

Instructions for use

# HHV7 ELITe MGB® Kit

---

Reagenzien für die DNA-Real-Time-PCR



**REF** RTS037PLD

**UDI** 08033891484590



**ÄNDERUNGSVERLAUF**

Rev.	Änderungsvermerk	Datum (TT.MM. JJ)
07	Neuer Abschnitt: „11.4: Unsicherheit der Standardkurve“ Aktualisierung der Abschnitte: „Sonstige benötigte Produkte“, „Erforderliche Materialien (nicht im Kit enthalten)“, „8.1: Proben“, „Symbole“ und „Anwenderhinweise“ Neue grafische und inhaltliche Gestaltung der Gebrauchsanweisung.	31/10/25
06	LEISTUNGSMERKMALE aktualisiert: Anhand von Matrix bestätigte LoD-, LLoD- und ULoD-Werte; Wiederholpräzision und Vergleichspräzision anhand von Matrix berechnet; Grenzwert für die Internal Control von 36 nach 35 geändert	23/01/24
05	Abschnitt „LEISTUNGSMERKMALE“ für die Definition des HHV7-Ct-Grenzwerts von 35 bei der Matrix Vollblut aktualisiert	24/02/22
04	Die Verwendung eines 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument ist ab jetzt erforderlich, um den Schwellenwert („Threshold“) für den FAM-Detektor „HHV7“ auf 0,2 manuell einzustellen.	05/10/17
00 — 03	Neuproduktentwicklung und nachfolgende Änderungen	-

**HINWEIS!**

Die Revision dieser Gebrauchsanweisung ist auch mit der vorangehenden Version des Kits kompatibel

---

# INHALTSVERZEICHNIS

---

<b>1 VERWENDUNGSZWECK</b> .....	<b>4</b>
<b>2 TESTPRINZIP</b> .....	<b>4</b>
<b>3 BESCHREIBUNG DES PRODUKTS</b> .....	<b>4</b>
<b>4 MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN</b> .....	<b>5</b>
<b>5 ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN</b> .....	<b>5</b>
<b>6 ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE</b> .....	<b>5</b>
<b>7 WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN</b> .....	<b>6</b>
<b>8 PROBEN UND KONTROLLEN bei ELITe InGenius und ELITe BeGenius</b> .....	<b>8</b>
<b>9 VERFAHREN BEI ELITe InGenius</b> .....	<b>10</b>
<b>10 VERFAHREN BEI ELITe BeGenius</b> .....	<b>18</b>
<b>11 LEISTUNGSMERKMALE BEI ELITe InGenius und ELITe BeGenius</b> .....	<b>24</b>
<b>12 PROBEN UND KONTROLLEN BEI ANDEREN SYSTEMEN</b> .....	<b>30</b>
<b>13 VERFAHREN BEI ANDEREN SYSTEMEN</b> .....	<b>32</b>
<b>14 LEISTUNGSMERKMALE BEI ANDEREN SYSTEMEN</b> .....	<b>41</b>
<b>15 REFERENZEN</b> .....	<b>44</b>
<b>16 GRENZEN DES VERFAHRENS</b> .....	<b>45</b>
<b>17 FEHLERBEHEBUNG</b> .....	<b>46</b>
<b>18 SYMBOLE</b> .....	<b>50</b>
<b>19 HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ</b> .....	<b>51</b>
<b>Appendix A QUICK START GUIDE</b> .....	<b>52</b>

# 1 VERWENDUNGSZWECK

Das Produkt **HHV7 ELITE MGB® Kit** ist ein qualitativer und quantitativer Nukleinsäure-Amplifikationstests zum **Nachweis und zur Quantifizierung der DNA des humanen Herpesvirus 7 (HHV7)** in DNA-Proben, die aus in EDTA entnommenem Vollblut, aus in EDTA entnommenem Plasma und aus Liquor extrahiert wurden.

Dieser Assay ist in Verbindung mit den Geräten ELITE InGenius® und ELITE BeGenius®, automatisierten und integrierten Systemen zur Extraktion, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation mit humanen in EDTA entnommenen Vollblut- und Plasmaproben, validiert.

Dieser Assay ist in Verbindung mit dem **7300 Real-Time PCR System** und dem **7500 Real-Time PCR System**, mit humanen, in EDTA entnommenen Vollblut- und Plasmaproben sowie Liquorproben validiert.

Das Produkt ist zur Verwendung bei der Diagnose und Überwachung von HHV7-Infektionen, sowie für klinische Patientendaten und weitere Laborbefunde bestimmt.

# 2 TESTPRINZIP

Der Assay ist eine quantitative Real-Time-PCR für den Nachweis der DNA von HHV7, die aus Proben isoliert und mit dem Testreagenz **HHV7 Q PCR Mix**, das Primer und ELITE MGB- und TaqMan™ MGB®-Technologie-Sonden enthält, amplifiziert wurde.

Die ELITE MGB- und TaqManMGB-Sonden werden aktiviert, wenn sie mit den jeweiligen PCR-Produkten hybridisieren. **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius** überwachen den Fluoreszenzanstieg und berechnen den Schwellenwertzyklus (Ct) sowie die Schmelztemperaturen (Tm). Die Berechnung der HHV7-DNA-Menge erfolgt auf der Grundlage einer gespeicherten Kalibrationskurve.

Bei den ELITE MGB-Sonden werden die Fluorophore im spiralförmig gefalteten, einzelsträngigen Zustand der Sonde gequencht. Die Fluorophore sind in der Sonden/Amplicon-Duplex aktiv, da der Quencher räumlich von dem Fluorophor getrennt ist.

Es ist zu beachten, dass das Fluorophor während der PCR nicht abgespalten wird und für die Dissoziationsanalyse und die Berechnung der Schmelztemperatur verwendet werden kann.

# 3 BESCHREIBUNG DES PRODUKTS

Das **HHV7 ELITE MGB Kit** enthält das Assay-Reagenz **HHV7 Q - PCR Mix**, ein optimiertes und stabilisiertes PCR-Gemisch, das die spezifischen Primer und Sonden enthält für:

- HHV7, Region des **Kapsidproteingens (U57)**, nachgewiesen in Kanal **HHV7**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher® gequencht und mit einem FAM-Farbstoff markiert.
- die Internal Control (IC), die für die künstliche DNA-Sequenz IC2 spezifisch ist, nachgewiesen in Kanal **IC**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor® 525 (AP525) markiert.

Der **HHV7 Q - PCR Mix** enthält außerdem Puffer, Magnesiumchlorid, Nulkeotidtriphosphate, AP593-Fluorophor (analog zu ROX oder Cy5) als Passivreferenz für die Fluoreszenz-Normalisierung, das Enzym Uracil-N-Glycosidase (UNG) zur Inaktivierung der Kontamination durch das Amplifikationsprodukt sowie die „Warmstart“-DNA-Polymerase.

Das **HHV7 ELITE MGB Kit** enthält ausreichend Reagenzien für **96 Tests** auf **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius**, wobei **20 µl** pro Reaktion verwendet werden.

Das Produkt **HHV7 ELITE MGB Kit** enthält ausreichend Reagenzien für **100 Tests auf anderen Systemen**, wobei **20 µl pro Reaktion** verwendet werden.

Das **HHV7 ELITE MGB Kit** kann auch in Verbindung mit anderen gleichwertigen Geräten verwendet werden.

## 4 MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN

Tabelle 1

Komponente	Beschreibung	Menge	Gefahrenklasse
HHV7 Q - PCR Mix Art.-Nr. RTS037PLD	Gemisch aus Reagenzien für die Real-Time-PCR in Röhrchen mit <b>NATURFARBENEM</b> Verschluss	4 x 540 µl	-

## 5 ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN

- Laminar-Flow-Haube.
- Puderfreie Einweghandschuhe aus Nitril oder einem ähnlichen Material.
- Vortex-Mixer.
- Tischzentrifuge (~5.000 U/min).
- Tisch-Mikrozentrifuge (~13.000 U/min).
- Mikropipetten und sterile Spitzen mit Aerosolfilter oder sterile Direktverdrängerspitzen (Volumenbereich: 0,5–1000 µl).
- Sterile 2,0-ml-Röhrchen mit Schraubverschluss (Sarstedt, Deutschland, Art.-Nr. 72.694.005).
- Sterile 0,5-ml-Röhrchen mit Schraubverschluss (Sarstedt, Deutschland, Art.-Nr. 72.730.005)
- Hochreines Wasser für die Molekularbiologie.

## 6 ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE

Die Reagenzien für die Extraktion der Proben-DNA, die Internal Control für die Extraktion und Inhibition, die Amplifikations-Positiv- und Negativkontrolle, die DNA-Standards und die Verbrauchsmaterialien **sind nicht** in diesem Produkt enthalten.

Für die automatisierte Nukleinsäureextraktion, Echtzeit-PCR und Ergebnisinterpretation von Proben werden die folgenden Produkte benötigt:

Tabelle 2

Geräte und Software	Produkte und Reagenzien
<p><b>ELITe InGenius</b> (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, Art.-Nr. INT030)  <b>ELITe InGenius Software</b> Version 1.3.0.19 (oder später)  <b>HHV7 ELITe_PC</b>, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Positive Control-Analyse  <b>HHV7 ELITe_NC</b>, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Negative Control-Analyse  <b>HHV7 ELITe_STD</b>, Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Kalibratorenanalyse  <b>HHV7 ELITe_WB_200_100</b>, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Vollblutproben-Analyse  <b>HHV7 ELITe_PL_200_100</b>, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Plasmaproben-Analyse</p>	<p><b>HHV7 ELITe Standard</b> (EG SpA, Art.-Nr. STD037PLD)  <b>HHV7 ELITe – Positive Control</b> (EG SpA, Art.-Nr. CTR037PLD)  <b>CPE – Internal Control</b> (EG SpA, Art.-Nr. CTCRCPE)  <b>ELITe InGenius SP200</b> (EG SpA, Art.-Nr. INT032SP200)  <b>ELITe InGenius</b> und <b>ELITe BeGenius Verbrauchsmaterialien</b> (siehe ELITe InGenius und ELITe BeGenius Gebrauchsanweisung)</p>
<p><b>ELITe BeGenius</b> (EG SpA, Art.-Nr. INT040)  <b>ELITe BeGenius Software</b> Version 2.3.0. (oder später)  <b>HHV7 ELITe_Be_PC</b>, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Positive Control-Analyse  <b>HHV7 ELITe_Be_NC</b>, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Negative Control-Analyse  <b>HHV7 ELITe_Be_STD</b>, Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Kalibratorenanalyse  <b>HHV7 ELITe_Be_WB_200_100</b>, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Vollblutproben-Analyse  <b>HHV7 ELITe_Be_PL_200_100</b>, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Plasmaproben-Analyse</p>	
<p>7300 Real-Time PCR System (ThermoFisher Scientific, Art.-Nr. 4351101)  <b>QIASymphony® SP/AS</b> (QIAGEN GmbH, Art.-Nr. 9001297, 9001301)  <b>NucliSENS® easyMAG®</b> (bioMérieux SA, Art.-Nr. 200111)</p>	<p><b>HHV7 ELITe Standard</b> (EG SpA, Art.-Nr. STD037PLD)  <b>HHV7 ELITe – Positive Control</b> (EG SpA, Art.-Nr. CTR037PLD)  <b>CPE – Internal Control</b> (EG SpA, Art.-Nr. CTCRCPE)  <b>MicroAmp™ Optical 96-Well Reaction Plate</b> (LifeTechnologies, Art.-Nr. N8010560)  <b>QIASymphony® Midi kit</b> (QIAGEN GmbH, Art.-Nr. 931236)  <b>NucliSENS® easyMAG® Reagents</b> (bioMérieux SA, Art.-Nr. 280130, 280131, 280132, 280133, 280134, 280135)</p>
<p>7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument (ThermoFisher Scientific, Art.-Nr. 4406985)  <b>QIASymphony SP/AS</b> (QIAGEN GmbH, Art.-Nr. 9001297, 9001301)  <b>NucliSENS easyMAGe</b> (bioMérieux SA, Art.-Nr. 200111)</p>	<p><b>HHV7 ELITe Standard</b> (EG SpA, Art.-Nr. STD037PLD)  <b>HHV7 ELITe – Positive Control</b> (EG SpA, Art.-Nr. CTR037PLD)  <b>CPE – Internal Control</b> (EG SpA, Art.-Nr. CTCRCPE)  <b>MicroAmp Fast Optical 96-Well Reaction Plate with Barcode, 0.1 mL</b> (Life Technologies, Art.-Nr. 4346906)  <b>QIASymphony Midi kit</b> (QIAGEN GmbH, Art.-Nr. 931236)  <b>NucliSENS easyMAG Reagents</b> (bioMérieux SA, Art.-Nr. 280130, 280131, 280132, 280133, 280134, 280135)</p>

## 7 WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Dieses Produkt ist nur für den In-vitro-Gebrauch bestimmt.

### 7.1 Allgemeine Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

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

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

Geeignete Schutzkleidung und Schutzhandschuhe sowie Augen-/Gesichtsschutz tragen.

Lösungen niemals mit dem Mund pipettieren.

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.

Restliche Reagenzien und Abfälle gemäß den geltenden Vorschriften entsorgen.

Vor der Durchführung des Assays alle bereitgestellten Anweisungen aufmerksam lesen.

Bei der Durchführung des Tests die bereitgestellten Produkthanweisungen befolgen.

Das Produkt nicht nach dem angegebenen Ablaufdatum verwenden.

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

Keine Reagenzien aus unterschiedlichen Chargen verwenden.

Keine Reagenzien anderer Hersteller verwenden.

## 7.2 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.

Bei manueller Einrichtung des Amplifikationslaufs ist eine räumliche Trennung von Extraktion/Vorbereitung der Amplifikationsreaktionen und Amplifikation/Detektion von Amplifikationsprodukten zu beachten. Niemals ein Amplifikationsprodukt in den für die Extraktion/Vorbereitung von Amplifikationsreaktionen vorbehaltenen Bereich einführen.

Bei manueller Einrichtung des Amplifikationslaufs müssen Laborkittel, Schutzhandschuhe und Hilfsmittel vorhanden sein, die ausschließlich für die Extraktion/Vorbereitung der Amplifikationsreaktionen und für die Amplifikation/Detektion von Amplifikationsprodukten verwendet werden.

Niemals Laborkittel, Schutzhandschuhe oder Hilfsmittel aus dem für die Amplifikation / den Nachweis von Amplifikationsprodukten vorbehaltenen Bereich in den für die Extraktion/Vorbereitung der Amplifikationsreaktionen vorbehaltenen Bereich bringen.

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 verhindert und eine Kontamination des Arbeitsbereichs des Geräts vermieden wird.

Die PCR-Kassette (PCR Cassette) muss vorsichtig behandelt werden und darf niemals geöffnet werden, um eine Diffusion von PCR-Produkten in die Umgebung und eine Verschleppungskontamination zu verhindern.

### 7.3 Komponentenspezifische Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Tabelle 3

Komponente	Umgebungstemperatur bei Lagerung	Haltbarkeit nach Anbruch	Gefrier- und Auftauzyklen	On-Board-Stabilität (ELITE InGenius und ELITE BeGenius)
HHV7 Q - PCR Mix	-20°C oder darunter (lichtgeschützt)	einen Monat	bis zu fünf	bis zu fünf separate* Läufe von je drei Stunden oder bis zu 7 aufeinanderfolgende Stunden (2 Läufe von je 3 Stunden und die Zeit, die für den Beginn eines dritten Laufs benötigt wird)

\* mit zwischenzeitlichem Gefrierzyklus

## 8 PROBEN UND KONTROLLEN bei ELITE InGenius und ELITE BeGenius

### 8.1 Proben

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

Tabelle 4

Probe	Anforderungen an die Entnahme	Transport-/Lagerbedingungen			
		+16 bis +26 °C (Raumtemperatur)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Vollblut	EDTA	≤ 24 Stunden	≤ 72 Stunden	≤ 1 Monat	> 1 Monat
Plasma	EDTA	≤ 24 Stunden	≤ 72 Stunden	≤ 1 Monat	> 1 Monat

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

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

**Tabelle 5 Assay-Protokolle für HHV7 ELITe MGB Kit**

Probe	Gerät	Name des Assay-Protokolls	Bericht	Eigenschaften
Vollblut	ELITe InGenius	HHV7 ELITe_WB_200_100	Kopien/ml	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Internal Control: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 PCR Mix-Volumen: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 10 µl
	ELITe BeGenius	HHV7 ELITe_Be_WB_200_100	Kopien/ml	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Internal Control: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 PCR Mix-Volumen: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 10 µl
Plasma	ELITe InGenius	HHV7 ELITe_PL_200_100	Kopien/ml	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Internal Control: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 PCR Mix-Volumen: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 10 µl
	ELITe BeGenius	HHV7 ELITe_Be_PL_200_100	Kopien/ml	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Internal Control: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 PCR Mix-Volumen: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 10 µl

Überprüfen Sie, ob das Primärrohrchen und das Probenvolumen mit ELITe InGenius oder ELITe BeGenius kompatibel sind, und befolgen Sie dabei die Gebrauchsanweisung des Extraktionskits **ELITeInGeniusSP200** (EG SpA, Art.-Nr. INT032SP200).

Das Volumen der Probe in einem Primärrohrchen variiert je nach Art des geladenen Röhrchens. Weitere Informationen zur Einrichtung und Durchführung des Extraktionsverfahrens sind der Gebrauchsanweisung des Extraktionskits zu entnehmen.

Falls erforderlich, müssen 200 µl oder 1000 µl Probe in ein Extraction Tube (Extraktionsröhrchen) (bei ELITe InGenius) bzw. 200 µl Probe in ein 2-ml-Sarstedt-Röhrchen (bei ELITe BeGenius) überführt werden.

### HINWEIS!

Bei Verwendung des Primärrohrchens variiert das Probenvolumen je nach Typ des geladenen Röhrchens. Weitere Informationen zur Einrichtung und Durchführung des Extraktionsverfahrens sind der Gebrauchsanweisung des Extraktionskits zu entnehmen.

## HINWEIS!

Das Pipettieren in das **Extraktionsröhrchen** oder das **2-ml-Sarstedt-Röhrchen** kann **Kontamination verursachen**. Die geeigneten Pipetten verwenden und alle im Abschnitt „Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen“ aufgeführten Empfehlungen befolgen.

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

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

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

Eine große Menge humaner genomischer DNA in der aus der Probe extrahierten DNA kann die Amplifikationsreaktion hemmen.

Es liegen keine Daten zu einer Inhibition durch antivirale, antibiotische, chemotherapeutische oder immunsupprimierende Medikamente vor.

## 8.2 PCR-Kalibratoren und -Kontrollen

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

- Für die Kalibrationskurve die vier Konzentrationen des Produkts **HHV7 ELITE Standard** (nicht im Lieferumfang dieses Kits enthalten) mit dem Assay-Protokoll **HHV7 ELITE\_STD** oder **HHV7 ELITE\_Be\_STD** verwenden.
- Für die Positive Control das Produkt **HHV7 - ELITE Positive Control** (nicht in diesem Kit enthalten) mit dem Assay-Protokoll **HHV7 ELITE\_PC** oder **HHV7 ELITE\_Be\_PC** verwenden,
- Für die Negative Control hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) mit den Assay-Protokollen (Assay Protocols) **HHV7 ELITE\_NC** oder **HHV7 ELITE\_Be\_NC** verwenden.

## HINWEIS!

**ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius** ermöglichen die Erstellung und Speicherung der Kalibrationskurve und die Validierung der PCR-Kontrollen für jede PCR-Reagenziencharge.

Kalibrierungskurven verfallen nach **60 Tagen**, danach muss die Kalibration erneut durchgeführt werden.

Die Ergebnisse der PCR-Kontrollen verfallen nach **15 Tagen**, danach müssen die Positive Control und die Negative Control erneut durchgeführt werden.

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

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

## 8.3 Qualitätskontrollen

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

# 9 VERFAHREN BEI ELITE InGenius

Das beim Gebrauch des **HHV7 ELITE MGB Kit** mit dem **ELITE InGenius** anzuwendende Verfahren besteht aus drei Schritten:

**Tabelle 6**

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

### 9.1 SCHRITT 1 – Prüfung der Systembereitschaft

Vor Beginn des Laufs:

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

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

Protokolle für die qualitative Analyse sind auf Anfrage erhältlich.

### 9.2 SCHRITT 2 – Einrichtung des Laufs

Das **HHV7 ELITe MGB Kit** kann auf **ELITe InGenius** für die folgenden Läufe verwendet werden:

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

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

#### HINWEIS!

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

Vor dem Einrichten eines Laufs:

Die benötigten PCR Mix-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für **24 Tests** unter optimalen Bedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

### HINWEIS!

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

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

	<b>A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])</b>	<b>B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])</b>
<b>1</b>	<b>Proben identifizieren</b> und, falls erforderlich, auf Raumtemperatur auftauen, vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Falls erforderlich, 200 µl Probe in ein zuvor etikettiertes Extraction Tube (Extraktionsröhrchen) überführen. Die benötigten <b>CPE-Röhrchen</b> 30 Minuten auf Raumtemperatur <b>auftauen</b> . Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Extraktionen.	<b>Elution Tube</b> (Elutionsröhr) mit den extrahierten Nukleinsäuren auf Raumtemperatur <b>auftauen</b> . Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.
<b>2</b>	Auf der Startseite „ <b>Perform Run</b> “ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „ <b>Perform Run</b> “ (Lauf durchführen) auswählen.
<b>3</b>	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.
<b>4</b>	Für jede Probe eine Spur zuweisen und unter „SampleID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.	Für jede Probe eine Spur zuweisen und unter „SampleID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.
<b>5</b>	Das <b>Assay Protocol</b> (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) <b>auswählen</b> (siehe „Proben und Kontrollen“).	Das <b>Assay Protocol</b> (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) <b>auswählen</b> (siehe „Proben und Kontrollen“).
<b>6</b>	Sicherstellen, dass unter „Protocol“ (Protokoll) Folgendes angezeigt wird: „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR).	In der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) auswählen.
<b>7</b>	Als Proben-Ladeposition „Primary Tube“ (Primärröhrchen) oder „Extraction Tube“ (Extraktionsröhrchen) in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) auswählen. Sicherstellen, dass der Verdünnungsfaktor ( <b>Dilution factor</b> ) „1“ beträgt.	Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr [untere Reihe]) lautet. Sicherstellen, dass der Verdünnungsfaktor ( <b>Dilution factor</b> ) „1“ beträgt.
<b>8</b>	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
<b>9</b>	<b>CPE</b> und den <b>PCR Mix</b> gemäß der „Load List“ (Liste Laden) auf den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) <b>laden</b> und die Chargennummer und das Ablaufdatum des CPE und PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.	Den <b>PCR Mix</b> gemäß der „Load List“ (Liste Laden) auf den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) <b>laden</b> und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.
<b>10</b>	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
<b>11</b>	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.
<b>12</b>	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.

	<b>A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])</b>	<b>B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])</b>
<b>13</b>	PCR-Kassette, ELITe InGenius SP 200 Extraktionskartuschen und alle benötigten Verbrauchsmaterialien und zu extrahierenden Proben <b>laden</b> .	PCR-Kassette und Elution Tube (Elutionsröhr ) mit extrahierten Proben <b>laden</b> .
<b>14</b>	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
<b>15</b>	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.
<b>16</b>	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.

	<b>C. Kalibrationslauf (PCR Only [nur PCR])</b>	<b>D. Lauf für die Positive Control und Negative Control (PCR Only [nur PCR])</b>
<b>1</b>	Die benötigten <b>Q-PCR Standard -Röhrchen</b> (Cal1: Q-PCR Standard 10 <sup>2</sup> , Cal2: Q-PCR Standard 10 <sup>3</sup> , Cal3: Q-PCR Standard 10 <sup>4</sup> , Cal4: Q-PCR Standard 10 <sup>7</sup> ) 30 Minuten auf Raumtemperatur <b>auftauen</b> . Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.	<b>Positive Control-Röhrchen</b> 30 Minuten auf Raumtemperatur <b>auftauen</b> . Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. <b>Die Negative Control vorbereiten:</b> 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.
<b>2</b>	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
<b>3</b>	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.	Sicherstellen, dass „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.
<b>4</b>	Für den Q-PCR Standard die Spur („Track“) zuweisen, das <b>Assay Protocol</b> (Assay-Protokoll) (siehe „Proben und Kontrollen“) in der Spalte „Assay“ <b>auswählen</b> und die Reagenzien-Chargennummer und das Verfallsdatum eingeben.	Das <b>Assay Protocol</b> (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) <b>auswählen</b> (siehe „Proben und Kontrollen“). Die Chargennummer und das Ablaufdatum der Positive Control und des hochreinen Wassers für die Molekularbiologie eingeben.
<b>5</b>	Sicherstellen, dass in der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) ausgewählt ist.	Sicherstellen, dass in der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) ausgewählt ist.
<b>6</b>	Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr [untere Reihe]) lautet.	Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr [untere Reihe]) lautet.
<b>7</b>	Den <b>PCR Mix</b> gemäß der „Load List“ (Liste Laden) auf den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) <b>laden</b> und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.	Den <b>PCR Mix</b> gemäß der „Load List“ (Liste Laden) auf den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) <b>laden</b> und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.
<b>8</b>	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
<b>9</b>	Die Spitzen in dem/den Spitzenständer/n („Tip Rack (s)“) im Inventory Area (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in dem/den Spitzenständer/n („Tip Rack(s)“) im Inventory Area (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.
<b>10</b>	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
<b>11</b>	Die PCR-Kassette und die Q-PCR-Standard-Röhrchen <b>laden</b> .	PCR-Kassette, Positive Control und Negative Control <b>laden</b> .
<b>12</b>	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
<b>13</b>	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.
<b>14</b>	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.

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

### HINWEIS!

Am Ende des Laufs muss die übrige extrahierte Probe im **Elution Tube** (Elutionsröhr.) aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen, gekennzeichnet und maximal einen Monat bei  $-20 \pm 10$  °C aufbewahrt werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

**HINWEIS!**

Am Ende des Laufs kann der **PCR Mix** aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und bei -20 °C oder darunter aufbewahrt oder bis zu 7 Stunden (2 Läufe von jeweils 3 Stunden sowie die zum Starten eines dritten Laufs nötige Zeit) im gekühlten Block aufbewahrt werden; vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

**HINWEIS!**

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

**HINWEIS!**

Der **Q - PCR Standard** kann für 4 separate Läufe von jeweils 2 Stunden verwendet werden.

**HINWEIS!**

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

**HINWEIS!**

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

**HINWEIS!**

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

### 9.3 SCHRITT 3 – Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

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

At the end of the run, the “Results Display” screen is automatically shown. Auf diesem Bildschirm werden die Ergebnisse und Laufdaten angezeigt. Über diesen Bildschirm können die Ergebnisse genehmigt und die 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 **HHV7 ELITe MGB Kit** und geht dabei folgendermaßen vor:

1. Validierung der Kalibrationskurve,
2. Validierung der Ergebnisse der Positive Control und Negative Control,
3. Validierung der Probenergebnisse,
4. Ausgabe des Probenergebnisberichts.

#### 9.3.1 Validierung der Kalibrationskurve

Die **ELITe InGenius Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse für die Zielsequenzen der Kalibratorreaktionen mit den **ELITe STD** Assay-Protokoll-Parametern. Die Kalibrationskurve ergibt sich aus dem resultierenden Ct-Wert bei der jeweiligen Konzentration.

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

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

#### HINWEIS!

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

### 9.3.2 Validierung der Ergebnisse des Amplifikationslaufs für die Positivkontrolle und Negativkontrolle

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

Die Ergebnisse der Positive Control und Negative Control, die für die PCR-Reagenziencharge spezifisch sind, werden in der Datenbank („Controls“) gespeichert. Sie können vom „Administrator“ oder „Analyst“ unter Befolgung der Anweisung auf der grafischen Benutzeroberfläche angezeigt und genehmigt werden.

Die Ergebnisse der Positive Control und der Negative Control laufen **nach 15 Tagen** ab.

Die **ELITE InGenius software** verarbeitet die Ergebnisse der Positive Control und Negative Control und generiert Kontrollendiagramme („Control Charts“). Zum Einrichten der initialen Regelkarte werden vier genehmigte Ergebnisse der Positive Control und Negative Control verwendet. Für darauf folgende Kontrollen werden die Ergebnisse von der Software analysiert, um sicherzustellen, dass die Systemleistungen innerhalb der Akzeptanzkriterien liegen, die in den Kontrollendiagrammen angezeigt sind. Weitere Informationen finden Sie im Gerätehandbuch.

#### HINWEIS!

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

#### HINWEIS!

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

### 9.3.3 Validierung der Probenergebnisse

Die **ELITE InGenius-Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse für die Zielsequenz (Kanal **HHV7**) und die Internal Control (Kanal **IC**) mit den Assay-Protokoll-Parametern **HHV7 ELITE\_WB\_200\_100** und **HHV7 ELITE\_PL\_200\_100**. Die resultierenden Ct-Zielwerte werden in Konzentrationswerte umgerechnet.

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

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

**Tabelle 7**

1) Kalibrationskurve	Status
HHV7 Q-PCR Standard	APPROVED (Genehmigt)
2) Positive Control	Status
HHV7 Positive Control	APPROVED (Genehmigt)
3) Negative Control	Status
HHV7 Negative Control	APPROVED (Genehmigt)

Die Probenergebnisse werden von der **ELITe InGenius-Software** anhand der Assay-Protocol-Parameter automatisch interpretiert.

Die möglichen Ergebnismeldungen sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt.

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

**Tabelle 8**

Ergebnis des Probenlaufs	Interpretation
HHV7:DNA Detected, quantity equal to XXX copies/mL (HHV7:DNA erkannt, Menge gleich XXX Kopien/ml)	In der Probe wurde <b>HHV7-DNA</b> innerhalb des Messbereichs des Assays <b>nachgewiesen</b> , ihre Konzentration wird angezeigt.
HHV7:DNA Detected, quantity below „LLoQ“ copies/mL (HHV7:DNA erkannt, Menge unter „LLoQ“ Kopien/ml)	In der Probe wurde <b>HHV7-DNA nachgewiesen</b> , ihre Konzentration liegt unterhalb der unteren Bestimmungsgrenze des Assays.
HHV7:DNA Detected, quantity beyond „ULoQ“ copies/mL (HHV7:DNA erkannt, Menge über „ULoQ“ Kopien/ml)	In der Probe wurde <b>HHV7-DNA nachgewiesen</b> , ihre Konzentration liegt oberhalb der oberen Bestimmungsgrenze des Assays.
HHV7:DNA Not detected or below the „LoD“ copies/mL (HHV7:DNA nicht erkannt oder unter „LoD“ Kopien/ml)	In der Probe wurde <b>keine HHV7-DNA nachgewiesen</b> . Die Probe wurde negativ auf die Ziel-DNA getestet <b>oder die Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays</b> .
Invalid-Retest Sample (Ungültig – Probe erneut testen)	<b>Ungültiges Testergebnis</b> durch fehlerhafte Internal Control (z. B. aufgrund von falscher Extraktion oder Verschleppung von Inhibitoren). Der Test sollte wiederholt werden.

Als „Invalid-Retest Sample“ (Ungültig – Probe erneut testen) ausgegebene Proben: In diesem Fall wurde die Internal Control-DNA möglicherweise aufgrund von Problemen beim Probenentnahme-, Extraktions- oder PCR-Schritt nicht effizient erkannt (z. B. falsche Probenahme, 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 (siehe „[17 FEHLERBEHEBUNG page 46](#)“).

Als „HHV7:DNA Not detected or below „LoD“ copies/mL“ (HHV7:DNA nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze in Kopien/ml) ausgegebene Proben sind für die Analyse geeignet, HHV7 wurde jedoch nicht nachgewiesen. In diesem Fall kann entweder die Probe negativ für die HHV7-DNA sein oder die HHV7-DNA ist bei einer Konzentration unter der Nachweisgrenze des Assays vorhanden (siehe „[11 LEISTUNGSMERKMALE BEI ELITe InGenius und ELITe BeGenius page 24](#)“).

HHV7-DNA-positive Proben mit einer Konzentration unter der Nachweisgrenze (und der unteren Bestimmungsgrenze) des Assays werden, falls nachgewiesen, als „HHV7:DNA Detected, quantity below „LLoQ“ copies/mL“ (HHV7:DNA erkannt, Menge unter „LLoQ“ Kopien/ml) ausgegeben (siehe „[11 LEISTUNGSMERKMALE BEI ELITe InGenius und ELITe BeGenius page 24](#)“).

HHV7-DNA-positive Proben innerhalb des linearen Messbereichs (siehe [11 LEISTUNGSMERKMALE BEI ELITE InGenius und ELITE BeGenius page 24](#)) werden erkannt und als „HHV7:DNA Detected, quantity equal to “XXX” copies/mL“ (HHV7:DNA erkannt, Menge gleich „XXX“ Kopien/ml) ausgegeben.

HHV7-DNA-positive Proben, die oberhalb der oberen Bestimmungsgrenze liegen, werden als „HHV7:DNA Detected, quantity beyond “ULoQ” copies/mL“ (HHV7:DNA erkannt, Menge über „ULoQ“ Kopien/ml) ausgegeben und sind nicht zur Quantifizierung geeignet. Falls erforderlich muss die Probe vor der Extraktion oder dem PCR-Test verdünnt und erneut getestet werden, um Ergebnisse innerhalb des linearen Messbereichs des Assays zu erzielen.

### HINWEIS!

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

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

#### 9.3.4 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.

## 10 VERFAHREN BEI ELITE BeGenius

Das beim Gebrauch des **HHV7 ELITE MGB Kit** mit dem **ELITE BeGenius** anzuwendende Verfahren besteht aus drei Schritten:

**Tabelle 9**

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

### 10.1 SCHRITT 1 – Prüfung der Systembereitschaft

Vor Beginn des Laufs:

- **ELITE BeGenius** einschalten und den Modus „**CLOSED**“ (geschlossen) auswählen,

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

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

Protokolle für die qualitative Analyse sind auf Anfrage erhältlich.

## 10.2 SCHRITT 2 – Einrichtung des Laufs

Das **HHV7 ELITe MGB Kit** kann auf **ELITe BeGenius** für die folgenden Läufe verwendet werden:

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

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

### HINWEIS!

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

Vor dem Einrichten eines Laufs:

Die benötigten PCR Mix-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für **24 Tests** unter optimalen Bedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

### HINWEIS!

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

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

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])
1	<b>Proben identifizieren</b> und, falls erforderlich, auf Raumtemperatur auftauen, vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Falls erforderlich, 200 µl Probe in ein zuvor etikettiertes 2-ml-Sarstedt-Röhrchen überführen. Die benötigten <b>CPE-Röhrchen</b> 30 Minuten auf Raumtemperatur <b>auftauen</b> . Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Extraktionen.	Falls erforderlich, das <b>Elutionsröhrchen</b> mit den extrahierten Nukleinsäuren auf Raumtemperatur <b>auftauen</b> . Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.
2	Auf der Startseite „ <b>Perform Run</b> “ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „ <b>Perform Run</b> “ (Lauf durchführen) auswählen.

	<b>A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])</b>	<b>B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])</b>
3	Alle Racks aus der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.	Die „Racks“ aus „Lane 1, 2 und 3 (L1, L2 und L3)“ der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.
4	Den Laufmodus („Run mode“) wählen: „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR).	Den Laufmodus („Run mode“) wählen: „PCR Only“ (Nur PCR).
5	Die Proben in das „Sample Rack“ (Probenständer) laden. (Hinweis: Wenn als Sekundärröhrchen „2 mL Tubes“ (2-ml-Röhrchen) geladen werden, verwenden Sie die blauen Adapter für das „Sample Rack“ [Probenständer]).	Die Proben in das „Elution Rack“ (Elutionsablage) laden.
6	<b>Das „Sample Rack“</b> in die „Cooler Unit“ <b>einsetzen</b> , beginnend mit „Lane 5“ (L5). Falls erforderlich unter „Sample ID“ (SID) die Proben-ID für jede verwendete „Position“ eingeben. (Beim Laden von Sekundärröhrchen „2-ml-Röhrchen“ angeben. Bei Sekundärröhrchen ohne Barcode die Proben-ID manuell eingeben.	<b>Das „Elution Rack“</b> in die „Cooler Unit“ <b>einsetzen</b> , beginnend mit „Lane 3“ (L3). Falls erforderlich, für jede „Position“ die Proben-ID („Sample ID“), die Probenmatrix („Sample Matrix“), das Extraktionskit („Extraction Kit“) und das extrahierte Eluatvolumen („Extracted eluate vol.“) eingeben.
7	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
8	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.	Nicht anwendbar
9	Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“).	Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“).
10	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
11	Bei Verarbeitung von mehr als 12 Proben das Verfahren ab Punkt 6 wiederholen.	Bei Verarbeitung von mehr als 12 Proben das Verfahren ab Punkt 6 wiederholen.
12	Die „Elution tubes“ (Elutionsröhr) in das „Elution Rack“ (Elutionsablage) laden (Elutionsröhrchen können zur Verbesserung der Rückverfolgbarkeit mit einem Barcode etikettiert werden).	Nicht anwendbar
13	Das „Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ einsetzen, beginnend mit „Lane 3“ (L3). Bei Verarbeitung von mehr als 12 Proben das Verfahren wiederholen und dabei „Lane 2“ (L2) verwenden.	Nicht anwendbar
14	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Nicht anwendbar
15	CPE und PCR Mix in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) laden.	Den PCR Mix in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) laden.
16	Das „Reagent/Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ in „Lane 2“ (L2), falls verfügbar, oder in „Lane 1“ (L1) einsetzen. Falls erforderlich, für jeden PCR Mix und/oder CPE unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.	Das „Reagent/Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ in „Lane 2“ (L2), falls verfügbar, oder in „Lane 1“ (L1) einsetzen. Falls erforderlich, für jeden PCR Mix unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.
17	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
18	Die Spitzen in dem/den „Tip Rack(s)“ (Spitzenständer/n) im „Inventory Area“ (Invetarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in dem/den „Tip Rack (s)“ (Spitzenständer/n) im „Inventory Area“ (Invetarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.

	<b>A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])</b>	<b>B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])</b>
19	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
20	Das „PCR Rack“ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) laden.	Das „PCR Rack“ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) laden.
21	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
22	Den „Extraction Rack“ (Extraktionsrack) mit den „ELITe InGenius SP 200“ Extraktionskartuschen und die für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden.	Nicht anwendbar
23	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.
24	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.

	<b>C. Kalibrationslauf (PCR Only [nur PCR])</b>	<b>D. Lauf für die Positive Control und Negative Control (PCR Only [nur PCR])</b>
<b>1</b>	Die benötigten <b>Q-PCR Standard -Röhrchen</b> (Cal1: Q-PCR Standard 10 <sup>2</sup> , Cal2: Q-PCR Standard 10 <sup>3</sup> , Cal3: Q-PCR Standard 10 <sup>4</sup> , Cal4: Q-PCR Standard 10 <sup>7</sup> ) 30 Minuten auf Raumtemperatur <b>auftauen</b> . Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.	<b>Positive Control-Röhrchen</b> 30 Minuten auf Raumtemperatur <b>auftauen</b> . Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. <b>Die Negative Control vorbereiten:</b> 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.
<b>2</b>	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
<b>3</b>	Die „Racks“ aus „Lane 1, 2 und 3 (L1, L2 und L3)“ der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.	Die „Racks“ aus „Lane 1, 2 und 3 (L1, L2 und L3)“ der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.
<b>4</b>	Den Rund Mode („run mode“) wählen: „PCR Only“ (Nur PCR).	Den Laufmodus („Run mode“) wählen: „PCR Only“ (Nur PCR).
<b>5</b>	Die <b>Q-PCR Standard-Röhrchen</b> in das „Elution Rack“ (Elutionsablage) <b>laden</b> .	Die <b>Röhrchen für die Positive Control und Negative Control</b> in das „Elution Rack“ (Elutionsablage) <b>laden</b> .
<b>6</b>	Das „ <b>Elution Rack</b> “ in die „Cooler Unit“ <b>einsetzen</b> , beginnend mit „Lane 3“ (L3). Falls erforderlich, für jede „Position“ unter „Reagent name“ den Reagenznamen, unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.	Das „ <b>Elution Rack</b> “ in die „Cooler Unit“ <b>einsetzen</b> , beginnend mit „Lane 3“ (L3). Falls erforderlich, für jede „Position“ unter „Reagent name“ den Reagenznamen, unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.
<b>7</b>	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
<b>8</b>	Das <b>Assay Protocol</b> (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“).	Das <b>Assay Protocol</b> (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“).
<b>9</b>	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
<b>10</b>	Den <b>PCR Mix</b> in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) <b>laden</b> .	Den <b>PCR Mix</b> in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) <b>laden</b> .
<b>11</b>	Das „ <b>Reagent/Elution Rack</b> “ in die „Cooler Unit“ in „Lane 2“ (L2) <b>einsetzen</b> . Falls erforderlich, für jeden PCR Mix unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.	Das „ <b>Reagent/Elution Rack</b> “ in die „Cooler Unit“ in „Lane 2“ (L2) <b>einsetzen</b> . Falls erforderlich, für jeden PCR Mix unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.
<b>12</b>	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
<b>13</b>	Die Spitzen in den Spitzenständern („Tip Racks“) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den Spitzenständern („Tip Racks“) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.
<b>14</b>	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
<b>15</b>	Das „ <b>PCR Rack</b> “ mit „ <b>PCR Cassette</b> “ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) <b>laden</b> .	Das „ <b>PCR Rack</b> “ mit „ <b>PCR Cassette</b> “ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) <b>laden</b> .
<b>16</b>	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
<b>17</b>	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.
<b>18</b>	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.

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

#### HINWEIS!

Am Ende des Laufs muss die übrige extrahierte Probe im **Elution Tube** (Elutionsröhr.) aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen, gekennzeichnet und maximal einen Monat bei  $-20 \pm 10$  aufbewahrt werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

#### HINWEIS!

Am Ende des Laufs kann der **PCR Mix** aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und bei  $-20 \text{ °C}$  oder darunter aufbewahrt oder bis zu 7 Stunden (2 Läufe von jeweils 3 Stunden sowie die zum Starten eines dritten Laufs nötige Zeit) im gekühlten Block aufbewahrt werden; vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

#### HINWEIS!

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

#### HINWEIS!

Der **Q - PCR Standard** kann für 4 separate Läufe von jeweils 2 Stunden verwendet werden.

#### HINWEIS!

Am Ende des Laufs kann die übrige **Positive Control** aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und bei  $-20 \text{ °C}$  oder darunter aufbewahrt werden. Ein Verschütten der **Positive Control** vermeiden. Die übrige **Negative Control** muss entsorgt werden.

#### HINWEIS!

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

#### HINWEIS!

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

### 10.3 SCHRITT 3 – Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

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

At the end of the run, the “Results Display” screen is automatically shown. Auf diesem Bildschirm werden die Ergebnisse und Laufdaten angezeigt. Über diesen Bildschirm können die Ergebnisse genehmigt und die 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 die Ergebnisse mithilfe des **HHV7 ELITE MGB Kit** und geht dabei folgendermaßen vor:

1. Validierung der Kalibrationskurve,

2. Validierung der Ergebnisse der Positive Control und Negative Control,
3. Validierung der Probenergebnisse,
4. Ausgabe des Probenergebnisberichts.

### HINWEIS!

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

## 11 LEISTUNGSMERKMALE BEI ELITE InGenius und ELITE BeGenius

### 11.1 Analytische Sensitivität: Erfassungsgrenze bei Vollblut

Aufgrund der hohen Prävalenz von HHV7 in der Bevölkerung (ca. 80 %), über die in der Literatur berichtet wird (Michael Kidd et al.), ist bei der Analyse von Vollblutproben ein gewisser Prozentsatz niedrig positiver, klinisch nicht signifikanter Ergebnisse zu erwarten. Um die Negativität des Assays mit diesen Proben zu erhalten, musste auf **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius** ein HHV7-Ct-Grenzwert von 35 bestimmt werden.

Die Ergebnisse auf ELITE InGenius sind in der folgenden Tabelle dargestellt:

**Tabelle 10**

Erfassungsgrenze bei in EDTA entnommenem Vollblut und ELITE InGenius			
Proben	Anzahl	positiv	negativ
In EDTA entnommenes, HHV7-DNA-negatives Vollblut	35	0	35

Die Ergebnisse auf ELITE BeGenius sind in der folgenden Tabelle dargestellt:

**Tabelle 11**

Erfassungsgrenze bei in EDTA entnommenem Vollblut und ELITE BeGenius			
Proben	Anzahl	positiv	negativ
In EDTA entnommenes, HHV7-DNA-negatives Vollblut	20	0	20

Beim Test der Erfassungsgrenze weist das HHV7 ELITE MGB Kit alle getesteten Proben erwartungsgemäß innerhalb des für die Zielsequenz festgelegten Ct-Grenzwerts korrekt nach.

### 11.2 Analytische Sensitivität: Nachweisgrenze (LoD)

Die Nachweisgrenze (LoD, Limit of Detection) der DNA-Amplifikation, ermöglicht den Nachweis von zirka 10 Kopien in 20 µl DNA, die der Amplifikationsreaktion hinzugefügt wurden.

Die Nachweisgrenze dieses Assays wurde auf ELITE InGenius mithilfe von Plasmid-DNA getestet. Diese enthielt das Amplifikationsprodukt, dessen Ausgangskonzentration mit einem Spektrophotometer gemessen wurde. Die Plasmid-DNA wurde auf einen Titer von 10 Kopien/10 µl bei Vorhandensein von Plasmid-DNA verdünnt. Diese enthielt die Internal Control bei einem Titer von 20.000 Kopien/10 µl.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

**Tabelle 12**

Proben	Anzahl	positiv	negativ
10 Kopien HHV7-Plasmid-DNA + 20.000 Kopien Internal Control	18	18	0

Der theoretische LoD-Wert wurde verifiziert, indem auf ELITE InGenius und ELITE BeGenius ein Pool aus EDTA-Plasma und EDTA-Vollblut getestet wurde, die mit HHV7-Referenzmaterial (ZeptoMetrix, Art.-Nr. PINATHHV7-ST) in der angegebenen Konzentration dotiert waren.

Die erhaltenen Ergebnisse bestätigten die behauptete Konzentration für die Zielsequenz des HHV7 ELITE MGB Kits auf ELITE InGenius und ELITE BeGenius.

### 11.3 Linearer Messbereich

Der lineare Messbereich des HHV7 ELITE MGB Kit wurde mit Vollblut- und Plasmaproben auf ELITE InGenius und ELITE BeGenius bestimmt.

#### Bei Vollblut:

Der lineare Messbereich wurde anhand einer Reihe von Verdünnungen des Plasmids mit der HHV7-Zielsequenz in negativen EDTA-Vollblutproben bestimmt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung aufgeführt.

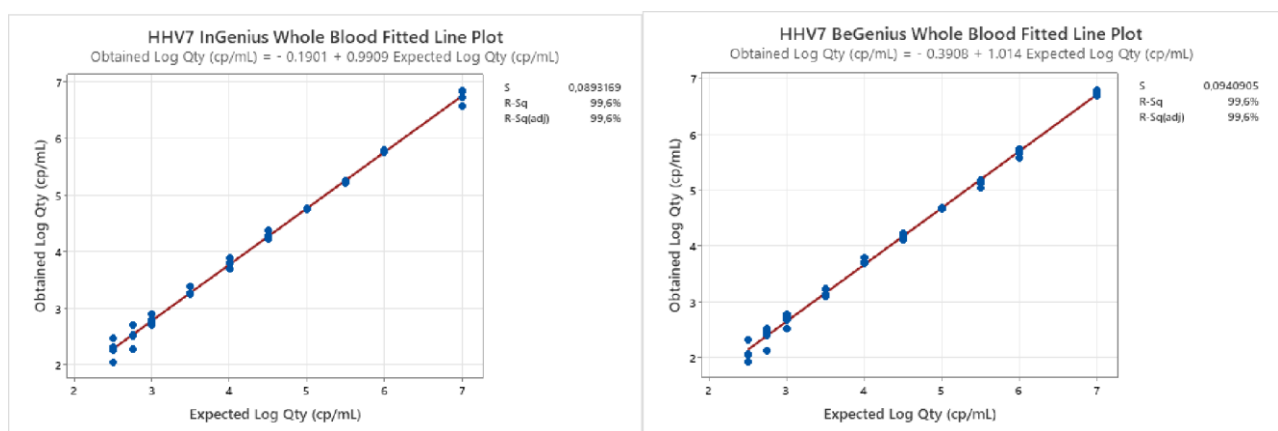


Bild 1

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

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.

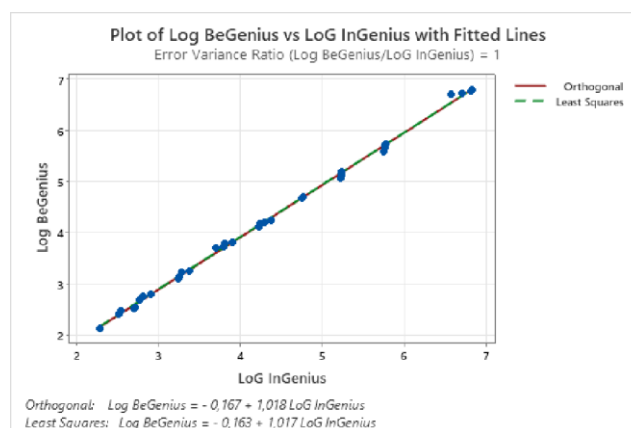


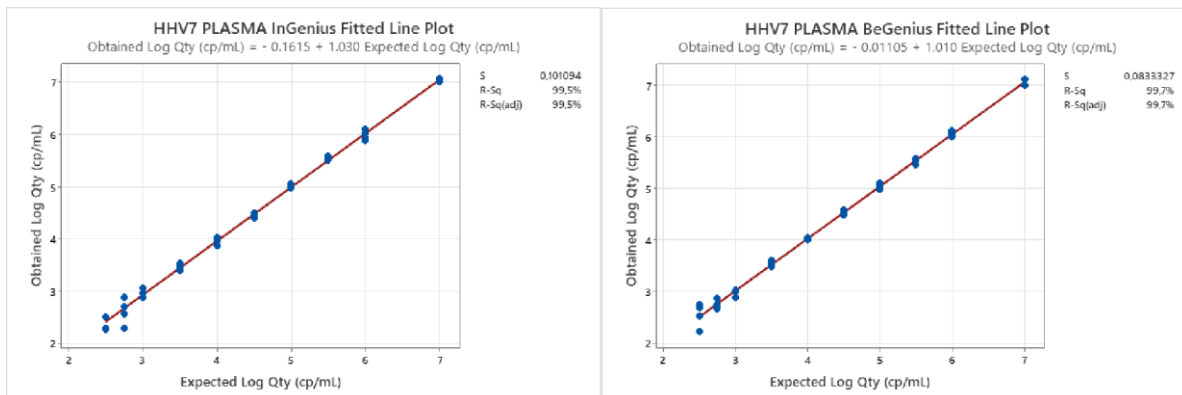
Bild 2

Die orthogonale Regressionsanalyse ergab einen Achsenabschnitt von -0,167 (95%-KI: -0,2256 bis -0,1075) und eine Steigung von 1,018 (95%-KI: 1,0048 bis 1,0307). Die Analyse der linearen Regression ergab einen R<sup>2</sup>-Wert von 0,999.

Bei in EDTA entnommenem Plasma:

Der lineare Messbereich wurde anhand einer Reihe von Verdünnungen des Plasmids mit der HHV7-Zielsequenz in negativen EDTA-Plasmaproben bestimmt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung aufgeführt.



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.

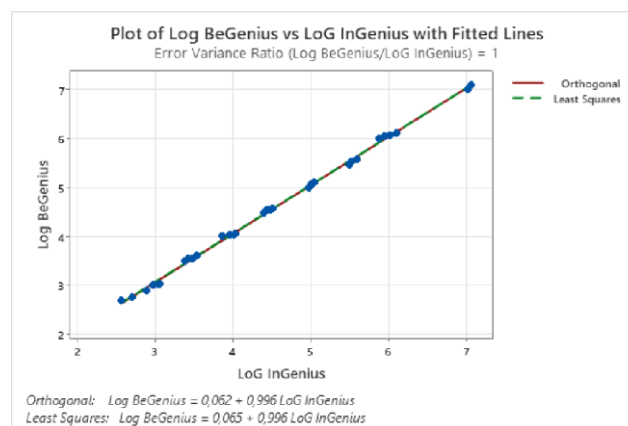


Bild 3

Die orthogonale Regressionsanalyse ergab einen Achsenabschnitt von 0,062 (95%-KI: 0,0053 bis 0,1194) und eine Steigung von 0,996 (95%-KI: 0,9845 bis 1,0082). Die Analyse der linearen Regression ergab einen R2-Wert von 0,999.

Der lineare Messbereich bei Vollblut und Plasma in EDTA-Proben deckt einen Konzentrationsbereich ab, der in der folgenden Tabelle aufgeführt ist:

**Tabelle 13**

Linearer Messbereich für HHV7 ELITE MGB Kit und ELITE InGenius und ELITE BeGenius		
Matrix	Untere Grenze	Obere Grenze
Vollblut	500 Kopien/ml	10.000.000 Kopien/ml
Plasma	500 Kopien/ml	10.000.000 Kopien/ml

#### 11.4 Unsicherheit der Standardkurve

Der Unsicherheitswert der Standardkurve wurde durch Kombination der zufälligen Fehler (SD) aller Levelquantifizierungen und Multiplikation mit dem Abdeckungsfaktor  $k = 2$  (erweiterte kombinierte Unsicherheit) berechnet und beträgt 0,2181 log Kopien/Reaktion.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

**Tabelle 14 Unsicherheit der Standardkurve**

Standardkurven-Levels	Theoretisch	SD	Erweiterte kombinierte Unsicherheit
	Log Kopien/Reaktion		
HHV7 Q - PCR Standard 10 <sup>5</sup>	5,0000	0,0711	0,2181
HHV7 Q - PCR Standard 10 <sup>5</sup>	4,0000	0,0372	
HHV7 Q - PCR Standard 10 <sup>5</sup>	3,0000	0,0261	
HHV7 Q - PCR Standard 10 <sup>5</sup>	2,0000	0,0691	

#### 11.5 Wiederholpräzision

Zur Bewertung der Wiederholpräzision des Assays mit ELITE BeGenius und ELITE InGenius wurde ein Panel von in EDTA entnommenen Vollblutproben, die negativ oder mit HHV7 (ZeptoMetrix, Art.-Nr. PINATHHV7-ST) dotiert waren, analysiert.

Ein Beispiel für die Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs (an einem Tag) mit ELITE InGenius ist in der nachstehenden Tabelle aufgeführt.

**Tabelle 15**

Wiederholpräzision innerhalb des Laufs mit ELITE InGenius					
Probe	HHV7				% Übereinstimmung
	Pos. / Neg.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	
Negativ	0/8	n. z.	n. z.	n. z.	100 %
3 x LoD	8/8	32,97	0,38	1,14	100 %
10 x LoD	8/8	31,18	0,29	0,92	100 %

Ein Beispiel für die Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs (an einem Tag) mit ELITE BeGenius ist in der nachstehenden Tabelle aufgeführt.

**Tabelle 16**

Wiederholpräzision innerhalb des Laufs mit ELITE BeGenius					
Probe	HHV7				% Übereinstimmung
	Pos. / Neg.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	
Negativ	0/8	n. z.	n. z.	n. z.	100 %
3 x LoD	8/8	34,52	0,30	0,88	100 %
10 x LoD	8/8	32,36	0,22	0,69	100 %

Die Ergebnisse für die laufübergreifende Wiederholpräzision (an zwei Tagen) mit ELITE InGenius sind in der nachstehenden Tabelle aufgeführt.

**Tabelle 17**

Laufübergreifende Wiederholpräzision mit ELITE InGenius					
Probe	HHV7				% Übereinstimmung
	Pos. / Neg.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	
Negativ	0/16	n. z.	n. z.	n. z.	100 %
3 x LoD	16/16	33,07	0,36	1,09	100 %
10 x LoD	16/16	31,17	0,24	0,77	100 %

Die Ergebnisse für die laufübergreifende Wiederholpräzision (an zwei Tagen) mit ELITE BeGenius sind in der nachstehenden Tabelle aufgeführt.

**Tabelle 18**

Laufübergreifende Wiederholpräzision mit ELITE BeGenius					
Probe	HHV7				% Übereinstimmung
	Pos. / Neg.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	
Negativ	0/16	n. z.	n. z.	n. z.	100 %
3 x LoD	16/16	34,41	0,49	1,42	100 %
10 x LoD	16/16	32,34	0,30	0,92	100 %

Beim Test der Wiederholpräzision erkannte der HHV7 ELITE MGB Kit alle Proben wie erwartet und wies eine maximale Variabilität der Ct-Zielwerte als VK% gleich 1,42 % aus.

## 11.6 Vergleichspräzision

Zur Bewertung der Vergleichspräzision des Assays mit ELITE BeGenius und ELITE InGenius wurden in EDTA entnommene HHV7-DNA-negative Vollblutproben, die negativ oder mit HHV7 (ZeptoMetrix, Art.-Nr. PINATHHV7-ST) dotiert waren, analysiert.

Die Ergebnisse der chargenübergreifenden Vergleichspräzision (zwei Chargen) mit ELITE InGenius sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt.

**Tabelle 19**

Chargenübergreifende Vergleichspräzision mit ELITE InGenius					
Probe	HHV7				% Übereinstimmung
	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	
Negativ	0/8	-	-	-	100 %
3 x LoD	8/8	33,39	0,20	0,59	100 %
10 x LoD	8/8	31,39	0,18	0,57	100 %

Die Ergebnisse der chargenübergreifenden Vergleichspräzision (zwei Chargen) mit ELITE BeGenius sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt.

**Tabelle 20**

Chargenübergreifende Vergleichspräzision mit ELITE BeGenius					
Probe	HHV7				% Übereinstimmung
	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	
Negativ	0/8	-	-	-	100 %
3 x LoD	8/8	34,58	0,14	0,42	100 %
10 x LoD	8/8	32,66	0,24	0,75	100 %

Die Ergebnisse der geräteübergreifenden Vergleichspräzision (an zwei Tagen, mit zwei Chargen und zwei Geräten) mit ELITE InGenius sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt.

**Tabelle 21**

Geräteübergreifende Vergleichspräzision mit ELITE InGenius					
Probe	HHV7				% Übereinstimmung
	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	
Negativ	0/8	-	-	-	100 %
3 x LoD	8/8	34,50	0,31	0,90	100 %
10 x LoD	8/8	32,61	0,23	0,69	100 %

Die Ergebnisse der geräteübergreifenden Vergleichspräzision (an zwei Tagen, mit zwei Chargen und zwei Geräten) mit ELITE BeGenius sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt.

**Tabelle 22**

Geräteübergreifende Vergleichspräzision mit ELITE BeGenius					
Probe	HHV7				% Übereinstimmung
	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	
Negativ	0/8	-	-	-	100 %
3 x LoD	8/8	33,25	0,26	0,79	100 %
10 x LoD	8/8	31,26	0,21	0,66	100 %

Beim Test der Vergleichspräzision erkannte der HHV7 ELITE MGB Kit alle Proben wie erwartet und wies eine maximale Variabilität der Ct-Zielwerte als VK% gleich 0,90 % aus.

### 11.7 Diagnostische Spezifität: Bestätigung negativer Proben

Zur Bewertung der diagnostischen Spezifität des Assays als Bestätigung negativer Proben in Verbindung mit **ELITE InGenius** wurden klinische, in EDTA entnommene Vollblut- und Plasmaproben analysiert.

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

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

**Tabelle 23**

Proben	Anzahl	positiv	negativ	Diagnostische Spezifität in %
In EDTA entnommene Vollblutproben	38	0	38	100 %
In EDTA entnommene Plasmaproben	33	0	33	100 %

Alle Vollblut- und Plasmaproben waren für die Analyse gültig. Der Ct-Grenzwert für die HHV7-Zielsequenz wurde nur für Vollblutproben angewendet.

Die diagnostische Spezifität des HHV7 ELITE MGB Kits in Verbindung mit in EDTA entnommenem Vollblut und Plasma betrug 100 %.

Bei InGenius und BeGenius ist der Ct-Grenzwert für die IC bei in EDTA entnommenen Vollblut- und Plasmaproben auf 35 festgelegt.

### 11.8 Diagnostische Sensitivität: Bestätigung positiver Proben

Zur Bewertung der diagnostischen Sensitivität des Assays als Bestätigung positiver klinischer Proben in Verbindung mit **ELITE InGenius** wurden klinische, in EDTA entnommene Vollblut- und Plasmaproben analysiert.

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

Die diagnostische Sensitivität wurde anhand von HHV7-negativen Vollblut- und Plasmaproben bewertet, die in EDTA entnommen und mit „Human Herpes Virus Type 7 Stock -(NATHHV7-ST)“ (ZeptoMetrix Corporation) in einer Konzentration von 1000 Kopien/ml dotiert waren.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

**Tabelle 24**

Proben	Anzahl	positiv	negativ	Diagnostische Sensitivität in %
In EDTA entnommenes, HHV7-DNA-dotiertes Vollblut	34	34	0	100 %
In EDTA entnommenes, HHV7-DNA-dotiertes Plasma	33	33	0	100 %

Alle Proben wurden korrekt als positiv erkannt.

Die diagnostische Sensitivität des HHV7 ELITE MGB Kits in Verbindung mit in EDTA entnommenem Vollblut und Plasma betrug 100 %.

#### HINWEIS!

Die vollständigen Daten und Ergebnisse der Tests, die zur Bewertung der Leistungsmerkmale des Produkts mit Matrizes und Geräten durchgeführt wurden, sind in der technischen Produktdokumentation „HHV7 ELITE MGB Kit“, FTP037PLD, aufgeführt.

## 12 PROBEN UND KONTROLLEN BEI ANDEREN SYSTEMEN

### 12.1 Proben

Dieses Produkt darf ausschließlich mit aus folgenden klinischen Proben **extrahierter DNA** verwendet werden: in EDTA entnommenes Vollblut und Liquor.

## 12.2 In EDTA entnommenes Vollblut

Die Vollblutproben für die DNA-Extraktion müssen gemäß den Laborrichtlinien in EDTA entnommen und identifiziert werden. Außerdem dürfen sie maximal 24 Stunden bei Raumtemperatur (+16 bis +26 ° C) bzw. maximal drei Tage bei +2 bis +8° C transportiert und aufbewahrt werden; anderenfalls müssen sie tiefgefroren bei -20 °C für maximal dreißig Tage oder bei -70 °C für längere Zeit aufbewahrt werden.

Es wird empfohlen, die einzufrierenden Proben in Aliquote aufzuteilen, um wiederholten Gefrier- und Auftauzyklen vorzubeugen.

### HINWEIS!

Wenn Sie die DNA-Extraktion aus Vollblut mit dem Gerät **NucliSENS® easyMAG®** durchführen, folgen Sie bitte dem Extraktionsprotokoll **Generic 2.0.1** und befolgen Sie diese Anweisungen: Übertragen Sie **100 µl** Probe in den 8-Well-Streifen, laden Sie den Streifen auf das Gerät und führen Sie die Extraktion ohne Lyseinkubation aus. Nachdem das Gerät **NucliSENS® easyMAG® Lysis Buffer** hinzugefügt hat, den Streifen nicht herausnehmen und den Streifeninhalt dreimal mit der mitgelieferten Mehrkanalpipette unter Anwendung des Programms Nr. 3 mischen. 10 Minuten inkubieren, dann **5 µl CPE** für die Internal Control hinzufügen, anschließend mithilfe der Mehrkanalpipette das **NucliSENS® easyMAG® Magnetic Silica** unter Anwendung des Programms Nr. 3 zum Streifeninhalt hinzufügen und mit der Extraktion fortfahren. Die Nukleinsäuren in **50 µl** Elutionspuffer eluieren.

### HINWEIS!

Wenn Sie die DNA-Extraktion aus Vollblut mit dem Gerät **QIASymphony® SP/AS** und dem Kit **QIASymphony® DNA Mini kit** mit der **Softwareversion 3.5** durchführen, verwenden Sie das Extraktionsprotokoll **Virus Blood\_200\_V4\_default IC** und befolgen Sie diese Anweisungen: Das Gerät kann ein Primärrohrchen verwenden; für die Extraktion wird ein Probenvolumen von **200 µL** benötigt; es wird stets ein Totvolumen von mindestens 100 µl benötigt. Für jede angeforderte Probe **5 µl CPE** zum ATE-Puffer hinzufügen. Die Röhrchen mit der Lösung wie im Benutzerhandbuch des Kits angegeben in das Fach „Internal Control“ (interne Kontrolle) auf dem Gerät laden; die Position, an der Eluate dispensiert werden, sowie das Elutionsvolumen von **60 µl** angeben. Nähere Einzelheiten zum Extraktionsverfahren sind den Angaben im Benutzerhandbuch des Kits zu entnehmen.

## 12.3 Liquor

Die Liquorproben für die Nukleinsäureextraktion müssen unter Vermeidung einer Kontamination mit Patientenblut gemäß den Laborrichtlinien entnommen werden. Außerdem dürfen sie maximal vier Stunden bei +2 bis +8 °C transportiert und aufbewahrt werden; anderenfalls müssen sie tiefgefroren bei -20 °C für maximal dreißig Tage oder bei -70 °C für längere Zeit aufbewahrt werden.

Es wird empfohlen, die einzufrierenden Proben in Aliquote aufzuteilen, um wiederholten Gefrier- und Auftauzyklen vorzubeugen.

### HINWEIS!

Wenn Sie die DNA-Extraktion aus Liquorproben mit dem Gerät **NucliSENS® easyMAG®** durchführen, folgen Sie bitte dem Extraktionsprotokoll **Generic 2.0.1** und befolgen Sie diese Anweisungen: Übertragen Sie **500 µl** Probe in den 8-Well-Streifen und führen Sie die Extraktion aus. Nach der 10-minütigen Inkubation **5 µl CPE** für die Internal Control und anschließend das **NucliSENS® easyMAG® Magnetic Silica** hinzufügen und mit der Extraktion fortfahren. Die Nukleinsäuren in **100 µl** Elutionspuffer eluieren.

## 12.4 Störende Substanzen

Die aus der Probe extrahierte DNA darf kein Heparin, Hämoglobin, Dextran, Ficoll®, Ethanol oder 2-Propanol enthalten, um das Problem einer Inhibition und die Möglichkeit häufiger ungültiger Ergebnisse.

Eine große Menge humaner genomischer DNA in der aus der Probe extrahierten DNA kann die Amplifikationsreaktion hemmen.

Es liegen keine Daten zu einer Inhibition durch antivirale, antibiotische, chemotherapeutische oder immunsupprimierende Medikamente vor.

## 12.5 Amplifikationskontrollen

Jeder Amplifikationslauf muss unbedingt mit einer Negative Control-Reaktion und einer Positive Control-Reaktion validiert werden.

Für die Negative Control muss statt der aus der Probe extrahierten DNA hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht im Lieferumfang dieses Kits enthalten) zur Reaktion hinzugefügt werden.

Für die Positive Control das Produkt **HHV7 - ELITe Positive Control** oder das Produkt **HHV7 ELITe Standard** verwenden.

## 12.6 Qualitätskontrollen

Es wird empfohlen, das gesamte Analyseverfahren für jeden Extraktions- und Amplifikationslauf durch Verarbeiten einer negativ getesteten Probe und einer positiv getesteten Probe oder eines kalibrierten Referenzmaterials, zu validieren.

# 13 VERFAHREN BEI ANDEREN SYSTEMEN

## 13.1 Einrichten des Echtzeit-Amplifikationslaufs

(Im Bereich für die Amplifikation/Detektion von Amplifikationsprodukten durchzuführen)

Bei Verwendung des Geräts **7300 Real-Time PCR System**.

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

- Echtzeit-Thermocycler einschalten, Computer einschalten, dedizierte Software ausführen und einen Lauf für die „absolute Quantifizierung“ öffnen;
- im Detector Manager den Detektor („detector“) für die HHV7-Sonde so einrichten, dass „reporter“ (Reporter) = „FAM“ und „quencher“ (Quencher) = „none“ (nicht fluoreszierend) ist, und „HHV7“ nennen.
- im Detector Manager den Detektor („detector“) für die Sonde für die Internal Control so einrichten, dass „reporter“ (Reporter) = „VIC“ (AP525 ist analog zu VIC) und „quencher“ (Quencher) = „none“ (nicht fluoreszenzierend) ist, und „IC“ nennen.
- für jede in der Mikrotiterplatte verwendete Vertiefung im Well Inspector den Detektor („detector“) (zu messender Fluoreszenztyp) so einrichten, dass „passive reference“ (passive Referenz) = „ROX“ (AP593 wird statt ROX verwendet, Normalisierung der gemessenen Fluoreszenz) ist, und Reaktionstyp festlegen (Probe, negative Amplifikationskontrolle, positive Amplifikationskontrolle oder Standard bei bekannter Menge). Diese Informationen zum **Arbeitsblatt**

am Ende dieser Gebrauchsanweisung hinzufügen oder die Mikrotiterplatten-Einrichtung ausdrucken. Das **Arbeitsblatt** muss bei der Überführung des Reaktionsgemischs und der Proben in die Vertiefungen sorgfältig befolgt werden.

### HINWEIS!

Zum Bestimmen des DNA-Titers in der Ausgangsprobe eine Reaktionsreihe mit den **Q - PCR Standards** ( $10^5$  Kopien,  $10^4$  Kopien,  $10^3$  Kopien,  $10^2$  Kopien) ausführen, um die **Standardkurve** zu erhalten.

Nachfolgend ist beispielhaft aufgeführt, wie die quantitative Analyse von 12 Proben organisiert werden kann.



**Tabelle 27**

Dissoziation (optional)	95 °C	15 s
	40 °C	30 s
	80 °C	15 s

Bei Verwendung eines **7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument**.

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

- Echtzeit-Thermocycler einschalten, Computer einschalten, dedizierte Software ausführen, einen Lauf für die „absolute Quantifizierung“ öffnen und „Run mode: Fast 7500“ (Laufmodus: Fast 7500) einstellen.
- Im Detector Manager den Detektor („detector“) für die HHV7-Sonde so einrichten, dass „reporter“ (Reporter) = „FAM“ und „quencher“ (Quencher) = „none“ (nicht fluoreszierend) ist, und „HHV7“ nennen.
- Im Detector Manager den Detektor („detector“) für die Sonde für die interne Kontrolle so einrichten, dass „reporter“ (Reporter) = „VIC“ (AP525 ähnelt VIC) und „quencher“ (Quencher) = „none“ (nicht fluoreszenzierend) ist, und „IC“ nennen.
- Für jede in der Mikrotiterplatte verwendete Vertiefung im Well Inspector den Detektor („detector“) (zu messender Fluoreszenztyp) so einrichten, dass „passive reference“ (passive Referenz) = „Cy5“ (AP593 wird statt Cy5 verwendet, Normalisierung der gemessenen Fluoreszenz) ist, und Reaktionstyp festlegen (Probe, negative Amplifikationskontrolle, positive Amplifikationskontrolle oder Standard bei bekannter Menge). Diese Informationen zum **Arbeitsblatt** am Ende dieser Gebrauchsanweisung hinzufügen oder die Mikrotiterplatten-Einrichtung ausdrucken. Das **Arbeitsblatt** muss bei der Überführung des Reaktionsgemischs und der Proben in die Vertiefungen sorgfältig befolgt werden.

### HINWEIS!

Zum Bestimmen des DNA-Titers in der Ausgangsprobe eine Reaktionsreihe mit den **Q - PCR Standards** ( $10^5$  Kopien,  $10^4$  Kopien,  $10^3$  Kopien,  $10^2$  Kopien) ausführen, um die **Standardkurve** zu erhalten.

Ein Beispiel für einen Aufbau der quantitativen Analyse von 12 Proben ist im vorigen Abschnitt angegeben, der das Verfahren für das Gerät **7300 Real Time PCR System** beschreibt.

Gemäß der Gerätedokumentation in der dedizierten Software („Instrument > Thermal Cycler Protocol > Thermal Profile“ (Gerät > Thermocycler-Protokoll > Temperaturprofil)) die Parameter des **Temperaturzyklus** festlegen:

- Zur Amplifikationsphase den Schritt zur **Verlängerung bei 72 °C** hinzufügen („Add Step“ (Schritt hinzufügen)).
- 

### HINWEIS!

Die Fluoreszenzerfassung („Instrument > Thermal Cycler Protocol > Settings > Data Collection“ (Gerät > Thermocycler-Protokoll > Einstellungen > Datenerfassung)) muss während des Hybridisierungsschritts auf 60 °C eingestellt sein.

- Die Zeitsteuerung wie in der Tabelle „**Temperaturzyklus**“ angegeben ändern.
- Die Anzahl Zyklen auf **45** einstellen.
- Das Volumen für die Softwareemulation der Wärmeübertragung zur Reaktion („Sample volume“ (Probenvolumen)) auf **30 µl** einstellen.
- Optional: die Dissoziationsphase hinzufügen („Add Dissociation Stage“) und den Temperaturbereich von **40 °C** bis **80 °C** einstellen.

Tabelle 28

Temperaturzyklus		
Phase	Temperaturen	Zeitsteuerung
Dekontamination	50 °C	2 min.
Erste Denaturierung	94 °C	2 min.

Tabelle 29

Amplifikation und Detektion (45 Zyklen)	94 °C	10 s
	60 °C (Fluoreszenzenerfassung)	30 s
	72 °C	20 s

Tabelle 30

Dissoziation (optional)	95 °C	15 s
	40 °C	1 min.
	80 °C	15 s
	60 °C	15 s

### 13.2 Einrichten der Amplifikation

(Im Bereich für die Extraktion/Vorbereitung der Amplifikationsreaktionen durchzuführen)

Vor Beginn des Laufs muss Folgendes durchgeführt werden:

- die Röhrcchen mit den zu analysierenden Proben auftauen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrcchen auf Eis lagern;
  - Die für den Lauf benötigten **HHV7 Q - PCR Mix**-Röhrcchen auftauen und beachten, dass jedes Röhrcchen für die Vorbereitung von **25 Reaktionen** ausreicht. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrcchen auf Eis lagern;
  - die **HHV7 - Positive Control** oder die **HHV7 Q - PCR Standard**-Röhrcchen auftauen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrcchen auf Eis lagern;
  - die während des Laufs verwendete **Amplifikations-Mikrotiterplatte** zur Hand nehmen; dabei puderfreie Handschuhe tragen und darauf achten, dass die Vertiefungen nicht beschädigt werden.
  - die während des Laufs verwendete **Amplifikations-Dichtungsfolie** zur Hand nehmen; dabei puderfreie Handschuhe tragen und die Folie nicht beschädigen.
1. **20 µl HHV7 Q - PCR Mix** präzise auf den Boden der Vertiefungen in der **Amplifikations-Mikrotiterplatte** pipettieren, wie zuvor im **Arbeitsblatt** festgelegt. Bläschenbildung vermeiden.

#### HINWEIS!

Wenn das Reaktionsgemisch nicht vollständig aufgebraucht wird, das Restvolumen maximal einen Monat bei -20 °C dunkel aufbewahren. Das Reaktionsgemisch maximal **5** Gefrier- und Auftauzyklen unterziehen.

2. **10 µl DNA-Extrakt** aus der ersten Probe präzise in die entsprechende Vertiefung der **Amplifikations-Mikrotiterplatte** mit dem Reaktionsgemisch pipettieren, wie zuvor im **Arbeitsblatt** festgelegt. Die Probe gut mischen, dazu die **extrahierte DNA** dreimal in das Reaktionsgemisch pipettieren. Bläschenbildung vermeiden. Mit den übrigen Proben extrahierter DNA auf die gleiche Weise verfahren.
3. 10 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht im Lieferumfang dieses Produkts enthalten) präzise in die Vertiefung der Amplifikations-Mikrotiterplatte der Negative Control der Amplifikation mit dem Reaktionsgemisch pipettieren, wie zuvor im **Arbeitsblatt** festgelegt. Die Negative Control gut mischen, dazu

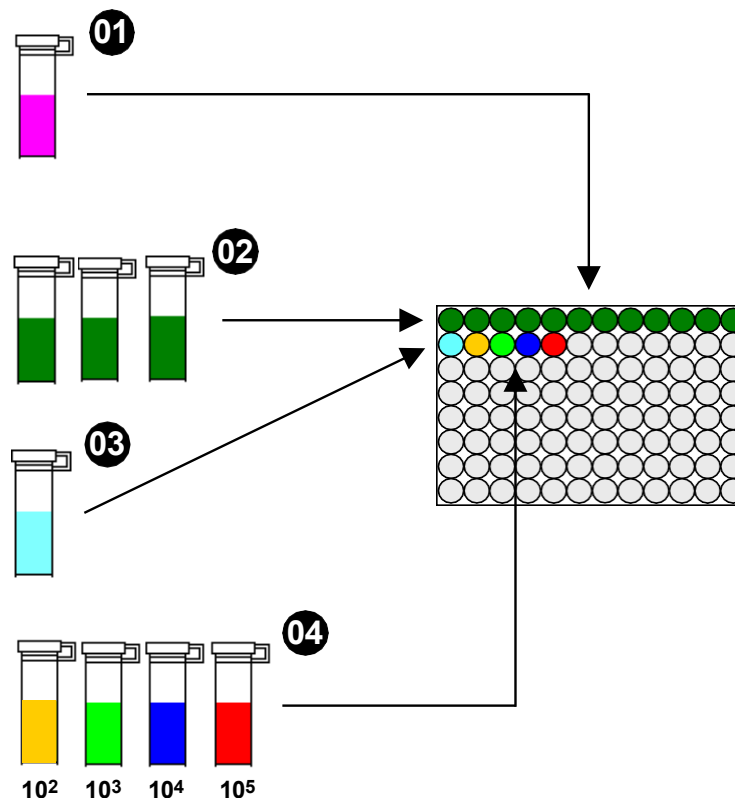
das hochreine Wasser für die Molekularbiologie dreimal in das Reaktionsgemisch pipettieren. Bläschenbildung vermeiden.

4. Je nach benötigtem Ergebnis (qualitativ oder quantitativ) muss eine dieser beiden Optionen befolgt werden:
  - Wenn ein **qualitatives** Ergebnis benötigt wird (Nachweis von HHV7-DNA): **10 µl HHV7 - Positive Control** präzise in die entsprechende Vertiefung der **Amplifikations-Mikrotiterplatte** mit dem Reaktionsgemisch pipettieren, wie zuvor im **Arbeitsblatt** festgelegt. Die Positive Control gut mischen, dazu das Volumen von 10 µl dreimal in das Reaktionsgemisch pipettieren. Bläschenbildung vermeiden.
  - Wenn ein **quantitatives** Ergebnis benötigt wird (Quantifizierung von HHV7-DNA): **10 µl HHV7 Q - PCR Standard 102** präzise in die entsprechende Vertiefung der Amplifikations-Mikrotiterplatte mit dem Reaktionsgemisch pipettieren, wie zuvor im **Arbeitsblatt** festgelegt. Den Standard gut mischen, dazu das Volumen von 10 µl dreimal in das Reaktionsgemisch pipettieren. Bläschenbildung vermeiden. Mit den **HHV7 Q - PCR Standards 10<sup>3</sup>, 10<sup>4</sup>, 10<sup>5</sup>** auf die gleiche Weise verfahren.
5. Die **Amplifikations-Mikrotiterplatte** mit der **Amplifikations-Dichtungsfolie** dicht verschließen.
6. Die **Amplifikations-Mikrotiterplatte** in den Echtzeit-Thermocycler im Bereich für die Amplifikation/Detektion von Amplifikationsprodukten transferieren und den Temperaturzyklus für die Amplifikation starten; dabei die Laufeinstellung mit einem eindeutigen und wiedererkennbaren Dateinamen (z. B. „Jahr-Monat-Tag-HHV7-ELITECHGROUP“) speichern.

### HINWEIS!

Am Ende des Temperaturzyklus muss die **Amplifikations-Mikrotiterplatte** mit den Reaktionsprodukten aus dem Gerät entfernt und ohne Kontamination der Umwelt beseitigt werden. Um ein Verschütten der Reaktionsprodukte zu vermeiden, **darf die Amplifikations-Dichtungsfolie nicht von der Amplifikations-Mikrotiterplatte entfernt werden.**

In der folgenden Abbildung ist die Vorbereitung der Amplifikationsreaktion zusammengefasst dargestellt.



1. **20 µl Q-PCR Mix** hinzufügen.
2. **10 µl extrahierte DNA** hinzufügen
3. **10 µl Negative Control** hinzufügen
4. **10 µl Positive Control oder Q-PCR Standard** hinzufügen

**HINWEIS!**

Wenn die Amplifikation mit dem Gerät **QIASymphony® SP/AS** vorbereitet wird, die Mikrotiterplatte, welche die Extrakte, die Reagenzien und die Amplifikations-Mikrotiterplatte enthält, mithilfe der Spezialadapter in die dafür vorgesehenen Fächer einsetzen, anschließend die Angaben in der Gebrauchsanweisung des Einrichtmoduls und die von der Software geforderten Schritte befolgen.

**13.3 Qualitative Analyse der Ergebnisse**

Die aufgezeichneten Werte der von der spezifischen HHV7-Sonde (FAM-Detektor „HHV7“) und der spezifischen Sonde für die Internal Control (VIC-Detektor „IC“) in den Amplifikationsreaktionen ausgesendeten Fluoreszenz müssen von der Gerätesoftware analysiert werden.

Vor Beginn der Analyse gemäß der Gerätedokumentation muss Folgendes durchgeführt werden:

- manuell („Results > Amplification plot > delta Rn vs Cycle“ (Ergebnisse > Amplifikationsdarstellung > Delta Rn vs. Zyklus)) den Berechnungsbereich für die **Grundlinie** (Fluoreszenz-Hintergrundniveau) von Zyklus 6 auf Zyklus 15 ändern;

**HINWEIS!**

Bei einer positiven Probe mit einem hohen HHV7-DNA-Titer kann die FAM-Fluoreszenz der HHV7-spezifischen Sonde bereits vor dem Zyklus 15 beginnen anzusteigen. In diesem Fall muss der Berechnungsbereich für die **Grundlinie** vom Zyklus 6 auf den von der Gerätesoftware („Results > Component“ (Ergebnisse > Komponente)) erkannten Zyklus, bei dem die FAM-Fluoreszenz der Probe anzusteigen beginnt, angepasst werden.

Bei Verwendung des Geräts **7300 Real-Time PCR System**:

- manuell den **Schwellenwert** („Threshold“) für den FAM-Detektor „HHV7“ auf **0,1** einstellen;
- manuell den **Schwellenwert** („Threshold“) für den VIC-Detektor „IC“ auf **0,05** einstellen.

Bei Verwendung eines **7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument**:

- manuell den **Schwellenwert** („Threshold“) für den FAM-Detektor „HHV7“ auf **0,2** einstellen;
- manuell den **Schwellenwert** („Threshold“) für den VIC-Detektor „IC“ auf **0,1** einstellen.

Die Werte der von den spezifischen Sonden in der Amplifikationsreaktion ausgesendeten Fluoreszenz und der **Schwellenwert** („Threshold“) der Fluoreszenz ermöglichen die Bestimmung des **Schwellenwertzyklus** („Threshold cycle (Ct)“), d. h. des Zyklus, in dem die Fluoreszenz den **Schwellenwert** erreicht.

In der Amplifikationsreaktion der **Positive Control\*** dient der **Ct-Wert** von HHV7 („Results > Report“ (Ergebnisse > Bericht)) der Validierung der Amplifikation und des Nachweises, wie in der folgenden Tabelle dargestellt:

**Tabelle 31**

Reaktion der Positive Control FAM-Detektor „HHV7“	Assayergebnis	Amplifikation/Detektion
Ct ≤ 25	POSITIV	KORREKT

Wenn das Ergebnis der Amplifikationsreaktion der **Positive Control** bei HHV7 **Ct > 25** oder **Ct Undetermined** (Ct unbestimmt) ist, wurde die Ziel-DNA nicht korrekt nachgewiesen. Das heißt, dass während des Amplifikations- oder des Detektionsschritts Probleme aufgetreten sind (falsche Dispensierung des Reaktionsgemischs oder der Positive Control, Abbau des Reaktionsgemischs oder der Positive Control, falsche Einstellung der Position der Positive Control, falsche Einstellung des Temperaturzyklus), die zu falschen Ergebnissen führen können. Der Lauf ist ungültig und muss ab dem Amplifikationsschritt wiederholt werden.

**HINWEIS!**

Wenn dieses Produkt zur Quantifizierung von HHV7-DNA verwendet wird, wurden statt der Reaktionen der **Positive Control** die **Q - PCR Standard** Reaktionen ausgeführt. In diesem Fall die Amplifikation und den Nachweis validieren, hierzu die Amplifikationsreaktion von **Q - PCR Standard 10<sup>5</sup> (Ct ≤ 25)** beachten.

In der Amplifikationsreaktion der **Negative Control** dient der **Ct-Wert** von HHV7 („Results > Report“ (Ergebnisse > Bericht)) der Validierung der Amplifikation und des Nachweises, wie in der folgenden Tabelle dargestellt:

**Tabelle 32**

Reaktion der Negative Control FAM-Detektor „HHV7“	Assayergebnis	Amplifikation/Detektion
Ct Undetermined (Ct unbestimmt)	NEGATIV	KORREKT

Weicht das Ergebnis der Amplifikationsreaktion für die **Negativkontrolle** bei HHV7 von „**Undetermined**“ (**Ct unbestimmt**) ab, wurde die Ziel-DNA nachgewiesen. Das heißt, dass während des Amplifikationsschritts Probleme aufgetreten sind (Kontamination), die zu falschen und falsch-positiven Ergebnissen führen können. Der Lauf ist ungültig und muss ab dem Amplifikationsschritt wiederholt werden.

In der Amplifikationsreaktion jeder **Probe** dient der **Ct-Wert** von HHV7 zum Nachweis der Ziel-DNA, während der **Ct-Wert** der Internal Control zur Validierung von Extraktion, Amplifikation und Detektion verwendet wird.

### HINWEIS!

Überprüfen Sie mithilfe der Gerätesoftware („Results > Amplification plot > delta Rn vs Cycle“ (Ergebnisse > Amplifikationsdarstellung > Delta Rn vs. Zyklus)), dass der **Ct-Wert** anhand eines schnellen und regelmäßigen Anstiegs der Fluoreszenzwerte und nicht anhand von Spitzen oder eines Anstiegs des Hintergrunds (unregelmäßiger oder hoher Hintergrund) ermittelt wurde.

Dieses Produkt ist in der Lage, eine Mindestmenge von zirka 10 Kopien von DNA für die Region eines Kapsidproteingens (U57) von HHV7 in der Amplifikationsreaktion nachzuweisen, die den Genomäquivalenten pro Reaktion entspricht (Nachweisgrenze für das Produkt, siehe Abschnitt [11 LEISTUNGSMERKMALE BEI ELITE InGenius und ELITE BeGenius page 24](#)).

Die Ergebnisse als **Ct** der Amplifikationsreaktionen jeder **Probe** („Results > Report“ (Ergebnisse > Bericht)) werden wie in der folgenden Tabelle beschrieben verwendet:

**Tabelle 33**

Probenreaktion		Eignung der Probe	Assayergebnis	HHV7-DNA
FAM-Detektor „HHV7“	VIC-Detektor „IC“			
Ct Undetermined (Ct unbestimmt)	Ct > 35 oder Ct Undetermined (Ct unbestimmt)	ungeeignet	ungültig	-
	Ct ≤ 35	geeignet	gültig, negativ	NICHT ERKANNT
Ct Determined (Ct bestimmt)	Ct > 35 oder Ct Undetermined (Ct unbestimmt)	geeignet	gültig, positiv	ERKANNT
	Ct ≤ 35	geeignet	gültig, positiv	ERKANNT

Ist das Ergebnis der Amplifikationsreaktion einer Probe **Ct Undetermined** (Ct unbestimmt) bei HHV7 und **Ct > 35** oder **Ct Undetermined** bei der internen Kontrolle, bedeutet dies, dass es nicht möglich war, die DNA für die Internal Control effizient nachzuweisen. In diesem Fall sind während des Amplifikationsschritts (ineffiziente oder nicht vorhandene Amplifikation) oder während des Extraktionsschritts (Abbau von Internal Control-DNA, Probe mit zu niedriger Zellzahl, Verlust von DNA während der Extraktion oder Vorhandensein von Inhibitoren in der extrahierten DNA) Probleme aufgetreten, die zu falschen und falsch-negativen Ergebnissen führen können. Die Probe ist ungeeignet, der Assay ist ungültig und muss ab der Extraktion einer neuen Probe wiederholt werden.

Ist das Ergebnis der Amplifikationsreaktion einer Probe **Ct Undetermined** (Ct unbestimmt) bei HHV7 und **Ct ≤ 35** bei der Internal Control, bedeutet dies, dass die HHV7-DNA in der aus der Probe extrahierten DNA nicht nachgewiesen wurde; es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass der Titer der HHV7-DNA unter der Nachweisgrenze des Produkts (siehe [11 LEISTUNGSMERKMALE BEI ELITE InGenius](#) und [ELITE BeGenius page 24](#)) liegt. In diesem Fall kann das Ergebnis falsch-negativ sein.

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

### HINWEIS!

Wird in der Amplifikationsreaktion einer Probe die HHV7-DNA nachgewiesen, kann das Ergebnis der Internal Control „Ct > 35“ oder „Ct Undetermined“ (Ct unbestimmt) sein. So kann die wenig effiziente Amplifikationsreaktion bei der Internal Control durch den Wettbewerb mit der hocheffizienten Amplifikationsreaktion bei HHV7-DNA verdrängt werden. In diesem Fall ist die Probe dennoch geeignet und das positive Ergebnis des Assays gültig.

## 13.4 Quantitative Analyse der Ergebnisse

Nach Durchführung des Verfahrens für die qualitative Analyse der Ergebnisse kann die quantitative Analyse der Ergebnisse der positiven Proben durchgeführt werden.

Die HHV7-Ct-Werte dienen bei den Amplifikationsreaktionen der vier **Q - PCR Standards** zur Berechnung der **Standardkurve** („Results > Standard Curve“ (Ergebnisse > Standardkurve)) für den Amplifikationslauf, um die Amplifikation und Detektion wie in der folgenden Tabelle dargestellt validieren zu können:

**Tabelle 34**

Standardkurve FAM-Detektor „HHV7“	Akzeptanzbereich	Amplifikation/Detektion
Korrelationskoeffizient (R2)	$0,990 \leq R2 \leq 1,000$	KORREKT

Wenn der Wert des **Korrelationskoeffizienten (R2)** außerhalb der Bereichsgrenzen liegt, heißt dies, dass während des Amplifikations- oder des Detektionsschritts Probleme aufgetreten sind (falsche Dispensierung des Reaktionsgemischs oder der Standards, Abbau des Reaktionsgemischs oder der Standards, falsche Einstellung der Position der Standards, falsche Einstellung des Temperaturzyklus), die zu falschen Ergebnissen führen können. Der Lauf ist ungültig und muss ab dem Amplifikationsschritt wiederholt werden.

Die HHV7-Ct-Werte in der Amplifikationsreaktion der einzelnen **Proben** und die **Standardkurve** des Amplifikationslaufs dienen dazu, die **Menge** der in den Amplifikationsreaktionen der Proben vorhandenen Ziel-DNA zu berechnen.

Dieses Produkt ist in der Lage, zwischen 1.000.000 und 10 Kopien von DNA für die Region eines Kapsidproteingens (U57) von HHV7 in der Amplifikationsreaktion zu quantifizieren, was den Genomäquivalenten pro Reaktion entspricht (linearer Messbereich, siehe Abschnitt „Leistungsmerkmale“), wie in der folgenden Tabelle beschrieben:

**Tabelle 35**

Probenergebnis FAM-Detektor „HHV7“	HHV7-Genomäquivalente pro Reaktion
Menge > $1 \times 10^6$	MEHR ALS 1.000.000
$1 \times 10^1 \leq \text{Menge} \leq 1 \times 10^6$	= Menge
Menge < $1 \times 10^1$	WENIGER ALS 10

Die Ergebnisse (**Menge**) jeder **Probe** („Results > Report“ (Ergebnisse > Bericht)) dienen zur Berechnung der Genomäquivalente (**gEq**) von HHV7, die in der bei der Extraktion verwendeten Probe vorhanden sind (**Nc**), gemäß dieser Formel:

**Tabelle 36**

$Nc \text{ (gEq/ml)} = \frac{Ve \times \text{Menge}}{Vc \times Va \times Ep}$
---

Dabei ist:

**Vc** die Menge der bei der Extraktion verwendeten Probe im Verhältnis zur gewünschten Maßeinheit;

**Ep** die Effizienz des Verfahrens, der Extraktion und der Amplifikation, **ausgedrückt als Dezimalzahl**;

**Ve** das Gesamtvolumen des extrahierten Produkts **ausgedrückt in µl**;

**Va** das Volumen des in der Amplifikationsreaktion verwendeten Extraktionsprodukts **ausgedrückt in µl**.

**Menge** ist das Ergebnis der Amplifikationsreaktion der Probe **ausgedrückt in gEq pro Reaktion**.

Wird das Extraktionssystem **NucliSENS® easyMAG®** zusammen mit in EDTA entnommenen Vollblutproben verwendet und das Ergebnis **in gEq/ml** benötigt, ändert sich die Formel wie folgt:

**Tabelle 37**

<b>Vereinfachte Formel für Vollblut und NucliSENS® easyMAG®</b>
$Nc \text{ (gEq/ml)} = 100 \times \text{Menge}$

Wird das Extraktionssystem **NucliSENS® easyMAG®** mit Liquorproben verwendet und das Ergebnis **in gEq/ml** benötigt, ändert sich die Formel wie folgt:

**Tabelle 38**

<b>Vereinfachte Formel für Liquor und NucliSENS® easyMAG®</b>
$Nc \text{ (gEq/ml)} = 20 \times \text{Menge}$

Wird das Extraktionssystem **QIASymphony® SP/AS** zusammen mit in EDTA entnommenen Vollblutproben verwendet und muss das Ergebnis **in gEq/ml ausgegeben** werden, ändert sich die Formel wie folgt:

**Tabelle 39**

<b>Vereinfachte Formel für Vollblut und QIASymphony® SP/AS</b>
$Nc \text{ (gEq/ml)} = 45 \times \text{Menge}$

### 13.5 Berechnung der Grenzen des linearen Messbereichs

Bei Verwendung einer bestimmten Extraktionsmethode können die Grenzen des linearen Messbereichs als gEq/ml anhand des linearen Messbereichs der Amplifikationsreaktion gemäß der folgenden Formel berechnet werden:

**Tabelle 40**

$\text{Untere Grenze (gEq/ml)} = \frac{Ve \times 10 \text{ gEq}}{Vc \times Va \times Ep}$
---

**Tabelle 41**

$\text{Obere Grenze (gEq/ml)} = \frac{\text{Ve} \times 1.000.000 \text{ gEq}}{\text{Vc} \times \text{Va} \times \text{Ep}}$
---

Wird das Extraktionssystem **NucliSENS® easyMAG®** zusammen mit in EDTA entnommenen Vollblutproben verwendet, ändert sich die Formel wie folgt:

**Tabelle 42**

<b>Grenzen des linearen Messbereichs (gEq/ml) bei NucliSENS® easyMAG®</b>
Untere Grenze (gEq/ml) = 100 x 10 gEq Obere Grenze (gEq/ml) = 100 x 1.000.000 gEq
von 1000 bis 100.000.000 gEq/ml

Wird das Extraktionssystem **NucliSENS® easyMAG®** zusammen mit Liquor verwendet, ändert sich die Formel wie folgt:

**Tabelle 43**

<b>Grenzen des linearen Messbereichs (gEq/ml) bei NucliSENS® easyMAG®</b>
Untere Grenze (gEq/ml) = 20 x 10 gEq Obere Grenze (gEq/ml) = 20 x 1.000.000 gEq
von 200 bis 20.000.000 gEq/ml

Wird das Extraktionssystem **QIASymphony® SP/AS** zusammen mit in EDTA entnommenen Vollblutproben verwendet, ändert sich die Formel wie folgt:

**Tabelle 44**

<b>Grenzen des linearen Messbereichs (gEq/ml) bei QIASymphony® SP/AS</b>
Untere Grenze (gEq/ml) = 45 x 10 gEq Obere Grenze (gEq/ml) = 45 x 1.000.000 gEq
von 450 bis 45.000.000 gEq/ml

## 14 LEISTUNGSMERKMALE BEI ANDEREN SYSTEMEN

### 14.1 Analytische Sensitivität: Nachweisgrenze

Die analytische Sensitivität dieses Assays ermöglicht den Nachweis von zirka 10 Ziel-DNA-Molekülen in 10 µl DNA, die der Amplifikationsreaktion hinzugefügt wurden.

Die analytische Sensitivität dieses Assays als dessen Nachweisgrenze wurde mithilfe von Plasmid-DNA getestet. Diese enthielt das Amplifikationsprodukt, dessen Ausgangskonzentration mit einem Spektrophotometer gemessen wurde. Die Plasmid-DNA wurde auf einen Titer von 10 Kopien/10 µl mit IC-DNA, verdünnt auf einen Titer von 20.000 Kopien/10 µl, in einer humanen genomischen DNA mit einem Titer von 500 ng/10 µl verdünnt. Diese Probe wurde in 50 Wiederholungen getestet. Dabei wurde die Amplifikation mit Produkten der ELITechGroup S.p.A. durchgeführt.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

**Tabelle 45**

Proben	Anz.	positiv	negativ
10 Kopien Plasmid-DNA + 20.000 Kopien IC-DNA + 500 ng humane genomische DNA	50	50	0

#### 14.2 Analytische Sensitivität: linearer Messbereich

Die analytische Sensitivität dieses Assays ermöglicht die Quantifizierung von 1.000.000 bis 10 Ziel-DNA-Molekülen in den 10 µl DNA, die der Amplifikationsreaktion hinzugefügt wurden.

Die analytische Sensitivität dieses Assays wurde mithilfe einer Verdünnungsreihe (1 log<sub>10</sub>-Verdünnungsschritte) einer Plasmid-DNA ermittelt. Diese enthielt das Amplifikationsprodukt, dessen Ausgangskonzentration mit einem Spektrophotometer gemessen wurde. Die Verdünnungen von 10<sup>7</sup> Molekülen pro Reaktion bis 10<sup>1</sup> Molekülen pro Reaktion wurden in 9 Wiederholungen getestet. Dabei wurde die Amplifikation mit den Produkten der ELITechGroup S.p.A. durchgeführt.

Die Analyse der erhaltenen Daten mittels linearer Regression ergab, dass der Assay bei allen Verdünnungen eine lineare Reaktion aufweist (Quadrat des Korrelationskoeffizienten über 0,99).

Die obere Grenze des linearen Messbereichs lag bei 10<sup>6</sup> Molekülen pro Reaktion, was den Genomäquivalenten pro Reaktion entspricht, innerhalb von 1 Logarithmus ab der höchsten Konzentration des Q - PCR Standard Amplifikationsstandards (10<sup>5</sup> Moleküle/10 µl).

Die untere Grenze des linearen Messbereichs wurde auf 10 Moleküle pro Reaktion festgelegt, was den Genomäquivalenten pro Reaktion entspricht, innerhalb 1 Logarithmus ab der niedrigsten Konzentration des Q - PCR Standard Amplifikationsstandards (10<sup>2</sup> Moleküle/10 µl).

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

**Tabelle 46**

Linearer Messbereich (gEq/Reaktion)	
Obere Grenze	1.000.000 DNA gEq/Reaktion
Untere Grenze	10 DNA gEq/Reaktion

Die linearen Messbereichsgrenzen in **gEq/ml** in Bezug auf das verwendete Extraktionskit sind auf Seite 26 berechnet.

#### 14.3 Analytische Sensitivität: Präzision und Genauigkeit

Die Präzision des Assays als die Variabilität der Ergebnisse, die mit mehreren Replikaten einer innerhalb ein und desselben Laufs getesteten Probe erhalten wurde, ergab einen mittleren prozentualen Variationskoeffizienten (VK %) von zirka 25,9 % der gemessenen Mengen innerhalb des Bereichs von 10<sup>6</sup> Molekülen bis 10<sup>1</sup> Molekülen in den 10 µl DNA, die der Amplifikationsreaktion hinzugefügt wurden.

Die Genauigkeit des Assays als die Differenz zwischen dem mit mehreren Replikaten einer innerhalb ein und desselben Laufs getesteten Probe erhaltenen Mittelwert der Ergebnisse und der theoretischen Konzentration der Probe ergab eine mittlere prozentuale Ungenauigkeit (% Ungenauigkeit) von zirka 9,0 % der gemessenen Mengen innerhalb des Bereichs von 10<sup>6</sup> Molekülen bis 10 Molekülen in den 10 µl DNA, die der Amplifikationsreaktion hinzugefügt wurden.

Die Präzision und die Genauigkeit wurden anhand von für die Untersuchung des linearen Messbereichs gewonnenen Daten berechnet.

#### 14.4 Analytische Sensitivität: Nachweis- und Quantifizierungseffizienz bei verschiedenen Genotypen/Subtypen

Die analytische Sensitivität des Assays als die Nachweis- und Quantifizierungseffizienz bei verschiedenen Genotypen/Subtypen wurde durch den Vergleich von Sequenzen mit Nukleotid-Datenbanken bewertet.

Die Analyse der für die Hybridisierung der Primer und des Fluoreszenzmarkers ausgewählten Regionen in der Anordnung der in der Datenbank für das **U57**-Gen von HHV7 verfügbaren Sequenzen ergab eine Erhaltung und ein Nichtvorhandensein von signifikanten Mutationen.

#### 14.5 Diagnostische Sensitivität: Bestätigung positiver Proben

Die diagnostische Sensitivität des Assays als die Bestätigung positiver klinischer Proben wurde durch Analyse einiger HHV7-DNA-positiver Proben bewertet.

Für die Bewertung der diagnostischen Sensitivität wurden 23 negative, in EDTA entnommene Vollblutproben (getestet mit einem CE-IVD-Produkt für die verschachtelte [„nested“] Amplifikation) bewertet, die mit der zertifizierten Referenzprobe „HHV7 Culture Fluid“ (Art.-Nr. 0810071CF, ZeptoMetrix, USA) auf das Dreifache der Nachweisgrenze für HHV7-DNA dotiert waren. Für die Testung jeder Probe wurde das gesamte Analyseverfahren, die Extraktion und Amplifikation, mit Produkten der ELITechGroup S.p.A. durchgeführt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

**Tabelle 47**

Proben	Anzahl	positiv	negativ
In EDTA entnommenes, HHV7-DNA-dotiertes Vollblut	23	23	0

Die diagnostische Sensitivität des Assays betrug bei diesem Test 100 %.

Für die Bewertung der diagnostischen Sensitivität wurden 25 HHV7-DNA-negative Liquorproben (getestet mit einem CE-IVD-Produkt für die verschachtelte [„nested“] Amplifikation) bewertet, die mit der zertifizierten Referenzprobe „HHV7 Culture Fluid“ (Art.-Nr. 0810071CF, ZeptoMetrix, USA) auf das Dreifache der Nachweisgrenze für HHV7-DNA dotiert waren. Für die Testung jeder Probe wurde das gesamte Analyseverfahren durchgeführt: die Extraktion mit dem automatischen System NucliSENS® easyMAG® und die Amplifikation mit Produkten der ELITechGroup S.p.A.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

**Tabelle 48**

Proben	Anzahl	positiv	negativ
Mit HHV7-DNA dotierter Liquor	25	25	0

Die diagnostische Sensitivität des Assays betrug bei diesem Test 100 %.

#### 14.6 Analytische Spezifität: Abwesenheit von Kreuzreaktivität mit potenziell interferierenden Markern

Die analytische Spezifität des Assays als die Abwesenheit von Kreuzreaktivität mit anderen potenziell interferierenden Markern wurde durch den Vergleich von Sequenzen mit Nukleotid-Datenbanken bewertet.

Die Analyse der Anordnung der Sequenzen der Primer und des Fluoreszenzmarkers mit den in Datenbanken für andere Organismen als HHV7, darunter das komplette CMV-, EBV- und HHV6-Genom, verfügbaren Sequenzen ergab, dass die humanen Viren, die HHV7 am meisten ähneln, deren Spezifität und die Abwesenheit einer signifikanten Homologie aufzeigte.

Die analytische Spezifität des Assays als die Abwesenheit von Kreuzreaktivität mit anderen potenziell interferierenden Markern wurde anhand einiger negativ auf HHV7-DNA, jedoch positiv auf andere Pathogene getesteter klinischer Proben verifiziert.

Für die Verifizierung der analytischen Spezifität wurden als Referenzmaterial 12 in EDTA entnommene Vollblutproben, die negativ auf HHV7-DNA (getestet mit einem CE-IVD-Produkt für die verschachtelte [„nested“] Amplifikation), jedoch positiv auf die DNA anderer Erreger (CMV, EBV und HHV6) getestet worden waren, verwendet. Für die Testung jeder Probe wurde das gesamte Analyseverfahren, die Extraktion und Amplifikation, mit Produkten der ELITechGroup S.p.A. durchgeführt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

**Tabelle 49**

Proben	Anzahl	positiv	negativ
In EDTA entnommenes, CMV-positives Vollblut	4	0	4
In EDTA entnommenes, EBV-positives Vollblut	6	0	6
In EDTA entnommenes, HHV6-positives Vollblut	1	0	1
In EDTA entnommenes, HHV6- und EBV-positives Vollblut	1	0	1

#### 14.7 Diagnostische Spezifität: Bestätigung negativer Proben

Die diagnostische Spezifität des Assays als die Bestätigung negativer Proben wurde durch Analyse einiger HHV7-DNA-negativer klinischer Proben bewertet.

Für die Bewertung der diagnostischen Spezifität wurden als Referenzmaterial 23 in EDTA entnommene Vollblutproben, die HHV7-DNA-negativ waren (getestet mit einem CE-IVD-Produkt für die verschachtelte („nested“) Amplifikation), verwendet. Für die Testung jeder Probe wurde das gesamte Analyseverfahren, die Extraktion und Amplifikation, mit Produkten der ELITechGroup S.p.A. durchgeführt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

**Tabelle 50**

Proben	Anzahl	positiv	negativ
In EDTA entnommenes, HHV7-DNA-negatives Vollblut	23	0	23

Die diagnostische Spezifität des Assays betrug bei diesem Test 100 %.

Für die Bewertung der diagnostischen Spezifität wurden als Referenzmaterial 26 Liquorproben, die HHV7-DNA-negativ waren (getestet mit einem CE-IVD-Produkt für die verschachtelte („nested“) Amplifikation), verwendet. Für die Testung jeder Probe wurde das gesamte Analyseverfahren durchgeführt: die Extraktion mit dem automatischen System NucliSENS® easyMAG® und die Amplifikation mit Produkten der ELITechGroup S.p.A.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

**Tabelle 51**

Proben	Anzahl	positiv	negativ
HHV7-DNA-negativer Liquor	26	1	25

Eine Probe ergab ein abweichend positives Ergebnis für die HHV7-DNA, mit einem Titer von weniger als 1 Kopie/Reaktion. Diese Abweichung lässt sich dadurch erklären, dass Proben mit derart niedrigen Titern abwechselnd und zufällig positive und negative Ergebnisse liefern können.

Die diagnostische Spezifität des Assays betrug bei diesem Test 96,1 %.

### HINWEIS!

Die vollständigen Daten und Ergebnisse der Tests, die zur Bewertung der Leistungsmerkmale des Produkts mit Matrices und Geräten durchgeführt wurden, sind in der technischen Produktdokumentation „HHV7 ELITe MGB Kit®Kit“, FTP RTS037PLD, aufgeführt.

## 15 REFERENZEN

F. Drago et al. (1997) Lancet 349: 1367 - 1368 (allegato n° 1, 2 pagine);

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

Michael Kidd et al. (1996) The Journal of Infectious Diseases 174: 396-401

## 16 GRENZEN DES VERFAHRENS

Dieses Produkt darf nur mit den folgenden klinischen Proben verwendet werden: Vollblut, in EDTA entnommenes Plasma und Liquor.

Derzeit liegen keine Daten zur Produktleistung mit anderen klinischen Proben vor.

In EDTA entnommenes Plasma muss aus Vollblut gewonnen werden, das bei Raumtemperatur oder bei +2 bis +8 °C nicht länger als 24 Stunden gelagert wurde.

Keine aus heparinisierten Proben extrahierte DNA zusammen mit diesem Produkt verwenden: Heparin hemmt die Amplifikationsreaktion von Nukleinsäuren und führt zu ungültigen Ergebnissen.

Keine mit Hämoglobin, Dextran, Ficoll®, Ethanol oder 2-Propanol kontaminierte extrahierte DNA zusammen mit diesem Produkt verwenden: Diese Stoffe hemmen die Amplifikationsreaktion von Nukleinsäuren und können zu ungültigen Ergebnissen führen.

Mit diesem Produkt keine extrahierte DNA verwenden, die große Mengen an humaner genomischer DNA enthält, da diese die Amplifikationsreaktion von Nukleinsäuren hemmen kann.

Es liegen keine Daten zu Produktleistungen mit DNA vor, die aus den folgenden klinischen Proben extrahiert wurde: Leukozytensuspension, Suspension von Granulozyten, Fruchtwasser.

Es liegen keine Daten zu einer Inhibition durch antivirale, antibiotische, chemotherapeutische oder immunsupprimierende Medikamente vor.

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

Aufgrund ihrer hohen analytischen Sensitivität ist die bei diesem Produkt verwendete Real-Time-PCR-Methode empfindlich für Kontaminationen durch positive klinische Proben, Positive Controls und PCR-Produkte. Kreuzkontamination führt zu falsch-positiven Ergebnissen. Das Produktformat ist so gestaltet, dass Kreuzkontamination begrenzt wird. Trotzdem kann Kreuzkontamination nur durch Beachtung der guten Laborpraxis und der vorliegenden Gebrauchsanweisung vermieden werden.

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

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

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

Zur Vermeidung falscher Ergebnisse darf dieses Produkt nur von professionellem, qualifiziertem Personal, das im Umgang mit molekularbiologischen Techniken, wie Extraktion, 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 deutet darauf hin, 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 „11 LEISTUNGSMERKMALE BEI ELITe InGenius und ELITe BeGenius page 24“). In diesem Fall kann das Ergebnis falsch-negativ sein.

Mit diesem Produkt erhaltene Ergebnisse können manchmal aufgrund von Ausfällen der Internal Control 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 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 oder fehlerhaften Ergebnissen. Dieses Restrisiko kann nicht eliminiert oder weiter minimiert werden. In manchen Fällen kann dieses Restrisiko zu falschen Entscheidungen mit potenziell gefährlichen Auswirkungen auf den Patienten beitragen. Dieses Restrisiko im Zusammenhang mit dem Verwendungszweck des Produkts wurde jedoch gegen den potenziellen Nutzen für den Patienten abgewogen und als akzeptabel eingestuft.

## 17 FEHLERBEHEBUNG

### ELITe InGenius und ELITe BeGenius

**Tabelle 52**

Ungültige Reaktion von Q-PCR Standard, Standardkurve oder Positive Control	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
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 5 unabhängige Läufe verwenden (jeweils 3 Stunden im Inventory Area (Inventarbereich), gekühlten Reagenzienblock oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix nicht für mehr als 3 aufeinander folgende Läufe verwenden (7 Stunden im Inventory Area (Inventarbereich), gekühlten Reagenzienblock oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix nicht länger als 30 Minuten bei Raumtemperatur aufbewahren. Ein neues Aliquot des PCR Mix verwenden.
Abbau von Q-PCR Standards oder Positive Control.	Den Q-PCR Standard nicht für mehr als 4 unabhängige Läufe verwenden (jeweils 2 Stunden im Extraktionsbereich oder in der Cooler Unit). Die Positive Control nicht für mehr als 4 unabhängige Läufe verwenden (jeweils 3 Stunden im Extraktionsbereich oder in der Cooler Unit). Neue Aliquote von Q-PCR Standards oder Positive Control verwenden.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

**Tabelle 53**

Ungültige Reaktion der Negative Control	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Einstellfehler des Geräts.	Position von PCR Mix und Negative Control kontrollieren. Volumina von PCR Mix und Negative Control kontrollieren.
Kontamination der Negative Control.	Die Negative Control nicht für mehr als 1 Lauf verwenden. Ein neues Aliquot hochreines Wasser für die Molekularbiologie verwenden.
Kontamination der PCR Mix.	Ein neues Aliquot des PCR Mix verwenden.

**Tabelle 53 (continued)**

<b>Ungültige Reaktion der Negative Control</b>	
<b>Mögliche Ursachen</b>	<b>Abhilfemaßnahmen</b>
Kontamination des Extraktionsbereichs, der Racks, des Bestandsmanager oder der Cooler Unit.	Oberflächen mit wässrigen Reinigungsmitteln reinigen, Laborkittel waschen, verwendete Röhrchen und Spitzen austauschen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

**Tabelle 54**

<b>Ungültige Probenreaktion</b>	
<b>Mögliche Ursachen</b>	<b>Abhilfemaßnahmen</b>
Einstellfehler des Geräts.	Position von PCR Mix, Internal Control und Probe kontrollieren. Volumina von PCR Mix, Internal Control und Probe kontrollieren.
Abbau des PCR Mix.	Den PCR Mix nicht für mehr als 5 unabhängige Läufe verwenden (jeweils 3 Stunden im Inventory Area (Inventarbereich) oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix nicht für mehr als 3 aufeinander folgende Läufe verwenden (7 Stunden im gekühlten Reagenzienblock oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix nicht länger als 30 Minuten bei Raumtemperatur aufbewahren. Ein neues Aliquot des PCR Mix verwenden.
Abbau der Templates für die Internal Control.	Ein neues Aliquot des 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.

**Tabelle 55**

<b>Anomale Dissoziationskurve</b>	
<b>Mögliche Ursachen</b>	<b>Abhilfemaßnahmen</b>
Fehlen eines definierten Peaks. Definierter Peak, T <sub>m</sub> -Wert unterscheidet sich jedoch von dem der anderen Proben und dem der Standards oder der Positive Control.	Kontrollieren, ob der Ct-Zielwert unter 30 liegt. Große Menge an Amplifikationsprodukt am Ende der Reaktion kann die Schmelzkurvenanalyse beeinträchtigen. Die Probenamplifikation wiederholen, um das Vorhandensein von Ziel-DNA mit einer möglichen Mutation zu bestätigen. Die Ziel-DNA in der Probe sollte sequenziert werden, um die Mutation zu bestätigen.

**Tabelle 56**

<b>Fehler bei der Berechnung des Ct-Werts</b>	
<b>Mögliche Ursachen</b>	<b>Abhilfemaßnahmen</b>
Zu hohe Konzentration von Ziel-DNA in der Probe oder Probe mit anomalem Fluoreszenzsignal.	<p>Wenn im PCR-Diagramm eine signifikante Amplifikation zu beobachten ist, entsprechende Spur für die Probe auswählen und Ergebnis manuell als positiv bestätigen.</p> <p>Wenn im PCR-Diagramm keine Amplifikation zu beobachten ist, entsprechende Spur für die Probe auswählen und Ergebnis manuell als negativ bestätigen oder als ungültig belassen.</p> <p>Wenn ein Ct-Wert benötigt wird:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Amplifikation der eluierten Probe mit einer 1:10-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „PCR Only“-Lauf (nur PCR) wiederholen.</li> <li>- Extraktion der Probe mit einer 1:10-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „Extract + PCR“-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen.</li> </ul>

**Tabelle 57**

<b>Ungewöhnlich hoher Anteil positiver Ergebnisse innerhalb ein und desselben Laufs (Reaktionen mit ähnlich späten Ct-Werten)</b>	
<b>Mögliche Ursachen</b>	<b>Abhilfemaßnahmen</b>
Kontamination von Probe zu Probe bei Präanalyse-schritten.	<p>Mikropipette nach dem Pipettieren jeder Probe mit frischer 3%iger Natriumhypochloritlösung (Bleiche) oder DNA/RNA-Cleaner reinigen.</p> <p>Keine Pasteur-Pipetten verwenden. Die Pipetten müssen entweder Direktverdrängungspipetten sein oder zusammen mit Aerosolfilterspitzen verwendet werden.</p> <p>Proben in die letzten Positionen der Geräte einsetzen, wie auf der Benutzeroberfläche angegeben. Die von der Software angegebene Ladefolge beachten.</p>
Kontamination der Laborumgebung.	<p>Alle Oberflächen, die mit dem Bediener und den Proben (einschließlich Pipetten) in Kontakt kommen, mit frischer 3%iger Natriumhypochloritlösung (Bleiche) oder DNA/RNA-Cleaner reinigen.</p> <p>Einen UV-Dekontaminationszyklus durchführen.</p> <p>Ein neues Röhrchen mit PCR Mix und/oder KbE verwenden.</p>

**Offene Plattform:****Tabelle 58**

<b>Ziel-DNA nicht in der Positive Control- oder den Q - PCR Standard-Reaktionen erkannt oder ungültiger Korrelationskoeffizient der Standardkurve</b>	
<b>Mögliche Ursachen</b>	<b>Abhilfemaßnahmen</b>
Falsches Dispensieren in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte.	<p>Beim Dispensieren von Reaktionen in die Vertiefungen der Mikrotiterplatten vorsichtig vorgehen und das Arbeitsblatt befolgen. Volumina des dispensierten Reaktionsgemischs kontrollieren. Volumina der dispensierten Positivkontrolle oder des dispensierten Standards kontrollieren.</p>
Abbau der Sonde.	Ein neues Aliquot des Reaktionsgemischs verwenden.

**Tabelle 58 (continued)**

<b>Ziel-DNA nicht in der Positive Control- oder den Q - PCR Standard-Reaktionen erkannt oder ungültiger Korrelationskoeffizient der Standardkurve</b>	
<b>Mögliche Ursachen</b>	<b>Abhilfemaßnahmen</b>
Positive Control oder Abbau des Standards.	Ein neues Aliquot Positive Control oder Standard verwenden.
Einstellfehler des Geräts.	Positionseinstellungen für die Positivkontrolle oder Standardreaktionen des Geräts überprüfen. Temperaturzyklus-Einstellungen des Geräts überprüfen.

**Tabelle 59**

<b>Ziel-DNA in der Reaktion der Negative Control erkannt</b>	
<b>Mögliche Ursachen</b>	<b>Abhilfemaßnahmen</b>
Falsches Dispensieren in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte.	Verschütten des Inhalts des Proben-Teströhrchens vermeiden. Zwischen einer Probe und der nächsten immer die Spitzen wechseln. Beim Dispensieren von Proben, Negative Controls, Positive Controls oder Standards in die Vertiefungen der Mikrotiterplatten vorsichtig vorgehen und das Arbeitsblatt befolgen.
Fehler beim Einstellen des Geräts.	Positionseinstellungen für Proben, Negative Controls, Positive Controls und Standards auf dem Gerät überprüfen.
Mikrotiterplatte schlecht versiegelt.	Beim Versiegeln der Mikrotiterplatte vorsichtig vorgehen.
Kontamination des hochreinen Wassers für die Molekularbiologie.	Ein neues Aliquot sterilen Wassers verwenden.
Kontamination des Reaktionsgemischs.	Ein neues Aliquot des Reaktionsgemischs verwenden.
Kontamination des Bereichs für die Extraktion/ Vorbereitung der Amplifikationsreaktionen.	Oberflächen und Geräte mit wässrigen Reinigungsmitteln reinigen, Laborkittel waschen, verwendete Teströhrchen und Spitzen austauschen.

**Tabelle 60**

<b>Unregelmäßige oder hohe Hintergrundfluoreszenz in den Reaktionen</b>	
<b>Mögliche Ursachen</b>	<b>Abhilfemaßnahmen</b>
Falsche Dispensierung der Probe.	Beim Einmischen von Proben, Negative Controls und Positive Controls oder Standards in das Reaktionsgemisch vorsichtig vorgehen und dabei dreimal pipettieren. Bläschenbildung vermeiden.
Einstellfehler der Grundlinie.	Bereich für die Grundlinienberechnung innerhalb von Zyklen einstellen, in denen sich die Hintergrundfluoreszenz bereits stabilisiert hat (die Daten unter „Results“ (Ergebnisse), „Component“ (Komponente) überprüfen) und die Zunahme des Fluoreszenzsignals noch nicht begonnen hat, z. B. von Zyklus 6 auf Zyklus 15. Die automatische Grundlinienberechnung durch Aktivieren der Option „Auto Baseline“ verwenden.

Tabelle 61

Anomale Dissoziationskurve	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
<p>Fehlen eines definierten Peaks. Definierter Peak, der sich jedoch von dem der anderen Proben und dem der Standards oder der Positive Control unterscheidet.</p>	<p>Kontrollieren, ob der Ct-Wert des FAM-Detektors unter 30 liegt. Große Menge an Amplifikationsprodukt am Ende der Reaktion kann die Schmelzkurvenanalyse beeinträchtigen. Die Probenamplifikation wiederholen, um das Vorhandensein von Ziel-DNA mit einer möglichen Mutation zu bestätigen. Die Ziel-DNA der Probe sollte sequenziert werden, um die Mutation zu bestätigen.</p>

## 18 SYMBOLE



Katalognummer.



Temperaturobergrenze.



Chargenbezeichnung.



Verfallsdatum (letzter Tag des Monats).



*In-vitro*-Diagnostikum.



Erfüllt die Anforderungen der Europäischen Richtlinie 98/79/EG über *In-vitro*-Diagnostika.



Unique Device Identification, eindeutige Gerätekennung



Ausreichend für „N“ Tests



Gebrauchsanweisung beachten.



Inhalt.



Vor Sonneneinstrahlung schützen.



Hersteller.

## 19 HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ

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

ELITe MGB® Nachweisreagenzien sind durch eines oder mehrere der US-Patente mit den Nummern 7319022, 7348146, 7541454, 7671218, 7723038, 7767834, 8163910, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529 und der EP-Patente mit den Nummern 2689031, 2714939, 2736916, 2997161 sowie durch anhängige Patentanmeldungen geschützt.

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

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

## Appendix A HHV7 ELITE MGB Kit zur Verwendung mit Plattformen der Genius-Reihe®



### VORSICHT

Dieses Dokument ist eine vereinfachte Version der offiziellen Gebrauchsanweisung. Bitte lesen Sie vor dem Gebrauch das vollständige Dokument: [www.elitechgroup.com](http://www.elitechgroup.com)

### Verwendungszweck

Das Produkt **HHV7 ELITE MGB® Kit** ist ein qualitativer und quantitativer Nukleinsäure-Amplifikationstests zum **Nachweis und zur Quantifizierung der DNA des humanen Herpesvirus 7 (HHV7)** in DNA-Proben, die aus in EDTA entnommenem Vollblut, aus in EDTA entnommenem Plasma und aus Liquor extrahiert wurden.

Dieser Assay ist in Verbindung mit den Geräten ELITE InGenius® und ELITE BeGenius®, automatisierten und integrierten Systemen zur Extraktion, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation mit humanen in EDTA entnommenen Vollblut- und Plasmaproben, validiert.

Dieser Assay ist in Verbindung mit dem **7300 Real-Time PCR System** und dem **7500 Real-Time PCR System**, mit humanen, in EDTA entnommenen Vollblut- und Plasmaproben sowie Liquorproben validiert.

Das Produkt ist zur Verwendung bei der Diagnose und Überwachung von HHV7-Infektionen, sowie für klinische Patientendaten und weitere Laborbefunde bestimmt.




### Amplifizierte Sequenz

Sequenz	Gen	Fluorophor	Kanal
Zielsequenz	Kapsidproteingen U57	FAM	HHV7
Internal Control	IC2	AP525 (VIC)	IC

### Validierte Matrix

- In EDTA entnommenes Vollblut
- In EDTA entnommenes Plasma

### Kit-Inhalt und zugehörige Produkte

HHV7 ELITE MGB Kit	HHV7 ELITE Standard	HHV7 - ELITE Positive Control
 X 4	 X 2	 X 1
Gebrauchsfertiger PCR Mix 4 Röhrchen mit 540 µl 96 Reaktionen pro Kit 5 Gefrier- und Auftauzyklen	4 Konzentrationen (gebrauchsfertig): 10 <sup>5</sup> Kopien/Reaktion, 10 <sup>4</sup> Kopien/Reaktion, 10 <sup>3</sup> Kopien/Reaktion, 10 <sup>2</sup> Kopien/Reaktion. 2 Sets à 4 Röhrchen mit 160 µl 4 Gefrier- und Auftauzyklen (4 separate Läufe mit dem Gerät)	Gebrauchsfertige PC 1 Röhrchen mit 160 µl 4 Reaktionen pro Kit 4 Gefrier- und Auftauzyklen (4 separate Läufe mit dem Gerät)

Maximale Haltbarkeitsdauer: **24 Monate**

Lagerungstemperatur: **-20 °C**

## Weitere benötigte, nicht im Kit enthaltene Produkte

<ul style="list-style-type: none"> <li>• ELITE InGenius-Gerät: INT030.</li> <li>• ELITE BeGenius-Gerät: INT040.</li> <li>• ELITE InGenius SP 200: INT032SP200.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CPE – Internal Control: CTCRCPE</li> <li>• <b>ELITE InGenius</b> und <b>ELITE BeGenius</b> Verbrauchsmaterialien (siehe ELITE InGenius und ELITE BeGenius Gebrauchsanweisung)</li> </ul>
---	---

## ELITE InGenius- und ELITE BeGenius-Protokoll

**Tabelle 62**

› Extraktion Eingangsvolumen	200 µl	› Volumen PCR-Mix	20 µl
› CPE-Volumen	10 µl	› Häufigkeit der Kontrollen	15 Tage
› Extrahiertes Elutionsvolumen	100 µl	› Häufigkeit der Kalibrierung	60 Tage
› Eingangsvolumen Proben-PCR	10 µl	› Einheit des quantitativen Ergebnisses	Kopien/ml

## Leistungsdaten für ELITE InGenius und ELITE BeGenius

Matrix	Nachweisgrenze	Diagnostische Sensitivität	Diagnostische Spezifität
	Kopien/ml		
Vollblut	500	100 % (34/34)*	100 % (38/38)*
Plasma	500	100 % (33/33)*	100 % (33/33)*

\* bestätigte Proben / getestete Proben

## Probenvorbereitung

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

Probe	Anforderungen an die Entnahme	Transport-/Lagerbedingungen			
		+16 bis +26 °C (Raumtemperatur)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Vollblut	EDTA	≤ 24 Stunden	≤ 72 Stunden	≤ 1 Monat	> 1 Monat
Plasma	EDTA	≤ 24 Stunden	≤ 72 Stunden	≤ 1 Monat	> 1 Monat

EDTA: Ethylendiamintetraessigsäure

## ELITE InGenius-Verfahren

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

**Vor der Analyse**

<p><b>1.</b> ELITe InGenius einschalten. Mit dem Benutzernamen und Passwort anmelden.</p> <p>Den Modus „Closed“ (Geschlossen) wählen.</p>	<p><b>2.</b> Kalibratoren überprüfen: <b>Q-PCR Standard</b> im Menü „Calibration“ (Kalibrierung).</p> <p>Kontrollen überprüfen: <b>Positive Control</b> und <b>Negative Control</b> im Menü „Controls“ (Kontrollen).</p> <p>Hinweis: Alle müssen ausgeführt und genehmigt worden sein und dürfen nicht abgelaufen sein.</p>	<p><b>3.</b> Die <b>PCR Mix-</b> und <b>CTRCPE-</b>Röhrchen auftauen.</p> <p>Vorsichtig vortexen.</p> <p>5 Sek. herunterzentrifugieren.</p>
---	---	---

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

<p><b>1.</b> Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen</p>	<p><b>2.</b> Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingang: „200 µL“, Elutionsvolumen: „100 µL“</p>	<p><b>3.</b> Die Proben-Barcodes mit dem tragbaren Barcodeleser scannen oder die Proben-ID eingeben</p>
<p><b>4.</b> Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: HHV7 ELITe_WB_200_100 oder HHV7 ELITe_PL_200_100</p>	<p><b>5.</b> Die Methode „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) und die „Sample Position“ (Probenposition) auswählen: Primärröhrchen oder Extraktionsröhrchen</p>	<p><b>6.</b> Den PCR Mix und die Internal-Control in den Inventory Block (Bestandsmanager) laden</p>
<p><b>7.</b> Folgendes laden: PCR Cassette, Extraktionskartusche, Elution tube (Elutionsröhrchen), Spitzenkassette, Extraction Tube (Extraktionsröhrchen)-Racks und Primärproben-Racks</p>	<p><b>8.</b> Tür schließen. Analyselauf starten</p>	<p><b>9.</b> Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern</p>

**HINWEIS!**

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

**Verfahren 2: „PCR Only“ (Nur PCR) (z. B. Eluate, Standards, Kontrollen)**

<p><b>1.</b> Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen</p>	<p><b>2.</b> Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingang: „200 µL“, Elutionsvolumen: „100 µL“</p>	<p><b>3.</b> Die Proben-Barcodes mit dem tragbaren Barcodeleser scannen oder die Proben-ID eingeben</p>
<p><b>4.</b> Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: HHV7 ELITe_PC und HHV7 ELITe_NC oder HHV7 ELITe_STD oder HHV7 ELITe_WB_200_100 oder HHV7 ELITe_PL_200_100</p>	<p><b>5.</b> Die Methode „PCR Only“ (Nur PCR) und die „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube“ (Elutionsröhrchen) auswählen</p>	<p><b>6.</b> Den PCR Mix in den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden</p>
<p><b>7.</b> Folgendes laden: PCR Cassette-Rack und Elution tube (Elutionsröhrchen)-Rack mit der extrahierten Nukleinsäure</p>	<p><b>8.</b> Tür schließen. Analyselauf starten</p>	<p><b>9.</b> Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern</p>

**ELITe BeGenius-Verfahren**

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

**Vor der Analyse**

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

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

<p><b>1.</b> Auf dem Touchscreen „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen und anschließend auf den Laufmodus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) klicken.</p>	<p><b>2.</b> Das Sample Rack (Probenständer) mit den barcodierten Proben in die Cooler Unit einsetzen. Der Barcode-Scan ist bereits aktiv</p>	<p><b>3.</b> Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingang: „200 µL“, Elutionsvolumen: „100 µL“</p>
<p><b>4.</b> Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: HHV7 ELITe_Be_WB_200_100 oder HHV7 ELITe_Be_PL_200_100 <b>Hinweis:</b> Bei Durchführung einer zweiten Extraktion die Schritte 2 bis 4 wiederholen</p>	<p><b>5.</b> Die Etiketten ausdrucken, um die leeren Elution Tubes (Elutionsröhrchen) mit einem Barcode zu versehen. Die Röhrchen in das Elution Rack (Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen</p>	<p><b>6.</b> Den PCR Mix und die Internal Control in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen</p>
<p><b>7.</b> Das „PCR Rack“ mit der „PCR Cassette“ und den „Extraction Rack“ (Extraktionsrack) mit den „ELITe InGenius SP 200“ Extraktionskartuschen und die für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden</p>	<p><b>8.</b> Tür schließen. Analyselauf starten</p>	<p><b>9.</b> Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern</p>

**HINWEIS!**

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

**Verfahren 2: „PCR Only“ (Nur PCR) (z. B. Eluate, Standards, Kontrollen)**

<p><b>1.</b> Auf dem Touchscreen „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen und anschließend auf den Run mode „PCR Only“ (Nur PCR) klicken.</p>	<p><b>2.</b> Die barcodierten Röhrchen mit der extrahierten Nukleinsäure oder den Kontrollen in das Elution Rack (Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen.</p>	<p><b>3.</b> Bei Standards und Kontrollen: Für jede „Position“ unter „Reagent name“ den Reagenznamen, unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben. Bei Eluaten: Für jede „Position“ die Proben-ID („Sample ID“), die Probenmatrix („Sample Matrix“), das Extraktionskit („Extraction Kit“) und das extrahierte Eluatvolumen („Extracted eluate vol.“) eingeben.</p>
<p><b>4.</b> Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: HHV7 ELITe_Be_PC und HHV7 ELITe_Be_NC, oder HHV7 ELITe_Be_STD oder HHV7 ELITe_Be_WB_200_100 oder HHV7 ELITe_Be_PL_200_100</p>	<p><b>5.</b> Das komplette Reaktionsgemisch in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsrack) laden und in die Cooler Unit einsetzen.</p>	<p><b>6.</b> „PCR Rack“ mit „PCR Cassette“(PCR-Kassette) laden.</p>
<p><b>7.</b> Tür schließen. Analyselauf starten.</p>	<p><b>8.</b> Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern.</p>	

ELITechGroup S.p.A.  
C.so Svizzera, 185, 10149 Torino ITALIEN  
Tel. +39-011 976 191  
Fax +39-011 936 76 11  
E-Mail: [emd.support@elitechgroup.com](mailto:emd.support@elitechgroup.com)  
Website: [www.elitechgroup.com](http://www.elitechgroup.com)

