SP 200**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT032SP200) Extraktionskartuschen
- **«ELITe InGenius® SP 200 Consumable Set»** (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT032CS)
- **«ELITe InGenius® Waste Box»** (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. F2102-000)
- **«ELITe InGenius® PCR Cassette»** (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT035PCR)
- **«300 µL Filter Tips Axygen»** (Axygen BioScience Inc., CA, USA, Art.-Nr. TF-350-L-R-S)
- Assay Protocols (ELITechGroup S.p.A.)
  - Kalibrierungsstandards **HBV ELITe\_STD**,
  - Positive PCR Control **HBV ELITe\_PC**,
  - Negative PCR Control **HBV ELITe\_NC**,
  - Eine der folgenden Probenanalysen: **HBV ELITe\_PL\_200\_50**, **HBV ELITe\_Se\_200\_50**.

**HBV ELITe MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation in  
Echtzeit

REF RTK602ING

Für die Nukleinsäureextraktion und Probenanalyse mit dem **ELITe BeGenius** (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT040) werden die folgenden Produkte benötigt:

- **ELITe InGenius® SP 200** (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT032SP200) Extraktionskartuschen
- **ELITe InGenius® SP 200 Consumable Set** (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT032CS)
- **ELITe InGenius® Waste Box** (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. F2102-000)
- **ELITe InGenius® PCR Cassette** (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT035PCR)
- **1000 µl Filter Tips Tecan** (Tecan, Schweiz, Art.-Nr. 30180118)
- Assay Protocols (ELITechGroup S.p.A.)
  - Kalibratorenstandards **HBV ELITe\_Be\_STD**,
  - Positive PCR Control **HBV ELITe\_Be\_PC**,
  - Negative PCR Control **HBV ELITe\_Be\_NC**,
  - Eine der folgenden Probenanalysen: **HBV ELITe\_Be\_PL\_200\_50**, **HBV ELITe\_Be\_Se\_200\_50**.

**Hinweis:** Bei Bedarf sind die Kalibratoren und die Positive Control auch als separate Produkte erhältlich: **HBV ELITe Standard**, Art.-Nr. STD602ING, und **HBV - ELITe Positive Control**, Art.-Nr. CTR602ING.

**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. Materialien, die mit den biologischen Proben in Kontakt kommen, müssen vor der Entsorgung mindestens 30 Minuten mit 3 % Natriumhypochlorit (Bleiche) behandelt oder eine Stunde bei 121 °C autoklaviert werden. Extraktionsreagenzien dürfen nicht mit Natriumhypochlorit (Bleiche) in Kontakt kommen.

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

Geeignete Schutzkleidung und Schutzhandschuhe sowie Augen-/Gesichtsschutz tragen.

Lösungen niemals mit dem Mund pipettieren.

Das Essen, Trinken, Rauchen oder die Verwendung von Kosmetika ist in den Arbeitsbereichen untersagt.

Nach der Handhabung von Proben und Reagenzien gründlich die Hände 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 Assays alle 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.

Keine Reagenzien aus unterschiedlichen Chargen verwenden.

Reagenzien von anderen Herstellern dürfen nicht verwendet werden, außer wenn dies ausdrücklich angegeben ist.

**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.

**HBV ELITe MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation in  
Echtzeit

REF RTK602ING

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 Aerosolfilterspitzen verwendet werden. Die verwendeten Spitzen müssen steril und sowohl DNase- und RNase-frei als auch DNA- und RNA-frei 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 Aerosolfilterspitzen verwendet werden. Die verwendeten Spitzen müssen steril und sowohl DNase- und RNase-frei als auch DNA- und RNA-frei sein.

Die Extraktionsprodukte müssen so verwendet werden, dass eine Freisetzung in die Umgebung minimiert wird, um die Möglichkeit einer Kontamination zu vermeiden. Die Pipetten, die für die Handhabung von Extraktionsprodukten verwendet werden, dürfen nur für diesen Zweck verwendet werden.

Die PCR-Kassetten müssen vorsichtig behandelt werden und dürfen niemals geöffnet werden, um die Diffusion von PCR-Produkten in die Umgebung und die Kontamination der Proben und Reagenzien zu vermeiden.

**Produktkomponenten-spezifische Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen**

• **HBV ELITe MGB Mix**

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

Der **HBV PCR Mix** muss nach der ersten Öffnung innerhalb von 60 Tagen verwendet werden.

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

Der **HBV PCR Mix** kann für bis zu **sieben separate Läufe von jeweils drei Stunden** (Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR), mit zwischenzeitlichen Gefrier- und Auftauzyklen) oder für **drei aufeinander folgende Läufe von jeweils drei Stunden** (Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR)) im gekühlten Reagenzienblock des Geräts verbleiben.

• **HBV ELITe Standard**

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

Der **HBV Q-PCR Standard** muss nach der ersten Öffnung innerhalb von 60 Tagen verwendet werden.

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

Der **HBV Q-PCR Standard** darf für bis zu **zwei separate Läufe von jeweils zwei Stunden** im Extraktionsbereich des Geräts gelassen werden (Modus „PCR Only“ (nur PCR)).

• **HBV - ELITe Positive Control**

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

Die **HBV Positive Control** muss nach dem ersten Öffnen innerhalb von 60 Tagen verwendet werden.

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

Die **HBV Positive Control** darf für bis zu **vier separate Läufe von jeweils drei Stunden** im Extraktionsbereich des Geräts gelassen werden (Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR)).

• **HBV Internal Control**

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

Der **HBV CPE** muss nach der ersten Öffnung innerhalb von 60 Tagen verwendet werden.

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

Der **HBV CPE** darf für bis zu **sechs separate Läufe von jeweils drei Stunden** im gekühlten Reagenzienblock des Geräts gelassen werden (Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR)).

**ELiTe InGenius**

**PROBEN UND KONTROLLEN**

**Proben**

Dieses Produkt wurde für die Verwendung mit den folgenden klinischen Proben vorgesehen:

**In EDTA oder ACD entnommenes Plasma**

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

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

**Hinweis:** Die Nukleinsäureextraktion aus EDTA- oder ACD-Plasma wird mit **ELiTe InGenius** und der **ELiTe InGenius Software** Version 1.3 (oder später) unter Verwendung des Assay-Protokolls **HBV ELiTe\_PL\_200\_50** durchgeführt, um 200 µl Probe zu verarbeiten, 10 µl **HBV CPE** (Internal Control) zu jeder Extraktion hinzuzufügen und die Nukleinsäuren in 50 µl zu eluieren.

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

**Serum**

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

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

**Hinweis:** Die Nukleinsäureextraktion aus Serum wird mit **ELiTe InGenius** und der **ELiTe InGenius Software** Version 1.3 (oder später) unter Verwendung des Assay-Protokolls **HBV ELiTe\_Se\_200\_50** durchgeführt, um 200 µl Probe zu verarbeiten, 10 µl **HBV CPE** (Internal Control) zu jeder Extraktion hinzuzufügen und die Nukleinsäuren in 50 µl zu eluieren.

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

**Andere Proben**

Derzeit keine Daten zur Produktleistung mit anderen klinischen Proben, wie z. B. Vollblut, vor.

**Störende Substanzen**

Verfügbare Daten zu einer Inhibition durch Arzneimittel und andere Substanzen sind im Kapitel „Leistungsmerkmale“ unter „Potenziell störende Substanzen“ aufgeführt.

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

**Kalibrationskurve und Amplifikationskontrollen**

Vor der Analyse von Proben ist es erforderlich, die Kalibrationskurve zu generieren und die Amplifikationskontrollen für jede PCR-Reagenziencharge durchzuführen:

- Verwenden Sie für die Kalibrationskurve die vier Konzentrationen des im Lieferumfang dieses Kits enthaltenen **HBV ELiTe Standard** und das Assay-Protokoll **HBV ELiTe\_STD**.
- Verwenden Sie für die Positive Control die im Lieferumfang dieses Kits enthaltene **HBV - ELiTe Positive Control** und das Assay-Protokoll **HBV PLUS ELiTe\_PC**.
- Verwenden Sie für die Negative Control hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) und das Assay-Protokoll **HBV ELiTe\_NC**.

**Hinweis:** **ELiTe InGenius** benötigt für jede PCR-Reagenziencharge eine genehmigte und gültige Kalibrationskurve und Amplifikationskontrollen.

In der Datenbank gespeicherte Kalibrationskurven verfallen nach **60 Tagen**; danach muss der **HBV Standard** mit der jeweiligen PCR-Reagenziencharge erneut durchgeführt werden.

In der Datenbank gespeicherte Amplifikationskontrollergebnisse verfallen nach **15 Tagen**; danach müssen die Positive Control und die Negative Control mit der jeweiligen PCR-Reagenziencharge erneut ausgeführt werden.

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

- eine neue Charge von Reagenzien gestartet wird,
- Ergebnisse der Qualitätskontrollanalyse (siehe nächster Abschnitt) außerhalb der Spezifikation liegen,
- größere Wartungs- oder Instandhaltungsarbeiten am **ELiTe InGenius**-Gerät durchgeführt werden.

**Qualitätskontrollen**

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

**VORGEHENSWEISE**

Der Gebrauch des **HBV ELiTe MGB Kit** mit **ELiTe InGenius** besteht aus drei Schritten:

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

**Prüfung der Systembereitschaft**

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

- **ELiTe InGenius** einschalten und im Modus „**CLOSED**“ (geschlossen) anmelden.
- Prüfen, ob die Kalibratoren (**HBV Q-PCR Standards**) für die zu verwendende Charge des **HBV PCR Mix** genehmigt und gültig (Status) sind. Wenn keine gültigen Kalibratoren für die Charge **HBV PCR Mix** verfügbar sind, Kalibration wie unten beschrieben durchführen.
- Prüfen, ob die Amplifikationskontrollen (**HBV Positive Control**, **HBV Negative Control**) für die zu verwendende Charge des **HBV PCR Mix** genehmigt und gültig (Status) sind. Wenn keine gültigen Kontrollen für die Charge **HBV PCR Mix** verfügbar sind, die Amplifikationskontrollen wie unten beschrieben durchführen.
- den Typ des Laufs auswählen, dazu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche zur Einrichtung des Laufs befolgen und die von ELiTechGroup S.p.A. bereitgestellten Assay-Protokolle verwenden. Diese IVD-Protokolle wurden speziell mit **ELiTe MGB Kits** und dem Gerät **ELiTe InGenius** mit den angegebenen Matrices validiert.

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

Assay-Protokoll für HBV ELiTe MGB Kit			
Name	Matrix	Maßeinheit	Eigenschaften
HBV ELiTe_PL_200_50	Plasmaproben	Positiv / IU/ml Kopien/ml / Negativ	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 50 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
HBV ELiTe_Se_200_50	Serumproben	Positiv / IU/ml Kopien/ml / Negativ	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 50 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl

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

#### Einrichtung des Laufs

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

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

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

**Hinweis:** ELiTe InGenius kann mit dem Laborinformationssystem (LIS, Laboratory Information System) verbunden werden, das das Laden der Laufinformationen ermöglicht. Weitere Informationen finden Sie im Gerätehandbuch.

#### Die wichtigsten Schritte für die Einrichtung der drei Lauftypen sind nachfolgend beschrieben.

##### A. Integrierter Lauf

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

1. Die Proben bei Raumtemperatur (+18 bis 25 °C) auftauen und gemäß den Laborrichtlinien und dem Abschnitt „Proben und Kontrollen“ handhaben.
2. Die benötigten **HBV PCR Mix**-Röhrchen 30 Minuten bei Raumtemperatur (~+25 °C) auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Reaktionen unter optimalen Bedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Vorsichtig mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.

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

3. Die benötigten **HBV CPE**-Röhrchen 30 Minuten bei Raumtemperatur (~+25 °C) auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Extraktionen. Vorsichtig mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
4. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
5. Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 50 µl beträgt.

6. Für jede Probe eine Spur zuweisen und unter „SampleID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.
7. Das zu verwendende Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ auswählen (z. B. HBV ELiTe\_PL\_200\_50).
8. Sicherstellen, dass das „Protocol“ (Protokoll) angezeigt wird: „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR).
9. Als Proben-Ladeposition „Extraction Tube“ (Extraktionsröhrchen) in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) auswählen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
10. **HBV CPE** und **HBV PCR Mix** gemäß „Load List“ (Liste Laden) auf den dafür vorbehaltenen „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden und die Reagenzien-Chargennummer und das Verfallsdatum eingeben. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
11. Die Spitzen in den Spitzenständern prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
12. Die **PCR Cassettes** (PCR-Kassetten), die **ELiTe InGenius SP 200** Extraktionskartuschen und alle benötigten Verbrauchsmaterialien und die zu extrahierenden Proben laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
13. Schließen Sie die Gerätetür.
14. Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

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 Elutionsröhrchen aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen, gekennzeichnet und maximal einen Monat bei -20 °C gelagert werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

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

**Hinweis:** Der PCR Mix kann für 7 separate Läufe von jeweils 3 Stunden verwendet werden oder für bis zu 3 aufeinander folgende Läufe von jeweils 3 Stunden im gekühlten Block des Geräts verbleiben. Vorsichtig mischen, anschließend den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

##### B. Amplifikationslauf

Zum Einrichten des Amplifikationslaufs ab der extrahierten Nukleinsäure die folgenden Schritte unter Beachtung der grafischen Benutzeroberfläche ausführen:

1. Die benötigten **HBV PCR Mix**-Röhrchen 30 Minuten bei Raumtemperatur (~+25 °C) auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Reaktionen unter optimalen Bedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Vorsichtig mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.

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

2. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
3. Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) auch dann 50 µl beträgt, wenn keine Extraktion durchgeführt wird.
4. Für jede Probe eine Spur zuweisen und die Proben-ID (SID) eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.
5. Das zu verwendende Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ auswählen (z. B. HBV ELiTe\_PL\_200\_50).
6. In der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) auswählen.
7. Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr [untere Reihe]) lautet. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
8. **HBV PCR Mix** gemäß „Load List“ (Liste Laden) auf den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden und die Reagenzien-Chargennummer und das Verfallsdatum eingeben. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.

- Die Spitzen in den Spitzenständern prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
- Die **PCR Cassettes** (PCR-Kassetten) und extrahierten Nukleinsäure-Proben gemäß den Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche laden. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
- Schließen Sie die Gerätetür.
- Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

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 und einen Monat bei -20 °C aufbewahrt werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

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

**Hinweis:** Der PCR Mix kann für 7 separate Läufe von jeweils 3 Stunden verwendet werden oder für bis zu 3 aufeinander folgende Läufe von jeweils 3 Stunden im gekühlten Block des Geräts verbleiben. Vorsichtig mischen, anschließend den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

### C. Kalibrationslauf

Zum Einrichten des Kalibrationslaufs für Q-PCR Standards die folgenden Schritte unter Beachtung der grafischen Benutzeroberfläche ausführen:

- Die benötigten **HBV PCR Mix**-Röhrchen 30 Minuten bei Raumtemperatur (~+25 °C) auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Reaktionen unter optimalen Bedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Vorsichtig mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.

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

- Die **HBV Q-PCR Standard**-Röhrchen auftauen (Cal1: HBV Q-PCR Standard 10<sup>2</sup>, Cal2: HBV Q-PCR Standard 10<sup>3</sup>, Cal3: HBV Q-PCR Standard 10<sup>4</sup>, Cal4: HBV Q-PCR Standard 10<sup>5</sup>) 30 Minuten bei Raumtemperatur (~+25 °C). Jedes Röhrchen reicht aus für 2 Reaktionen. Vorsichtig mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
- Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
- Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) auch dann 50 µl beträgt, wenn keine Extraktion durchgeführt wird.
- Für den **HBV Q-PCR Standard** die Spur zuweisen, das Assay-Protokoll „HBV ELiTe\_STD“ in der Spalte „Assay“ auswählen und die Reagenzien-Chargennummer und das Verfallsdatum eingeben. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
- HBV PCR Mix** gemäß „Load List“ (Liste Laden) auf den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden und die Reagenzien-Chargennummer und das Verfallsdatum eingeben. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
- Die Spitzen in den Spitzenständern prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
- Die **PCR Cassettes** (PCR-Kassetten) und die **HBV Q-PCR Standard**-Röhrchen gemäß den Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche laden. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
- Schließen Sie die Gerätetür.
- Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

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 können die übrigen Q-PCR Standards aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und bei -20 °C gelagert werden.

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

**Hinweis:** Die Q-PCR Standards können für 2 separate Läufe von jeweils 2 Stunden verwendet werden.

**Hinweis:** Der PCR Mix kann für 7 separate Läufe von jeweils 3 Stunden verwendet werden oder für bis zu 3 separate Läufe von jeweils 3 Stunden im gekühlten Block des Geräts verbleiben. Vorsichtig mischen, anschließend den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

### D. Amplifikationslauf für Positive Control und Negative Control

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

- Die benötigten **HBV PCR Mix**-Röhrchen 30 Minuten bei Raumtemperatur (~+25 °C) auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Reaktionen unter optimalen Bedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Vorsichtig mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.

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

- HBV Positive Control**-Röhrchen 30 Minuten bei Raumtemperatur (~+25 °C) auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 4 Reaktionen. Vorsichtig mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
- Die HBV Negative Control vorbereiten: dazu mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie in ein Elutionsröhrchen überführen, das im Lieferumfang des **ELiTe InGenius SP 200 Consumable Set** enthalten ist.
- Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
- Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) auch dann 50 µl beträgt, wenn keine Extraktion durchgeführt wird.
- Für die Positive Control die Spur zuweisen, das Assay-Protokoll „HBV ELiTe\_PC“ in der Spalte „Assay“ auswählen und die Reagenzien-Chargennummer und das Verfallsdatum eingeben.
- Für die Negative Control die Spur zuweisen, das Assay-Protokoll „HBV ELiTe\_NC“ in der Spalte „Assay“ auswählen und die Chargennummer und das Verfallsdatum des hochreinen Wassers für die Molekularbiologie eingeben. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
- HBV PCR Mix** gemäß „Load List“ (Liste Laden) auf den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden und die Reagenzien-Chargennummer und das Verfallsdatum eingeben. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
- Die Spitzen in den Spitzenständern prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
- „**PCR Cassettes**“ (PCR-Kassetten), das Röhrchen **HBV Positive Control** und das Röhrchen für die Negative Control gemäß den Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche laden. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
- Schließen Sie die Gerätetür.
- Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

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 kann die übrige Positive Control aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und bei -20 °C gelagert werden. Die übrige Negative Control muss entsorgt werden.

**Hinweis:** Am Ende des Laufs müssen die PCR-Kassetten und anderen Verbrauchsmaterialien gemäß den gesetzlichen Umweltbestimmungen entsorgt werden. Ein Verschütten der Reaktionsprodukte vermeiden.

**Hinweis:** Die Positive Control kann für 4 separate Läufe von jeweils 3 Stunden verwendet werden.

**Hinweis:** Der PCR Mix kann für 7 separate Läufe von jeweils 3 Stunden verwendet werden oder für bis zu 3 aufeinander folgende Läufe von jeweils 3 Stunden im gekühlten Block des Geräts verbleiben. Vorsichtig mischen, anschließend den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

**Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse**

**ELITe InGenius** überwacht die Fluoreszenzsignale der Zielsequenz und der 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 **HBV 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 HBV-Sonde (Kanal „HBV“) der Kalibratorreaktionen mit den **HBV 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“) aufgezeichnet. Sie können von Benutzern mit der Qualifikation „Administrator“ oder „Analyst“ durch Befolgen der Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche angezeigt oder 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 HBV-Sonde (Kanal „HBV“) der Reaktionen der Positive Control und der Negative Control mit den Parametern der Assay-Protokolle **HBV ELITe\_PC** und **HBV ELITe\_NC**. Die resultierenden Ct-Werte werden in Konzentrationswerte umgerechnet und zur Validierung 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.

Vor der Analyse von Proben ist es erforderlich zu prüfen, ob die Ergebnisse der Positive Control und Negative Control für die PCR-Reagenziencharge genehmigt und gültig sind. Der Status der Ergebnisse der Positive Control und der Negative Control werden für jede Charge des PCR-Reagenz im Modul „Controls“ angezeigt. Wenn die Ergebnisse der Positive Control und der Negative Control fehlen oder abgelaufen sind, die Kontrolle(n) wie oben beschrieben erneut durchführen.

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 bzw. 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 HBV-Sonde (Kanal „HBV“) und die Internal-Control-Sonde (Kanal „IC“) mit den Assay-Protokoll-Parametern **HBV ELITe\_PL\_200\_50** und **HBV ELITe\_Se\_200\_50**. Die resultierenden HBV-Ct-Werte werden in Konzentrationswerte umgerechnet.

Die Ergebnisse werden im Modul „Result Display“ (Ergebnisanzeige) angezeigt.

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

<b>1) Kalibrationskurve</b>	<b>„Status“</b>
HBV Q-PCR Standards	APPROVED (Genehmigt)
<b>2) Positivkontrolle</b>	<b>„Status“</b>
HBV Positive Control	APPROVED (Genehmigt)
<b>3) Negativkontrolle</b>	<b>„Status“</b>
HBV 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.

<b>Ergebnis des Probenlaufs</b>	<b>Interpretation</b>
HBV: DNA Detected, quantity equal to XXX IU/mL or copies/mL (HBV: DNA nachgewiesen, Menge gleich XXX IU/ml bzw. Kopien/ml)	<b>HBV-DNA wurde</b> in der Probe innerhalb des Messbereich des Tests in der angezeigten Menge <b>nachgewiesen</b> .
HBV: DNA Detected, quantity below LLoQ IU/mL or copies/mL (HBV: DNA nachgewiesen, Menge unter LLoQ IU/ml bzw. Kopien/ml)	<b>HBV-DNA wurde</b> in der Probe unterhalb der unteren Bestimmungsgrenze des Tests <b>nachgewiesen</b> .
HBV: DNA Detected, quantity beyond ULoQ IU/mL or copies/mL (HBV: DNA nachgewiesen, Menge über ULoQ IU/ml bzw. Kopien/ml)	<b>HBV-DNA wurde</b> in der Probe oberhalb der oberen Bestimmungsgrenze des Tests <b>nachgewiesen</b> .
HBV: DNA Not Detected or below the LoD IU/mL or copies/mL (HBV: DNA nicht nachgewiesen oder unter LoD IU/ml bzw. Kopien/ml)	In der Probe wurde <b>keine HBV-DNA nachgewiesen</b> . Die Probe wurde negativ auf HBV-DNA getestet oder die HBV-DNA-Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
Invalid - Retest Sample (Ungültig - Probe erneut testen).	<b>Ungültiges Testergebnis</b> durch fehlerhafte Internal Control (z. B. aufgrund von falscher Extraktion, Verschleppung von Inhibitoren). Der Test sollte wiederholt werden.

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

Als „DNA Detected, quantity beyond ULoQ“ (DNA nachgewiesen, Menge über ULoQ) ausgegebene Proben sind für die Quantifizierung nicht geeignet. Die Konzentration der in der Probe nachgewiesenen HBV-DNA liegt über dem Niveau, bei dem sie präzise quantifizierbar ist. Die Probe kann vor der Extraktion oder dem PCR-Test verdünnt und erneut getestet werden, um Ergebnisse innerhalb des linearen Assay-Bereichs zu erzielen.

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

HBV-DNA-positive Proben mit einer Konzentration unter der Nachweisgrenze werden als „HBV: DNA Detected, quantity below LLoQ“ (HBV: DNA erkannt, Menge unter LLoQ) ausgegeben (siehe „Leistungsmerkmale“).

Als „Invalid - Retest Sample“ (Ungültig - Probe erneut testen) ausgegebene Proben sind nicht für die Ergebnisinterpretation geeignet. In diesem Fall wurde die Internal-Control-DNA möglicherweise aufgrund von Problemen beim PCR- oder Extraktionsschritt nicht effizient erkannt (Abbau oder Verlust von DNA 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.

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

### ELiTe BeGenius

### PROBEN UND KONTROLLEN

#### Proben

Dieses Produkt wurde für die Verwendung mit den folgenden klinischen Proben vorgesehen:

#### In EDTA oder ACD entnommenes Plasma

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

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

**Hinweis:** Die DNA-Extraktion aus in EDTA oder ACD entnommenem Plasma wird mit dem System **ELiTe BeGenius** und der **ELiTe BeGenius Software**, Version 2.1.0 (oder entsprechende spätere Versionen) unter Verwendung des Assay Protocol **HBV ELiTe\_Be\_PL\_200\_50** durchgeführt. Dieses Protokoll verarbeitet 200 µl Probe, fügt den **HBV CPE** (interne Kontrolle) bei 10 µl pro Extraktion hinzu und eluiert die Nukleinsäuren in 50 µl.

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

#### Serum

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

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

**Hinweis:** Die DNA-Extraktion aus Serum wird mit dem System **ELiTe BeGenius** und der **ELiTe BeGenius Software**, Version 2.1 (oder entsprechende spätere Versionen) unter Verwendung des Assay Protocol **HBV ELiTe\_Be\_Se\_200\_50** durchgeführt. Dieses Protokoll verarbeitet 200 µl Probe, fügt den **HBV CPE** (interne Kontrolle) bei 10 µl pro Extraktion hinzu und eluiert die Nukleinsäuren in 50 µl.

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

#### Andere Proben

Es liegen keine Daten zur Produktleistung mit anderen klinischen Proben, wie z. B. Vollblut, vor.

#### Störende Substanzen

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

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

**Amplifikationskontrollen**

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

- als Kalibratorset sind die vier Konzentrationswerte des im Lieferumfang dieses Kits enthaltenen Produkts **HBV ELITe Standard** zusammen mit dem Assay Protocol **HBV ELITe\_Be\_STD** zu verwenden,
- als Amplifikations-Positivkontrolle ist das im Lieferumfang dieses Kits enthaltene Produkt **HBV - ELITe Positive Control** zusammen mit dem Assay Protocol **HBV ELITe\_Be\_PC** zu verwenden,
- als Amplifikations-Negativkontrolle ist hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) zusammen mit dem Assay Protocol **HBV ELITe\_Be\_NC** zu verwenden.

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

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

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

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

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

**Qualitätskontrollen**

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

**VORGEHENSWEISE**

Der Gebrauch des **HBV ELITe MGB Kit** mit **ELITe BeGenius** besteht aus drei Schritten:

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

**Prüfung der Systembereitschaft**

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

- **ELITe InGenius** einschalten und im Modus „**CLOSED**“ (geschlossen) anmelden. Prüfen, ob die Kalibratoren (**HBV Q-PCR Standard**) für die zu verwendende Charge des **HBV ELITe MGB Kit** genehmigt und gültig (Status) sind. Wenn keine gültigen Kalibratoren für die Charge **HBV ELITe MGB Kit** verfügbar sind, Kalibration wie unten beschrieben durchführen.
- Prüfen, dass die Amplifikationskontrollen (**HBV Positive Control**, **HBV Negative Control**) für die zu verwendende Charge des **HBV ELITe MGB Kit** genehmigt und gültig (Status) sind. Falls keine Amplifikationskontrollen für die Charge des **HBV ELITe MGB Kit** verfügbar sind, die Kontrollen wie nachstehend beschrieben ausführen;
- Den Typ des Laufs auswählen, die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche zur Einrichtung des Laufs befolgen und die von ELITechGroup S.p.A. bereitgestellten Assay-Protokolle verwenden. Diese IVD-Protokolle wurden speziell mit **ELITe MGB Kits** und dem Gerät **ELITe BeGenius** sowie der genannten Matrices validiert.

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

Assay-Protokoll für HBV ELITe MGB Kit			
Name	Matrix	Maßeinheiten	Eigenschaften
<b>HBV ELITe_Be_PL_200_50</b>	Plasmaproben	Positiv / IU/ml Kopien/ml / Negativ	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 50 µl Interne Kontrolle: 10 µl Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
<b>HBV ELITe_Be_Se_200_50</b>	Serumproben	Positiv / IU/ml Kopien/ml / Negativ	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 50 µl Interne Kontrolle: 10 µl Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl

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

**Einrichtung des Laufs**

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

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

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

**Hinweis:** **ELITe BeGenius** kann mit dem Laborinformationssystem (LIS, Laboratory Information System) verbunden werden, das das Laden der Laufinformationen ermöglicht. Weitere Informationen finden Sie im Gerätehandbuch.

Die wichtigsten Schritte für die Einrichtung der drei Lauftypen sind nachfolgend beschrieben.

**A. Integrierter Lauf (Extraktion + PCR)**

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

1. Die Proben bei Raumtemperatur (~+25 °C) auftauen und gemäß den Laborrichtlinien und dem Abschnitt „Proben und Kontrollen“ handhaben.
2. Die benötigten **HBV PCR Mix**-Röhrchen 30 Minuten bei Raumtemperatur (~+25 °C) auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Reaktionen unter optimalen Bedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Vorsichtig mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.

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

3. Die benötigten **HBV CPE**-Röhrchen 30 Minuten bei Raumtemperatur (~+25 °C) auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Extraktionen. Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
4. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
5. Die Racks aus der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.
6. Den Laufmodus wählen: „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR).
7. Die Proben in Rack 5 und 4 (immer mit Rack 5 beginnend) laden, ggf. Adapter für einen richtigen Sitz verwenden.

8. Das Rack in die „Cooler Unit“ einsetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.

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

9. Sicherstellen, dass das Extraktionseingangsvolumen („Extraction Input Volume“) 200 µl und das extrahierte Elutionsvolumen („Extraction Elution Volume“) 100 µl beträgt.

10. Das zu verwendende Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ auswählen (d. h. HBV ELITe\_Be\_PL\_200\_50). Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.

11. Bei Verwendung von Rack 4 Schritt 7 bis 9 wiederholen.

12. Die Elutionsröhrchen in die Racks 3 und 2 laden (immer mit Rack 3 beginnen).

Hinweis: Elutionsröhrchen können zur Verbesserung der Rückverfolgbarkeit etikettiert werden.

13. Das Rack in die „Cooler Unit“ einsetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.

14. Bei Verwendung von Rack 2 Schritt 12 wiederholen.

15. **CPE** und **HBV-PCR Mix** in Rack 1 laden.

16. Das Rack 1 in die „Cooler Unit“ einsetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.

17. Die Spitzen in den Spitzenständern prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.

18. Den Korb mit der **PCR-Kassette** in den „Inventory Area“ (Inventarbereich) laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.

19. Den Korb mit den Extraktionskartuschen **ELITe InGenius SP 200** und den für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.

20. Schließen Sie die Gerätetür.

21. Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

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

**Hinweis:** Am Ende des Laufs muss die übrige extrahierte Probe im Elutionsröhrchen aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen, gekennzeichnet und bei -20 °C gelagert werden.

**Hinweis:** Am Ende des Laufs müssen die **PCR-Kassetten** und Verbrauchsmaterialien gemäß den gesetzlichen Umweltbestimmungen entsorgt werden. Ein Verschütten des Reaktionsprodukts vermeiden.

**Hinweis:** Der PCR Mix kann für 7 unabhängige Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden verwendet werden oder für bis zu 3 aufeinander folgende Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden im gekühlten Block des Geräts verbleiben. Vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

## B. Amplifikationslauf

Zum Einrichten des Amplifikationslaufs ab der extrahierten DNA die folgenden Schritte unter Beachtung der grafischen Benutzeroberfläche ausführen:

1. Die benötigten **HBV PCR Mix**-Röhrchen 30 Minuten bei Raumtemperatur (~+25 °C) auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 24 Reaktionen unter optimalen Bedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.

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

2. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.

3. Die Racks 1, 2 und 3 aus der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.

4. Den Laufmodus wählen: „PCR Only“ (Nur PCR).

5. Die Proben in die Racks 3 und 2 laden (immer mit Rack 3 beginnen).

6. Das Rack in die „Cooler Unit“ einsetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.

7. Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktionseingangsvolumen) 200 µl und das „Extraction Elution Volume“ (extrahierte Elutionsvolumen) 100 µl betragen, auch wenn keine Extraktion durchgeführt wird.

8. Das zu verwendende Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ auswählen (z. B. HBV ELITe\_Be\_PL\_200\_50). Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.

9. Bei Verwendung von Rack 2 Schritt 7 bis 9 wiederholen.

10. **HBV PCR Mix** in Rack 1 laden.

11. Das Rack in die „Cooler Unit“ einsetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.

12. Die Spitzen in den Spitzenständern prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.

13. Den Korb mit der **PCR-Kassette** in den „Inventory Area“ (Inventarbereich) laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.

14. Schließen Sie die Gerätetür.

15. Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

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

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

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

**Hinweis:** Der PCR Mix kann für 7 unabhängige Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden verwendet werden oder für bis zu 3 aufeinander folgende Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden im gekühlten Block des Geräts verbleiben. Vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

## C. Kalibrationslauf (nur PCR)

Zum Einrichten eines Kalibrationslaufs mit den Q-PCR Standards die folgenden Schritte unter Beachtung der grafischen Benutzeroberfläche ausführen:

1. Die benötigten **HBV PCR Mix**-Röhrchen für den Lauf 30 Minuten bei Raumtemperatur (~+25 °C) auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Reaktionen unter optimalen Bedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Vorsichtig mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.

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

2. Die **HBV Q-PCR Standard**-Röhrchen auftauen (Cal1: HBV Q-PCR Standards 10<sup>2</sup>, Cal2: HBV Q-PCR Standards 10<sup>3</sup>, Cal3: HBV Q-PCR Standards 10<sup>4</sup>, Cal4: HBV Q-PCR Standards 10<sup>5</sup>) 30 Minuten bei Raumtemperatur (~+25 °C). Jedes Röhrchen reicht aus für 2 Reaktionen. Vorsichtig mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.

3. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.

4. Die Racks 1, 2 und 3 aus der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.

5. Den Laufmodus wählen: „PCR Only“ (Nur PCR).

6. Die Kalibratorstandards in Rack 3 laden.

7. Das Rack in die „Cooler Unit“ einsetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.

8. Das zu verwendende Assay-Protokoll der Spalte „Assay“ auswählen (HBV ELITe\_Be\_STD). Klicken Sie auf die Schaltfläche „Next“ (Weiter), um fortzufahren.

9. **HBV PCR Mix** in Rack 2 laden.

- Das Rack 2 in die „Cooler Unit“ einsetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
- Die Spitzen in den Spitzenständern prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
- Den Korb mit der **PCR-Kassette** in den „Inventory Area“ (Inventarbereich) laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
- Schließen Sie die Gerätetür.
- Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

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

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

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

**Hinweis:** Der PCR Mix kann für 7 unabhängige Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden verwendet werden oder für bis zu 3 aufeinander folgende Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden im gekühlten Block des Geräts verbleiben. Vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

#### D. Amplifikationslauf für die Positive Control und Negative Control [PCR Only (nur PCR)]

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

- Die benötigten **HBV PCR Mix**-Röhrchen 30 Minuten bei Raumtemperatur (~+25 °C) auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Reaktionen unter optimalen Bedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Vorsichtig mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.

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

- HBV Positive Control**-Röhrchen 30 Minuten bei Raumtemperatur (~+25 °C) auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 4 Reaktionen. Vorsichtig mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
- ≥ 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie (wie Negative Control) in ein Elutionsröhrchen (im Lieferumfang des **ELITe InGenius SP Consumable Set** enthalten) überführen.
- Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
- Die Racks 1, 2 und 3 aus der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.
- Den Laufmodus wählen: „PCR Only“ (Nur PCR).
- Die Röhrchen für die Positive und Negative Control in die Racks 3 laden.
- Das Rack in die „Cooler Unit“ einsetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
- Das zu verwendende Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ auswählen (HBV ELITe\_Be\_PC und HBV ELITe\_Be\_NC). Klicken Sie auf die Schaltfläche „Next“ (Weiter), um fortzufahren.
- HBV PCR Mix** in Rack 2 laden.
- Das Rack 2 in die „Cooler Unit“ einsetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
- Die Spitzen in den Spitzenständern prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
- Den Korb mit der **PCR-Kassette** in den „Inventory Area“ (Inventarbereich) laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.

- Schließen Sie die Gerätetür.
- Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

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

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

**Hinweis:** Am Ende des Laufs müssen die PCR-Kassetten und anderen Verbrauchsmaterialien gemäß den gesetzlichen Umweltbestimmungen entsorgt werden. Ein Verschütten der Reaktionsprodukte vermeiden.

**Hinweis:** Der PCR Mix kann für 7 unabhängige Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden verwendet werden oder für bis zu 3 aufeinander folgende Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden im gekühlten Block des Geräts verbleiben. Vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

#### Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

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

Am Ende des Laufs wird der Bildschirm „Results Display“ (Ergebnisanzeige) automatisch angezeigt. Auf diesem Bildschirm werden die 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 **HBV ELITe MGB Kits** und geht dabei folgendermaßen vor:

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

**Hinweis:** Einzelheiten sind den entsprechenden Kapiteln des **ELITe BeGenius** Handbuchs zu entnehmen.

**LEISTUNGSMERKMALE**  
**ELITe InGenius und ELITe BeGenius**

**Nachweisgrenze (LoD)**

Die Nachweisgrenze (LoD) des HBV ELITe MGB® Kit wurde mit Plasmaproben auf ELITe InGenius ermittelt.

Die LoD wurde durch Testen einer Reihe von HBV-negativen ACD-Plasmaproben, die mit zertifiziertem HBV-Referenzmaterial (4<sup>th</sup> WHO International Standard, NIBSC) mit bekanntem Titer dotiert waren, ermittelt. Es wurden sechs Verdünnungsstufen von 18 IU/ml bis 1 IU/ml hergestellt. Jede Verdünnungsstufe wurde in 24 Wiederholungen auf ELITe InGenius im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) abgearbeitet. Es wurde eine Probit-Regressionsanalyse der Ergebnisse durchgeführt und die Nachweisgrenze als die Konzentration geschätzt, bei der eine 95 %-ige Wahrscheinlichkeit eines positiven Ergebnisses vorliegt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Nachweisgrenze (IU/ml) bei ACD-Plasmaproben und ELITe InGenius			
„Target“ (Ziel)	LoD	95 % Konfidenzintervall	
		Untergrenze	Obergrenze
HBV	9	6	18

Die Nachweisgrenze in Kopien/ml bei ACD-Plasma wurde unter Anwendung des spezifischen Umrechnungsfaktors berechnet, der auf Seite 23 angegeben ist. Die analytische Sensitivität als Kopien/ml ist nachfolgend angegeben.

Nachweisgrenze (Kopien/ml) bei ACD-Plasmaproben und ELITe InGenius			
„Target“ (Ziel)	LoD	95 % Konfidenzintervall	
		Untergrenze	Obergrenze
HBV	38	27	73

Der berechnete LoD-Wert wurde durch Testen von 30 Replikaten von ACD-Plasma-, 30 Replikaten von EDTA-Plasma- und 30 Replikaten von Serumproben, die mit zertifiziertem HBV-Referenzmaterial (4<sup>th</sup> WHO International Standard, NIBSC) in den behaupteten Konzentrationen dotiert waren, verifiziert. Die LoD wird bestätigt, wenn mindestens 27 von 30 Replikaten ein positives Ergebnis haben.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Nachweisgrenze bei Plasma- und Serumproben und ELITe InGenius					
Probe	Titer	„Target“ (Ziel)	Anzahl	Positiv	Negativ
ACD-Plasma	9 IU/ml	HBV	30	30	0
EDTA-Plasma	9 IU/ml	HBV	30	28	2
Serum	9 IU/ml	HBV	30	29	1

Der LoD-Wert der HBV-Zielsequenz wurde für ACD-Plasma, EDTA-Plasma und Serum bei 9 IU/ml bestätigt.

Die berechnete Nachweisgrenze (LoD) in Zusammenhang mit **ELITe BeGenius** wurde durch Testen von 30 Replikaten von ACD-Plasma-, 30 Replikaten von EDTA-Plasma- und 30 Replikaten von Serumproben, die mit zertifiziertem HBV-Referenzmaterial (4<sup>th</sup> WHO International Standard, NIBSC) in den behaupteten Konzentrationen dotiert waren, verifiziert. Die LoD wird bestätigt, wenn mindestens 27 von 30 Replikaten ein positives Ergebnis haben.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Nachweisgrenze bei Plasma- und Serumproben und ELITe BeGenius					
Probe	Titer	„Target“ (Ziel)	Anzahl	Positiv	Negativ
ACD-Plasma	9 IU/ml	HBV	30	28	2
EDTA-Plasma	9 IU/ml	HBV	30	28	2
Serum	9 IU/ml	HBV	30	30	0

Der LoD-Wert der HBV-Zielsequenz wurde für ACD-Plasma, EDTA-Plasma und Serum bei 9 IU/ml bestätigt.

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

Die Matrixäquivalenz des HBV ELITe MGB Kit wurde anhand von ACD-Plasma-, EDTA-Plasma- und Serumproben auf ELITe InGenius verifiziert.

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

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Probe	Anzahl	Positiv	Negativ	NPA	IC Ct VK %	Gesamt-IC Ct VK %
EDTA-Plasma	30	0	30	100 %	0,86	0,98
ACD-Plasma	30	0	30		1,01	

Es wurden 30 gepaarte EDTA-Plasma- und Serumproben, die in einem CE/IVD-gekennzeichneten Immunassay negativ auf HBV getestet worden waren, getestet. Die Proben wurden mit ELITe InGenius im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet. Die negative prozentuale Übereinstimmung wurde bewertet. Der Variationskoeffizient (VK %) von Ct-Werten der Internal Control wurde berechnet, um die Übereinstimmung der beiden Matrices zu bewerten.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Probe	Anzahl	Positiv	Negativ	NPA	IC Ct VK %	Gesamt-IC Ct VK %
EDTA-Plasma	30	0	30	97 %	0,90	0,86
Serum	30	1	29		0,82	

Die positive Serumprobe hatte einen sehr niedrigen Titer (unter 9 IU/ml), was mit einem negativen Ergebnis im immunologischen CE-gekennzeichneten IVD-Test zur Bescheinigung der Negativität der Probe im Einklang steht.

Es wurden 30 gepaarte EDTA-Plasmaproben und ACD-Plasmaproben, die in einem CE-gekennzeichneten IVD-Immunassay negativ auf HBV getestet und anschließend in einer Konzentration von 3 x LoD (zirka 27 IU/ml) mit zertifiziertem Referenzmaterial (4<sup>th</sup> WHO HBV International Standard, NIBSC) dotiert worden waren, getestet. Die Proben wurden mit ELITe InGenius im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet. Die positive prozentuale Übereinstimmung (PPA) wurde bewertet. Der Variationskoeffizient (VK %) von HBV-Ct-Zielwerten wurde berechnet, um die Übereinstimmung der beiden Matrices zu bewerten.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Probe	Anzahl	Positiv	Negativ	PPA	HBV Ct VK %	Gesamt-HBV Ct VK %	ΔMenge (log IU/ml)
EDTA-Plasma	30	30	0	100 %	1,75	1,81	0,0458
ACD-Plasma	30	30	0		1,88		

**HBV ELITe MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation in Echtzeit

REF RTK602ING

Es wurden 30 gepaarte EDTA-Plasma- und Serumproben, die in einem CE-gekennzeichneten IVD-Immunassay negativ auf HBV getestet und anschließend in einer Konzentration von 3 x LoD (zirka 27 IU/ml) mit zertifiziertem Referenzmaterial (4<sup>th</sup> WHO HBV International Standard, NIBSC) dotiert worden waren, getestet. Die Proben wurden mit ELITe InGenius im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet. Die positive prozentuale Übereinstimmung wurde bewertet. Der Variationskoeffizient (VK %) von HBV-Ct-Zielwerten wurde berechnet, um die Übereinstimmung der beiden Matrices zu bewerten.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Probe	Anzahl	Positiv	Negativ	PPA	HBV Ct VK %	Gesamt-HBV Ct VK %	ΔMenge (log IU/ml)
EDTA-Plasma	30	30	0	100 %	1,59	1,49	0,0910
Serum	30	30	0		1,29		

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

Weitere Matrixäquivalenz-Tests wurden bei der auf Seite 23 angegebenen Untersuchung des linearen Messbereichs durchgeführt.

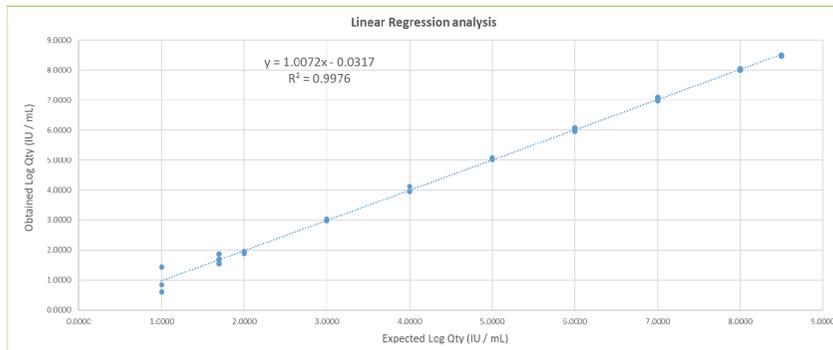
**Linearer Messbereich**

Der lineare Messbereich des HBV ELITe MGB Kit wurde mit Plasmaproben auf ELITe InGenius bestimmt.

Der lineare Messbereich wurde mithilfe einer Reihe von Verdünnungen von HBV-Referenzmaterial (ZeptoMetrix) in negativen EDTA-Plasmaproben bestimmt. Die Reihe bestand aus zehn Verdünnungspunkten von zirka 3,2x10<sup>8</sup> IU/ml bis 10 IU/ml. Jede Probe der Reihe wurde in Dreifachbestimmung auf ELITe InGenius im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Daten wurden mittels linearer Regression und polynomieller Analyse ausgewertet, und die Ergebnisse zeigten, dass der Assay bei allen Verdünnungen eine lineare Reaktion mit einem Quadrat des Korrelationskoeffizienten (R<sup>2</sup>) von 0,998 aufweist.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung aufgeführt.



Die untere Quantifizierungsgrenze (LLOQ) wurde mit 9 IU/ml ermittelt, was der Nachweisgrenze (LoD) entspricht, bei der die Messergebnisse innerhalb von ±0,5 log IU/ml der Zielkonzentration lagen. Die Präzision und Genauigkeit bei der LLOQ wurde bei einer Standardabweichung von 0,2813 log IU/ml und einer systematischen Messabweichung von 0,2767 log IU/ml berechnet.

Die obere Quantifizierungsgrenze (ULOQ) wurde mit 317.750.000 IU/ml ermittelt, wobei die Messergebnisse innerhalb von ±0,5 log IU/ml der Zielkonzentration lagen. Die Präzision und Genauigkeit bei der ULOQ wurde mit einer Standardabweichung von 0,0275 log IU/ml und einer systematischen Messabweichung von 0,0175 log IU/ml berechnet.

Der lineare Messbereich als Kopien/ml für EDTA-Plasma wird unter Anwendung des spezifischen Umrechnungsfaktors berechnet, der auf Seite 31 angegeben ist.

**HBV ELITe MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation in Echtzeit

REF RTK602ING

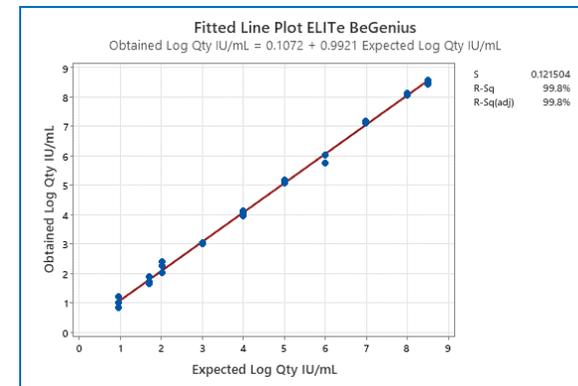
Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Linearer Messbereich für EDTA-Plasmaproben und ELITe InGenius	
Untere Grenze	Obere Grenze
9 IU/ml	317.750.000 IU/ml
38 Kopien/ml	1323958333 Kopien/ml

Der lineare Messbereich des HBV ELITe MGB® Kit wurde zusammen mit Plasmaproben und dem System **ELITe BeGenius** mithilfe einer Reihe von Verdünnungen von HBV-Referenzmaterial (ZeptoMetrix) in negativen EDTA-Plasmaproben bestimmt. Die Reihe bestand aus zehn Verdünnungspunkten von zirka 3,2x10<sup>8</sup> IU/ml bis 9 IU/ml. Jede Probe der Reihe wurde in 3 Wiederholungen mit dem ELITe BeGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet.

Die Analyse der erhaltenen Daten mittels linearer Regressionsanalyse ergab, dass der Assay bei allen Verdünnungen eine lineare Reaktion mit einem Quadrat des Korrelationskoeffizienten (R<sup>2</sup>) von 0,998 aufweist.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.



Die untere Quantifizierungsgrenze (LLOQ) wurde mit 9 IU/ml bestätigt, was der Nachweisgrenze (LoD) entspricht, bei der die Messergebnisse innerhalb von ±0,5 log IU/ml der Zielkonzentration lagen. Die Präzision und Genauigkeit bei der LLOQ wurde mit einer Standardabweichung von 0,1939 log IU/ml und einer systematischen Messabweichung von 0,0709 log IU/ml berechnet.

Die obere Quantifizierungsgrenze (ULOQ) wurde mit 317.750.000 IU/ml bestätigt, wobei die Messergebnisse innerhalb von ±0,5 log IU/ml der Zielkonzentration lagen. Die Präzision und Genauigkeit bei der ULOQ wurde mit einer Standardabweichung von 0,0579 log IU/ml und einer systematischen Messabweichung von 0,0131 log IU/ml berechnet.

Der lineare Messbereich als Kopien/ml für EDTA-Plasma wird unter Anwendung des spezifischen Umrechnungsfaktors berechnet, der auf Seite 31 angegeben ist.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Linearer Messbereich für EDTA-Plasmaproben und ELITe BeGenius	
Untere Grenze	Obere Grenze
9 IU/ml	317.750.000 IU/ml
38 Kopien/ml	1.323.958.333 Kopien/ml

Der lineare Messbereich wurde mittels Analyse von negativem EDTA-Plasma, das mit HBV-Referenzmaterial (1<sup>st</sup> WHO International Reference Panel for HBV Genotypes, PEI) für die wichtigsten HBV-Genotypen (A, B, C, D, E, F, G) dotiert war, verifiziert. Jeder HBV-Genotyp wurde in einer Reihe von 6 Verdünnungsstufen getestet. Jede Verdünnungsstufe wurde in Doppelbestimmungen auf ELITe InGenius im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

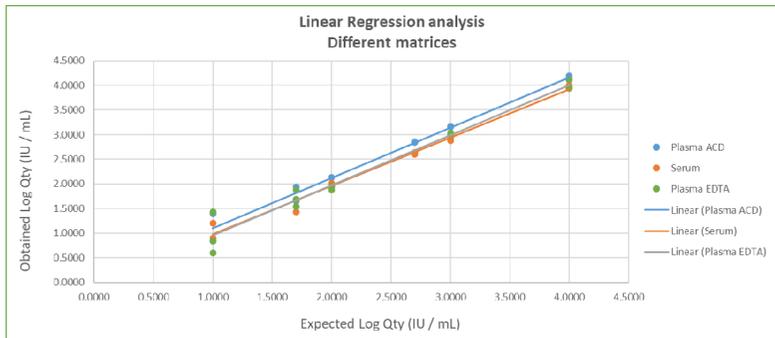
Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung aufgeführt.



Die Linearität des Assays wurde für die wichtigsten HBV-Genotypen (A, B, C, D, E, F, G) bestätigt; dabei lagen die quantitativen Ergebnisse innerhalb von  $\pm 0,5$  log IU/ml und R2 zwischen 0,979 und 0,996.

Der lineare Messbereich wurde mittels Analyse von negativem ACD-Plasma und negativem Serum, das mit HBV-Referenzmaterial (4<sup>th</sup> WHO International Standard, NIBSC) dotiert war, verifiziert. Jede Matrix wurde in einer Reihe von 6 Verdünnungsstufen getestet. Jede Verdünnungsstufe wurde in Doppelbestimmungen auf ELiTe InGenius im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet. Als Referenz wurden entsprechende Ergebnisse von Tests mit EDTA-Plasma angegeben.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung aufgeführt.



Die Linearität des Assays wurde für ACD-Plasma und Serum bestätigt; dabei lagen die quantitativen Ergebnisse innerhalb von  $\pm 0,5$  log IU/ml und R2 bei 0,982 bzw. 0,988.

**Inklusivität: Nachweis- und Quantifizierungseffizienz bei verschiedenen Genotypen**

Die Nachweiseffizienz für verschiedene Genotypen von HBV wurde mittels *In-silico*-Analyse der in den Nukleotid-Datenbanken verfügbaren Sequenzen bewertet.

Die Analyse der für die Hybridisierung der Primer und der Sonde spezifischen Regionen im Polymerasegen (P-Gen) ergab eine Sequenzkonservierung und ein Nichtvorhandensein von signifikanten Mutationen bei den HBV-Genotypen A, B, C, D, E, F, G, H, I und RF für alle in den Nukleotid-Datenbanken verfügbaren Sequenzen. Daher sind ein effizienter Nachweis und eine effiziente Quantifizierung bei den verschiedenen HBV-Genotypen zu erwarten.

Die Inklusivität des Assays, die anhand der Nachweis- und Quantifizierungseffizienz bei verschiedenen Genotypen bewertet wurde, wurde durch Testen des Referenzmaterials „1st WHO International Reference Panel for HBV Genotypes (PEI)“ einschließlich der wichtigsten HBV-Genotypen (A, B, C, D, E, F, G) verifiziert.

Jede Probe der Reihe wurde zu einer Konzentration von 3 x LoD (zirka 27 IU/ml) in negativen ACD-Plasmaproben hergestellt und auf ELiTe InGenius im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

1 <sup>st</sup> WHO International Reference Panel for HBV Genotypes (PEI)				
Proben-ID	Genotyp	Pos. / Wiederh.	Mittlerer HBV-Ct-Wert	Mittelwert HBV IU/ml
HBV 1/A	A	3/3	37,71	25
HBV 2/A		3/3	37,76	25
HBV 3/A		3/3	38,20	17
HBV 4/B	B	3/3	38,15	17
HBV 5/B		3/3	38,56	17
HBV 6/B		3/3	38,23	18
HBV 7/B		3/3	37,75	24
HBV 8/C	C	3/3	38,01	20
HBV 9/C		3/3	38,12	18
HBV 10/D		3/3	37,84	22
HBV 11/D	D	3/3	37,97	20
HBV 12/D		3/3	38,29	16
HBV 13/E	E	3/3	38,02	19
HBV 14/F	F	3/3	37,81	22
HBV 15/G	G	3/3	37,08	37

Die Inklusivität des Assays wurde außerdem durch Testen des „AccuSet™ HBV DNA Genotype Performance Panel“ (SeraCare) einschließlich der HBV-Genotypen A, B, C, D, E, F, G und H verifiziert.

Jede Probe der Reihe wurde zu einer Konzentration von 3 x LoD (zirka 27 IU/ml) in negativen ACD-Plasmaproben hergestellt und auf ELiTe InGenius im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

„AccuSet™ HBV DNA Genotype Performance Panel“ (SeraCare)				
Proben-ID	Genotyp	Pos. / Wiederh.	Mittlerer HBV-Ct-Wert	Mittelwert HBV IU/ml
A	A	3/3	38,01	19
B	B	3/3	37,99	20
C	C	3/3	38,14	18
D	D	3/3	38,16	18
E	E	3/3	38,15	17
F	F	3/3	37,92	21
H	H	3/3	37,80	22

Alle Proben wurden mit dem HBV ELiTe MGB Kit auf ELiTe InGenius korrekt erkannt und innerhalb von  $\pm 0,5$  log IU/ml (9–85 IU/ml) quantifiziert.

**Potenziell interferierende Marker: Kreuzreaktivität**

Die potenzielle Kreuzreaktivität des Assays mit anderen Nichtzielorganismen wurde durch *In-silico*-Analyse von in Nukleotiddatenbanken verfügbaren Sequenzen bewertet.

Die Primer- und Sondensequenzen wurden auf Homologie mit den Sequenzen anderer in Nukleotid-Datenbanken verfügbarer Organismen bewertet. Die Ergebnisse wiesen keine signifikante Homologie auf, weshalb keine Kreuzreaktivität erwartet wird.

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

Proben von genomischer DNA oder RNA von verschiedenen potenziell interferierenden Markern (ATCC, NIBSC, ZeptoMetrix) wurden auf ELiTe InGenius im Modus „PCR Only“ (nur PCR) in hoher Konzentration (mindestens 10<sup>9</sup> Kopien/Reaktion) in Dreifachbestimmung analysiert. Zur Nachahmung der extrahierten klinischen Proben wurde die genomische DNA oder RNA der einzelnen Organismen mit 80.000 Kopien der Internal Control pro Reaktion ergänzt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Probe	HBV Pos. / Wiederh.	Ergebnis
Adenovirus 2	0/3	Keine Kreuzreaktivität
CMV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
EBV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HHV6	0/3	Keine Kreuzreaktivität
VZV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HSV1	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HSV2	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HTLVI	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HTLVII	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Parvovirus B19	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Echovirus 4	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Dengue-Virus Typ 3	0/3	Keine Kreuzreaktivität
WNV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Influenza-A-Virus (H1N1)	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Influenza-B-Virus (Florida)	0/3	Keine Kreuzreaktivität
RSV A2	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HAV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HCV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HEV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HIV-1	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HIV-2	0/3	Keine Kreuzreaktivität
<i>Candida albicans</i>	0/3	Keine Kreuzreaktivität
<i>Staphylococcus aureus</i>	0/3	Keine Kreuzreaktivität

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

**Potenziell interferierende Marker: Interferenz**

Die Abwesenheit von Interferenz durch das Vorhandensein anderer Organismen in klinischen Plasmaproben wurde durch das Testen einer Reihe zertifizierter Referenzmaterialien verifiziert.

Proben von genomischer DNA oder RNA von potenziell interferierenden Markern (ATCC, NIBSC, ZeptoMetrix) wurden in hoher Konzentration (mindestens 10<sup>5</sup> Kopien/Reaktion) mit HBV-genomischer DNA (NIBSC) bei niedriger Konzentration (etwa 10 Kopien/Reaktion) dotiert. Die Proben wurden in Dreifachbestimmung auf ELITe InGenius im Modus „PCR Only“ (nur PCR) analysiert. Zur Nachahmung der extrahierten klinischen Proben wurde zudem jede Probe mit 80.000 Kopien der Internal Control pro Reaktion ergänzt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Probe	HBV Pos. / Wiederh.	Ergebnis
Adenovirus 2	3/3	Keine Interferenz
CMV	3/3	Keine Interferenz
EBV	3/3	Keine Interferenz
HHV6	3/3	Keine Interferenz
VZV	3/3	Keine Interferenz
HSV1	3/3	Keine Interferenz
HSV2	3/3	Keine Interferenz
HTLVI	3/3	Keine Interferenz
HTLVII	3/3	Keine Interferenz
Parvovirus B19	3/3	Keine Interferenz
Echovirus 4	3/3	Keine Interferenz
Dengue-Virus Typ 3	3/3	Keine Interferenz
WNV	3/3	Keine Interferenz
Influenza-A-Virus (H1N1)	3/3	Keine Interferenz
Influenza-B-Virus (Florida)	3/3	Keine Interferenz
RSV A2	3/3	Keine Interferenz
HAV	3/3	Keine Interferenz
HCV	3/3	Keine Interferenz
HEV	3/3	Keine Interferenz
HIV-1	3/3	Keine Interferenz
HIV-2	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 HBV ELITe MGB Kit keine Inhibition der HBV-Zielamplifikation nachgewiesen.

**Potenziell interferierende Substanzen**

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

Die Inhibitionspanel-Proben wurden in einer Konzentration von 3 x LoD (zirka 27 IU/ml) mit zertifiziertem HBV-Referenzmaterial (4<sup>th</sup> WHO HBV International Standard, NIBSC) dotiert.

Darüber hinaus wurden 6 weitere potenziell interferierende Substanzen in relevanten Konzentrationen getestet: Ganciclovir, Azithromycin, Glecaprevir, Entecavir, Tenofovir und Lamivudin. Die einzelnen Substanzen wurden zu negativem ACD-Plasma, das in einer Konzentration von 3 x LoD (zirka 27 IU/ml) mit zertifiziertem HBV-Referenzmaterial (4<sup>th</sup> WHO HBV International Standard, NIBSC) dotiert war, hinzugefügt.

Die Proben wurden in Dreifachbestimmung auf ELITe InGenius im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) abgearbeitet. Die Ct-Werte (Referenz- und Testwerte) der HBV-Zielsequenz und der Internal Control wurden zur Berechnung des Variationskoeffizienten (VK %) herangezogen, um eine mögliche Interferenz zu bewerten.

**HBV ELiTe MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation in  
Echtzeit

REF RTK602ING

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Probe	Pos. / Wiederh.	KV % HBV-Ct	KV % IC-Ct
EDTA	3/3	1,78	0,87
Heparin	1/3	-	7,11
Hämolytisches Blut hoch	3/3	1,11	0,90
Lipämisches Plasma	3/3	1,30	0,72
Ikterisches Plasma	3/3	1,13	1,41
Ganciclovir	3/3	0,96	0,76
Azithromycin	3/3	0,88	0,85
Glecaprevir	3/3	1,04	0,57
Entecavir	3/3	1,07	0,88
Tenofovir	3/3	0,88	0,76
Lamivudin	3/3	1,13	0,78

Der Test zeigte, dass EDTA, Hämoglobin, Triglyceride, Bilirubin, Ganciclovir, Azithromycin, Glecaprevir, Entecavir, Tenofovir und Lamivudin die Amplifikation von HBV oder der Internal Control nicht beeinträchtigen. Die Ct-Werte (VK %) für HBV und IC lagen unter 2 %.

Es wurde zwar bestätigt, dass Heparin in der Lage ist, die Amplifikation von HBV zu hemmen, doch aufgrund des Ct-Grenzwerts der Internal Control (IC-Ct < 31) waren die Probenergebnisse „ungültig“ und nicht „falsch-negativ“.

**Nichtvorhandensein von Kreuzkontamination**

Das Nichtvorhandensein von Kreuzkontamination wurde durch Analyse der Ergebnisse aus fünf Läufen, in denen HBV-DNA-negative Plasmaproben abwechselnd mit Plasmaproben, die in einer Konzentration von 1x10<sup>6</sup> IU/ml mit zertifiziertem HBV-Referenzmaterial (ZeptoMetrix) dotiert waren, untersucht wurden, getestet.

Es wurden fünf Sätze von Proben auf ELiTe InGenius im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet, wobei sich jeweils sechs positive Proben mit sechs negativen Proben abwechselten.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Proben	Anzahl	Negativ	Positiv
ACD-Plasma dotiert auf 1x10 <sup>6</sup> HBV IU/ml	30	0	30
ACD-Plasma, negativ auf HBV	30	30	0

Bei keiner der getesteten HBV-negativen Proben wurden falsch-positive Ergebnisse erhalten. Bei diesem Test wurde weder innerhalb der Läufe noch zwischen den Läufen eine Kreuzkontamination festgestellt.

**Fehlerrate des Gesamtsystems**

Die Fehlerrate des Gesamtsystems wurde in Verbindung mit ELiTe InGenius durch Analyse einer Reihe von mit niedrigen Titer mit HBV-DNA dotierten Proben und Bestimmung der Häufigkeit von „falsch-negativen“ Ergebnissen verifiziert.

Es wurden 100 einzelne EDTA-Plasmaproben, 30 verschiedene ACD-Plasmaproben und 30 einzelne Serumproben (die alle negativ auf HBV-DNA getestet worden waren) zu einer Konzentration von 3 x LoD (zirka 27 IU/ml) mit zertifiziertem Referenzmaterial (4<sup>th</sup> WHO HBV International Standard, NIBSC) dotiert. Die Proben wurden mit ELiTe InGenius im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	Anzahl	Negativ	Positiv	Mittelwert HBV IU/ml
Dotiertes EDTA-Plasma	100	0	100	26
Dotiertes ACD-Plasma	30	0	30	27
Dotiertes Serum	30	0	30	23

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

**HBV ELiTe MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation in  
Echtzeit

REF RTK602ING

Die Fehlerrate des Gesamtsystems wurde in Verbindung mit ELiTe BeGenius durch Analyse einer Reihe von mit niedrigen Titer mit HBV-DNA dotierten Proben und Bestimmung der Häufigkeit von „falsch-negativen“ Ergebnissen verifiziert.

Es wurden 100 einzelne EDTA-Plasmaproben, die negativ auf HBV-DNA getestet worden waren, zu einer Konzentration von 3 x LoD (zirka 27 IU/ml) mit zertifiziertem Referenzmaterial (4<sup>th</sup> WHO HBV International Standard, NIBSC) dotiert. Die Proben wurden mit ELiTe BeGenius im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	Anzahl	Negativ	Positiv	Mittelwert HBV IU/ml
Dotiertes EDTA-Plasma	100	0	100	15

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

**Wiederholpräzision**

Die Wiederholpräzision der mit dem HBV ELiTe MGB Kit auf ELiTe InGenius erhaltenen Ergebnisse wurde durch Analyse einer Reihe von Plasmaproben ermittelt. Die Reihe umfasste eine negative Probe und zwei Proben, die in Konzentrationen von 3 x LoD (zirka 27 IU/ml) und von 10 x LoD (zirka 90 IU/ml) mit zertifiziertem HBV-Referenzmaterial (4<sup>th</sup> WHO HBV International Standard, NIBSC) dotiert waren.

Die Wiederholpräzision wurde an zwei verschiedenen Tagen mittels Analyse von Panel-Mitgliedern in vier Wiederholungen, in zwei Läufen pro Tag und mit einer Produktcharge pro Tag bestimmt. Die Testung erfolgte mit insgesamt drei Produktchargen auf ein und demselben Gerät durch ein und denselben Bediener. Die Proben wurden an zufälligen Positionen auf ELiTe InGenius im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) abgearbeitet.

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

Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabellen zusammengefasst.

Wiederholpräzision innerhalb des Laufs								
Probe	HBV				Internal Control			
	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	0/8	-	-	-	24/24	28,89	0,23	0,79
3 x LoD	8/8	38,07	0,38	1,00				
10 x LoD	8/8	36,26	0,25	0,69				

Laufübergreifende Wiederholpräzision								
Probe	HBV				Internal Control			
	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	0/16	-	-	-	48/48	28,79	0,28	0,97
3 x LoD	16/16	38,01	0,41	1,08				
10 x LoD	16/16	36,18	0,28	0,77				

Beim Test der Wiederholpräzision erkannte der Assay die HBV-Zielsequenz wie erwartet und wies Ct-Werte mit einem VK % unter 1,1 % bei HBV und 1 % bei der Internal Control aus.

Die Wiederholpräzision der mit dem Produkt HBV ELiTe MGB Kit auf ELiTe BeGenius erhaltenen Ergebnisse wurde durch Analyse einer Reihe von Plasmaproben ermittelt. Die Reihe umfasste eine negative Probe und zwei Proben, die in Konzentrationen von 3 x LoD (zirka 27 IU/ml) und von 10 x LoD (zirka 90 IU/ml) mit zertifiziertem HBV-Referenzmaterial (4<sup>th</sup> WHO HBV International Standard, NIBSC) dotiert waren.

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

**HBV ELITe MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation in Echtzeit

REF RTK602ING

Die Ct-Werte der Zielsequenz und der Internal Control wurden zur Berechnung des VK % herangezogen, um die Wiederholpräzision als Ungenauigkeit zu bewerten.  
Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabellen zusammengefasst.

Wiederholpräzision innerhalb des Laufs								
Probe	HBV				Internal Control			
	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	0/8	-	-	-	24/24	30,06	0,37	1,24
3 x LoD	8/8	38,64	0,46	1,19				
10 x LoD	8/8	36,83	0,34	0,93				

Laufübergreifende Wiederholpräzision								
Probe	HBV				Internal Control			
	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	0/16	-	-	-	48/48	30,04	0,54	1,80
3 x LoD	16/16	38,93	0,86	2,22				
10 x LoD	16/16	36,87	0,35	0,94				

Beim Test der Wiederholpräzision erkannte der Assay die HBV-Zielsequenz wie erwartet und wies niedrige VK % der Ct-Werte aus, die 2,2 % bei HBV und 1,8 % bei der internen Kontrolle nicht überstiegen.

**Vergleichspräzision**

Die Vergleichspräzision der mit dem HBV ELITe MGB Kit auf **ELITe InGenius** erhaltenen Ergebnisse wurde durch Analyse einer Reihe von Plasmaproben ermittelt. Die Reihe umfasste eine negative Probe und zwei Proben, die in Konzentrationen von 3 x LoD (zirka 27 IU/ml) und von 10 x LoD (zirka 90 IU/ml) mit zertifiziertem HBV-Referenzmaterial (4<sup>th</sup> WHO HBV International Standard, NIBSC) dotiert waren.

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

Die Ct-Werte der Zielsequenz und der Internal Control wurden zur Berechnung des VK % herangezogen, um die Vergleichspräzision als Ungenauigkeit zu bewerten.  
Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabelle zusammengefasst.

Standortübergreifende Vergleichspräzision								
Probe	HBV				Internal Control			
	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	0/24	-	-	-	72/72	28,73	0,45	1,58
3 x LoD	24/24	37,60	0,68	1,80				
10 x LoD	24/24	35,63	0,35	0,98				

Chargenübergreifende Vergleichspräzision								
Probe	HBV				Internal Control			
	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	0/48	-	-	-	144/144	28,67	0,41	1,44
3 x LoD	48/48	38,19	0,44	1,16				
10 x LoD	48/48	36,25	0,38	1,06				

Beim Test der Vergleichspräzision erkannte der Assay die HBV-Zielsequenz wie erwartet und wies Ct-Werte mit einem VK % unter 1,8 % bei HBV und 1,6 % bei der Internal Control aus.

Die Vergleichspräzision der mit dem Produkt HBV ELITe MGB Kit auf **ELITe BeGenius** erhaltenen Ergebnisse wurde durch Analyse einer Reihe von Plasmaproben ermittelt. Die Reihe umfasste eine negative Probe und zwei Proben, die in Konzentrationen von 3 x LoD (zirka 27 IU/ml) und von 10 x LoD (zirka 90 IU/ml) mit zertifiziertem HBV-Referenzmaterial (4<sup>th</sup> WHO HBV International Standard, NIBSC) dotiert waren.

**HBV ELITe MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation in Echtzeit

REF RTK602ING

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

Die Ct-Werte der Zielsequenz und der Internal Control wurden zur Berechnung des VK % herangezogen, um die Vergleichspräzision als Ungenauigkeit zu bewerten.  
Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabelle zusammengefasst.

Geräteübergreifende Vergleichspräzision								
Probe	HBV				Internal Control			
	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	0/24	-	-	-	72/72	30,67	0,86	2,80
3 x LoD	24/24	38,54	1,08	2,79				
10 x LoD	24/24	36,53	0,76	2,09				

Chargenübergreifende Vergleichspräzision								
Probe	HBV				Internal Control			
	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	0/48	-	-	-	144/144	29,89	0,51	1,71
3 x LoD	48/48	38,19	0,85	2,24				
10 x LoD	48/48	36,38	0,57	1,57				

Beim Test der Vergleichspräzision erkannte der Assay die HBV-Zielsequenz wie erwartet und wies niedrige VK % der Ct-Werte aus, die 2,8 % bei HBV und 2,8 % bei der internen Kontrolle nicht überstiegen.

**Faktor für die Umrechnung in internationale Einheiten**

Der Umrechnungsfaktor zur Angabe der quantitativen Ergebnisse von Kopien/ml in internationale Einheiten (International Units, IU/ml) wurde mithilfe einer Reihe von vier Verdünnungen (0,5 log zwischen Verdünnungen) des zertifizierten kalibrierten Referenzmaterials „4<sup>th</sup> WHO HBV International Standard“ (NIBSC) in EDTA-Plasma, das negativ auf HBV-DNA getestet worden war, berechnet.

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

Der Umrechnungsfaktor wurde durch Berechnung des logarithmischen Konzentrationsunterschieds zwischen dem Referenztitel in IU/ml und den erhaltenen Ergebnissen in Kopien/ml ermittelt und betrug 0,24 IU/Kopie.

Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabelle zusammengefasst.

Umrechnungsfaktor in internationalen Einheiten, Fc = 0,24 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	
31600	4,5000	27	133240	31748	4,4877	+0,0123
10000	4,0000	27	41965	9999	3,9917	+0,0083
3160	3,5000	27	14275	3401	3,5187	-0,0187
1000	3,0000	27	4337	1033	3,0020	-0,0020

Da die Gleichwertigkeit zwischen EDTA-Plasma, ACD-Plasma und Serum bewiesen wurde (Seite 15 und 16), kann der Umrechnungsfaktor auf alle drei Matrices angewandt werden.

Der Umrechnungsfaktor des HBV ELITe MGB® Kits in Kombination mit EDTA-Plasma wurde in Verbindung mit **ELITe BeGenius** und **ELITe InGenius** mithilfe einer Reihe von fünf Verdünnungen (0,5 log zwischen Verdünnungen) des zertifizierten kalibrierten Referenzmaterials „4<sup>th</sup> WHO HBV International Standard“ (NIBSC) in EDTA-Plasma, das negativ auf HBV-DNA getestet worden war, verifiziert. Die Reihe bestand aus fünf Verdünnungspunkten von zirka 4,5 log IU/ml bis 2,5 IU/ml. Jede Probe der Reihe wurde in 4 Wiederholungen getestet.

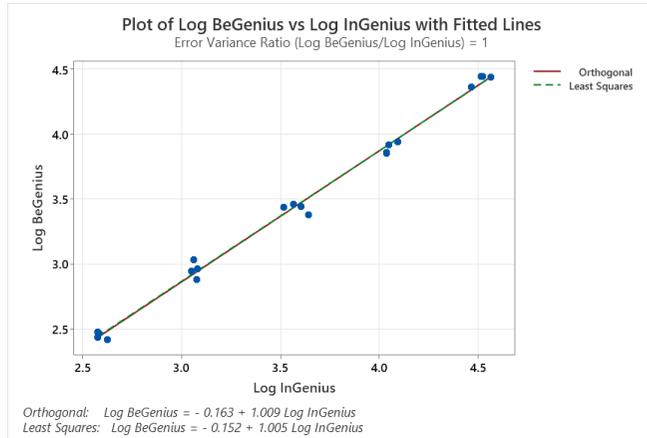
Die Präzision der Zielquantifizierung als Standardabweichung von log IU/ml lag unter 0,5 log.

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

Diese Ergebnisse bestätigten den für Plasma mit **ELITe InGenius** berechneten Umrechnungsfaktor.

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

Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung zusammengefasst.



Die orthogonale Regressionsanalyse ergab einen Achsenabschnitt von -0,163 (95%-KI: -0,294 bis -0,032) und eine Steigung von 1,009 (95%-KI: 0,973 bis 1,045). Die Analyse der linearen Regression ergab einen R2-Wert von 0,994.

**Hinweis:** Die Umrechnungsfaktoren für den internationalen Standard (0,24 IU/Kopien), die mit dem „4th WHO International Standard for HBV DNA for NAT“ berechnet wurden, können auch für den „5th WHO International Standard for HBV DNA for NAT“ (NIBSC, UK, Code 22/120) angewendet werden.

**Vergleichspräzision mit Referenzmaterial**

Die Vergleichspräzision der Assayergebnisse gegenüber anderen Methoden in verschiedenen Laboren wurde durch Testung der Ringversuchsreihe „QCMD 2020 Hepatitis B Virus DNA EQA Programme“ (QCMD) überprüft.

Jedes Panel-Mitglied wurde auf ELITe InGenius im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen aufgeführt; die Konsensuswerte stammen von handelsüblichen Systemen zur Echtzeit-Amplifikation.

Probe Code	Probe Inhalt	Konsensus log IU/ml	SD log IU/ml	Testergebnisse log IU/ml	Differenz (Kons.-Test)
HBVDNA101S-01	HBV Typ A	2,823	0,130	2,695	+0,128
HBVDNA101S-02	HBV Typ D	2,673	0,148	2,625	+0,048
HBVDNA101S-03	HBV Typ D	3,642	0,155	3,579	+0,063
HBVDNA101S-04	HBV negativ	-	-	-	-
HBVDNA101S-05	HBV Typ A	1,869	0,229	1,688	+0,181
HBVDNA101S-06	HBV Typ A	3,803	0,156	3,781	+0,022
HBVDNA101S-07	HBV Typ A	2,848	0,176	2,696	+0,152
HBVDNA101S-08	HBV Typ D	1,724	0,227	1,422	+0,302

In diesem Test konnte der Assay alle Panel-Mitglieder korrekt nachweisen. Sieben Proben wurden innerhalb von ± 1 Standardabweichung (SD) der Konsensuswerte nachgewiesen. Das Ergebnis für die Probe HBVDNA101S-08 (53 IU/ml) lag, innerhalb von ± 2 SD und ± 0,5 log IU/ml des Konsensuswertes, unterhalb des erwarteten Wertes.

**Diagnostische Sensitivität: Methodenkorrelation**

Die diagnostische Sensitivität des Assays, die durch eine Korrelationsanalyse verschiedener Methoden ermittelt wurde, wurde durch die Analyse HBV-DNA-positiver klinischer Patienten, die sich einer antiviralen Therapie unterzogen, zusammen mit **ELITe InGenius** bewertet. Da **ELITe BeGenius** gleichwertige analytische Leistungen wie ELITe InGenius aufweist, ist die diagnostische Güte der auf den beiden Instrumenten durchgeführten Tests ebenfalls als gleichwertig anzusehen. Daher gilt die mit ELITe InGenius erhaltene diagnostische Sensitivität des Assays auch für ELITe BeGenius.

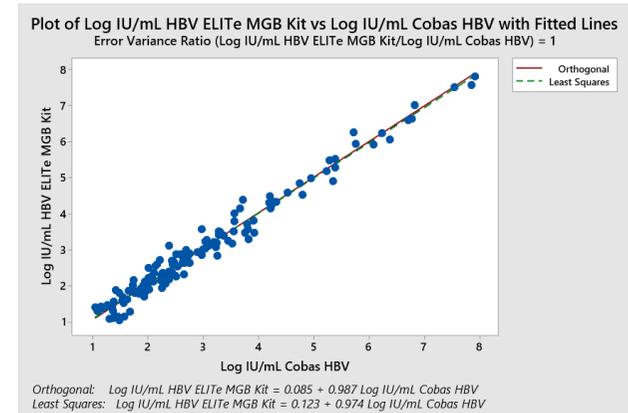
Die HBV-DNA-Spiegel der Proben lagen innerhalb des Messbereichs des HBV ELITe MGB Kit und CE/IVD-gekennzeichneter molekular-diagnostischer Referenzmethoden („cobas® HBV for use on the 4800 Systems“ und „cobas® HBV for use on the 6800 Systems“, Cobas HBV, Roche Diagnostics).

Die Korrelationsstudie wurde an drei verschiedenen Standorten mit den folgenden 131 EDTA-Plasmaproben durchgeführt:

- Standort 1: 92 HBV-DNA-positiv klinische EDTA-Plasmaproben,
- Standort 2: 17 HBV-DNA-positiv klinische EDTA-Plasmaproben,
- Standort 3: 22 HBV-DNA-positiv klinische EDTA-Plasmaproben.

Jede Probe wurde dem gesamten Analyseverfahren unterzogen, das die Extraktion, Amplifikation, Detektion und Ergebnisinterpretation mit den Produkten der ELITechGroup S.p.A. und den Referenzmethoden umfasste. Zur Berechnung der Korrelation zwischen den Methoden wurden die mit dem HBV ELITe MGB Kit und den Referenzmethoden erhaltenen Ergebnisse mittels orthogonaler und linearer Regression analysiert.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung zusammengefasst.



In diesem Test ergab die orthogonale Regressionsanalyse eine Steigung von 0,987, 95%-KI [0,959–1,015] und einen Achsenabschnitt von 0,085, 95%-KI [-0,009–0,179]. Die Analyse der linearen Regression ergab einen R2-Wert von 0,974.

**Diagnostische Spezifität: Bestätigung negativer Proben**

Die diagnostische Spezifität des Assays, die durch negative prozentuale Übereinstimmung verschiedener Methoden ermittelt wurde, wurde durch Analyse HBV-DNA-negativer klinischer Proben, die mittels CE/IVD-gekennzeichneter molekular-diagnostischer Referenzmethoden (Roche Diagnostics) getestet wurden, zusammen mit **ELITe InGenius** bewertet.

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

Die Studie zur diagnostischen Spezifität wurde an drei verschiedenen Standorten mit den folgenden 127 EDTA-Plasmaproben durchgeführt:

- Standort 1: 93 HBV-DNA-negative klinische EDTA-Plasmaproben,
- Standort 2: 13 HBV-DNA-negative klinische EDTA-Plasmaproben,
- Standort 3: 21 HBV-DNA-negative klinische EDTA-Plasmaproben.

Jede Probe wurde dem gesamten Analyseverfahren unterzogen, das die Extraktion, Amplifikation, Detektion und Ergebnisinterpretation mit den Produkten der ELITechGroup S.p.A. umfasste. Die mit dem HBV ELITe MBG Kit erhaltenen Ergebnisse wurden zur Berechnung der negativen prozentualen Übereinstimmung mit den Referenzmethoden herangezogen.

Die Ergebnisse nach Diskrepanzanalyse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	Anzahl	Positiv	Negativ	Ungültig	Diagnostische Spezifität
HBV-DNA-negatives EDTA-Plasma	127	3	124	0	97,6 %

Bei diesem Test wurden 124 Proben als negativ bestätigt. Drei Proben ergaben ein abweichend positives Ergebnis mit Titern unter der Nachweisgrenze des HBV ELITe MBG Kit und der Referenzmethoden. Diese Proben haben sehr niedrige Titer, was zufällig positive Ergebnisse generieren kann. Die diagnostische Spezifität des HBV ELITe MBG Kit betrug 97,6 %.

**Hinweis:** Die vollständigen Daten und Ergebnisse der Tests, die zur Bewertung der Leistungsmerkmale des Produkts mit Matrizes und Geräten durchgeführt wurden, sind in Abschnitt 7 der technischen Dokumentation des „HBV ELITe MGB Kit“, FTP 602ING, aufgeführt.

**REFERENZEN**

S. Velkov et al. (2018) *Genes*. 9: 495.  
D. N. Clark et al. (2017) *J. of Virology*. 91: e01785-16.  
E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e30

**GRENZEN DES VERFAHRENS**

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

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

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

Derzeit liegen keine Daten zur Produktleistung mit anderen klinischen Proben, wie z. B. Vollblut, vor.

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

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

Aufgrund ihrer hohen analytischen Sensitivität ist die bei diesem Produkt verwendete Real-Time-PCR-Methode empfindlich für Kreuzkontamination durch die positiven 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, PCR und Nachweis von Nukleinsäuren geschult ist, verwendet werden.

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-DNA nicht in der DNA, 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 HBV-DNA können den Nachweis und die Quantifizierung der Ziel-DNA 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, falsch-positiven und falsch-negativen Ergebnissen. Dieses Restrisiko kann nicht eliminiert oder weiter minimiert werden. In manchen Fällen kann dieses Restrisiko zu falschen Entscheidungen mit potenziell gefährlichen Auswirkungen auf den Patienten beitragen.

**FEHLERBEHEBUNG**

<b>Ungültige Reaktion von Q-PCR Standards, Standardkurve oder Positive Control</b>	
<b>Mögliche Ursachen</b>	<b>Abhilfemaßnahmen</b>
Einstellfehler des Geräts.	Position von PCR Mix, Q-PCR Standards und Positive Control kontrollieren. Volumina von PCR Mix, Q-PCR Standards und Positive Control kontrollieren.
Abbau des PCR Mix.	Den PCR Mix nicht für mehr als 7 unabhängige Arbeitsläufe verwenden (jeweils 3 Stunden im gekühlten Reagenzienblock). Den PCR Mix nicht länger als 30 Minuten bei Raumtemperatur aufbewahren. Ein neues Aliquot mit PCR Mix verwenden.
Abbau von Q-PCR Standards oder Positive Control.	Den Q-PCR Standard nicht für mehr als 2 unabhängige Arbeitsläufe verwenden (jeweils 2 Stunden im Extraktionsbereich). Die Positive Control nicht für mehr als 4 unabhängige Arbeitsläufe verwenden (jeweils 3 Stunden im Extraktionsbereich). Neue Aliquote von Q-PCR Standards oder Positive Control verwenden.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

<b>Ungültige Reaktion der Negativkontrolle</b>	
<b>Mögliche Ursachen</b>	<b>Abhilfemaßnahmen</b>
Einstellfehler des Geräts.	Position des PCR Mix und der Negativkontrolle kontrollieren. Volumina des PCR Mix 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 PCR Mix.	Ein neues Aliquot mit PCR Mix verwenden.
Kontamination des Extraktionsbereichs, von Racks oder des Bestandsmanagers.	Oberflächen mit wässrigen Reinigungsmitteln reinigen, Laborkittel waschen, verwendete Röhrchen und Spitzen austauschen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

<b>Ungültige Probenreaktion</b>	
<b>Mögliche Ursachen</b>	<b>Abhilfemaßnahmen</b>
Einstellfehler des Geräts.	Position von PCR Mix, interner Kontrolle und Probe kontrollieren. Volumina von PCR Mix, interner Kontrolle und Probe kontrollieren.
Abbau des PCR Mix.	Den PCR Mix nicht für mehr als 7 unabhängige Arbeitsläufe verwenden (jeweils 3 Stunden im Reagenzienblock). Den PCR Mix nicht länger als 30 Minuten bei Raumtemperatur aufbewahren. Ein neues Aliquot mit PCR Mix zubereiten.
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.

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

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

**SYMBOLE**

**HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE  
LIZENZ**

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

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

ELITe MGB® Nachweisreagenzien sind durch eines oder mehrere der US-Patente mit den Nummern 6972339, 7112684, 7319022, 7348146, 7381818, 7541454, 7582739, 7601851, 7671218, 7718374, 7723038, 7759126, 7767834, 7851606, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8569516, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529 und der EP-Patente mit den Nummern 1430147, 1687609, 1781675, 1789587, 2689031, 2714939, 2736916, 2997161 sowie durch anhängige Patentanmeldungen geschützt.

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

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

cobas® ist eine eingetragene Marke von Roche Diagnostics. ELITe MGB®, das ELITe MGB®-Gerätelogo sowie ELITe InGenius® und ELITe BeGenius® sind eingetragene Marken der ELITechGroup in der Europäischen Union.



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

## Intended use

The HBV ELITe MGB® Kit is a nucleic acid amplification assay for the detection and the quantification of Hepatitis B Virus (HBV) DNA extracted from clinical specimens.

The assay is able to detect the DNA of HBV belonging to genotypes A, B, C, D, E, F, G, H, I and RF.

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

The product is intended for use as an aid in managing of HBV-infected individuals undergoing antiviral therapy. The results must be interpreted in combination with all relevant clinical observations and laboratory results.

This product is not intended for use as a screening test for the presence of HBV in blood or blood products or as a diagnostic test to confirm the presence of HBV infection.

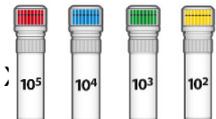
## Amplified sequence

Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
Target	HBV polymerase gene (P gene)	FAM	HBV
Internal Control	IC2	AP525	IC

## Validated matrix

- › Plasma EDTA or Plasma ACD
- › Serum

## Kit content

HBV ELITe MGB Mix	HBV ELITe Standard	HBV Internal Control	HBV - ELITe Positive Control
 X 8		 X 8	 X 2
Ready-to-use PCR Mix 8 tubes of 280 µL 96 reactions per kit 7 freeze-thaw cycles	Ready-to-use 4 levels: 10 <sup>5</sup> , 10 <sup>4</sup> , 10 <sup>3</sup> , 10 <sup>2</sup> 1 set of 4 tubes of 160 µL 2 freeze-thaw cycles	Ready-to-use IC 8 tubes of 160 µL 96 reactions per kit 12 freeze-thaw cycles	Ready-to-use PC 2 tubes of 160 µL 8 reactions per kit 4 freeze-thaw cycles

Maximum shelf-life: **24 months**

Storage Temperature: **-20 °C**

## Material required not provided in the kit

- › ELITe InGenius instrument: INT030
- › ELITe InGenius SP 200 Extraction Cartridge: INT032SP200
- › ELITe InGenius PCR Cassette: INT035PCR
- › ELITe InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS
- › ELITe InGenius Waste Box: F2102-000
- › Filter Tips 300: TF-350-L-R-S
- › 1000 µL Filter Tips Tecan : 30180118

## ELITe InGenius and ELITe BeGenius protocol

› Sample volume	200 µL	› Unit of quantitative result	International Unit: IU/mL
› HBV CPE volume	10 µL	› Conversion factor to IU	0.24 IU/copy
› Total elution volume	50 µL	› Frequency of controls	15 days
› PCR elution input volume	20 µL	› Frequency of calibration	60 days
› HBV PCR Mix volume	20 µL		

## ELITe InGenius and ELITe BeGenius Performance

Matrix	Limit of Detection	Method Correlation	Diagnostic Specificity
Plasma / Serum	<b>9 IU / mL</b> 38 copies / mL	<b>R<sup>2</sup> = 0.974</b> 131 quantified samples	<b>97.6%</b> 124 confirmed samples / 127 tested samples

reference methods:

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

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

## Sample preparation

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

## ELITE InGenius Procedures

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

### Before analysis

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

### Procedure 1 - Complete run: Extraction + PCR

<b>1.</b> Select "Perform Run" on the touch screen	<b>2.</b> Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", elution: "50 µL"	<b>3.</b> Scan the sample barcodes with hand-held barcode reader or type the sample ID
<b>4.</b> Select the "Assay protocol" of interest: HBV ELITE_PL_200_50, HBV ELITE_Se_200_50	<b>5.</b> Select the method "Extract + PCR" and the sample position: Extraction Tube	<b>6.</b> Load the PCR Mix and the Internal Control in the inventory block
<b>7.</b> Load: PCR cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip Cassette, Extraction Tube racks	<b>8.</b> Close the door Start the run	<b>9.</b> View, approve and store the results

### Procedure 2 - PCR only

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

### Procedure 3 - Extraction only

<b>1 to 4:</b> Follow the Complete Run procedure described above	<b>5.</b> Select the method "Extraction Only" and set the sample position: Extraction Tube	<b>6.</b> Load the Internal Control in the inventory block
<b>7.</b> Load: Extraction cartridge, Elution tube, Tip cassette, Extraction Tube racks	<b>8.</b> Close the door Start the run	<b>9.</b> 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: **HBV Q-PCR Standard** in the "Calibration" menu.  
Verify controls: **HBV Positive Control** and **HBV Negative Control** in the "Controls" menu.  
*Note:* Both must have been run, approved and not expired.
3. Thaw the **HBV PCR Mix** and the **HBV CPE** tubes.  
Vortex gently.  
Spin down 5 sec.

### Procedure 1 - Complete run: Extraction + PCR

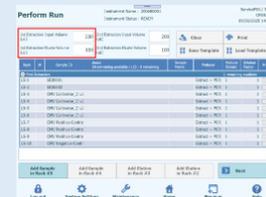
1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «Extraction and PCR»



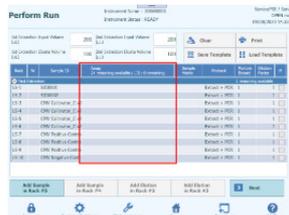
2. Insert the Sample Rack with the barcoded samples in the cooling area. The barcode scan is already active



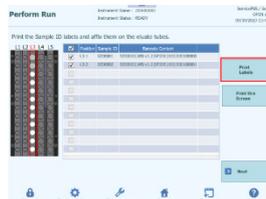
3. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "50 µL"



4. Select the "Assay protocol" of interest



5. Print the labels to barcode the empty elution tubes. Load the tubes in the Elution Control in Reagent Rack and insert it in the cooling area



6. Load the PCR-Mix and the CPE Internal Control 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

<p><b>1.</b> Select “Perform Run” on the touch screen and the click on the run mode «PCR Only»</p>	<p><b>2.</b> Load the extracted nucleic acid barcoded tubes in the Elution Rack and insert it in the cooling area</p>	<p><b>3.</b> Select the “Assay protocol” of interest</p>
<p><b>4.</b> Load the PCR-Mix in Reagent Rack and insert it in the cooling area Load filter tips and the PCR rack</p>	<p><b>5.</b> Close the door. Start the run</p>	<p><b>6.</b> View, approve and store the results</p>

Procedure 3 - Extraction only

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