



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

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

## NOTICE of CHANGE dated 19/01/2022

### IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

# «HHV8 ELITe MGB<sup>®</sup> Kit» Ref. RTS038PLD

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

- Update for the use of the product in association with «ELITe BeGenius<sup>®</sup>» instrument (REF INT040).
- Update of PERFORMANCE CHARACTERISTICS (pag.20):
  - Change in Limit of Detection (LoD)
  - Addition of Linear measuring range
  - Addition of Repeatability
  - Addition of Reproducibility

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

## PLEASE NOTE



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



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



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



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



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



DIE REVIEW VON DIESER IFU IST KOMPATIBLE MIT DER VORIGE VERSION VON DEM TEST-KIT



**HHV8 ELITE MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation  
in Echtzeit

REF RTS038PLD

Das Produkt ist zur Verwendung bei der Diagnose und Überwachung von HHV8-Infektionen, sowie für klinische Daten des Patienten und weitere Laborbefunde bestimmt.

**TESTPRINZIPIEN**

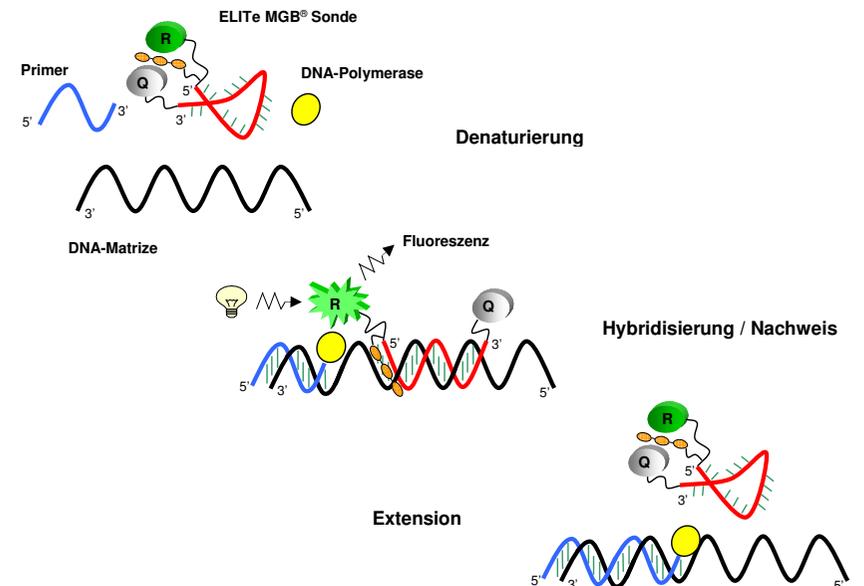
Der Assay besteht aus einer Echtzeit-Amplifikationsreaktion mit einem programmierbaren Thermostat, der mit einem optischen System zum Fluoreszenznachweis ausgestattet ist.

In jeder Vertiefung werden zwei Amplifikationsreaktionen durchgeführt, wobei zunächst aus den Proben extrahierte DNA getestet wird: eine spezifische Reaktion für die Region des Gens des **kleinen Kapsidproteins** (ORF26) von HHV8 und eine spezifische Reaktion für eine Region des humanen **beta-Globin**-Gens (Internal Control der Hemmung). Die mit einem FAM-Fluorophor markierte, HHV8-spezifische Sonde mit ELITE MGB®-Technologie wird aktiviert, wenn sie mit dem spezifischen Produkt der HHV8-Amplifikationsreaktion hybridisiert. Die mit einem AP525-Fluorophor (analog zu VIC) markierte, für die interne Kontrolle spezifische Sonde mit ELITE MGB®-Technologie wird aktiviert, wenn sie mit dem spezifischen Produkt der Amplifikationsreaktion der internen Kontrolle hybridisiert. Die Fluoreszenzemission erhöht sich mit Zunahme des spezifischen Produkts der Amplifikationsreaktion und wird vom Gerät gemessen und aufgezeichnet. Durch die Verarbeitung der Daten lassen sich das Vorhandensein und der Titer von HHV8-DNA in der Ausgangsprobe nachweisen.

Im Anschluss an den Amplifikationslauf kann die Dissoziationskurve (Schmelzkurve) analysiert werden, um die Dissoziationstemperatur (Schmelztemperatur) zu ermitteln und das Vorhandensein der korrekten Targets zu bestätigen oder das Vorhandensein von Mutationen zu identifizieren.

Der Test ist mit den in dieser Gebrauchsanweisung beschriebenen Systemen validiert.

In der folgenden Abbildung ist der Mechanismus der Aktivierung und Fluoreszenzemission der ELITE MGB®-Technologie-Sonde zusammenfassend dargestellt. Bitte beachten Sie, dass die Sonde während des Amplifikationszyklus nicht hydrolysiert wird, damit sie für die Analyse der Dissoziationskurve verwendet werden kann.



**HHV8 ELITE MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation in Echtzeit

REF RTS038PLD



**INHALTSVERZEICHNIS**

VERWENDUNGSZWECK	Seite 1
TESTPRINZIPIEN	Seite 2
PRODUKTBESCHREIBUNG	Seite 3
IM LIEFERUMFANG DES PRODUKTS ENTHALTENE MATERIALIEN	Seite 3
BENÖTIGTE MATERIALIEN (NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN)	Seite 3
SONSTIGE BENÖTIGTE PRODUKTE	Seite 3
WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN	Seite 5
ELITE INGENIUS	Seite 6
PROBEN UND KONTROLLEN	Seite 6
VERFAHREN BEI ELITE INGENIUS	Seite 7
ELITE BEGENIUS	Seite 15
PROBEN UND KONTROLLEN	Seite 15
VERFAHREN BEI ELITE BEGENIUS	Seite 17
LEISTUNGSMERKMALE	Seite 22
ANDERE SYSTEME	Seite 29
PROBEN UND KONTROLLEN	Seite 29
VERFAHREN	Seite 31
LEISTUNGSMERKMALE BEI ELITE INGENIUS UND ELITE BEGENIUS	Seite 39
QUELLENANGABEN	Seite 43
GRENZEN DES VERFAHRENS	Seite 43
FEHLERBEHEBUNG	Seite 45
SYMBOLE	Seite 47
HINWEIS AN DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ	Seite 48

**VERWENDUNGSZWECK**

Das Produkt „HHV8 ELITE MGB® Kit“ ist Teil eines qualitativen und quantitativen Nukleinsäure-Amplifikationstests zum **Nachweis und zur Quantifizierung der DNA des humanen Herpesvirus 8 (HHV8)** in DNA-Proben, die aus Liquor, in EDTA entnommenem Vollblut und in EDTA entnommenem Plasma extrahiert wurden.

**HHV8 ELiTe MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation  
in Echtzeit

REF RTS038PLD

**PRODUKTBESCHREIBUNG**

Das Produkt «**HHV8 ELiTe MGB® Kit**» enthält das **gebrauchsfertige** Komplettgemisch HHV8 Q - PCR Mix zur Echtzeit-Amplifikation in einer stabilisierenden Lösung, die **in vier Einweg-Teströhrchen aliquotiert wird**. Jedes Röhrchen enthält **540 µl** Lösung, die für **24 Tests** mit dem „**ELiTe InGenius®**“ und „**ELiTe BeGenius®**“ System und **25 Tests** mit anderen Systemen ausreicht.

Die Primer und die HHV8-spezifische Sonde (stabilisiert mit einer MGB®-Gruppe, markiert mit FAM-Fluorophor und ausgelöscht mit einem nicht-fluoreszierenden Molekül) sind spezifisch für die Region des Gens des **kleinen Kapsidproteins** von HHV8.

Die Primer und die spezifische Sonde für die Internal Control (stabilisiert mit einer MGB®-Gruppe, markiert mit AP525-Fluorophor, analog zu VIC, und ausgelöscht mit einem nicht-fluoreszierenden Molekül) sind spezifisch für die **Promoter- und 5'-UTR-Region** des humanen **beta-Globin**-Gens.

Das Reaktionsgemisch enthält Puffer, Magnesiumchlorid, Triphosphatnukleotide, AP593-Fluorophor (anstelle von ROX oder Cy5 als Passivreferenz für die Fluoreszenz-Normalisierung verwendet), das Enzym Uracil-N-Glycosidase (UNG) zur Inaktivierung der Kontamination durch das Amplifikationsprodukt sowie das „Warmstart“-DNA-Polymerase-Enzym.

Das Produkt reicht aus für **96 Tests** mit „**ELiTe InGenius®**“ und „**ELiTe BeGenius®**“ einschließlich Standards und Kontrollen.

Das Produkt reicht aus für **100 Tests** mit **anderen Systemen** einschließlich Standards und Kontrollen.

**IM LIEFERUMFANG DES PRODUKTS ENTHALTENE MATERIALIEN**

Komponente	Beschreibung	Menge	Gefahrenklasse
HHV8 Q - PCR Mix	komplettes Reaktionsgemisch	4 x 540 µl	-

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

- Laminar-Flow-Haube.
- Puderfreie Einweghandschuhe aus Nitril oder einem ähnlichen Material.
- Vortex-Mixer.
- Tisch-Mikrozentrifuge (12.000–14.000 U/min).
- Mikropipetten und sterile Spitzen mit Aerosolfilter oder sterile Direktverdrängerspitzen (2–20 µl, 5–50 µl, 50–200 µl, 200–1000 µl).
- Hochreines Wasser für die Molekularbiologie.
- Programmierbarer Thermostat mit optischem Fluoreszenznachweissystem 7300 Real-Time PCR System oder 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument, das gemäß den Herstelleranweisungen kalibriert ist.

**SONSTIGE BENÖTIGTE PRODUKTE**

Die Reagenzien für die Extraktion von DNA aus den Proben, die Positive Control der Extraktion, die Positive Control der Amplifikation, die bekannten DNA-Mengenstandards und die Verbrauchsmaterialien sind **nicht** in diesem Produkt enthalten.

Für die manuelle DNA-Extraktion aus zu analysierenden Proben ist die Verwendung des generischen Produkts „**EXTRAblood®**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. EXTB01), ein Kit zur Extraktion von DNA aus zellulären und nicht-zellulären Proben, validiert.

**HHV8 ELiTe MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation  
in Echtzeit

REF RTS038PLD

Für die automatische Probenanalyse mit dem Gerät „**ELiTe InGenius®**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT030) werden die folgenden generischen Produkte benötigt: die Extraktionskartuschen „**ELiTe InGenius SP 200®**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT032SP200), die Verbrauchsmaterialien für die Extraktion und Amplifikation von Nukleinsäuren aus biologischen Proben „**ELiTe InGenius SP 200 Consumable Set®**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT032CS), „**ELiTe InGenius Waste Box®**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. F2102-000), „**ELiTe InGenius PCR Cassette®**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT035PCR) und „**Filter tips 300®**“ (Axygen BioScience Inc., CA, USA, Art.-Nr. TF-350-L-R-S).

Für die automatische DNA-Extraktion, Amplifikation und Interpretation der Probenanalyse werden das Gerät „**ELiTe InGenius®**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT030) und die folgenden spezifischen Assay-Protokolle (ELITechGroup S.p.A.) benötigt:

- für die Kalibratoren «**HHV8 ELiTe STD**»,
- für die Positivkontrolle der Amplifikation «**HHV8 ELiTe PC**»,
- für die Negativkontrolle der Amplifikation «**HHV8 ELiTe NC**»,
- für die Probenanalyse „**HHV8 ELiTe\_WB\_200\_100**“ und „**HHV8 ELiTe\_PL\_200\_100**“.

Für die automatische Probenanalyse mit dem Gerät «**ELiTe BeGenius®**» (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT040) sind die folgenden generischen Produkte validiert: die Extraktionskartuschen «**ELiTe InGenius® SP 200**» (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT032SP200), die Verbrauchsmaterialien für die Extraktion und Amplifikation von Nukleinsäuren aus biologischen Proben «**ELiTe InGenius® SP 200 Consumable Set**» (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT032CS), «**ELiTe InGenius® Waste Box**» (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. F2102-000), «**ELiTe InGenius® PCR Cassette**» (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT035PCR) und «**1000 µL Filter Tips Tecan**» (Tecan, Schweiz, Art.-Nr. 30180118).

Für die automatische DNA-Extraktion, Amplifikation und Interpretation der Probenanalyse werden das Gerät «**ELiTe BeGenius®**» (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT040) und die folgenden spezifischen Assay-Protokolle (ELITechGroup S.p.A.) benötigt:

- für die Kalibratoren «**HHV8 ELiTe\_Be STD**»,
- für die Positivkontrolle der Amplifikation «**HHV8 ELiTe\_Be PC**»,
- für die Negativkontrolle der Amplifikation «**HHV8 ELiTe\_Be NC**»,
- für die Probenanalyse «**HHV8 ELiTe\_Be\_WB\_200\_100**» und «**HHV8 ELiTe\_Be\_PL\_200\_100**».

Für die automatische DNA-Extraktion aus zu analysierenden Proben ist die Verwendung des generischen Produkts „**ELiTe STAR 200 Extraction Kit**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT011EX), ein Kit zur Extraktion von Nukleinsäure aus biologischen Proben, mit dem Gerät „**ELiTe STAR**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT010) validiert.

Für die automatische DNA-Extraktion und Vorbereitung von Mikrotiterplatten für die Amplifikation von zu analysierenden Proben ist die Verwendung des generischen Produkts „**ELiTe GALAXY 300 Extraction Kit**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT021EX), ein Kit zur Extraktion von Nukleinsäure aus biologischen Proben, mit dem Gerät „**ELiTe GALAXY**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT020) validiert.

Für die automatische DNA-Extraktion aus zu analysierenden Proben ist auch die Verwendung der generischen Produkte „**NucliSENS® easyMAG® Reagents**“ (bioMérieux SA, Art.-Nr. 280130, 280131, 280132, 280133, 280134, 280135), Kits zur Extraktion von Nukleinsäure aus biologischen Proben, mit dem Gerät „**NucliSENS® easyMAG®**“ (bioMérieux SA, Art.-Nr. 200111) validiert.

Für die automatische DNA-Extraktion aus zu analysierenden Proben ist außerdem die Verwendung des Produkts „**QIASymphony® DNA Mini Kit**“ (QIAGEN GmbH, Art.-Nr. 931236), ein Kit zur Extraktion von Nukleinsäure aus biologischen Proben, mit dem Gerät „**QIASymphony® SP/AS**“ (QIAGEN GmbH, Art.-Nr. 9001297, 9001301) und den dazugehörigen generischen Produkten validiert.

Als Positivkontrolle der Nukleinsäureextraktion aus nicht-zellulären Proben und als Inhibitionskontrolle muss das generische Produkt «**CPE - Internal Control**» (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. CTRCPE), eine stabilisierte Lösung, die zwei Plasmid-DNAs und die genomische RNA des MS2-Phagen enthält, verwendet werden.

Beim Einsatz eines 7300 Real-Time-PCR-Systems muss das generische Produkt „**Q - PCR Microplates**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. RTSACC01), Mikrotiterplatten mit 0,2-ml-Vertiefungen und selbsthaftenden Dichtungsfolien für die Echtzeit-Amplifikation, verwendet werden.

**HHV8 ELITe MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation  
in Echtzeit

REF RTS038PLD

Beim Einsatz eines 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument muss das generische Produkt: „**Q - PCR Microplates Fast**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. RTSACC02), Mikrotiterplatten mit 0,1-ml-Vertiefungen und selbsthaftenden Dichtungsfolien für die Echtzeit-Amplifikation, verwendet werden.

Wird ein Nachweis von HHV8-DNA benötigt (qualitative Analyse), muss das Produkt „**HHV8 - ELITe Positive Control**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. CTR038PLD), Positive Control von Plasmid-DNA, verwendet werden.

Werden der Nachweis und die Quantifizierung von HHV8-DNA benötigt (quantitative Analyse), muss das Produkt „**HHV8 ELITe Standard**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. STD038PLD), vier Verdünnungen von Plasmid-DNA bekannter Menge zur Ermittlung der Standardkurve, verwendet werden.

**WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN**

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

**Allgemeine Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen**

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

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

Geeignete Schutzkleidung und Handschuhe zum Schutz der Augen und des Gesichts tragen.

Lösungen niemals mit dem Mund pipettieren.

Essen, Trinken, Rauchen und Schminken sind in den Arbeitsbereichen verboten.

Die Hände nach der Handhabung von Proben und Reagenzien gründlich waschen.

Übrig gebliebene Reagenzien und Abfälle gemäß den geltenden Vorschriften entsorgen.

Vor Durchführung des Tests alle dem Produkt beiliegenden Anweisungen aufmerksam lesen.

Bei der Durchführung des Tests die dem Produkt beiliegenden Anweisungen befolgen.

Das Produkt darf nach Ablauf des angegebenen Ablaufdatums nicht mehr verwendet werden.

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

Reagenzien von anderen Chargen dürfen nicht verwendet werden.

Reagenzien von anderen Herstellern dürfen nicht verwendet werden.

**Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen für molekularbiologische Anwendungen**

Molekularbiologische Verfahren, wie die Nukleinsäureextraktion, -amplifikation und -detektion, dürfen nur von qualifiziertem und geschultem Personal durchgeführt werden, um das Risiko von fehlerhaften Ergebnissen zu vermeiden. Dies gilt insbesondere angesichts des Abbaus von in den Proben enthaltenden Nukleinsäuren sowie der Kontamination der Proben durch Amplifikationsprodukte.

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.

Die Proben dürfen ausschließlich für diese Art von Analyse verwendet werden. Die Proben müssen unter einer Laminar-Flow-Haube verarbeitet werden. Röhrchen, die verschiedene Proben enthalten, dürfen niemals gleichzeitig geöffnet werden. Die zur Verarbeitung der Proben verwendeten Pipetten dürfen ausschließlich für diesen Zweck verwendet werden. Die Pipetten müssen nach dem Verdrängungsprinzip arbeiten oder in Verbindung mit Aerosol-Filterspitzen verwendet werden. Die verwendeten Spitzen müssen steril, frei von DNasen und RNasen sowie frei von DNA und RNA sein.

**HHV8 ELITe MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation  
in Echtzeit

REF RTS038PLD

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

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

**Komponentenspezifische Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen**

Der **HHV8 Q - PCR Mix** muss bei -20 °C dunkel aufbewahrt werden.

Der **HHV8 Q - PCR Mix** darf maximal **fünf Mal** eingefroren und wieder aufgetaut werden; weitere Gefrier- und Auftauzyklen können zu einem Verlust der Produktleistung führen.

Der **HHV8 Q - PCR Mix** kann für 5 unabhängige Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden verwendet werden oder für bis zu 3 aufeinander folgende Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden im gekühlten Block des Geräts verbleiben. Vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

**ELITe InGenius®**

**PROBEN UND KONTROLLEN**

**Proben**

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

**In EDTA entnommenes Vollblut**

Die Vollblutproben für die Nukleinsäureextraktion müssen gemäß den Laborrichtlinien in EDTA entnommen werden. Außerdem dürfen sie 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. Bei Verwendung von gefrorenen Proben müssen die Proben unmittelbar vor der Extraktion aufgetaut werden, um einen möglichen Nukleinsäureabbau zu vermeiden.

**Hinweis:** Wird die DNA-Extraktion aus Vollblut mit dem **ELITe InGenius** und der **ELITe InGenius Software**, Version **1.3** (oder entsprechende spätere Versionen) durchgeführt, sind die Extraktionsprotokolle **HHV8 ELITe WB\_200\_100** zu verwenden. Dieses Protokoll verarbeitet 200 µl Probe, fügt den **CPE** bei 10 µl / Extraktion hinzu und eluiert die Nukleinsäuren in 100 µl.

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

**In EDTA entnommenes Plasma**

Die Plasmaproben für die Nukleinsäureextraktion müssen gemäß den Laborrichtlinien in EDTA entnommen werden. Außerdem dürfen sie 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 Proben vor dem Einfrieren in Aliquote aufzuteilen, um wiederholten Gefrier- und Auftauzyklen vorzubeugen. Bei Verwendung von gefrorenen Proben müssen die Proben unmittelbar vor der Extraktion aufgetaut werden, um einen möglichen Nukleinsäureabbau zu vermeiden.

**Hinweis:** Wird die DNA-Extraktion aus Plasma mit dem **ELITe InGenius** und der **ELITe InGenius Software**, Version **1.3** (oder entsprechende spätere Versionen) durchgeführt, sind die Extraktionsprotokolle **HHV8 ELITe PL\_200\_100** zu verwenden. Dieses Protokoll verarbeitet 200 µl Probe, fügt den **CPE** bei 10 µl / Extraktion hinzu und eluiert die Nukleinsäuren in 100 µl.

**HHV8 ELiTe MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation  
in Echtzeit

REF RTS038PLD

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

**Andere Proben:**

Es liegen keine Daten zur Produktleistung mit DNA vor, die aus den folgenden klinischen Proben extrahiert wurde: Liquor und Hautbiopsien.

**Störende Substanzen**

Die Probe darf kein Heparin enthalten, um das Problem einer Inhibition und die Möglichkeit häufiger ungültiger Ergebnisse zu verhindern.

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

**Amplifikationskalibratoren und Amplifikationskontrollen**

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

- als Kalibratorset sind die vier Konzentrationswerte des **HHV8 ELiTe Standard** zusammen mit dem Protokoll „**HHV8 ELiTe STD**“ für **ELiTe InGenius** zu verwenden,
- als Amplifikations-Positive Control ist **HHV8 - ELiTe Positive Control** zusammen mit dem Protokoll „**HHV8 ELiTe\_PC**“ für **ELiTe InGenius** zu verwenden,
- als Amplifikations-Negative Control ist hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) zusammen mit dem Protokoll „**HHV8 ELiTe\_NC**“ für **ELiTe InGenius** zu verwenden.

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

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

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

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

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

**Qualitätskontrollen**

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

**VERFAHREN BEI ELiTe InGenius**

Das beim Gebrauch des «**HHV8 - ELiTe MGB® Kit**» mit dem System **ELiTe InGenius** anzuwendende Verfahren besteht aus drei Schritten:

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

**Prüfung der Systembereitschaft**

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

**HHV8 ELiTe MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation  
in Echtzeit

REF RTS038PLD

- **ELiTe InGenius** einschalten und den Anmeldemodus „**CLOSED**“ (geschlossen) auswählen;
- Prüfen, ob die Kalibratoren (**HHV8 Q - PCR Standard**) zusammen mit der zu verwendenden Amplifikationsreagenzcharge ausgeführt und genehmigt wurden und noch nicht abgelaufen sind (Status). Dies kann auf der Startseite im Menü „Calibration“ (Kalibration) überprüft werden: Liegen keine genehmigten oder gültigen Kalibratoren vor, sind diese wie in den folgenden Abschnitten beschrieben auszuführen.
- Prüfen, ob die Amplifikationskontrollen (**HHV8 - Positive Control, HHV8 Negative Control**) zusammen mit der zu verwendenden Amplifikationsreagenzcharge ausgeführt und genehmigt wurden und noch nicht abgelaufen sind (Status). Dies kann auf der Startseite im Menü „Control“ (Kontrolle) überprüft werden. Liegen keine genehmigten oder gültigen Amplifikationskontrollen vor, sind diese wie in den folgenden Abschnitten beschrieben auszuführen.
- den Typ des Laufs auswählen und den Lauf einrichten; dazu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche zur Einrichtung des Laufs befolgen und die von ELiTechGroup bereitgestellten Assay-Protokolle verwenden. Diese IVD-Protokolle wurden speziell mit **ELiTe MGB Kits** und dem Gerät **ELiTe InGenius** sowie den genannten Matrices validiert.

Die für das „**HHV8 ELiTe MGB® Kit**“ verfügbaren Assay-Protokolle sind in der nachfolgenden Tabelle beschrieben.

Assay-Protokolle für „HHV8 ELiTe MGB® Kit“			
Name	Matrix	Maßeinheit	Eigenschaften
<b>HHV8 ELiTe_WB_200_100</b>	Vollblut	Kopien/ml	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Eluatvolumen: 100 µl Internal Control: 10 µl Sonifikation: KEINE Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
<b>HHV8 ELiTe_PL_200_100</b>	Plasma	Kopien/ml	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Eluatvolumen: 100 µl Internal Control: 10 µl Sonifikation: KEINE Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl

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

Protokolle für die qualitative Analyse sind auf Anfrage erhältlich.

**Einrichtung des Laufs**

Das Produkt **HHV8 ELiTe MGB® Kit** kann mit dem System **ELiTe InGenius** für die Durchführung der folgenden Läufe verwendet werden:

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

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

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

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

#### A. Integrierter Lauf

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

1. **HHV8 Q - PCR Mix-Röhrchen** in ausreichender Anzahl für den Lauf 30 Minuten bei Raumtemperatur (~+25 °C) auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 24 Reaktionen unter optimalen Reagenzverbrauchsbedingungen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.

**Hinweis:** HHV8 Q - PCR Mix im Dunkeln auftauen, da dieses Reagenz lichtempfindlich ist.

2. Die CPE-Röhrchen für den Lauf 30 Minuten bei Raumtemperatur (~+25 °C) auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Extraktionen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
3. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
4. Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktionseingangsvolumen) 200 µl und das „Extracted Elute Volume“ (extrahierte Elutionsvolumen) 100 µl betragen.
5. Für jede relevante Spur unter „SampleID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.
6. Das zu verwendende Assay-Protokoll der Spalte „Assay“ auswählen (z. B. HHV8 ELiTe\_PL\_200\_100).
7. Sicherstellen, dass unter „Protocol“ (Protokoll) Folgendes angezeigt wird: „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR).
8. Die Proben-Ladepositionen in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) auswählen:  
wird ein Primärröhrchen verwendet, „Primary Tube“ (Primärröhrchen) auswählen.  
wird ein Sekundärröhrchen verwendet, „Extraction Tube“ (Extraktionsröhrchen) auswählen.  
Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
9. CPE und HHV8 Q-PCR Mix auf den unter „Inventory Block“ (Bestandsblock) ausgewählten Bestandsblock laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf die Schaltfläche „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
10. Die Spitzenständer in den unter „Inventory Area“ (Bestandsbereich) ausgewählten Bestandsbereich laden und kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf die Schaltfläche „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
11. Die PCR-Kassetten („PCR Cassettes“), die Extraktionskartuschen „ELiTe InGenius SP 200“, alle benötigten Verbrauchsmaterialien und die zu extrahierenden Proben laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
12. Die Gerätetür schließen.
13. Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

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

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

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

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

#### B. Amplifikationslauf

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

1. Eine ausreichende Anzahl HHV8 Q - PCR Mix-Röhrchen 30 Minuten bei Raumtemperatur (~+25 °C) für den Lauf auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 24 Reaktionen unter optimalen Reagenzverbrauchsbedingungen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.

**Hinweis:** HHV8 Q - PCR Mix im Dunkeln auftauen, da dieses Reagenz lichtempfindlich ist.

2. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
3. Selbst wenn keine Extraktion durchgeführt wird, sicherstellen, dass das Extraktionseingangsvolumen („Extraction Input Volume“) 200 µl und das extrahierte Elutionsvolumen 100 µl beträgt.
4. Für jede relevante Spur die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.
5. Das zu verwendende Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ auswählen (z. B. HHV8 ELiTe\_PL\_200\_100).
6. In der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) auswählen.
7. Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr. (untere Reihe)) lautet. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
8. Den **HHV8 Q-PCR Mix** auf den unter „Inventory Block“ (Bestandsblock) ausgewählten Bestandsblock laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
9. Die Spitzenständer in den unter „Inventory Area“ (Bestandsbereich) ausgewählten Bestandsbereich laden und kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
10. Die PCR-Kassetten („PCR Cassettes“) und die extrahierte Nukleinsäure-Proben gemäß den Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche laden. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
11. Die Gerätetür schließen.
12. Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

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

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

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

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

#### C. Kalibrationslauf

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

1. **HHV8 Q - PCR Mix-Röhrchen** in ausreichender Anzahl für den Lauf 30 Minuten bei Raumtemperatur (~+25 °C) auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 24 Reaktionen unter optimalen Reagenzverbrauchsbedingungen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang

herunterzentrifugieren.

**Hinweis:** HHV8 Q - PCR Mix im Dunkeln auftauen, da dieses Reagenz lichtempfindlich ist.

2. **HHV8 Q - PCR Standard**-Röhrchen auftauen (Cal1: HHV8 Q - PCR Standards 10<sup>2</sup>, Cal2: HHV8 Q - PCR Standards 10<sup>3</sup>, Cal3: HHV8 Q - PCR Standards 10<sup>4</sup>, Cal4: HHV8 Q - PCR Standards 10<sup>5</sup>) 30 Minuten bei Raumtemperatur (~+25 °C). Jedes Röhrchen reicht aus für 4 Läufe. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
3. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
4. Selbst wenn keine Extraktion durchgeführt wird, sicherstellen, dass das Extraktionseingangsvolumen („Extraction Input Volume“) 200 µl und das extrahierte Elutionsvolumen 100 µl beträgt.
5. In der relevanten Spur das zu verwendende Assay Protocol in der Spalte „Assay“ auswählen.
6. Das Assay-Protokoll „HHV8 ELITE\_STD“ in der Spalte „Assay“ auswählen und die Chargennummer und das Ablaufdatum für den HBV Q-PCR Standard eintragen.
7. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
8. Den **HHV8 Q-PCR Mix** auf den unter „Inventory Block“ (Bestandsblock) ausgewählten Bestandsblock laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
9. Die Spitzenständer in den unter „Inventory Area“(Bestandsbereich) ausgewählten Bestandsbereich laden und kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
10. Die PCR-Kassetten („PCR Cassettes“), die **HHV8 Q-PCR Standard**-Röhrchen gemäß den Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche laden. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
11. Die Gerätetür schließen.
12. Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

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

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

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

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

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

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

1. Eine ausreichende Anzahl **HHV8 Q - PCR Mix**-Röhrchen 30 Minuten bei Raumtemperatur (~+25 °C) für den Lauf auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 24 Reaktionen unter optimalen Reagenzverbrauchsbedingungen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.

**Hinweis:** HHV8 Q - PCR Mix im Dunkeln auftauen, da dieses Reagenz lichtempfindlich ist.

2. **HHV8 - Positive Control**-Röhrchen für die Amplifikation der Positive Control 30 Minuten bei Raumtemperatur (~+25 °C) auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 4 Läufe. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.

3. Für die Läufe mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie in ein Elutionsröhrchen (im Lieferumfang des ELITE InGenius SP Consumable Set enthalten) überführen.
4. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
5. Selbst wenn keine Extraktion durchgeführt wird, sicherstellen, dass das Extraktionseingangsvolumen („Extraction Input Volume“) 200 µl und das extrahierte Eluatvolumen 50 µl beträgt.
6. In der relevanten Spur das zu verwendende Assay Protocol in der Spalte „Assay“ auswählen.
7. Für die Positive Control das Assay-Protokoll „HHV8 ELITE\_PC“ in der Spalte „Assay“ auswählen und die Chargennummer und das Ablaufdatum für die HHV8 Positive Control eintragen.
8. Für die Negative Control das Assay-Protokoll „HHV8 ELITE\_NC“ auswählen und die Chargennummer und das Ablaufdatum für das hochreine Wasser für die Molekularbiologie eintragen.
9. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
10. Den **HHV8 Q-PCR Mix** auf den unter „Inventory Block“ (Bestandsblock) ausgewählten Bestandsblock laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
11. Die Spitzenständer in den unter „Inventory Area“(Bestandsbereich) ausgewählten Bestandsbereich laden/kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
12. Die PCR-Kassetten („PCR Cassettes“), das HHV8 Positive Control-Röhrchen und das Negative Control-Röhrchen gemäß den Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche laden. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
13. Die Gerätetür schließen.
14. Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

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

**Hinweis:** Die Positive Control muss als Amplifikationskontrollen ausgeführt werden, um die Regelkarte („Control Chart“) einzurichten. Zum Einrichten der Karte werden vier (4) Ergebnisse der Positive Control aus 4 verschiedenen Läufen benötigt. Anschließend werden die Werte der Positive Control zur Überwachung der Amplifikationsstufe herangezogen. Weitere Informationen finden Sie im Benutzerhandbuch des Geräts.

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

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

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

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

#### Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

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

**HHV8 ELITE MGB® Kit**  
**Reagenzien für die DNA-Amplifikation**  
**in Echtzeit**

REF RTS038PLD

Informationen finden Sie im Benutzerhandbuch des Geräts.

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

**ELITE InGenius** generiert die Ergebnisse mithilfe des Produkts „**HHV8 ELITE MGB® Kit**“ und geht dabei folgendermaßen vor:

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

**A. Validierung der Kalibrationskurve**

Die von der spezifischen HHV8-Sonde („HHV8“) in den Kalibrator-Amplifikationsreaktionen ausgesendeten Fluoreszenzsignale werden automatisch analysiert und von der Gerätesoftware mit den im Assay-Protokoll „HHV8 ELITE STD“ enthaltenen Parametern interpretiert.

Die für die Amplifikationsreagenzcharge spezifische Kalibrationskurve wird in der Datenbank („Calibration“) gespeichert. Sie kann von Mitarbeitern mit der Qualifikation „Administrator“ oder „Analyst“ unter Befolgung der Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche angezeigt und genehmigt werden.

Die für die Amplifikationsreagenziencharge spezifische Kalibrationskurve läuft **nach 60 Tagen** ab.

**Hinweis:** Erfüllt die Kalibrationskurve nicht die Annahmekriterien, wird die Meldung „Failed“ (nicht bestanden) auf dem Bildschirm „Calibration“ angezeigt und die Kurve kann nicht genehmigt werden. Die Kalibrator-Amplifikationsreaktionen müssen in diesem Fall wiederholt werden.

**Hinweis:** Wird die Kalibrationskurve zusammen mit Proben ausgeführt und ist ihr Ergebnis ungültig, so werden die Proben nicht quantifiziert und können nicht freigegeben werden. In diesem Fall muss die Amplifikation aller Proben ebenfalls wiederholt werden.

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

Die von der spezifischen HHV8-Sonde („HHV8“) und der spezifischen Sonde für die Internal Control („IC“) in der Amplifikationsreaktion der Positive Control und Negative Control ausgesendeten Fluoreszenzsignale werden automatisch analysiert und von der Gerätesoftware mit den in den Assay-Protokollen „HHV8 ELITE\_PC“ und „HHV8 ELITE\_NC“ enthaltenen Parametern interpretiert.

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

Die für die Amplifikationsreagenziencharge spezifischen Ergebnisse des Amplifikationslaufs für die Positive Control und die Negative Control laufen nach 15 Tagen ab.

Vor der Analyse von Proben ist es unbedingt erforderlich zu prüfen, ob die Amplifikation der Positive Control und Negative Control mit der zu verwendenden Amplifikationsreagenzcharge durchgeführt wurde und genehmigte und gültige Ergebnisse vorliegen. Die Verfügbarkeit der Ergebnisse der Amplifikation der Positive Control und Negative Control mit dem Status „Approved“ (Genehmigt) wird im Fenster „Controls“ (Kontrollen) auf der grafischen Benutzeroberfläche angezeigt. Fehlen die Ergebnisse des Amplifikationslaufs für die Positive Control und Negative Control, so sind sie wie oben beschrieben zu generieren.

Die Ergebnisse der Amplifikationsläufe für die Positive Control und Negative Control werden von der Gerätesoftware verwendet, um die Einrichtung der Regelkarten („Control Charts“) zu berechnen. Zum Einrichten der Regelkarte sind vier Ergebnisse der Positive Control und Negative Control aus vier verschiedenen Läufen erforderlich. Anschließend werden die Ergebnisse der Positive Control und der Negative Control zur Überwachung der Leistung der Amplifikationsstufen herangezogen. Weitere Informationen finden Sie im Benutzerhandbuch des Geräts.

**Hinweis:** Erfüllt das Ergebnis des Amplifikationslaufs für die Positive Control bzw. Negative Control nicht die Annahmekriterien, wird die Meldung „Failed“ (nicht bestanden) im Bildschirm „Controls“ angezeigt und das

**HHV8 ELITE MGB® Kit**  
**Reagenzien für die DNA-Amplifikation**  
**in Echtzeit**

REF RTS038PLD

Ergebnis kann nicht genehmigt werden. In diesem Fall muss die Amplifikationsreaktion der Positive Control bzw. Negative Control wiederholt werden.

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

**C. Validierung der Probenergebnisse**

Die von der spezifischen HHV8-Sonde („HHV8“) und der spezifischen Sonde für die Internal Control („IC“) in der jeweiligen Proben-Amplifikationsreaktion ausgesendeten Fluoreszenzsignale werden automatisch analysiert und von der Gerätesoftware mit den im Assay-Protokoll enthaltenen Parametern interpretiert.

**Hinweis:** Vor der Analyse von Proben ist es unbedingt erforderlich, die Kalibrationskurve und das Ergebnis der Amplifikationskontrollen für die verwendete Reagenziencharge zu generieren und zu genehmigen. Es wird empfohlen, die Positive und die Negative Control zusammen mit den Kalibratoren auszuführen. Dies ist jedoch nicht zwingend erforderlich. Die Verfügbarkeit einer Kalibrationskurve sowie von Ergebnissen des Amplifikationslaufs für die Positive und Negative Control mit dem Status „Approved“ (Genehmigt) wird in den Fenstern „Calibration“ (Kalibration) und „Control“ (Kontrolle) der ELITE InGenius Software angezeigt und im Abschnitt „Assay Parameters“ (Assayparameter) angegeben.

Die Ergebnisse sind in den vom Gerät generierten Berichten beschrieben („Result Display“ (Ergebnisanzeige)).

Der Probenlauf ist gültig, wenn die drei in der nachfolgenden Tabelle angegebenen Bedingungen erfüllt sind.

1) Kalibrationskurve	Status
HHV8 Q-PCR Standard	APPROVED (Genehmigt)
2) Positive Control	Status
HHV8 Positive Control	APPROVED (Genehmigt)
3) Negative Control	Status
HHV8 Negative Control	APPROVED (Genehmigt)

Das System interpretiert das Assay-Ergebnis für jede Probe automatisch gemäß dem Algorithmus der **ELITE InGenius Software** und den Parametern des Assay-Protokolls.

Die möglichen Ergebnismeldungen einer Probe sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt.

Ergebnis des Probenlaufs	Interpretation
HHV8: DNA Detected, quantity equal to XXX copies / mL (HSV1: DNA erkannt, Menge gleich XXX Kopien/ml)	<b>HHV8-DNA erkannt</b> innerhalb des Messbereich des Tests, Menge wie angezeigt.
HHV8: DNA Detected, quantity below LLoQ copies / mL (HSV1: DNA erkannt, Menge unter LLoQ Kopien/ml)	<b>HHV8-DNA erkannt</b> unterhalb der unteren Bestimmungsgrenze des Tests
HHV8: DNA Detected, quantity beyond ULoQ copies / mL (HSV1: DNA erkannt, Menge über ULoQ Kopien/ml)	<b>HHV8-DNA erkannt</b> oberhalb der oberen Bestimmungsgrenze des Tests
HHV8: DNA Not Detected or below LoD copies / mL (HSV1: DNA nicht erkannt oder Menge unter LoD Kopien/ml)	<b>HHV8-DNA nicht erkannt oder unterhalb der Nachweisgrenze</b> des Tests.
Invalid - Retest Sample (Ungültig - Probe erneut testen)	<b>Ungültiges Testergebnis</b> aufgrund von fehlerhafter Internal Control (falsche Extraktion oder Verschleppung des Inhibitors).

Nicht für die Ergebnisinterpretation geeignete Proben werden von der **ELITE InGenius Software** als „Invalid - Retest Sample“ (Ungültig - Probe erneut testen) ausgegeben. In diesem Fall wurde die Internal Control-DNA aufgrund von Problemen beim Amplifikations- oder Extraktionsschritt nicht effizient erkannt (Abbau von DNA, Verlust von DNA während der Extraktion oder Verschleppung von Inhibitoren im Eluat), was zu falsch-negativen Ergebnissen führen kann.

Wenn das Eluatvolumen ausreicht, kann die extrahierte Probe mithilfe eines Amplifikationslaufs im Modus „PCR Only“ (nur PCR) erneut getestet werden. Ist auch das zweite Ergebnis ungültig, muss die Probe beginnend mit der Extraktion eines neuen Aliquots im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) erneut getestet werden.

Proben, die sich für die Analyse eignen, in denen jedoch keine HHV8-DNA erkannt werden konnte, werden ausgegeben mit: „DNA Not Detected or below LoD“ (DNA nicht nachgewiesen oder unter Nachweisgrenze). In diesem Fall kann nicht ausgeschlossen werden, dass die HHV8-DNA bei einer Konzentration unter der Nachweisgrenze des Tests vorhanden ist (siehe „Leistungsmerkmale“).

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

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

#### D. Ausgabe des Probenergebnisberichts

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

Der „Sample Report“ zeigt die Details eines Probenlaufs sortiert nach Proben-ID (SID, „Sample ID“), d. h. nach Patient, an.

Der „Track Report“ zeigt die Details eines Probenlaufs spurweise an.

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

### ELiTe BeGenius®

### PROBEN UND KONTROLLEN

#### Proben

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

#### In EDTA entnommenes Vollblut

Die Vollblutproben für die Nukleinsäureextraktion müssen gemäß den Laborrichtlinien in EDTA entnommen werden. Außerdem dürfen sie 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. Bei Verwendung von gefrorenen Proben müssen die Proben unmittelbar vor der Extraktion aufgetaut werden, um einen möglichen Nukleinsäureabbau zu vermeiden.

**Hinweis:** Wird die DNA-Extraktion aus Vollblut mit dem **ELiTe BeGenius** und der **ELiTe BeGenius Software**, Version 2.0.0 (oder entsprechende spätere Versionen) durchgeführt, ist das Extraktionsprotokoll **HHV8 ELiTe\_Be\_WB\_200\_100** zu verwenden. Dieses Protokoll verarbeitet 200 µl Probe, fügt die **CPE** Internal Control bei 10 µl/Extraktion hinzu und eluiert die Nukleinsäuren in 100 µl.

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.

#### In EDTA entnommenes Plasma

Die Plasmaproben für die Nukleinsäureextraktion müssen gemäß den Laborrichtlinien in EDTA entnommen werden. Außerdem dürfen sie 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 Proben vor dem Einfrieren in Aliquote aufzuteilen, um wiederholten Gefrier- und Auftauzyklen vorzubeugen. Bei Verwendung von gefrorenen Proben müssen die Proben unmittelbar vor der Extraktion aufgetaut werden, um einen möglichen Nukleinsäureabbau zu vermeiden.

**Hinweis:** Wird die DNA-Extraktion aus Vollblut mit dem **ELiTe BeGenius** und der **ELiTe BeGenius Software**, Version 2.0.0 (oder entsprechende spätere Versionen) durchgeführt, ist das Extraktionsprotokoll **HHV8 ELiTe\_Be\_PL\_200\_100** zu verwenden. Dieses Protokoll verarbeitet 200 µl Probe, fügt die **CPE** Internal Control bei 10 µl/Extraktion hinzu und eluiert die Nukleinsäuren in 100 µl.

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.

#### Andere Proben:

Es liegen keine Daten zur Produktleistung mit DNA vor, die aus den folgenden klinischen Proben extrahiert wurde: Liquor und Hautbiopsien.

#### Störende Substanzen

Die Probe darf kein Heparin enthalten, um das Problem einer Inhibition und die Möglichkeit häufiger ungültiger Ergebnisse zu verhindern.

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.

#### Amplifikationskalibratoren und Amplifikationskontrollen

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

als Kalibratorset sind die vier Konzentrationswerte des **HHV8 ELiTe Standard** zusammen mit dem Protokoll „**HHV8 ELiTe\_Be\_STD**“ für **ELiTe BeGenius** zu verwenden, als Amplifikations-Positive Control ist **HHV8 - ELiTe Positive Control** zusammen mit dem Protokoll „**HHV8 ELiTe\_Be\_PC**“ für **ELiTe BeGenius** zu verwenden, als Amplifikations-Negative Control ist hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) zusammen mit dem Protokoll „**HHV8 ELiTe\_Be\_NC**“ für **ELiTe BeGenius** zu verwenden.

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

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

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

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

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

#### Qualitätskontrollen

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

**VERFAHREN BEI ELITe BeGenius**

Das beim Gebrauch des „HHV8 ELITe MGB Kit“ mit dem System ELITe BeGenius anzuwendende Verfahren besteht aus drei Schritten:

- Prüfung der Systembereitschaft
- Einrichtung des Laufs
- Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

**Prüfung der Systembereitschaft**

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

- ELITe BeGenius einschalten und den Modus „CLOSED“ (geschlossen) auswählen.
- Prüfen, ob die Kalibratoren (HHV8 Q-PCR Standard) ausgeführt und genehmigt wurden und noch nicht abgelaufen sind (Status). Dies kann auf der Startseite im Menü „Calibration“ (Kalibration) überprüft werden;
- Prüfen, ob die Amplifikationskontrollen (HHV8 - Positive Control, HHV8 Negative Control) ausgeführt und genehmigt wurden und noch nicht abgelaufen sind (Status). Dies kann auf der Startseite im Menü „Control“ (Kontrolle) überprüft werden;
- den Typ des Laufs auswählen und den Lauf einrichten; dazu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche zur Einrichtung des Laufs befolgen und die von ELITechGroup bereitgestellten Assay-Protokolle verwenden. Diese IVD-Protokolle wurden speziell mit ELITe MGB Kits, Matrices und dem Gerät ELITe BeGenius validiert.

Die für das «HHV8 ELITe MGB® Kit» verfügbaren Assay-Protokolle sind in der nachfolgenden Tabelle beschrieben.

Assay Protocols für „HHV8 ELITe MGB Kit“ und ELITe BeGenius			
Name	Matrix	Maßeinheit	Eigenschaften
HHV8 ELITe_Be_WB_200_100	Vollblut	Kopien/ml	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Eluatvolumen: 100 µl Internal Control: 10 µl Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
HHV8 ELITe_Be_PL_200_100	Plasma	Kopien/ml	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Eluatvolumen: 100 µl Internal Control: 10 µl Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl

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

**Einrichtung des Laufs**

Das HHV8 ELITe MGB Kit kann zusammen mit ELITe BeGenius zur Durchführung der folgenden Läufe verwendet werden:

- A. Probenlauf
- B. Amplifikationslauf (nur PCR)
- C. Kalibrationslauf (nur PCR),
- D. Lauf für Positive und Negative Control (nur PCR).

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

**Hinweis:** Das ELITe BeGenius System kann mit dem Laborinformationssystem (LIS, Laboratory Information System) verbunden werden, über das die Arbeitslauf-Informationen geladen werden können. Weitere Informationen finden Sie im Benutzerhandbuch des Geräts.

Die wichtigsten Schritte für die Einrichtung der vier Durchlaufstypen sind nachfolgend beschrieben.

**A. Probenlauf**

Gehen Sie zum Einrichten des integrierten Laufs wie folgt vor und befolgen Sie die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche:

1. Für den Lauf eine ausreichende Anzahl Röhrrchen HHV8 Q - PCR Mix auftauen. Jedes neue Röhrrchen reicht aus für die Vorbereitung von 24 Reaktionen unter optimalen Reagenzverbrauchsbedingungen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
2. Für den Lauf eine ausreichende Anzahl CPE-Röhrrchen auftauen. Jedes neue Röhrrchen reicht aus für 12 Extraktionen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
3. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
4. Die Racks aus der „Kühleinheit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.
5. Den Laufmodus wählen: „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR).
6. Die Proben in die Racks 5 und 4 laden (immer mit Rack 5 beginnen).
7. Das Rack in die „Kühleinheit“ einsetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.

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

8. Extraktionseingangsvolumen („Extraction Input Volume“, 200 µl) und extrahiertes Eluatvolumen („Extracted Eluate Volume“, 100 µl) kontrollieren.
9. Das zu verwendende Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ auswählen (d. h. HHV8 ELITe\_Be\_WB\_200\_100). Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
10. Schritt 7 bis 9 ggf. für Rack 4 wiederholen.
11. Die Elutionsröhrrchen in die Racks 3 und 2 laden (immer mit Rack 3 beginnen).

**Hinweis:** Elutionsröhrrchen können zur Verbesserung der Rückverfolgbarkeit etikettiert werden.

12. Das Rack in die „Kühleinheit“ einsetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
13. Schritt 12 ggf. für Rack 2 wiederholen.
14. CPE und HHV8 Q-PCR Mix in Rack 1 laden.
15. Das Rack 1 in die „Kühleinheit“ einsetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
16. Die Spitzenstände in den Bestandsbereich („Inventory Area“) laden und kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
17. Den Korb mit der PCR-Kassette in den Bestandsbereich laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
18. Den Korb mit den Extraktionskartuschen „ELITe InGenius SP 200“ und den für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
19. Die Gerätetür schließen.
20. Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

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

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

**HHV8 ELITe MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation  
in Echtzeit

REF RTS038PLD

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

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

#### B. Amplifikationslauf

Gehen Sie zum Einrichten des Amplifikationslaufs mit eluierten Proben wie folgt vor und befolgen Sie die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche:

1. Für den Lauf eine ausreichende Anzahl Röhrchen HHV8 Q - PCR Mix auftauen. Jedes neue Röhrchen reicht aus für die Vorbereitung von 24 Reaktionen unter optimalen Reagenzverbrauchsbedingungen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
2. Für den Lauf eine ausreichende Anzahl CPE-Röhrchen auftauen. Jedes neue Röhrchen reicht aus für 12 Extraktionen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
3. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
4. Die Racks 1, 2 und 3 aus der „Kühleinheit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.
5. Den Laufmodus wählen: „PCR Only“ (Nur PCR).
6. Die Proben in die Racks 3 und 2 laden (immer mit Rack 3 beginnen).
7. Das Rack in die „Kühleinheit“ einsetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
8. Selbst wenn keine Extraktion durchgeführt wird, das Extraktionseingangsvolumen („Extraction Input Volume“, 200 µl) und das extrahierte Eluatvolumen („Extracted Eluate Volume“, 100 µl) kontrollieren.
9. Das zu verwendende Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ auswählen (z. B. HHV8 ELITe\_Be\_WB\_200\_100). Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
10. Schritt 7 bis 9 für Rack 2 wiederholen.
11. CPE und HHV8 Q-PCR Mix in Rack 1 laden.
12. Das Rack 1 in die „Kühleinheit“ einsetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
13. Die Spitzenständer in den Bestandsbereich („Inventory Area“) laden und kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
14. Den Korb mit der PCR-Kassette in den Bestandsbereich laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
15. Die Gerätetür schließen.
16. Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

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

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

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

**HHV8 ELITe MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation  
in Echtzeit

REF RTS038PLD

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

#### C. Kalibrationslauf

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

1. Für den Lauf eine ausreichende Anzahl Röhrchen HHV8 Q - PCR Mix auftauen. Jedes neue Röhrchen reicht aus für die Vorbereitung von 24 Reaktionen unter optimalen Reagenzverbrauchsbedingungen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
2. Die HHV8 Q - PCR Standard-Röhrchen auftauen (Cal1: HHV8 Q-PCR Standards 10<sup>2</sup>, Cal2: HHV8 Q-PCR Standards 10<sup>3</sup>, Cal3: HHV8 Q-PCR Standards 10<sup>4</sup>, Cal4: HHV8 Q-PCR Standards 10<sup>5</sup>). Jedes Röhrchen reicht aus für 4 Läufe. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
3. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
4. Die Racks 1, 2 und 3 aus der „Kühleinheit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.
5. Den Laufmodus wählen: „PCR Only“ (Nur PCR).
6. Die Kalibratorröhrchen in die Racks 3 laden.
7. Das zu verwendende Assay-Protokoll der Spalte „Assay“ auswählen (z. B. HHV8 ELITe\_Be\_STD). Auf die Schaltfläche „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
8. HHV8 Q-PCR Mix in Rack 2 laden.
9. Das Rack 2 in die „Kühleinheit“ einsetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
10. Die Spitzenständer in den Bestandsbereich („Inventory Area“) laden und kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
11. Den Korb mit der PCR-Kassette in den Bestandsbereich laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
12. Die Gerätetür schließen.
13. Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

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

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

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

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

#### D. Lauf für die Positive Control und Negative Control

Gehen Sie zum Einrichten des Laufs für die Positive Control und Negative Control wie folgt vor und befolgen Sie die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche:

1. Für den Lauf eine ausreichende Anzahl Röhrchen HHV8 Q - PCR Mix auftauen. Jedes neue Röhrchen reicht aus für die Vorbereitung von 24 Reaktionen unter optimalen

**HHV8 ELITe MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation  
in Echtzeit

REF RTS038PLD

Reagenzverbrauchsbedingungen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.

2. Das Produkt HHV8 - ELITe Positive Control für die Amplifikation der Positive Control auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 4 Läufe. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
3. Für die Läufe mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie (wie Negative Control) in ein Elutionsröhrchen (im Lieferumfang des ELITe InGenius SP Consumable Set enthalten) überführen.
4. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
5. Die Racks 1, 2 und 3 aus der „Kühleinheit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.
6. Den Laufmodus wählen: „PCR Only“ (Nur PCR).
7. Die Röhrchen für die Positive und Negative Control in die Racks 3 laden.
8. Das zu verwendende Assay-Protokoll der Spalte „Assay“ auswählen (HHV8 ELITe\_Be\_PC und HHV8 ELITe\_Be\_NC). Auf die Schaltfläche „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
9. HHV8 Q-PCR Mix in Rack 2 laden.
10. Das Rack 2 in die „Kühleinheit“ einsetzen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
11. Die Spitzenständer in den Bestandsbereich („Inventory Area“) laden und kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
12. Den Korb mit der PCR-Kassette in den Bestandsbereich laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
13. Die Gerätetür schließen.
14. Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

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

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

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

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

**Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse**

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

ELITe BeGenius generiert Ergebnisse mithilfe des HHV8 ELITe MGB Kit und geht dabei folgendermaßen vor:

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

**HHV8 ELITe MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation  
in Echtzeit

REF RTS038PLD

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

**LEISTUNGSMERKMALE BEI ELITe InGenius  
und ELITe BeGenius**

Die analytische Sensitivität dieses Assays, ausgedrückt als 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 mithilfe von Plasmid-DNA getestet. Diese enthielt das Amplifikationsprodukt, dessen Ausgangskonzentration mit einem Spektrophotometer gemessen wurde. Die Plasmid-DNA wurde auf einen Titer von zirka 10 Kopien/20 µl bei Vorhandensein von Plasmid-DNA verdünnt. Diese enthielt die Internal Control mit einem Titer von 150.000 Kopien /20 µl. Diese Probe wurde in 18 Wiederholungen (Modus „PCR Only“ (nur PCR)) getestet. Dabei wurde die Amplifikation mit Produkten der ELITechGroup S.p.A. auf zwei verschiedenen Geräten durchgeführt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Proben	Anzahl	positiv	negativ
10 Kopien Plasmid-DNA HHV8 + 150.000 Kopien Internal Control	18	18	0

Die Nachweisgrenze (LoD) des HHV8 ELITe MGB® Kit wurde in Kombination mit in EDTA entnommenen **Plasma-** und **Vollblutproben** und den Systemen **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius** verifiziert (Modus „Extr + PCR“ (Extraktion + PCR)).

**Bei Vollblut:**

Die Nachweisgrenze dieses Assays wurde durch Testen von 20 Wiederholungen bei auf 117 Kopien/ml dotierten Vollblutproben auf den Systemen **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius** im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verifiziert. Die Proben waren mit dem Referenzmaterial „Human Herpes Virus Type 8 (HHV-8) Infectious Culture Fluid“ (ZeptoMetrix Corporation) dotiert.

Die LoD wird bestätigt, wenn mindestens 18 von 20 Replikaten gemäß CLSI EP17-A-Richtlinie ein positives Ergebnis haben.

Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen aufgeführt.

Nachweisgrenze bei Vollblutproben und ELITe InGenius					
Probe	LoD	Anzahl	Gültig	Positiv	Negativ
In EDTA entnommenes Vollblut	117 Kopien/ml	20	20	20	0

Nachweisgrenze bei Vollblutproben und ELITe BeGenius					
Probe	LoD	Anzahl	Gültig	Positiv	Negativ
In EDTA entnommenes Vollblut	117 Kopien/ml	20	20	20	0

Der LoD-Wert der HHV8-Zielsequenz wurde für in EDTA entnommenes Vollblut bei 117 Kopien/ml bestätigt.

**Bei Plasma:**

Die Nachweisgrenze dieses Assays wurde durch Testen von 20 Wiederholungen bei auf 98 Kopien/ml dotierten Plasmaproben auf den Systemen **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius** im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verifiziert. Die Proben waren mit dem Referenzmaterial „Human Herpes Virus Type 8 (HHV-8) Infectious Culture Fluid“ (ZeptoMetrix Corporation) dotiert.

Die LoD wird bestätigt, wenn mindestens 18 von 20 Replikaten gemäß CLSI EP17-A-Richtlinie ein positives Ergebnis haben.

Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen aufgeführt.

Nachweisgrenze bei Plasmaproben und ELITE InGenius					
Probe	LoD	Anzahl	Gültig	Positiv	Negativ
In EDTA entnommenes Plasma	98 Kopien/ml	20	20	20	0

Nachweisgrenze bei Plasmaproben und ELITE BeGenius®					
Probe	LoD	Anzahl	Gültig	Positiv	Negativ
In EDTA entnommenes Plasma	98 Kopien/ml	20	20	20	0

Der LoD-Wert der HHV8-Zielssequenz wurde für in EDTA entnommenes Plasma bei 98 Kopien/ml bestätigt.

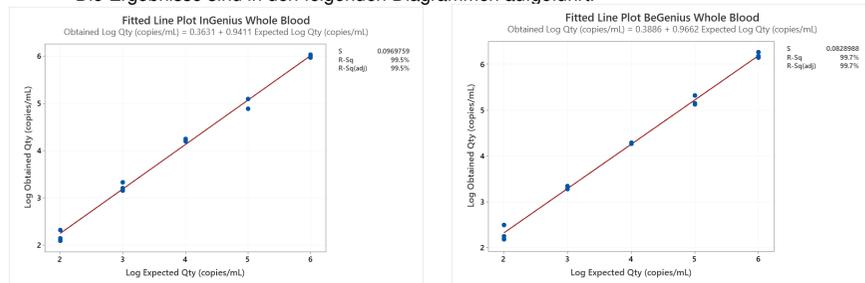
**Linearer Messbereich und Bestimmungsgrenzen**

Der lineare Messbereich des HHV8 ELITE MGB® Kits, das zusammen mit in EDTA entnommemen **Vollblut** und **Plasma** und **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius** mit einer Reihe von HHV8-Verdünnungen verifiziert. Die Reihe wurde durch Verdünnen von „Human Herpes Virus Type 8 (HHV-8) Infectious Culture Fluid“ (ZeptoMetrix Corporation) in HHV8-DNA-negativen Matrices vorbereitet. Die Reihe bestand aus fünf Verdünnungspunkten von  $1 \times 10^6$  Kopien/ml bis zirka  $2 \times 10^2$  Kopien/ml. Jede Probe der Reihe wurde in 3 Wiederholungen getestet.

**Bei Vollblut:**

Die Analyse der erhaltenen Daten mittels linearer Regressionsanalyse ergab, dass der Assay zusammen mit Vollblutproben bei allen Verdünnungen mit einem Quadrat des Korrelationskoeffizienten (R<sup>2</sup>) eine lineare Reaktion von 0,995 bei **ELITE InGenius** und 0,997 bei **ELITE BeGenius** aufweist.

Die Ergebnisse sind in den folgenden Diagrammen aufgeführt.



Die untere Quantifizierungsgrenze (LLOQ) wurde festgesetzt auf die LoD-Konzentration, bei der präzise (Standardabweichung = 0,1839 log Kopien/ml bei **ELITE InGenius** und 0,3488 log Kopien/ml bei **ELITE BeGenius**) und genaue (systematische Messabweichung = 0,0014 log Kopien/ml bei **ELITE InGenius** und 0,1329 log Kopien/ml bei **ELITE BeGenius**) quantitative Ergebnisse ausgegeben werden: 117 Kopien/ml.

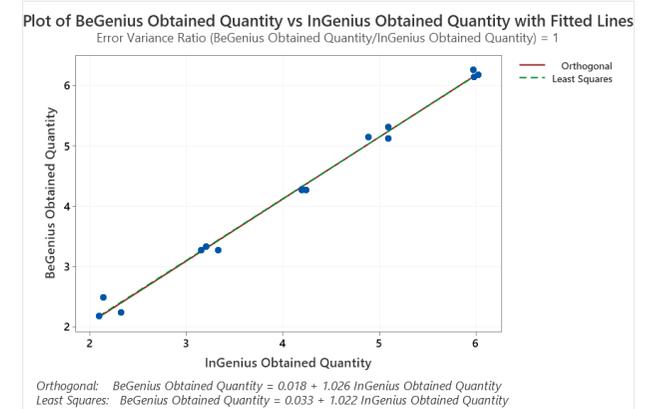
Die obere Nachweisgrenze (ULOQ) wurde auf die höchste getestete Konzentration festgesetzt, bei der präzise (Standardabweichung = 0,0302 log Kopien/ml bei **ELITE InGenius** und 0,06107 log Kopien/ml bei **ELITE BeGenius**) und genaue (systematische Messabweichung bis 0,0078 log Kopien/ml bei **ELITE InGenius** und -0,1914 log Kopien/ml bei **ELITE BeGenius**) quantitative Ergebnisse ausgegeben werden: 1.000.000 Kopien/ml.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Linearer Messbereich für Vollblutproben und ELITE InGenius® und ELITE BeGenius®		
Maßeinheit	Untere Grenze	Obere Grenze
<b>Kopien/ml</b>	<b>117</b>	<b>1.000.000</b>

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.

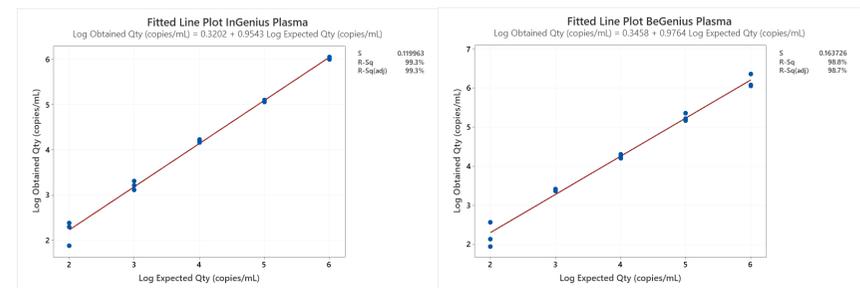


In diesem Test ergab die orthogonale Regressionsanalyse eine Steigung von 1,026 (95%-KI: 0,980; 1,072) und einen Achsenabschnitt von 0,018 (95%-KI: - 0,183; 0,219). Die Analyse der linearen Regression ergab einen R<sup>2</sup>-Wert von 0,993.

**Bei Plasma:**

Die Analyse der erhaltenen Daten mittels linearer Regressionsanalyse ergab, dass der Assay zusammen mit Plasmaproben bei allen Verdünnungen mit einem Quadrat des Korrelationskoeffizienten (R<sup>2</sup>) eine lineare Reaktion von 0,993 bei **ELITE InGenius** und 0,988 bei **ELITE BeGenius** aufweist.

Die Ergebnisse sind in den folgenden Diagrammen aufgeführt.



Die untere Quantifizierungsgrenze (LLOQ) wurde festgesetzt auf die LoD-Konzentration, bei der präzise (Standardabweichung = 0,1971 log Kopien/ml bei **ELITE InGenius** und 0,090 log Kopien/ml bei **ELITE BeGenius**) und genaue (systematische Messabweichung = 0,1537 log Kopien/ml bei **ELITE InGenius** und 0,2693 log Kopien/ml bei **ELITE BeGenius**) quantitative Ergebnisse ausgegeben werden: 98 Kopien/ml.

**HHV8 ELITE MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation  
in Echtzeit

REF RTS038PLD

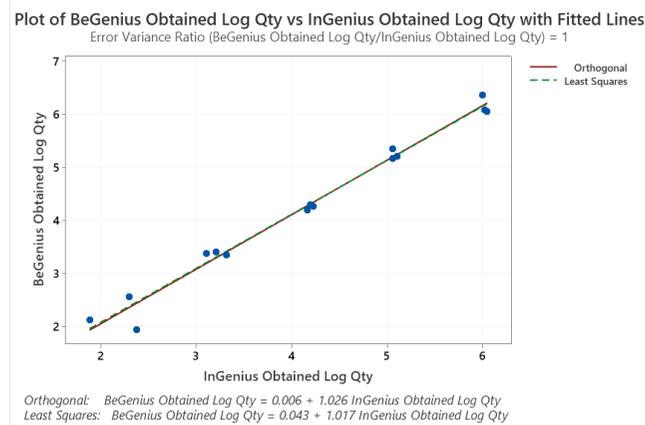
Die obere Nachweisgrenze (ULoQ) wurde auf die höchste getestete Konzentration festgesetzt, bei der präzise (Standardabweichung = 0,0245 log Kopien/ml bei **ELITE InGenius** und 0,1731 log Kopien/ml bei **ELITE BeGenius**) und genaue (systematische Messabweichung bis -0,0249 log Kopien/ml bei **ELITE InGenius** und -0,1647 log Kopien/ml bei **ELITE BeGenius**) quantitative Ergebnisse ausgegeben werden: 1.000.000 Kopien/ml.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Linearer Messbereich für Plasmaproben und ELITE InGenius® und ELITE BeGenius®		
Maßeinheit	Untere Grenze	Obere Grenze
Kopien/ml	98	1.000.000

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.



In diesem Test ergab die orthogonale Regressionsanalyse eine Steigung von 1,026 (95%-KI: 0,953; 1,099) und einen Achsenabschnitt von 0,006 (95%-KI: - 0,312; 0,324). Die Analyse der linearen Regression ergab einen R2-Wert von 0,983.

**Wiederholpräzision**

Die Wiederholpräzision der mit dem Produkt HHV8 ELITE MGB Kit in Kombination mit den Systemen **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius** erhaltenen Ergebnisse wurde durch Analyse einer Reihe von in EDTA entnommenen Vollblutproben getestet. Die Reihe umfasste eine negative Probe und zwei Proben, die in Konzentrationen von 3 x LoD (zirka 351 Kopien/ml) und von 10 x LoD (zirka 1170 Kopien/ml) mit zertifiziertem HHV8-Referenzmaterial („Human Herpes Virus Type 8 (HHV-8) Infectious Culture Fluid“ von ZepoMetrix) dotiert waren.

Die Wiederholpräzision innerhalb des Laufs wurde auf **ELITE InGenius** durch die Analyse von Panel-Proben in acht Wiederholungen, in zwei Läufen pro Tag und mit derselben Produktcharge, am selben Tag mit demselben Gerät durch ein und denselben Bediener bestimmt. Die Proben wurden an zufälligen Positionen verarbeitet.

Die laufübergreifende Wiederholpräzision wurde auf **ELITE InGenius** durch die Analyse von Panel-Proben in acht Wiederholungen, in zwei Läufen pro Tag und mit derselben Produktcharge, an zwei verschiedenen Tagen mit demselben Gerät durch ein und denselben Bediener bestimmt. Die Proben wurden an zufälligen Positionen verarbeitet.

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

**HHV8 ELITE MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation  
in Echtzeit

REF RTS038PLD

Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabellen zusammengefasst.

Wiederholpräzision innerhalb des Laufs, ELITE InGenius								
Probe	HHV8				Internal Control			
	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	0/8	-	n. a.:	-	24/24	25,39	0,44	1,75
3 x LoD	8/8	35,66	0,39	1,10				
10 x LoD	8/8	33,95	0,28	0,84				

Laufübergreifende Wiederholpräzision, ELITE InGenius								
Probe	HHV8				Internal Control			
	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	0/16	-	-	-	48/48	25,22	0,93	3,69
3 x LoD	16/16	35,58	0,51	1,44				
10 x LoD	16/16	33,93	0,56	1,65				

Beim Test der Wiederholpräzision auf **ELITE InGenius** erkannte der Assay die HHV8-Zielsequenz wie erwartet und wies niedrige VK % der Ct-Werte aus, die 1,65 % bei HHV8 und 3,69 % bei der Internal Control nicht überstiegen.

Die Wiederholpräzision innerhalb des Laufs wurde auf **ELITE BeGenius** durch die Analyse von Panel-Proben in acht Wiederholungen, in einem Lauf pro Tag und mit derselben Produktcharge, am selben Tag mit demselben Gerät bestimmt. Die Proben wurden an zufälligen Positionen verarbeitet.

Die laufübergreifende Wiederholpräzision wurde auf **ELITE BeGenius** durch die Analyse von Panel-Proben in acht Wiederholungen, in einem Lauf pro Tag und mit derselben Produktcharge, an zwei verschiedenen Tagen mit demselben Gerät bestimmt. Die Proben wurden an zufälligen Positionen verarbeitet.

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

Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabellen zusammengefasst.

Wiederholpräzision innerhalb des Laufs, ELITE BeGenius								
Probe	HHV8				Internal Control			
	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	0/8	-	-	-	24/24	28,70	0,95	3,29
3 x LoD	8/8	36,36	0,42	1,16				
10 x LoD	8/8	34,43	0,11	0,31				

Laufübergreifende Wiederholpräzision, ELITE BeGenius								
Probe	HHV8				Internal Control			
	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	0/16	-	-	-	48/48	28,54	1,16	4,05
3 x LoD	16/16	36,10	0,52	1,44				
10 x LoD	16/16	34,25	0,32	0,93				

Beim Test der Wiederholpräzision auf **ELITE BeGenius** erkannte der Assay die HHV8-Zielsequenz wie erwartet und wies niedrige VK % der Ct-Werte aus, die 1,44 % bei HHV8 und 4,05 % bei der Internal Control nicht überstiegen.

**Vergleichspräzision**

Die Vergleichspräzision der mit dem Produkt HHV8 ELITE MGB Kit in Kombination mit den Systemen **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius** erhaltenen Ergebnisse wurde durch Analyse einer Reihe von Plasmaproben getestet. Die Reihe umfasste eine negative Probe und zwei Proben, die in Konzentrationen von 3 x LoD (zirka 351 Kopien/ml) und von 10 x LoD (zirka 1170 Kopien/ml) mit

**HHV8 ELiTe MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation  
in Echtzeit

REF RTS038PLD

zertifiziertem HHV8-Referenzmaterial („Human Herpes Virus Type 8 (HHV-8) Infectious Culture Fluid“ von ZeptoMetrix) dotiert waren.

Die geräteübergreifende Vergleichspräzision wurde auf **ELiTe InGenius** durch die Analyse von Panel-Proben durch zwei verschiedene Bediener in acht Wiederholungen, in einem Lauf pro Tag, an zwei Tagen unter Verwendung derselben Charge und von zwei verschiedenen Geräten bestimmt. Die Proben wurden an zufälligen Positionen auf dem **ELiTe InGenius** System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet.

Die chargenübergreifende Vergleichspräzision wurde auf **ELiTe InGenius** durch die Analyse von Panel-Proben durch ein und denselben Bediener in acht Wiederholungen, in zwei Läufen pro Tag, unter Verwendung von zwei verschiedenen Chargen und mit demselben Gerät bestimmt. Die Proben wurden an zufälligen Positionen auf dem **ELiTe InGenius** System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet.

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

Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabelle zusammengefasst.

Geräteübergreifende Vergleichspräzision, ELiTe InGenius								
Probe	HHV8				Internal Control			
	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	0/8	-	-	-	24/24	24,40	1,49	6,11
3 x LoD	8/8	35,27	0,28	0,78				
10 x LoD	8/8	33,87	0,37	1,09				

Chargenübergreifende Wiederholpräzision, ELiTe InGenius								
Probe	HHV8				Internal Control			
	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	0/8	-	-	-	24/24	25,69	1,03	3,99
3 x LoD	8/8	35,47	0,49	1,38				
10 x LoD	8/8	33,84	0,31	0,92				

Beim Test der Vergleichspräzision auf **ELiTe InGenius** erkannte der Assay die HHV8-Zielsequenz wie erwartet und wies niedrige VK % der Ct-Werte aus, die 1,38 % bei HHV8 und 6,11 % bei der Internal Control nicht überstiegen.

Die geräteübergreifende Vergleichspräzision wurde auf **ELiTe BeGenius** durch die Analyse von Panel-Proben durch zwei verschiedene Bediener in acht Wiederholungen, in einem Lauf pro Tag, an zwei Tagen mit zwei verschiedenen Geräten bestimmt. Die Proben wurden an zufälligen Positionen auf dem **ELiTe BeGenius** System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet.

Die chargenübergreifende Vergleichspräzision wurde auf **ELiTe BeGenius** durch die Analyse von Panel-Proben in acht Wiederholungen, in zwei Läufen pro Tag, mit zwei verschiedenen Chargen und mit demselben Gerät bestimmt. Die Proben wurden an zufälligen Positionen auf dem **ELiTe BeGenius** System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet.

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

Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabelle zusammengefasst.

Geräteübergreifende Wiederholpräzision, ELiTe BeGenius								
Probe	HHV8				Internal Control			
	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	0/8	-	-	-	24/24	28,39	1,37	4,82
3 x LoD	8/8	36,19	0,61	1,70				
10 x LoD	8/8	24,24	0,42	1,22				

**HHV8 ELiTe MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation  
in Echtzeit

REF RTS038PLD

Chargenübergreifende Wiederholpräzision, ELiTe BeGenius								
Probe	HHV8				Internal Control			
	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
Negativ	0/8	-	-	-	24/24	28,83	1,02	3,55
3 x LoD	8/8	35,79	0,58	1,73				
10 x LoD	8/8	34,10	0,40	1,17				

Beim Test der Vergleichspräzision auf **ELiTe BeGenius** erkannte der Assay die HHV8-Zielsequenz wie erwartet und wies niedrige VK % der Ct-Werte aus, die 1,7 % bei HHV8 und 4,8 % bei der internen Kontrolle nicht überstiegen.

**Diagnostische Sensitivität: Bestätigung positiver Proben**

Die diagnostische Sensitivität des Assays als die Bestätigung positiver klinischer Proben wurde durch Analyse einiger HHV8-DNA-positiver klinischer Proben von in EDTA entnommenem Vollblut und Plasma in Zusammenhang mit dem Gerät **ELiTe InGenius** bewertet. Da **ELiTe BeGenius** gleichwertige analytische Leistungen wie **ELiTe InGenius** aufweist, ist die diagnostische Güte der auf den beiden Instrumenten durchgeführten Tests ebenfalls als gleichwertig anzusehen. Daher gilt die mit **ELiTe InGenius** erhaltene diagnostische Sensitivität des Assays auch für **ELiTe BeGenius**.

Für die Bewertung der diagnostischen Sensitivität wurden 30 in EDTA entnommene, HHV8-DNA-negative Vollblutproben, die durch Hinzufügen von „HUMAN HERPES VIRUS TYPE 8 (HHV-8) Infectious Culture Fluid“ (ZeptoMetrix Corporation) mit einem Titer von 750 Kopien/ml mit HHV8-DNA dotiert waren, und 30 in EDTA entnommene, HHV8-DNA-negative Plasmaproben, die durch Hinzufügen von „HHV8 Infectious Culture Fluid“ (ZeptoMetrix Corporation) mit einem Titer von 750 Kopien/ml mit HHV8-DNA dotiert waren, verwendet.

Für die Testung jeder Probe wurde das gesamte Analyseverfahren, die Extraktion, Amplifikation, Detektion und Ergebnisinterpretation, mit **ELiTe InGenius** und Produkten der ELiTechGroup S.p.A. durchgeführt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	Anzahl	positiv	negativ
In EDTA entnommenes, mit HHV8-DNA dotiertes Vollblut	30	30	0
In EDTA entnommenes, mit HHV8-DNA dotiertes Plasma	30	30	0

Alle Proben wurden als positiv bestätigt.

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

**Diagnostische Spezifität: Bestätigung negativer Proben**

Die diagnostische Spezifität des Assays als die Bestätigung negativer Proben wurde durch Analyse einiger HHV8-DNA-negativer, in EDTA entnommener klinischer Vollblut- und Plasmaproben zusammen mit **ELiTe InGenius** bewertet. Da **ELiTe BeGenius** gleichwertige analytische Leistungen wie **ELiTe InGenius** aufweist, ist die diagnostische Güte der auf den beiden Instrumenten durchgeführten Tests ebenfalls als gleichwertig anzusehen. Daher gilt die mit **ELiTe InGenius** erhaltene diagnostische Spezifität des Assays auch für **ELiTe BeGenius**.

Für die Bewertung der diagnostischen Spezifität wurden 32 in EDTA entnommene Vollblutproben von gesunden, vermutlich HHV8-DNA-negativen Spendern und 32 in EDTA entnommene Plasmaproben von gesunden, vermutlich HHV8-DNA-negativen Spendern bewertet.

Für die Testung jeder Probe wurde das gesamte Analyseverfahren, die Extraktion, Amplifikation, Detektion und Ergebnisinterpretation, mit „**ELiTe InGenius**™“ und Produkten der ELiTechGroup S.p.A. durchgeführt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	Anzahl	positiv	negativ
In EDTA entnommenes, HHV8-DNA-negatives Vollblut	32	0	32
In EDTA entnommenes, HHV8-DNA-negatives Plasma	32	0	32

Alle Proben wurden richtig erkannt.

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

ANDERE SYSTEME

PROBEN UND KONTROLLEN

Proben

Dieses Produkt muss mit aus den folgenden klinischen Proben **extrahierter DNA** verwendet werden: Liquor, in EDTA entnommenes Vollblut in EDTA entnommenes Plasma.

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, befolgen Sie bitte das Extraktionsprotokoll **Generic 2.0.1** und die folgenden Anweisungen: **500 µl** Probe in den 8-Well-Streifen überführen und die Extraktion ausführen. 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.

In EDTA entnommenes Vollblut

Die Vollblutproben für die Nukleinsäureextraktion müssen gemäß den Laborrichtlinien in EDTA entnommen werden. Außerdem dürfen sie 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.

Bei Verwendung von gefrorenen Proben müssen die Proben unmittelbar vor der Extraktion aufgetaut werden, um einen möglichen Nukleinsäureabbau zu vermeiden.

**Hinweis:** Wenn Sie die DNA-Extraktion aus Vollblut mit dem Kit „EXTRAblood“ durchführen, befolgen Sie bitte die Gebrauchsanweisung: Beginnen Sie ab **200 µl** Probenvolumen (nicht mehr als 2 Millionen Leukozyten) und eluieren Sie die DNA in **100 µl** Elutionspuffer.

**Hinweis:** Wenn Sie die DNA-Extraktion aus Vollblut mit „ELiTe STAR“ und der **Softwareversion 3.4.13** (oder entsprechende spätere Versionen) durchführen, verwenden Sie das Extraktionsprotokoll **UUNI\_E100\_S200\_ELI**, das 200 µl Probenvolumen verwendet und den Extrakt in 100 µl eluiert. Proben in Primärrohrröhrchen können direkt auf «ELiTe STAR» geladen werden. Für jede Probe ist immer ein Mindestvolumen von 700 µl erforderlich. **200 µl CPE** in ein Proteinase-Carrier-Röhrrchen geben, wie in der Gebrauchsanweisung des Extraktionskits angegeben. Informationen zum Extraktionsverfahren sind der Gebrauchsanweisung des Extraktionskits zu entnehmen.

**Hinweis:** Wenn Sie die DNA-Extraktion aus Vollblut mit „ELiTe GALAXY“ und der **Softwareversion 1.3.1** (oder entsprechende spätere Versionen) durchführen, verwenden Sie das Extraktionsprotokoll **xNA Extraction (Universal)**, das 300 µl Probenvolumen verwendet und den Extrakt in 200 µl eluiert. Proben in Primärrohrröhrchen können direkt auf „ELiTe GALAXY“ geladen werden. Für jede Probe ist immer ein Mindestvolumen von 400–650 µl, je nach Röhrrchentyp, erforderlich. **10 µl/Probe von CPE** hinzufügen. Der CPE muss wie in der Gebrauchsanweisung des Extraktionskits angegeben zur **IC + Trägerlösung** gegeben werden. Informationen zum Extraktionsverfahren sind der Gebrauchsanweisung des Extraktionskits zu entnehmen.

**Hinweis:** Wenn Sie die DNA-Extraktion aus Vollblut mit dem Gerät „NucliSENS® easyMAG®“ durchführen, befolgen Sie bitte das Extraktionsprotokoll **Generic 2.0.1** und die folgenden Anweisungen: **100 µl** Probe in den 8-Well-Streifen überführen, den Streifen auf das Gerät laden und die Extraktion ohne Lyseinkubation ausführen. Nachdem das Gerät **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 mithilfe der Mehrkanalpipette **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“ und der **Softwareversion 3.5** durchführen, verwenden Sie das Extraktionsprotokoll **Virus Blood\_200\_V4\_default IC** und befolgen Sie diese Anweisungen: Das Gerät kann ein Primärrohrröhrchen verwenden; für die Extraktion werden **200 µl** Probenvolumen benötigt; das stets erforderliche Totvolumen beträgt 100 µl. Die Röhrrchen mit dem ATE-Puffer wie in der Gebrauchsanweisung des Kits angegeben in das Fach „Internal Control“ auf dem Gerät laden; die Position, an der Eluate dispensiert werden, sowie das Elutionsvolumen von **60 µl** angeben (tatsächlich erfolgt die Elution in 90 µl, wovon 60 µl aufgefangen werden). Nähere Einzelheiten zum Extraktionsverfahren sind den Angaben in der Gebrauchsanweisung des Kits zu entnehmen.

In EDTA entnommenes Plasma

Die Plasmaproben für die Nukleinsäureextraktion müssen gemäß den Laborrichtlinien in EDTA entnommen werden. Außerdem dürfen sie 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.

Bei Verwendung von gefrorenen Proben müssen die Proben unmittelbar vor der Extraktion aufgetaut werden, um einen möglichen Nukleinsäureabbau zu vermeiden.

**Hinweis:** Wenn Sie die DNA-Extraktion aus Plasma mit „ELiTe STAR“ und der **Softwareversion 3.4.13** (oder entsprechende spätere Versionen) durchführen, verwenden Sie das Extraktionsprotokoll **UUNI\_E100\_S200\_ELI**, das 200 µl Probenvolumen verwendet und den Extrakt in 100 µl eluiert. Proben in Primärrohrröhrchen können direkt auf «ELiTe STAR» geladen werden. Für jede Probe ist immer ein Mindestvolumen von 700 µl erforderlich. **200 µl CPE** in ein Proteinase-Carrier-Röhrrchen geben, wie in der Gebrauchsanweisung des Extraktionskits angegeben. Informationen zum Extraktionsverfahren sind der Gebrauchsanweisung des Extraktionskits zu entnehmen.

**Hinweis:** Wenn Sie die DNA-Extraktion aus Plasma mit „ELiTe GALAXY“ und der **Softwareversion 1.3.1** (oder entsprechende spätere Versionen) durchführen, verwenden Sie das Extraktionsprotokoll **xNA Extraction (Universal)**, das 300 µl Probenvolumen verwendet und den Extrakt in 200 µl eluiert. Proben in Primärrohrröhrchen können direkt auf „ELiTe GALAXY“ geladen werden. Für jede Probe ist immer ein Mindestvolumen von 400–650 µl, je nach Röhrrchentyp, erforderlich. **10 µl/Probe von CPE** hinzufügen. Der CPE muss wie in der Gebrauchsanweisung des Extraktionskits angegeben zur **IC + Trägerlösung** gegeben werden. Informationen zum Extraktionsverfahren sind der Gebrauchsanweisung des Extraktionskits zu entnehmen.

Andere Proben:

Es liegen keine Daten zur Produktleistung mit DNA vor, die aus den folgenden klinischen Proben extrahiert wurde: Hautbiopsien.

Störende Substanzen

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

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.

Amplifikationskontrollen

Es ist unbedingt erforderlich, jeden Amplifikationslauf mit einer Negativkontrolle und einer Positivkontrolle zu validieren.

Bei der Negative Control muss statt der aus der Probe extrahierten DNA steriles bidestilliertes Wasser (nicht im Lieferumfang dieses Produkts enthalten) zur Reaktion hinzugefügt werden.

Für die Positive Control das Produkt „HHV8 - ELiTe Positive Control“ oder das Produkt „HHV8 ELiTe Standard“ verwenden.

**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.

**VERFAHREN**

**Einrichten des Echtzeit-Amplifikationslaufs**

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

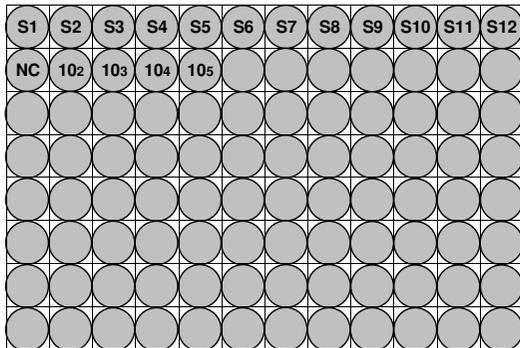
Bei Verwendung des Geräts **7300 Real-Time PCR System**.

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 HHV8-Sonde so einrichten, dass „reporter“ (Reporter) = „FAM“ und „quencher“ (Quencher) = „none“ (nicht fluoreszierend) ist, und „HHV8“ nennen.
- im Detector Manager den Detektor („detector“) für die Sonde für die interne Kontrolle 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** (105 Kopien, 104 Kopien, 103 Kopien, 102 Kopien) ausführen, um die **Standardkurve** zu erhalten.

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



**Legende:** S1 - S12: Zu analysierende Proben; NC: Negative Control der Amplifikation; 102: 102-Standardkopien; 103: 103-Standardkopien; 104: 104-Standardkopien; 105: 105-Standardkopien.

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.

Temperaturzyklus		
Phase	Temperaturen	Zeitsteuerung
Dekontamination	50 °C	2 min
Erste Denaturierung	94 °C	2 min
Amplifikation und Detektion (45 Zyklen)	94 °C	10 s
	60 °C (Fluoreszenzerfassung)	30 s
	72 °C	20 s
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 HHV8-Sonde so einrichten, dass „reporter“ (Reporter) = „FAM“ und „quencher“ (Quencher) = „none“ (nicht fluoreszierend) ist, und „HHV8“ 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** (105 Kopien, 104 Kopien, 103 Kopien, 102 Kopien) ausführen, um die **Standardkurve** zu erhalten.

Ein Beispiel für einen Aufbau der quantitativen Analyse einiger 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));

**HHV8 ELite MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation  
in Echtzeit

REF RTS038PLD

**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.

Temperaturzyklus		
Phase	Temperaturen	Zeitsteuerung
Dekontamination	50 °C	2 min
Erste Denaturierung	94 °C	2 min
Amplifikation und Detektion (45 Zyklen)	94 °C	10 s
	60 °C (Fluoreszenzerfassung)	30 s
	72 °C	20 s
Dissoziation (optional)	95 °C	15 s
	40 °C	30 s
	80 °C	15 s

**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 Röhrcchen **HHV8 Q - PCR Mix** auftauen und daran denken, dass jedes Röhrcchen für die Vorbereitung von **25 Reaktionen** ausreicht. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrcchen auf Eis lagern;
- die **HHV8 - Positive Control** oder die **HHV8 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.

1. **20 µl HHV8 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. **20 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. **20 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie** (nicht im Lieferumfang dieses Produkts enthalten) präzise in die Vertiefung der **Amplifikations-Mikrotiterplatte** der Negativkontrolle der Amplifikation mit dem Reaktionsgemisch pipettieren, wie zuvor im **Arbeitsblatt** festgelegt. Die Negativkontrolle 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 HHV8-DNA): **20 µl HHV8 - Positive Control** präzise in die entsprechende Vertiefung der **Amplifikations-Mikrotiterplatte** mit dem Reaktionsgemisch pipettieren, wie zuvor im **Arbeitsblatt** festgelegt. Die Positivkontrolle gut mischen, dazu das Volumen von 20 µl dreimal in das Reaktionsgemisch pipettieren. Bläschenbildung vermeiden.

**HHV8 ELite MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation  
in Echtzeit

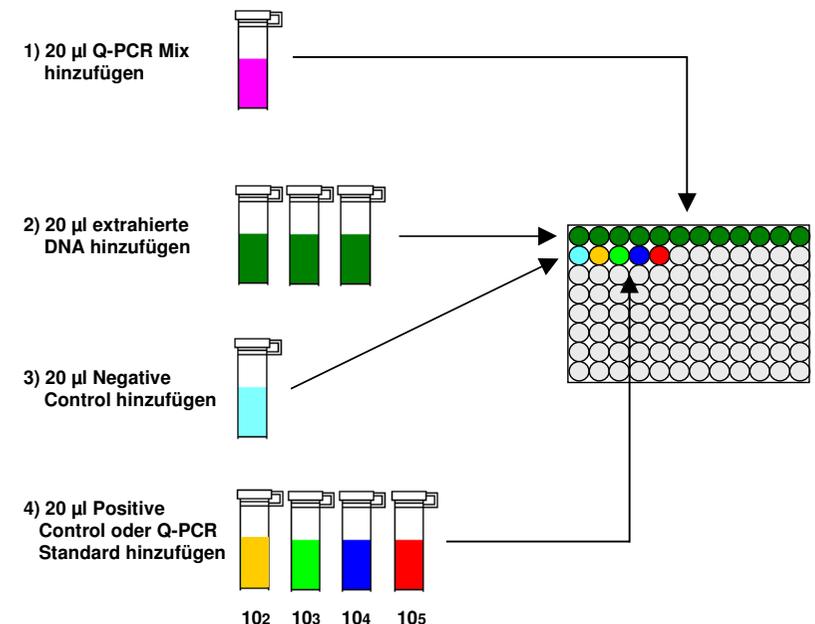
REF RTS038PLD

- Wenn ein **quantitatives** Ergebnis benötigt wird (Quantifizierung von HHV8-DNA): **20 µl HHV8 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 20 µl dreimal in das Reaktionsgemisch pipettieren. Bläschenbildung vermeiden. Mit den **HHV8 Q - PCR Standards 103, 104, 105** 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-HHV8-EGSpA“) 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.



**Hinweis:** Wenn die Vorbereitung der Amplifikationsreaktion mit dem Gerät „**ELITE GALAXY**“ durchgeführt wird, die Elutions-Mikrotiterplatte, den Q-PCR Mix und die Amplifikations-Mikrotiterplatte wie in der Gebrauchsanweisung des Geräts angegeben laden und die Schritte auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen.

**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.

**Qualitative Analyse der Ergebnisse**

Die aufgezeichneten Werte der von der spezifischen HHV8-Sonde (FAM-Detektor „HHV8“) 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 HHV8-DNA-Titer kann die FAM-Fluoreszenz der HHV8-spezifischen Sonde bereits vor dem 15. Zyklus 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 „HHV8“ 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 „HHV8“ 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 HHV8 („Results > Report“ (Ergebnisse > Bericht)) der Validierung der Amplifikation und des Nachweises, wie in der folgenden Tabelle dargestellt:

Reaktion der Positive Control FAM-Detektor „HHV8“	Assayergebnis	Amplifikation/Detektion
<b>Ct ≤ 25</b>	<b>POSITIV</b>	<b>KORREKT</b>

Wenn das Ergebnis der Amplifikationsreaktion der **Positive Control** bei HHV8 **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 Positivkontrolle, Abbau des Reaktionsgemischs oder der Positivkontrolle, falsche Einstellung der Position der Positivkontrolle, 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 HHV8-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 10s (Ct ≤ 25)** beachten.

In der Amplifikationsreaktion der **Negative Control** dient der **Ct-Wert** von HHV8 („Results > Report“ (Ergebnisse > Bericht)) der Validierung der Amplifikation und des Nachweises, wie in der folgenden Tabelle dargestellt:

Reaktion der Negativkontrolle FAM-Detektor „HHV8“	Assayergebnis	Amplifikation/Detektion
<b>Ct Undetermined (Ct unbestimmt)</b>	<b>NEGATIV</b>	<b>KORREKT</b>

Wenn das Ergebnis der Amplifikationsreaktion der **Negative Control** bei HHV8 **Ct Undetermined** (Ct unbestimmt) ist, 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 HHV8 zum Nachweis der Ziel-DNA, während der **Ct-Wert** der internen Kontrolle 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 des Gens des kleinen Kapsidproteins von HHV8 in der Amplifikationsreaktion nachzuweisen, die den Genomäquivalenten pro Reaktion entspricht (Nachweisgrenze für das Produkt, siehe Abschnitt „Leistungsmerkmale“).

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

Probenreaktion		Eignung der Probe	Assayergebnis	HHV8 DNA
FAM-Detektor „HHV8“	VIC-Detektor „IC“			
<b>Ct Undetermined (Ct unbestimmt)</b>	<b>Ct &gt; 35 oder Ct Undetermined (Ct unbestimmt)</b>	<b>ungeeignet</b>	<b>ungültig</b>	<b>-</b>
	<b>Ct ≤ 35</b>	<b>geeignet</b>	<b>gültig, negativ</b>	<b>NICHT ERKANNT</b>
<b>Ct Determined (Ct bestimmt)</b>	<b>Ct &gt; 35 oder Ct Undetermined (Ct unbestimmt)</b>	<b>geeignet</b>	<b>gültig, positiv</b>	<b>ERKANNT</b>
	<b>Ct ≤ 35</b>	<b>geeignet</b>	<b>gültig, positiv</b>	<b>ERKANNT</b>

Ist das Ergebnis der Amplifikationsreaktion einer Probe **Ct Undetermined** (Ct unbestimmt) bei HHV8 und **Ct > 35** oder **Ct Undetermined** bei der internen Kontrolle, bedeutet dies, dass es nicht möglich war, die DNA für die interne Kontrolle effizient nachzuweisen. In diesem Fall sind während des Amplifikationsschritts (ineffiziente oder nicht vorhandene Amplifikation) oder während des Extraktionsschritts (Verlust von DNA während der Extraktion oder Vorhandensein von Inhibitoren) 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 HHV8 und **Ct ≤ 35** bei der Internal Control, bedeutet dies, dass die HHV8-DNA in der aus der Probe extrahierten DNA nicht nachgewiesen wurde; es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass der Titer der HHV8-DNA unter der Nachweisgrenze des Produkts (siehe Abschnitt „Leistungsmerkmale“) 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 HHV8-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 HHV8-DNA verdrängt werden. In diesem Fall ist die Probe dennoch geeignet und das positive Ergebnis des Assays gültig.

**HHV8 ELITE MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation  
in Echtzeit

REF RTS038PLD

**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.

Bei den Amplifikationsreaktionen der vier **Q - PCR Standards** ermöglichen die **Ct**-Werte für HHV8 die Berechnung der **Standardkurve** („Results > Standard Curve“ (Ergebnisse > Standardkurve)) für den Amplifikationslauf sowie die Validierung der Amplifikation und Detektion, wie in der folgenden Tabelle dargestellt:

Standardkurve FAM-Detektor „HHV8“	Akzeptanzbereich	Amplifikation/Detektion
Korrelationskoeffizient (R2)	0,990 ≤ R2 ≤ 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 HHV8-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 des Gens des kleinen Kapsidproteins von HHV8 in der Amplifikationsreaktion zu quantifizieren, was den Genomäquivalenten pro Reaktion entspricht (linearer Messbereich des Produkts, siehe „Leistungsmerkmale“), wie in der folgenden Tabelle beschrieben:

Probenergebnis FAM-Detektor „HHV8“	HHV8-Genomäquivalente pro Reaktion
Menge > 1 x 10 <sup>6</sup>	MEHR ALS 1.000.000
1 x 10 <sup>1</sup> ≤ Menge ≤ 1 x 10 <sup>6</sup>	= Menge
Menge < 1 x 10 <sup>1</sup>	WENIGER ALS 10

Die Ergebnisse (**Menge**) der Amplifikationsreaktionen für die **Proben** („Results > Report“ (Ergebnisse > Bericht)) dienen zur Berechnung der Genomäquivalente (**gEq**) von HHV8, die in der extrahierten Probe vorhanden sind (**Nc**), gemäß dieser Formel:

$$Nc = \frac{Ve \times Menge}{Vc \times Va \times Ep}$$

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 „**ELITE STAR**“ zusammen mit in EDTA entnommenem Vollblut oder in EDTA entnommenem Plasma verwendet und muss das Ergebnis **in gEq/ml ausgedrückt** werden, ändert sich die Formel wie folgt:

$$Nc \text{ (gEq/ml)} = 28 \times Menge$$

Wird „**ELITE GALAXY**“ zusammen mit in EDTA entnommenem Vollblut oder in EDTA entnommenem Plasma verwendet und muss das Ergebnis **in gEq/ml ausgedrückt** werden, ändert sich die Formel wie folgt:

**HHV8 ELITE MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation  
in Echtzeit

REF RTS038PLD

$$Nc \text{ (gEq/ml)} = 35 \times Menge$$

Wird das Extraktionssystem „**NucliSENS® easyMAG®**“ zusammen mit in EDTA entnommenem Vollblutproben verwendet und muss das Ergebnis **in gEq/ml ausgedrückt** werden, ändert sich die Formel wie folgt:

$$Nc \text{ (gEq/ml)} = 50 \times Menge$$

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

$$Nc \text{ (gEq/ml)} = 10 \times Menge$$

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

$$Nc \text{ (gEq/ml)} = 23 \times Menge$$

Wird das Extraktionskit „**EXTRAblood**“ zusammen mit in EDTA entnommenem Vollblutproben verwendet und muss das Ergebnis **in gEq/ml ausgegeben** werden, ändert sich die Formel wie folgt:

$$Nc \text{ (gEq/ml)} = 25 \times Menge$$

**Berechnung der Grenzen des linearen Messbereichs**

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

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

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

Wird „**ELITE STAR**“ zusammen mit Vollblut oder in EDTA entnommenem Plasma verwendet, ändert sich die Formel wie folgt:

$$\begin{aligned} \text{Messbereichsgrenzen (gEq/ml) bei „ELITE STAR System“} \\ \text{Untere Grenze (gEq/ml)} &= 28 \times 10 \text{ gEq} \\ \text{Obere Grenze (gEq/ml)} &= 28 \times 1.000.000 \text{ gEq} \\ &\text{von 280 bis 28.000.000 gEq/ml} \end{aligned}$$

Wird „**ELITE GALAXY**“ zusammen mit Vollblut oder in EDTA entnommenem Plasma verwendet, ändert sich die Formel wie folgt:

**HHV8 ELITE MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation  
in Echtzeit

REF RTS038PLD

**Messbereichsgrenzen (gEq/ml) bei „ELITE GALAXY System“**

Untere Grenze (gEq/ml) = 35 x 10 gEq  
Obere Grenze (gEq/ml) = 35 x 1.000.000 gEq  
von 350 bis 35.000.000 gEq/ml

Wird das Extraktionssystem «NucliSENS® easyMAG®» zusammen mit zellulären Proben verwendet, ändert sich die Formel wie folgt:

**Messbereichsgrenzen (gEq/ml) bei «NucliSENS® easyMAG®»**

Untere Grenze (gEq/ml) = 50 x 10 gEq  
Obere Grenze (gEq/ml) = 50 x 1.000.000 gEq  
von 500 bis 50.000.000 gEq/ml

Wird das Extraktionssystem „NucliSENS® easyMAG®“ zusammen mit nicht zellulären Proben verwendet, ändert sich die Formel wie folgt:

**Messbereichsgrenzen (gEq/ml) bei «NucliSENS® easyMAG®»**

Untere Grenze (gEq/ml) = 10 x 10 gEq  
Obere Grenze (gEq/ml) = 10 x 1.000.000 gEq  
von 100 bis 10.000.000 gEq/ml

Wird das Extraktionssystem «QIASymphony® SP/AS» zusammen mit zellulären Proben verwendet, ändert sich die Formel wie folgt:

**Messbereichsgrenzen (gEq/ml) bei «QIASymphony® SP/AS»**

Untere Grenze (gEq/ml) = 23 x 10 gEq  
Obere Grenze (gEq/ml) = 23 x 1.000.000 gEq  
von 230 bis 23.000.000 gEq/ml

Wird das Extraktionskit «EXTRAblood» zusammen mit zellulären Proben verwendet, ändert sich die Formel wie folgt:

**Grenzen des linearen Messbereichs (gEq/ml) bei „EXTRAblood“**

Untere Grenze (gEq/ml) = 25 x 10 gEq  
Obere Grenze (gEq/ml) = 25 x 1.000.000 gEq  
von 250 bis 25.000.000 gEq/ml

**LEISTUNGSMERKMALE**

**Analytische Sensitivität: Nachweisgrenze**

Die analytische Sensitivität dieses Assays ermöglicht den Nachweis von zirka 10 Ziel-DNA-Molekülen in den 20 µl DNA, die der Amplifikationsreaktion hinzugefügt wurden.

Die analytische Sensitivität dieses Assays als dessen Nachweisgrenze wurde mithilfe einer Plasmid-DNA getestet. Diese enthielt das Amplifikationsprodukt, dessen Ausgangskonzentration mit einem Spektrophotometer gemessen wurde. Die Plasmid-DNA wurde auf einen Titer von 10 Kopien / 20 µl in einer humanen genomischen DNA mit einem Titer von 500 ng / 20 µl verdünnt. Diese Probe wurde in 50 Wiederholungen getestet. Dabei wurde die Amplifikation mit Produkten der ELITechGroup S.p.A. durchgeführt.

**HHV8 ELITE MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation  
in Echtzeit

REF RTS038PLD

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

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

Die analytische Sensitivität dieses Assays, der in Verbindung mit Vollblutproben und „ELITE GALAXY“ verwendet wurde, wurde mit einer Reihe von HHV8-Verdünnungen innerhalb der Grenzkonzentration verifiziert. Die Reihe wurde durch Verdünnen von „HHV8 Culture Fluid“ (ZeptoMetrix Corporation) in HHV8-DNA-negativem EDTA-Vollblut zubereitet. Die Viruskonzentrationen lagen im Bereich zwischen 10 gEq/ml und 560 gEq/ml. Jede Probe der Reihe wurde in 12 Wiederholungen getestet. Hierfür wurde das gesamte Analyseverfahren, die Extraktion und PCR-Einstellung mit ELITE GALAXY und die Amplifikation, mit Produkten der ELITechGroup S.p.A. durchgeführt. Die statistische Auswertung erfolgte mittels Probit-Regression. Die Nachweisgrenze wurde für die Konzentrationen berechnet, bei denen die Wahrscheinlichkeit eines positiven Ergebnisses bei 95 % liegt.

Die analytische Sensitivität in gEq/ml ist nachfolgend angegeben:

Nachweisgrenze für Vollblutproben und ELITE GALAXY (gEq/ml)			
		95 %-Konfidenzintervall	
		Untere Grenze	Obere Grenze
95 %-Positivität	117 gEq/ml	72 gEq/ml	326 gEq/ml

Die analytische Sensitivität dieses Assays, der in Verbindung mit Plasmaproben und „ELITE GALAXY“ verwendet wurde, wurde mit einer Reihe von HHV8-Verdünnungen innerhalb der Grenzkonzentration verifiziert. Die Reihe wurde durch Verdünnen von „HHV8 Culture Fluid“ (ZeptoMetrix Corporation) in HHV8-DNA-negativem EDTA-Plasma vorbereitet. Die Viruskonzentrationen lagen im Bereich zwischen 10 gEq/ml und 560 gEq/ml. Jede Probe der Reihe wurde in 12 Wiederholungen getestet. Hierfür wurde das gesamte Analyseverfahren, die Extraktion und PCR-Einstellung mit „ELITE GALAXY“ und die Amplifikation, mit Produkten der ELITechGroup S.p.A. durchgeführt. Die statistische Auswertung erfolgte mittels Probit-Regression. Die Nachweisgrenze wurde für die Konzentrationen berechnet, bei denen die Wahrscheinlichkeit eines positiven Ergebnisses bei 95 % liegt.

Die analytische Sensitivität in gEq/ml ist nachfolgend angegeben:

Nachweisgrenze für Plasmaproben und ELITE GALAXY (gEq/ml)			
		95 %-Konfidenzintervall	
		Untere Grenze	Obere Grenze
95 %-Positivität	98 gEq/ml	58 gEq/ml	336 gEq/ml

**Analytische Sensitivität: linearer Messbereich**

Die analytische Sensitivität dieses Assays ermöglicht die Quantifizierung von 1.000.000 bis 10 Ziel-DNA-Molekülen in den 20 µl DNA, die der Amplifikationsreaktion hinzugefügt wurden.

Die analytische Sensitivität dieses Assays, als linearer Messbereich, wurde mithilfe einer Verdünnungsreihe (1 log<sub>10</sub> zwischen einer Verdünnung und der nächsten) von 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 einem Logarithmus ab der höchsten Konzentration des Q - PCR Standard Amplifikationsstandards (10<sup>5</sup> Moleküle / 20 µl).

Die untere Grenze des linearen Messbereichs wurde auf 10 Moleküle pro Reaktion festgelegt, was den Genomäquivalenten pro Reaktion entspricht, innerhalb eines Logarithmus ab der niedrigsten Konzentration des Q - PCR Standard Amplifikationsstandards (10<sup>2</sup> Moleküle / 20 µl).

**HHV8 ELiTe MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation  
in Echtzeit

REF RTS038PLD

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

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

Die linearen Messbereichsgrenzen in gEq/ml in Bezug auf das verwendete Extraktionskit sind auf Seite 23 berechnet.

**Analytische Sensitivität: Präzision und Genauigkeit**

Die Präzision des Assays als die Variabilität der Ergebnisse, die mit mehreren Replikaten einer innerhalb ein und desselben Amplifikationslaufs getesteten Probe erhalten wurde, ergab einen mittleren prozentualen Variationskoeffizienten (VK %) von zirka 24,5 % der gemessenen Mengen innerhalb des Bereichs von 10<sup>6</sup> Molekülen bis 10<sup>1</sup> Molekülen in den 20 µl DNA, die der Amplifikationsreaktion hinzugefügt wurden.

Die Genauigkeit des Assays als die Differenz zwischen dem mit mehreren Replikaten einer innerhalb ein und desselben Amplifikationslaufs getesteten Probe erhaltenen Mittelwert der Ergebnisse und der theoretischen Konzentrationswert der Probe ergab eine mittlere prozentuale Ungenauigkeit (% Ungenauigkeit) von zirka 8,8 % der gemessenen Mengen innerhalb des Bereichs von 10<sup>6</sup> Molekülen bis 10<sup>1</sup> Molekülen in den 20 µl DNA, die der Amplifikationsreaktion hinzugefügt wurden.

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

**Diagnostische Sensitivität: Nachweis- und Quantifizierungseffizienz bei verschiedenen Genotypen/Subtypen**

Die diagnostische 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 Gen des kleinen Kapsidproteins von HHV8 verfügbaren Sequenzen ergab eine Erhaltung und ein Nichtvorhandensein von signifikanten Mutationen.

**Diagnostische Sensitivität: Bestätigung positiver Proben**

Die diagnostische Sensitivität des Assays als die Bestätigung positiver klinischer Proben wurde mithilfe einiger HHV8-DNA-positiver klinischer Proben von in EDTA entnommenem Vollblut getestet.

Für die Bewertung der diagnostischen Sensitivität wurden 19 in EDTA entnommene Vollblutproben, die alle HHV8-DNA-positiv waren (getestet mit einem CE-IVD-Produkt zur Echtzeit-Amplifikation) als Referenzmaterial 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.

Proben	Anz.	positiv	negativ
In EDTA entnommenes, HHV8-DNA-positives Vollblut	19	18	1

Eine Probe ergab mit Produkten der ELITechGroup S.p.A. ein negatives Ergebnis. Diese Nichtübereinstimmung kann dadurch erklärt werden, dass der HHV8-Titer der Probe sehr niedrig und unter der Nachweisgrenze der verwendeten Methode lag (250 gEq/ml).

Die diagnostische Sensitivität des Assays betrug bei diesem Test 94,7 %.

Zur Bewertung der diagnostischen Sensitivität wurden 30 in EDTA entnommene, HHV8-DNA-negative Plasmaproben, die durch Hinzufügen von „HHV8 Culture fluid sample“ (ZeptoMetrix, USA) mit HHV8-DNA dotiert waren, und 30 in EDTA entnommene, HHV8-DNA-negative Vollblutproben, die durch Hinzufügen von „HHV8 Culture fluid sample“ (ZeptoMetrix, USA) mit HHV8-DNA dotiert waren, verwendet. Mit jeder Probe wurde das gesamte Analyseverfahren durchgeführt: die Extraktion mit „ELITE STAR“ und die Amplifikation mit Produkten der ELITechGroup S.p.A.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

**HHV8 ELiTe MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation  
in Echtzeit

REF RTS038PLD

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	Anzahl	positiv	negativ
In EDTA entnommenes, HHV8-DNA-dotiertes Vollblut	30	30	0
In EDTA entnommenes, HHV8-DNA-dotiertes Plasma	30	30	0

Alle dotierten Proben wurden richtig als HHV8-DNA-positiv erkannt.

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

Zur Bewertung der diagnostischen Sensitivität wurden 31 HHV8-DNA-negative Plasmaproben, die durch Hinzufügen von „HHV8 Culture fluid sample“ (ZeptoMetrix, USA) mit HHV8-DNA dotiert waren, und 30 HHV8-DNA-negative Vollblutproben, die durch Hinzufügen von „HHV-8 Culture fluid sample“ (ZeptoMetrix, USA) mit HHV8-DNA dotiert waren, verwendet. Mit jeder Probe wurde das gesamte Analyseverfahren durchgeführt: die Extraktion und PCR-Einstellung mit **ELITE GALAXY** und die Amplifikation mit Produkten der ELITechGroup S.p.A.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	Anzahl	positiv	negativ
In EDTA entnommenes, HHV8-DNA-dotiertes Vollblut	30	30	0
In EDTA entnommenes, HHV8-DNA-dotiertes Plasma	31	30	0

Eine Plasmaprobe wurde aus der Studie ausgeschlossen, weil sie bei der Amplifikation ungültig war. Dieses Ergebnis wurde mit einer zweiten Amplifikation bestätigt und ist wahrscheinlich auf das Vorhandensein eines Inhibitors zurückzuführen.

30 Plasmaproben waren zur Analyse valide und wurden alle als positiv bestätigt. Alle dotierten Vollblutproben wurden richtig als HHV8-DNA-positiv erkannt.

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

**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 HHV8, darunter das komplette EBV-Genom, verfügbaren Sequenzen ergab, dass das humane Herpesvirus, das HHV8 am meisten ähnelt, 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 HHV8-DNA und positiv auf die DNA anderer Pathogene getesteter klinischer Proben überprüft.

Für die Überprüfung der analytischen Spezifität wurden 20 in EDTA entnommene, HHV8-DNA-negative, jedoch positiv auf die DNA von BKV, EBV und HHV8 getestete (getestet mit CE-IVD-Produkten zur Echtzeit-Amplifikation) Vollblutproben als Referenzmaterial 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.

Proben	Anz.	positiv	negativ
In EDTA entnommene, BKV-DNA-positives Vollblutproben	4	0	4
In EDTA entnommene, EBV-DNA-positives Vollblutproben	7	0	7
In EDTA entnommene, HHV8-DNA-positives Vollblutproben	9	0	9

Bei Proben, die positiv auf die DNA anderer Pathogene getestet wurden, war keine Kreuzreaktivität nachzuweisen.

**Diagnostische Spezifität: Bestätigung negativer Proben**

Die diagnostische Spezifität des Assays als die Bestätigung negativer klinischer Proben wurde mithilfe einiger HHV8-DNA-negativer klinischer Proben von in EDTA entnommenem Vollblut getestet.

**HHV8 ELiTe MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation  
in Echtzeit

REF RTS038PLD

Für die Bewertung der diagnostischen Spezifität wurden 20 in EDTA entnommene Vollblutproben, die alle HHV8-DNA-negativ waren (getestet mit einem CE-IVD-Produkt zur Echtzeit-Amplifikation) als Referenzmaterial 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.

Proben	Anz.	positiv	negativ
In EDTA entnommenes, HHV8-DNA-negatives Vollblut	20	0	20

Die diagnostische Spezifität des Assays lag bei diesem Test über 95 %.

Für die Bewertung der diagnostischen Spezifität wurden 30 in EDTA entnommene, vermutlich HHV8-DNA-negative Plasmaproben sowie 30 in EDTA entnommene, vermutlich HHV8-DNA-negative Vollblutproben (getestet mit einer Echtzeit-Amplifikationsmethode) verwendet. Mit jeder Probe wurde das gesamte Analyseverfahren durchgeführt: die Extraktion mit „ELiTe STAR“ und die Amplifikation mit Produkten der ELiTechGroup S.p.A.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	Anzahl	positiv	negativ
In EDTA entnommenes, HHV8-DNA-negatives Vollblut	30	0	27
In EDTA entnommenes, HHV8-DNA-negatives Plasma	30	0	30

Das Ergebnis von drei Proben war ungültig.

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

Für die Bewertung der diagnostischen Spezifität wurden 30 in EDTA entnommene, vermutlich HHV8-DNA-negative Plasmaproben sowie 30 in EDTA entnommene, vermutlich HHV8-DNA-negative Vollblutproben (getestet mit einer Echtzeit-Amplifikationsmethode) verwendet. Mit jeder Probe wurde das gesamte Analyseverfahren durchgeführt: die Extraktion und PCR-Einstellung mit dem **ELiTe GALAXY System** und die Amplifikation mit Produkten der ELiTechGroup S.p.A.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	Anzahl	positiv	negativ
In EDTA entnommenes, HHV8-DNA-negatives Plasma	30	0	30
In EDTA entnommenes, HHV8-DNA-negatives Vollblut	30	0	30

Alle Proben wurden richtig als HHV8-DNA-negativ erkannt.

Die diagnostische Spezifität des Assays betrug bei diesem Test 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 Dokumentation „HHV8 ELiTe MGB® Kit“, FTP RTS038PLD, aufgeführt.

**QUELLENANGABEN**

B. Bigoni et al (1996) *J Inf Dis* **173**: 542 - 549  
E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* **35**: e30

**GRENZEN DES VERFAHRENS**

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

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

**HHV8 ELiTe MGB® Kit**  
Reagenzien für die DNA-Amplifikation  
in Echtzeit

REF RTS038PLD

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: Hautbiopsien.

Dieses Produkt nur mit den validierten Instrumenten und den in Abschnitt „Proben und Kontrollen“ angegebenen zugehörigen klinischen Proben verwenden.

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

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

Aufgrund ihrer hohen analytischen Sensitivität ist die bei diesem Produkt verwendete Methode zur Echtzeit-Amplifikation empfindlich für Kreuzkontaminationen durch HHV8-positive klinische Proben, die Positive Controls und die gleichen Amplifikationsprodukte. Kreuzkontaminationen führen zu falsch-positiven Ergebnissen. Durch das Produktformat werden Kreuzkontaminationen begrenzt; trotzdem können Kreuzkontaminationen nur durch Einhaltung der guten Laborpraxis und sorgfältige Beachtung der vorliegenden Gebrauchsanweisung vermieden werden.

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

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

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

Bei manueller Einrichtung des Amplifikationslaufs ist eine räumliche Trennung von Extraktion/Vorbereitung der Amplifikationsreaktionen und Amplifikation/Detektion von Amplifikationsprodukten zu beachten, um falsch-positive Ergebnisse zu vermeiden.

Für die Verwendung des Produkts werden Spezialkleidung und Instrumente für die Extraktion/Vorbereitung der Amplifikationsreaktionen und die Amplifikation/Detektion von Amplifikationsprodukten benötigt, um falsch-positive Ergebnisse zu vermeiden.

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

Ein mit diesem Produkt erhaltenes negatives Ergebnis bedeutet, dass die HHV8-DNA nicht in der DNA, die aus der Probe extrahiert wurde, nachgewiesen wurde. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass die Erregerlast unter dem Detektionslimit des Produkts liegt (siehe „Leistungsmerkmale“). In diesem Fall kann das Ergebnis falsch-negativ sein.

Die mit diesem Produkt erhaltenen Ergebnisse können manchmal aufgrund von Ausfällen der internen Kontrolle ungültig sein und eine Wiederholung des Tests erfordern. Eine erneute Testung ab der Extraktion kann zu einer Verzögerung der endgültigen Testergebnisse führen.

Etwaige Polymorphismen in der Primer- oder Sondenbindungsregion des viralen Genoms können den Nachweis und die Quantifizierung der HHV8-DNA beeinträchtigen.

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

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

**FEHLERBEHEBUNG**

<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.	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.
Lauf wurde auf ELITE InGenius und ELITE BeGenius falsch eingerichtet.	Position von Reaktionsgemisch, Positivkontrolle oder Standards kontrollieren. Volumina von Reaktionsgemisch, Positivkontrolle oder Standards kontrollieren.
Abbau der Sonde.	Ein neues Aliquot des Reaktionsgemischs verwenden.
Positivkontrolle oder Abbau des Standards.	Ein neues Aliquot der Positivkontrolle oder des Standards verwenden.
Einstellfehler des Geräts.	Positionseinstellungen für die Positivkontrolle oder Standardreaktionen des Geräts überprüfen. Temperaturzyklus-Einstellungen des Geräts überprüfen.

<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, Negativkontrollen, Positivkontrollen oder Standards in die Vertiefungen der Mikrotiterplatten vorsichtig vorgehen und das Arbeitsblatt befolgen.
Lauf wurde auf ELITE InGenius und ELITE BeGenius falsch eingerichtet.	Position von Reaktionsgemisch, Positivkontrolle oder Standards kontrollieren. Volumina von Reaktionsgemisch, Positivkontrolle oder Standards kontrollieren.
Fehler beim Einstellen des Geräts.	Positionseinstellungen für Proben, Negativkontrollen, Positivkontrollen oder Standards auf dem Gerät überprüfen.
Mikrotiterplatte schlecht versiegelt.	Beim Versiegeln der Mikrotiterplatte vorsichtig vorgehen.
Kontamination des hochreinen Wassers für die Molekularbiologie.	Ein neues Aliquot Wasser 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.

<b>Ziel-DNA und Internal Control-DNA in den Probenreaktionen nicht 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 in die Vertiefungen der Mikrotiterplatten vorsichtig vorgehen und das Arbeitsblatt befolgen.
Lauf wurde auf ELITE InGenius und ELITE BeGenius falsch eingerichtet.	Position von Reaktionsgemisch oder Proben kontrollieren. Volumina von Reaktionsgemisch oder Proben kontrollieren.
Abbau der Internal Control.	Neue Aliquote der Internal Control verwenden.
Inhibition durch die Probe störende Substanzen.	Amplifikation der eluierten Probe mit einer 1:2-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „PCR Only“-Lauf (nur PCR) wiederholen. Extraktion und Amplifikation der Probe wiederholen.
Falsche Lagerung der Reagenzien.	Sicherstellen, dass das Reaktionsgemisch nicht mehr als 30 Minuten der Raumtemperatur ausgesetzt war.
Probleme bei der Extraktion.	Qualität und Konzentration der extrahierten DNA überprüfen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

<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.

<b>Anomale Dissoziationskurve</b>	
<b>Mögliche Ursachen</b>	<b>Abhilfemaßnahmen</b>
Fehlen eines definierten Peaks. Definierter Peak, der sich jedoch von dem der anderen Proben und der Standards oder Positivkontrolle unterscheidet.	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.

SYMBOLE

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

HINWEIS AN DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ

Dieses Produkt enthält von LTC lizenzierte Reagenzien.

Dieses Produkt wird im Rahmen von Lizenzvereinbarungen zwischen ELITechGroup S.p.A. und deren Tochtergesellschaften und LTC vertrieben. 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, LTC Corporation, 5791 Val Allen Way, Carlsbad, CA 92008, USA. Tel.: +1(760)603-7200. Fax: +1(760)602-6500. E-Mail: outlicensing@LTC.com.

ELITE MGB® Nachweisreagenzien sind durch eines oder mehrere der US-Patente mit den Nummern 6,127,121, 6,485,906, 6,660,845, 6,699,975, 6,727,356, 6,790,945, 6,949,367, 6,972,328, 7,045,610, 7,319,022, 7,368,549, 7,381,818, 7,662,942, 7,671,218, 7,715,989, 7,723,038, 7,759,126, 7,767,834, 7,897,736, 8,008,522, 8,067,177, 8,163,910, 8,389,745, 8,969,003, 8,980,855, 9,056,887, 9,085,800 und 9,169,256 und der EP-Patente mit den Nummern 0819133,1068358, 1144429, 1232157, 1261616 1430147, 1781675, 1789587, 1975256 und 2714939 sowie durch anhängige Patentanmeldungen geschützt.

Diese eingeschränkte Lizenz gestattet es der natürlichen oder juristischen Person, der dieses Produkt zur Verfügung gestellt wurde, das Produkt zu verwenden und die mithilfe des Produkts generierten Daten nur für humandiagnostische Zwecke zu verwenden. Weder die ELITechGroup S.p.A. noch deren Lizenzgeber gewähren weitere, ausdrückliche oder stillschweigende Lizenzen für andere Zwecke.

„ELITE MGB®“ und das „ELITE MGB®“-Gerätelogo sind eingetragene Marken in der Europäischen Union.

ELITE InGenius® und ELITE BeGenius® sind eingetragene Marken der ELITechGroup.

«NucliSENS® easyMAC®» sind eingetragene Marken von bioMérieux SA.

„QIASymphony®“ ist eine eingetragene Marke der QIAGEN GmbH.

Ficol® ist eine eingetragene Marke von GE Healthcare Bio-Sciences AB.

# HHV8 ELITE MGB® kit used with Genius series platforms

Ref: RTS038PLD



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

## A. Intended use

The HHV8 ELITE MGB® Kit is a Real-Time PCR assay for the **detection and quantification of Herpes human virus 8 (HHV8)**. The assay is CE-IVD validated in combination with the instruments **ELITE InGenius®** and **ELITE BeGenius®**.

## B. Amplified sequence

Target	Gene	Fluorophore
<b>HHV8</b>	minor capsid protein gene (ORF26)	FAM
<b>Internal Control</b>	Human beta globin gene	AP525 (VIC)

## C. Validated matrix

› **Whole blood** EDTA

› **Plasma** EDTA

## D. Kit content

**HHV8 Q-PCR Mix**  
4 tubes of 540 µL



X 4

- › Ready to use complete mixture
- › Number of tests per kit: 96
- › Freeze-thaw cycles per tube: 5
- › Maximum shelf-life: 24 months
- › Storage Temperature: - 20°C

## E. Material required not provided in the kit

- › **ELITE InGenius instrument:** INT030
- › **ELITE BeGenius instrument:** INT040
- › **ELITE InGenius SP200 Extraction Cartridge:** INT032SP200
- › **ELITE InGenius PCR Cassette:** INT035PCR
- › **ELITE InGenius SP200 Consumable Set:** INT032CS
- › **CPE - Internal Control:** CTCRCPE
- › **HHV8 ELITE Standard :** STD038PLD
- › **HHV8 - ELITE Positive Control :** CTR038PLD
- › **ELITE InGenius Waste Box :** F2102-000
- › **300 µL Filter Tips Axygen :** TF-350-L-R-S
- › **1000 µL Filter Tips Tecan :** 30180118

## F. Protocol

- |                               |        |                               |         |
|-------------------------------|--------|-------------------------------|---------|
| › Sample volume               | 200 µL | › Unit of quantitative result | cp/mL   |
| › CPE Internal Control volume | 10 µL  | › Frequency of controls       | 15 days |
| › Total eluate volume         | 100 µL | › Frequency of calibration    | 60 days |
| › PCR eluate input volume     | 20 µL  |                               |         |
| › HHV8 Q-PCR Mix volume       | 20 µL  |                               |         |

## G. Performance

Matrix	Limit of Detection	Diagnostic Sensitivity	Diagnostic Specificity
Whole Blood	<b>117 cp/mL</b>	<b>100%</b> 30/30*	<b>100%</b> 32/32*
Plasma	<b>98 cp/mL</b>	<b>100%</b> 30/30*	<b>100%</b> 32/32*

\*confirmed samples/ tested samples

Matrix	Linearity (copies/mL)
Whole Blood	<b>117 – 1,000,000</b>
Plasma	<b>98 – 1,000,000</b>

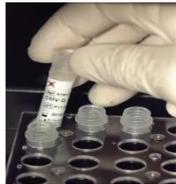
## H. Procedures ELITE InGenius

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

### Before analysis

<p><b>1.</b> Switch on ELITE InGenius Identification with username and password Select the mode "Closed"</p>	<p><b>2.</b> Verify calibrators: HHV8 Q-PCR standard in the "Calibration menu" Verify controls: HHV8 pos. and neg. controls in the "Control menu" <i>NB:</i> Both have been run, approved and not expired</p>	<p><b>3.</b> Thaw the HHV8 Q- PCR-Mix and the CPE Internal Control tubes Vortex gently Spin down 5 sec</p>
--	---	--

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

<p><b>1.</b> Select "Perform Run" on the touch screen</p> 	<p><b>2.</b> Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", elute: "100 µL"</p> 	<p><b>3.</b> Scan the sample barcodes with handheld barcode reader or type the sample ID</p> 
<p><b>4.</b> Select the "Assay protocol" of interest</p> 	<p><b>5.</b> Select the sample position: Primary tube or sonication tube</p> 	<p><b>6.</b> Load the Q-PCR-Mix and the CPE Internal Control in the inventory block</p> 
<p><b>7.</b> Load: PCR cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip, sonication tube and primary sample racks</p> 	<p><b>8.</b> Close the door Start the run</p> 	<p><b>9.</b> View, approve and store the results</p> 

### Procedure 2 - PCR only

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

### Procedure 3 - Extraction only

<p><b>1 to 4 :</b> Follow the Complete Run procedure described above</p>	<p><b>5.</b> Select the protocol "Extraction Only" and set the sample position : Primary tube or Secondary tube</p>	<p><b>6.</b> Load the CPE Internal Control in the inventory block</p>
<p><b>7.</b> Load: Extraction cartridge, Elution tube, Tip cassette, sonication tube and primary sample racks</p>	<p><b>8.</b> Close the door Start the run</p>	<p><b>9.</b> Archive the eluate sample</p>

## I. Procedures ELITE BeGenius

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

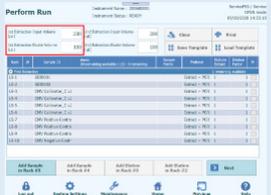
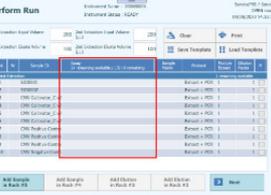
### Before analysis

1. Switch on ELITE BeGenius Identification with username and password  
Select the mode "Closed"
2. Verify calibrators: HHV8 Q-PCR standard in the "Calibration menu"  
Verify controls: HHV8 pos. and neg. controls in the "Control menu"  
*NB: Both have been run, approved and not expired*
3. Thaw the HHV8 Q- PCR-Mix and the CPE Internal Control tubes  
Vortex gently  
Spin down 5 sec

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

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

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

3. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Elute: "100 µL"  

4. Select the "Assay protocol" of interest  

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

6. Load the Q-PCR-Mix and the CPE Internal Control in Reagent Rack and insert it in the cooling area  

7. Load: Filter Tips, Extraction rack, and PCR rack  

8. Close the door. Start the run  

9. View, approve and store the results  


### Procedure 2 - PCR only

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

### Procedure 3 - Extraction only

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

# HHV8 ELITE MGB® Kit used with ABI PCR instrument



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

## A. Intended use

The HHV8 ELITE MGB® Kit is a Real-Time PCR assay for the **detection** and **quantification** of the DNA of **Herpes human virus 8 (HHV8)**.

The assay is CE-IVD validated in combination with **ABI PCR thermal cyclers** (Thermo-Fisher) and the following extraction systems: **ELITE STAR** (ELITechGroup), **ELITE GALAXY** (ELITechGroup), **easyMAG** (BioMérieux) or **QIASymphony** (Qiagen).

## B. Amplified sequence

Target	Gene	Fluorophore
HHV8	minor capsid protein gene (ORF26)	FAM
Internal Control	Human beta globin gene	AP525 (VIC)

## C. Validated matrix

› Whole blood EDTA

› Plasma EDTA

› Cerebrospinal fluid

## D. Kit content

**HHV8 Q-PCR Mix**  
4 tubes of 540 µL



X 4

- › Ready to use complete mixture
- › Number of tests per kit: 100
- › Freeze-thaw cycles per tube: 5
- › Maximum shelf-life: 24 months
- › Storage Temperature: - 20°C

## E. Material required not provided in the kit

- › 7500 Fast Dx and 7300 PCR Instrument
- › ELITE STAR: INTO10
- › ELITE STAR 200 extraction kit: INTO11EX
- › ELITE GALAXY: INTO20
- › ELITE GALAXY 300 extraction kit: INTO21EX

- › HHV8 ELITE Positive Control: CTR038PLD
- › HHV8 ELITE Standard: STD038PLD
- › CPE Internal Control: CTRCPE
- › easyMAG - Generic protocol 2.0.1
- › QIASymphony - DNA Mini kit or DSP Virus/Pathogen Midi kit
- › Molecular biology grade water

## F. Performance

System	Matrix	Limit of Detection	Diagnostic Sensitivity	Diagnostic Specificity
ELITE STAR - ABI	Whole Blood	–	<b>100%</b> (30/30)*	<b>100%</b> (27/30)*
	Plasma	–	<b>100%</b> (30/30)*	<b>100%</b> (30/30)*
ELITE GALAXY - ABI	Whole Blood	<b>117 gEq/mL</b>	<b>100%</b> (30/30)*	<b>100%</b> (30/30)*
	Plasma	<b>98 gEq/mL</b>	<b>100%</b> (30/30)*	<b>100%</b> (30/30)*

System	Linearity	Conversion factor cp/reaction to cp/mL
ELITE STAR - ABI	280 → 28 x 10 <sup>6</sup> (WB, PL)	28 (WB, PL)
ELITE GALAXY - ABI	350 → 35 x 10 <sup>6</sup> (WB, PL)	35 (WB, PL)
easyMAG - ABI	500 → 50 x 10 <sup>6</sup> (WB)	50 (WB)
QIASymphony - ABI	230 → 23 x 10 <sup>6</sup> (WB)	23 (WB)
	120 → 12 x 10 <sup>6</sup> (PL)	12 (PL)
EXTRAblood - ABI	250 → 25 x 10 <sup>6</sup> (WB)	25 (WB)

## G. Procedure

The procedure below summarized the main steps of the sample analysis with conventional PCR workflow: validated extraction systems, PCR instrument settings, PCR set-up and result interpretation.

### Extraction - Validated systems

Extraction	Validated matrix	Sample volume processed	Min. sample volume	Total eluate volume	CPE Internal Control volume
ELiTe Star	Whole Blood, Plasma	200 µL	700 µL	100 µL	200µL
ELiTe Galaxy	Whole Blood, Plasma	300 µL	400 µL	200 µL	10 µL
EasyMAG	CSF	500 µL	-	100 µL	5 µL
EasyMAG	Whole Blood	100	-	50	
QIAsymphony	Whole Blood,	200 µL	400 µL	95 µL	10 µL

### Amplification - Settings of 7500 Fast Dx and 7300 PCR instruments

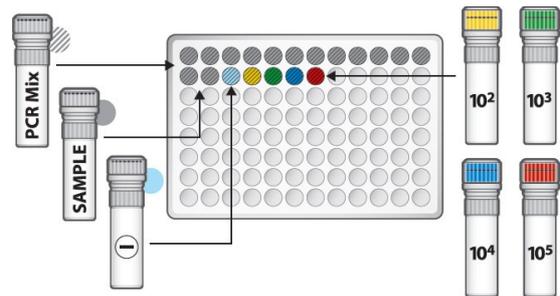
1. Switch on the thermal-cycler
2. Set "HHV8" detector with "FAM" and quencher "none"
3. Set "Internal Control" detector with "VIC" and quencher "none"
4. Set passive fluorescence as "Cy5" with 7500 Fast Dx and as "ROX" with 7300 instrument
5. Set up the thermal profil as indicated. Fluorescence acquisition must be set during hybridization step at 60°C

Stage	Temperature	Timing
Decontamination	50°C	2 min
Denaturation	94°C	2 min
Amplification and detection	94°C	10 sec
	60°C	30 sec
45 cycles	72°C	20 sec

*The melt curve analysis is optional, refer to the complete IFU*

### Amplification - PCR Set -up

1. Thaw HHV8 Q PCR-Mix and Q-PCR standard tubes
2. Mix gently and spin-down
3. Pipet **20 µL** of Q-PCR-Mix in all microplate wells in use
4. Add, **20 µL** of extracted DNA in sample wells, **20 µL** of molecular grade water in Negative Control well, and **20µL** of the 4 Q-PCR standards in standard curve wells, if quantitative, **20 µL** of the Positive Control, if qualitative. Each one has to be mixed by pipetting 3 times into the reaction mixture
5. Seal the microplate with the amplification sealing sheet
6. Transfer the microplate in the thermocycler and start



### Amplification - Threshold for qualitative analysis

Instrument	HHV8 FAM	Internal Control VIC
7500 Fast Dx Real Time PCR	0.2	0.1
7300 Real Time PCR	0.1	0.05

### Interpretation - Qualitative results

HHV8 Ct value	Internal Control Ct value	Interpretation
Determined	-	Positive
Undetermined	Ct ≤ 35	Negative
	Ct >35 or Undetermined	Invalid*

*\*Repeat the assay starting from the extraction*

### Interpretation - Quantitative results

The HHV8 ct value obtained for each sample and the standard curve generated are used to calculate the quantity of target DNA in the reaction.

The sample quantification ranges from approximately 10 to 10<sup>6</sup> gEq/reaction.