Instructions for use

HPV PLUS ELITe MGB® Kit

Reagenzien für die DNA-Real-Time-PCR

ELITechGroup
A BRUKER COMPANY

REF RTS402ING

UDI 08033891487393

CE 0123

IVD

ÄNDERUNGSVERLAUF

Rev.	Änderungsvermerk	Datum (TT.MM.JJJJ)
00	Neuproduktentwicklung	20/09/2024

INHALTSVERZEICHNIS

1 VERWENDUNGSZWECK 4
2 TESTPRINZIP 4
3 BESCHREIBUNG DES PRODUKTS 4
4 MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN 5
5 ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN 5
6 ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE 5
7 WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN 6
8 PROBEN UND KONTROLLEN 7
9 ELITe InGenius VERFAHREN 9
10 VERFAHREN BEI ELITe BeGenius 15
11 LEISTUNGSMERKMALE 19
12 REFERENZEN 35
13 GRENZEN DES VERFAHRENS 36
14 FEHLERBEHEBUNG 37
15 SYMBOLE 39
16 ANWENDERHINWEISE 40
17 HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ 41
Appendix A QUICK START GUIDE 42

1 VERWENDUNGSZWECK

Das Produkt **HPV PLUS ELITe MGB® Kit** ist ein In-vitro-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal in einem qualitativen Multiplex-Nukleinsäure-Real-Time-PCR-Assay zum Nachweis und zur Identifizierung der **genomischen DNA des humanen Papillomvirus**, genauer gesagt der folgenden 14 Hochrisiko-HPV-Typen bestimmt ist: Nachweis und Typisierung der Hochrisiko-HPV-Typen 16, 18, 31 und 45, Nachweis der HPV-HR1-Gruppe (33, 52, 58) und Nachweis der Hochrisiko-HPV-HR2-Gruppe, nicht impfbare Typen, (35, 39, 51, 56, 59, 66 und 68), aus klinischen Proben extrahiert.

Dieser Assay ist in Verbindung mit den Geräten **ELITe InGenius®** und **ELITe BeGenius®**, automatisierten und integrierten Systemen zur Extraktion, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation mit humanen Zervixproben, die für zytologische Untersuchungen in ein Fixiermittel auf Alkoholbasis eingelegt wurden, validiert.

Das Produkt ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Diagnose von HPV-Infektionen bei Patienten mit zervixzytologischen oder molekularbiologischen HPV-positiven Testergebnissen bestimmt. Bei der Interpretation der Ergebnisse müssen alle relevanten klinischen Beobachtungen und Laborbefunde herangezogen werden.

2 TESTPRINZIP

Der Assay ist eine qualitative Real-Time-PCR für den Nachweis von HPV-DNA, die aus Proben isoliert und mit dem Testreagenz **HPV PLUS PCR Mix**, das Primer und ELITe MGB- und TaqMan™ MGB-Technologie-Sonden enthält, amplifiziert wurde.

Die Sonden werden aktiviert, wenn sie mit den jeweiligen PCR-Produkten hybridisieren. **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius** überwachen den Fluoreszenzanstieg und berechnen die Schwellenwertzyklen (Ct) sowie die Schmelztemperaturen (Tm).

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

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

3 BESCHREIBUNG DES PRODUKTS

Das **HPV PLUS ELITe MGB Kit** enthält das Assay-Reagenz **HPV PLUS PCR Mix**, ein optimiertes und stabilisierter PCR Mix, der die spezifischen Primer und Sonden enthält für:

- **E6/E7**-Genomregion von HPV16 und HPV31, nachgewiesen in Kanal 1 (**HPV16_31**) und unterschieden nach Schmelztemperatur. Die Sonden sind durch den MGB stabilisiert, mit Eclipse Dark Quencher® gequencht und mit einem FAM-Farbstoff markiert.
- HPV18 und HPV45 **E6/E7**-Genomregion, nachgewiesen in Kanal 6 (**HPV18_45**) und unterschieden nach Schmelztemperatur. Die Sonden sind durch den MGB stabilisiert, mit Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor® 690 (AP690) markiert.
- **E6/E7**-Genomregion von HPV HR1 (HPV33, HPV52, HPV58), nachgewiesen in Kanal 5 (**HPV_HR1**). Die Sonden sind durch den MGB stabilisiert, mit Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 639 (AP639) markiert.
- **E6/E7**-Genomregion von HPV HR2 (HPV35, HPV39, HPV51, HPV56, HPV59, HPV66, HPV68), nachgewiesen in Kanal 4 (**HPV_HR2**). Die Sonden sind durch den MGB stabilisiert, mit Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 593 (AP593) markiert.
- Endogene Internal Control, spezifisch für das humane **beta-Globin**-Gen, nachgewiesen in Kanal 2 (**IC**). Die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 525 (AP525) markiert.

Der **HPV PLUS PCR Mix** enthält außerdem Puffer, Magnesiumchlorid, Nukleotidtriphosphate und „Hot-start"-DNA-Polymerase.

Die endogene Internal Control dient zur Überwachung der Zellularität der Probe, der Extraktion und der PCR-Effizienz.

Das **HPV PLUS ELITe MGB Kit** enthält ausreichend Reagenzien für **96 Tests** auf dem **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius (12 Tests pro Röhrchen)**, wobei 20 µl pro Reaktion verwendet werden.

Das **HPV PLUS ELITe MGB Kit** kann auch in Verbindung mit gleichwertigen Geräten verwendet werden.

4 MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN

Tabelle 1

Komponente	Beschreibung	Menge	Gefahrenklasse
HPV PLUS PCR Mix Art.-Nr. RTS402ING	Gemisch aus Reagenzien für die Real-Time-PCR in Röhrchen **WEISSEM Verschluss**	**8 x 280 µl**	**-**

5 ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN

- Laminar-Flow-Haube.

- Puderfreie Einweghandschuhe aus Nitril oder einem ähnlichen Material.

- Vortex-Mixer.

- Tischzentrifuge (~5.000 U/min).

- Tisch-Mikrozentrifuge (~13.000 U/min).

- Mikropipetten und sterile Spitzen mit Aerosolfilter oder sterile Direktverdrängerspitzen (0,5–10 µl, 2–20 µl, 5–50 µl, 50–200 µl, 200–1000 µl).

- sterile 2,0-ml-Röhrchen mit Schraubverschluss (Sarstedt, Deutschland, Art.-Nr. 72.694.005).

- Hochreines Wasser für die Molekularbiologie.

6 ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE

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

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

Tabelle 2

Geräte und Software	Produkte und Reagenzien
ELITe InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, Art.-Nr. INT030) **ELITe InGenius Software** Version 1.3.0.19 (oder später) **HPV PLUS ELITe _PC**, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Positive Control-Analyse **HPV PLUS ELITe _NC**, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Negative Control-Analyse **HPV PLUS ELITe_Cyt_Sense_200_100**, Assay-Protokoll mit Parametern für die Zervixprobenanalyse.	**ELITe InGenius SP200** (EG SpA, Art.-Nr. INT032SP200) **ELITe InGenius SP 200 Consumable Set** (EG SpA, Art.-Nr. INT032CS) **ELITe InGeniusPCR Cassette** (EG SpA, Art.-Nr. INT035PCR), **ELITe InGenius Waste Box** (EG SpA, Art.-Nr. F2102-000) **300 µL Filter Tips Axygen** (Corning Life Sciences Inc., Art.-Nr. TF-350-L-R-S), nur mit ELITe InGenius **1000 µL Filter Tips Tecan** (Tecan, Schweiz, Art.-Nr. 30180118) nur mit ELITe BeGenius **HPV PLUS - ELITe Positive Control** (EG SpA, Art.-Nr. CTR402ING) **ThinPrep® Pap Test PreservCyt® Solution** (Hologic, Inc., Bestell-Nr. 70098-002, 20 ml PreservCyt® Solution). **BD SurePath™ Collection Vial 10 mL** (Becton, Dickinson and Company, Bestell-Nr. 491439 / 491438 / 491440, 10 ml SurePath® Preservative Fluid [Konservierungslösung]).
ELITe BeGenius (EG SpA, Art.-Nr. INT040) **ELITe BeGenius Software** Version 2.2.1 (oder später) **HPV PLUS ELITe_Be _PC**, Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Positive Control-Analyse **HPV PLUS ELITe_Be _NC**, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Negative Control-Analyse **HPV PLUS ELITe _Be _Cyt_Sense_200_100**, Assay-Protokoll mit Parametern für die Zervixprobenanalyse.	

7 WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

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

7.1 Allgemeine Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

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

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

Geeignete Schutzkleidung und Schutzhandschuhe sowie Augen-/Gesichtsschutz tragen.

Lösungen niemals mit dem Mund pipettieren.

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

Nach der Handhabung von Proben und Reagenzien gründlich die Hände waschen.

Restliche Reagenzien und Abfälle gemäß den geltenden Vorschriften entsorgen.

Vor der Durchführung des Assays alle bereitgestellten Anweisungen aufmerksam lesen.

Bei der Durchführung des Tests die bereitgestellten Produktanweisungen befolgen.

Das Produkt nicht nach dem angegebenen Ablaufdatum verwenden.

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

Keine Reagenzien aus unterschiedlichen Chargen verwenden.

Keine Reagenzien anderer Hersteller verwenden.

7.2 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen für die Molekularbiologie

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

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

Die Proben müssen geeignet und möglichst für diese Art der Analyse bestimmt sein. Proben müssen unter einer Laminar-Flow-Haube gehandhabt werden. Die zur Verarbeitung der Proben verwendeten Pipetten dürfen ausschließlich für diesen Zweck verwendet werden. Die Pipetten müssen entweder Direktverdrängungspipetten sein oder zusammen mit Aerosolfilterspitzen verwendet werden. Die verwendeten Spitzen müssen steril und sowohl DNase- und RNase-frei als auch DNA- und RNA-frei sein.

Die Reagenzien müssen unter einer Sicherheitswerkbank gehandhabt werden. Die Pipetten, die für die Handhabung der Reagenzien verwendet werden, dürfen nur für diesen Zweck verwendet werden. Die Pipetten müssen entweder Direktverdrängungspipetten sein oder zusammen mit Aerosolfilterspitzen verwendet werden. Die verwendeten Spitzen müssen steril, frei von DNasen und RNasen sowie frei von DNA und RNA sein.

Die Extraktionsprodukte müssen so verwendet werden, dass eine Freisetzung in die Umgebung minimiert wird, um die Möglichkeit einer Kontamination zu vermeiden.

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

7.3 Komponentenspezifische Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Tabelle 3

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

* mit zwischenzeitlichem Gefrierzyklus

8 PROBEN UND KONTROLLEN

8.1 Proben

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

Tabelle 4

Probe	Anforderungen an die Entnahme	Transport-/Lagerbedingungen			
		+16 / +26 °C (Raumtemperatur)	**+2 / +8 °C**	**-20 ± 10 °C**	**-70 ± 15 °C**
Zervixprobe für die Flüssigzytologie	ThinPrep® Pap Test PreservCyt® Solution (Hologic, Inc.)	≤ 6 Monate	≤ 6 Monate	n. e.	n. e.
	BD SurePath™ Collection Vial 10 mL (Becton, Dickinson and C.)	≤ 3 Monate	≤ 6 Monate	n. e.	n. e.

n. e.: nicht empfohlen

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

Tabelle 5

Assay-Protokolle (Assay Protocol) für HPV PLUS ELITe MGB Kit				
Probe	**Instrument**	**Name des Assay-Protokolls**	**Melden Sie**	**Eigenschaften**
Zervixprobe für die Flüssigzytologie	**ELITe InGenius**	**HPV PLUS ELITe_Cyt_Sense_200_100**	Positiv/ negativ	Extraktion Eingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: KEINE Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 PCR Mix-Volumen: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
	ELITe BeGenius	**HPV PLUS ELITe_Be_Cyt_Sense_200_100**	Positiv/ negativ	

Bei allen Protokollen müssen 200 µl Probe in ein Extraction Tube (Extraktionsröhrchen) (bei ELITe InGenius) bzw. ein 2-ml-Sarstedt-Röhrchen (bei ELITe BeGenius) überführt werden.

HINWEIS!

Das Pipettieren in das **Extraktionsröhrchen** oder das **2-ml-Sarstedt-Röhrchen** kann **Kontamination verursachen**. Die geeigneten Pipetten verwenden und alle im Abschnitt „7 WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN page 6“ aufgeführten Empfehlungen befolgen.

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

Daten zu störenden Substanzen sind im Abschnitt „11 LEISTUNGSMERKMALE page 19“ sind „Potenziell interferierende Substanzen“ aufgeführt.

8.2 PCR-Kontrollen

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

- Für die Positive Control das Produkt **HPV PLUS - ELITe Positive Control** (nicht in diesem Kit enthalten) mit den Assay-Protokollen **HPV PLUS ELITe _PC** oder **HPV PLUS ELITe _Be_PC** verwenden.
- Für die Negative Control hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) mit den Assay-Protokollen **HPV PLUS ELITe _NC** oder **HPV PLUS ELITe _Be_NC** verwenden.

HINWEIS!

ELITe InGenius und **ELITe BeGenius** ermöglichen die Erstellung und Speicherung der Validierung der PCR-Kontrollen für jede PCR-Reagenziencharge. Die Ergebnisse der PCR-Kontrollen verfallen nach **15 Tagen**, danach müssen die Positive Control und die Negative Control erneut verarbeitet werden. Die PCR-Kontrollen müssen erneut generiert werden, wenn eines der folgenden Ereignisse eintritt:

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

8.3 Qualitätskontrollen

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

9 ELITe InGenius VERFAHREN

Das beim Gebrauch des **HPV PLUS ELITe MGB Kit** mit dem **ELITe InGenius** anzuwendende Verfahren besteht aus drei Schritten:

Tabelle 6

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

9.1 SCHRITT 1 - Prüfung der Systembereitschaft

Vor Beginn des Laufs:

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

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

9.2 SCHRITT 2 - Einrichtung des Laufs

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

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

B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR]),

C. Lauf für die Positive Control und Negative Control (PCR Only [nur PCR]).

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

HINWEIS!

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

Vor dem Einrichten eines Laufs:

Die benötigten **PCR Mix**-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für **12 Tests** unter optimalen Bedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

HINWEIS!

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

Zum Einrichten eines der drei Lauftypen die folgenden Schritte unter Beachtung der grafischen Benutzeroberfläche ausführen.

Tabelle 7

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	**B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])**	**C. Lauf für Positive und Negative Control (PCR Only [nur PCR])**
1	**Proben identifizieren** und, falls erforderlich, auf Raumtemperatur auftauen. Für diesen Assay müssen 200 µl Probe in ein zuvor etikettiertes Extraktionsröhrchen überführt werden.	**Elutionsröhrchen** mit den extrahierten Nukleinsäuren auf Raumtemperatur **auftauen**. Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.	Positive Control-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur **auftauen**. Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. (Jedes Röhrchen reicht aus für 4 Reaktionen.) Die **Negative Control vorbereiten**: dazu mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie in ein „Elution Tube“ (Elutionsröhr.) überführen, das im Lieferumfang des ELITe InGenius SP 200 Consumable Set enthalten ist.
2	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
3	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.
4	Für jede Probe eine Spur zuweisen und unter „SampleID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.	Für jede Probe eine Spur zuweisen und unter „SampleID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.	Nicht anwendbar

Tabelle 7 (continued)

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])	C. Lauf für Positive und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
5	**Das Assay-Protokoll** in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „8 PROBEN UND KONTROLLEN page 7“).	**Das Assay-Protokoll** in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „8 PROBEN UND KONTROLLEN page 7“).	**Das Assay-Protokoll** in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „8 PROBEN UND KONTROLLEN page 7“). Die Chargennummer und das Ablaufdatum der Positive Control und des hochreinen Wassers für die Molekularbiologie eingeben.
6	Sicherstellen, dass unter „Protocol“ (Protokoll) Folgendes angezeigt wird: „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR).	In der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) auswählen.	Sicherstellen, dass in der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) ausgewählt ist.
7	Als Proben-Ladeposition „Extraction Tube“ (Extraktionsröhrchen) in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) auswählen.	Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr [untere Reihe]) lautet.	Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr [untere Reihe]) lautet.
8	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
9	PCR Mix gemäß der „Load List“ (Ladeliste) auf den „Inventory Block“ (Bestandsblock) **laden** und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.	PCR Mix gemäß der „Load List“ (Ladeliste) auf den „Inventory Block“ (Bestandsblock) **laden** und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.	PCR Mix gemäß der „Load List“ (Ladeliste) auf den „Inventory Block“ (Bestandsblock) **laden** und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.
10	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
11	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.
12	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
13	PCR Cassette, ELITe InGenius SP 200 Extraktionskartuschen und alle benötigten Verbrauchsmaterialien und zu extrahierenden Proben **laden**.	PCR Cassette und Elution Tube (Elutionsröhrchen) mit extrahierten Proben **laden**.	PCR Cassette, Positive Control- und Negative Control-Röhrchen **laden**.
14	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
15	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.
16	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

9.3 SCHRITT 3 - Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

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

Am Ende des Laufs wird der Bildschirm „Results Display“ (Ergebnisanzeige) automatisch angezeigt. Auf diesem Bildschirm werden die Ergebnisse und Laufdaten angezeigt. Über diesen Bildschirm können Ergebnisse genehmigt und Berichte („Sample Report“ (Probenbericht) oder „Track Report“ (Spurbericht)) ausgedruckt oder gespeichert werden. Weitere Informationen finden Sie im Gerätehandbuch.

HINWEIS!

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

ELITe InGenius generiert Ergebnisse mithilfe des **HPV PLUS ELITe MGB Kit** und geht dabei folgendermaßen vor:

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

9.3.1 Validierung der Ergebnisse des Amplifikationslaufs für die Positive Control und die Negative Control

Die **ELITe InGenius Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse für die Zielsequenzen der Reaktion der Positive Control und der Negative Control mit den Parametern der Assay-Protokolle (Assay Protocols) **ELITe_PC** und **ELITe_NC**. Die sich daraus ergebenden Ct- und Tm-Werte werden zur Überprüfung des Systems (Reagenziencharge und Gerät) verwendet.

Die für die PCR-Reagenziencharge spezifischen Positive Control- und Negative Control-Ergebnisse werden in der Datenbank (Controls [Kontrollen]) aufgezeichnet. Sie können von Benutzern mit der Qualifikation „Administrator“ oder „Analyst“ durch Befolgen der Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche angezeigt oder genehmigt werden.

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

Die Ergebnisse der Amplifikation der Positive Control und Negative Control werden von der **ELITe InGenius-Software** verwendet, um die Regelkarten („Control Charts“) zur Überwachung der Leistung der Amplifikationsstufen einzurichten. Weitere Informationen finden Sie im Gerätehandbuch.

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

9.3.2 B. Validierung der Probenergebnisse

Die **ELITe InGenius Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse für die Zielsequenzen (Kanäle **HPV16-31, HPV18-45, HPV HR1** und **HPV HR2**) und die Internal Control (Kanal **IC**) mit den Assay-Protokoll-Parametern **HPV PLUS ELITe_Cyt_Sense_200_100**.

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

Der Probenlauf kann genehmigt werden, wenn die zwei in der nachfolgenden Tabelle angegebenen Bedingungen erfüllt sind.

Tabelle 8

1) Positive Control	**„Status“**
HPV PLUS Positive Control	APPROVED (Genehmigt)
2) Negative Control	**„Status“**
HPV PLUS Negative Control	APPROVED (Genehmigt)

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

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

Tabelle 9

Ergebnis des Probenlaufs	Interpretation
HPV16_31:DNA Detected Type HPV16 (HPV16_31: DNA Erkannt Typ HPV16)	In der Probe wurde **HPV16-31-DNA nachgewiesen**. Der Typ ist **HPV16**.
HPV16_31:DNA Detected Type HPV31 (HPV16_31: DNA Erkannt Typ HPV31)	In der Probe wurde **HPV16-31-DNA nachgewiesen**. Der Typ ist **HPV31**.
HPV16_31:DNA Detected Typing not determined (HPV16_31 Erkannt Typing not determined)	**HPV16-31-DNA wurde** in der Probe zwar **nachgewiesen**, die Analyse für die HPV16-31-Typisierung war jedoch nicht möglich.
HPV18_45:DNA Detected Type HPV18 (HPV18_45: DNA Erkannt Typ HPV18)	In der Probe wurde **HPV18-45-DNA nachgewiesen**. Der Typ ist **HPV18**.
HPV18_45:DNA Detected Type HPV45 (HPV18_45: DNA Erkannt Typ HPV45)	In der Probe wurde **HPV18-45-DNA nachgewiesen**. Der Typ ist **HPV45**.

Tabelle 9 (continued)

Ergebnis des Probenlaufs	Interpretation
HPV18_45:DNA Detected Typing not determined (HPV18_45:DNA Erkannt Typing not determined)	**HPV18-45-DNA wurde** in der Probe zwar **nachgewiesen**, die Analyse für die HPV18-45-Typisierung war jedoch nicht möglich.
HPV_HR1:DNA Detected (HPV_HR1: DNA Erkannt)	**HPV-HR1-** (HPV33, HPV52 oder HPV58) **DNA wurde** in der Probe **nachgewiesen**.
HPV_HR2:DNA Detected (HPV_HR2: DNA Erkannt)	**HPV-HR2-** (HPV35, HPV39, HPV51, HPV56, HPV59, HPV66 oder HPV68) **DNA wurde** in der Probe **nachgewiesen**.
HPV16_31:DNA Not detected or below the LoD (HPV16_31:DNA nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde **keine HPV16-31-DNA nachgewiesen**. Die Probe wurde negativ auf HPV16- und HPV31-DNA getestet oder ihre Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
HPV18_45:DNA Not detected or below the LoD (HPV18_45:DNA nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde keine HPV18-45-DNA nachgewiesen. Die Probe wurde negativ auf HPV18- und HPV45-DNA getestet oder ihre Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
HPV-HR1:DNA Not detected or below the LoD (HPV-HR1:DNA nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde keine HPV-HR1-DNA nachgewiesen. Die Probe wurde negativ auf HPV33-, HPV52- und HPV58-DNA getestet oder ihre Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
HPV-HR2:DNA Not detected or below the LoD (HPV-HR2:DNA nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde keine HPV-HR2-DNA nachgewiesen. Die Probe wurde negativ auf HPV35-, HPV39-, HPV51-, HPV56, HPV59-, HPV66- und HPV68-DNA getestet oder ihre Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
Invalid-Retest Sample (Ungültig – Probe erneut testen)	**Ungültiges Testergebnis** durch fehlerhafte Internal Control (z. B. aufgrund von falscher Extraktion, Verschleppung von Inhibitoren). Der Test sollte wiederholt werden.

Als „Invalid-Retest Sample“ (Ungültig – Probe erneut testen) ausgegebene Proben: In diesem Fall wurde die Internal-Control-DNA möglicherweise aufgrund von Problemen beim Probenentnahme-, Extraktions- oder PCR-Schritt nicht effizient nachgewiesen (z. B. falsche Probenahme, Abbau oder Verlust von DNA während der Extraktion oder Inhibitoren im Eluat), was zu falschen Ergebnissen führen kann.

Wenn ausreichend Eluatvolumen übrig bleibt, kann das Eluat (verdünnt oder unverdünnt) mithilfe eines Amplifikationslaufs im Modus „PCR Only“ (nur PCR) erneut getestet werden. Ist das zweite Ergebnis ungültig, muss die Probe beginnend mit der Extraktion einer neuen Probe im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) erneut getestet werden. (siehe 14 FEHLERBEHEBUNG page 37).

Als „HPV16-31: DNA Not detected or below LoD“ (HPV16-31-DNA nicht nachgewiesen oder unter Nachweisgrenze), „HPV18-45:DNA Not detected or below LoD“ (HPV18-45-DNA nicht nachgewiesen oder unter Nachweisgrenze), „HPV_HR1:DNA Not detected or below LoD“ (HPV_HR1-DNA nicht nachgewiesen oder unter Nachweisgrenze), „HPV_HR2:DNA Not detected or below LoD“ (HPV_HR2-DNA nicht nachgewiesen oder unter Nachweisgrenze) ausgegebene Proben sind für die Analyse geeignet, HPV-DNA wurde jedoch nicht nachgewiesen. In diesem Fall kann entweder die Probe für HPV-DNA negativ sein oder HPV-DNA ist bei einer Konzentration unter der Nachweisgrenze des Tests vorhanden (siehe 11 LEISTUNGSMERKMALE page 19).

Als „HPV16_31: DNA Detected Typing not determined“ (HPV16-31-DNA Erkannt Typing not determined) und „HPV18_45: DNA Detected Typing not determined“ (HPV18-45-DNA Erkannt Typing not determined) ausgegebene Proben sind für die Analyse geeignet und es wurde HPV-DNA in der Probe nachgewiesen, die Analyse für die Typisierung war jedoch nicht möglich. In diesem Fall ist die Probe positiv für eine der beiden Zielsequenzen in diesem Kanal.

HINWEIS!

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

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

9.3.3 Ausgabe des Probenergebnisberichts

- Die Probenergebnisse werden in der Datenbank gespeichert, und Berichte können als „Sample Report“ (Probenbericht) und „Track Report“ (Spurbericht) exportiert werden.
- Der „Sample Report“ zeigt die Ergebnisdetails sortiert nach ausgewählter Probe (SID, „Sample ID“) an.
- Der „Track Report“ zeigt die Ergebnisdetails nach ausgewählter Spur an.
- Der „Sample Report“ und der „Track Report“ können ausgedruckt und von autorisiertem Personal unterschrieben werden.

10 VERFAHREN BEI ELITe BeGenius

Das beim Gebrauch des **HPV PLUS ELITe MGB Kit** mit dem **ELITe BeGenius** anzuwendende Verfahren besteht aus drei Schritten:

Tabelle 10

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

10.1 SCHRITT 1 - Prüfung der Systembereitschaft

Vor Beginn des Laufs:

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

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

10.2 SCHRITT 2 - Einrichtung des Laufs

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

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

B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR]),

C. Positive Control und Negative Control-Lauf (PCR Only [nur PCR])

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

HINWEIS!

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

Vor dem Einrichten eines Laufs:

Die benötigten **PCR Mix**-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Tests unter optimalen Bedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

HINWEIS!

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

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

Tabelle 11

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])	C. Lauf für Positive und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
1	**Proben identifizieren** und, falls erforderlich, auf Raumtemperatur auftauen. Für diesen Assay müssen **200 µl Probe** in ein zuvor etikettiertes 2-ml-Sarstedt-Röhrchen überführt werden.	**Elution Tubes** (Elutionsröhrchen) mit den extrahierten Nukleinsäuren auf Raumtemperatur **auftauen**. Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.	Positive Control-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur **auftauen**. Jedes Röhrchen reicht aus für 4 Reaktionen. Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Die **Negative Control** vorbereiten: dazu mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie in ein „Elution Tube“ (Elutionsröhr.) überführen, das im Lieferumfang des ELITe InGenius SP 200 Consumable Set enthalten ist.
2	Auf der Startseite „**Perform Run**“ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „**Perform Run**“ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „**Perform Run**“ (Lauf durchführen) auswählen.
3	Alle Racks aus der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.	Die „Racks“ aus „Lane 1, 2 und 3 (L1, L2 und L3) der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.	Die „Racks“ aus „Lane 1, 2 und 3 (L1, L2 und L3) der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.
4	Den Laufmodus („Run mode“) wählen: „**Extract + PCR**“ (Extraktion + PCR).	Den Laufmodus („Run mode“) wählen: „**PCR Only**“ (Nur PCR).	Den Laufmodus („Run mode“) wählen: „**PCR Only**“ (Nur PCR).
5	**Die Proben** in das Probenrack („Sample Rack“) **laden**. Wenn als Sekundärröhrchen „2 mL Tubes“ (2-ml-Röhrchen) geladen werden, verwenden Sie die blauen Adapter für das „Sample Rack“.	**Die Proben** in das „Elution Rack“ (Elutionsablage) **laden**.	Die Positive Control- und Negative Control-Röhrchen in das „Elution Rack“ (Elutionsablage) **laden**.

Tabelle 11 (continued)

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])	C. Lauf für Positive und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
6	Das „**Sample Rack**“ in die „Cooler Unit“ **einsetzen**, beginnend mit „Lane 5“ (L5). Falls erforderlich, unter „Sample ID“ (SID) die Proben-ID für jede verwendete „Position“ eingeben (Beim Laden von Sekundärröhrchen „2 mL Tube“ (2-ml-Röhrchen) angeben). Bei Sekundärröhrchen ohne Barcode die Proben-ID manuell eingeben.	Das „**Elution Rack**“ in die „Cooler Unit“ **einsetzen**, beginnend mit „Lane 3“ (L3). Falls erforderlich, für jede „Position“ die Proben-ID („Sample ID“), die Probenmatrix („Sample Matrix“), das Extraktionskit („Extraction Kit“) und das extrahierte Eluatvolumen („Extracted eluate vol.“) eingeben.	Das „**Elution Rack**“ in die „Cooler Unit“ **einsetzen**, beginnend mit „Lane 3“ (L3). Falls erforderlich, für jede „Position" unter „Reagent name" den Reagenznamen, unter „S/N" die Seriennummer, unter „Lot No." die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.
7	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
8	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.
9	Das Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „8 PROBEN UND KONTROLLEN page 7“).	Das Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „8 PROBEN UND KONTROLLEN page 7“).	Das Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „8 PROBEN UND KONTROLLEN page 7“).
10	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
	HINWEIS! Bei Verarbeitung von mehr als 12 Proben das Verfahren ab Punkt 6 wiederholen.		Nicht anwendbar
11	Die „Elution tubes“ (Elutionsröhr) in das „Elution Rack“ (Elutionsablage) laden (Elutionsröhrchen können zur Verbesserung der Rückverfolgbarkeit mit einem Barcode etikettiert werden).	Nicht anwendbar	Nicht anwendbar
12	Das „Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ einsetzen, beginnend mit „Lane 3“ (L3). Bei Verarbeitung von mehr als 12 Proben das Verfahren wiederholen und dabei „Lane 2“ (L2) verwenden.	Nicht anwendbar	Nicht anwendbar
13	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Nicht anwendbar	Nicht anwendbar
14	PCR Mix in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsrack) **laden**.	Den PCR Mix in das „Reagent/ Elution Rack“ (Reagenz-/ Elutionsrack) **laden**.	Den PCR Mix in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsrack) **laden**.

Tabelle 11 (continued)

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])	C. Lauf für Positive und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
15	Das „Reagent/Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ in „Lane 2“ (L2), falls verfügbar, oder in „Lane 1“ (L1) einsetzen. Falls erforderlich, für jedes PCR Mix-Reagenz unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.	Das „Reagent/Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ in „Lane 2“ (L2), falls verfügbar, oder in „Lane 1“ (L1) einsetzen. Falls erforderlich, für jedes PCR Mix-Reagenz unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.	Das „Reagent/Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ in „Lane 2“ (L2), falls verfügbar, oder in „Lane 1“ (L1) einsetzen. Falls erforderlich, für jedes PCR Mix-Reagenz unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.
16	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
17	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.
18	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
19	Das „**PCR Rack**“ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) laden.	Das „**PCR Rack**“ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) laden.	Das „**PCR Rack**“ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) laden.
20	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
21	Das „Extraction Rack“ (Extraktionsrack) mit den „ELITe InGenius SP 200“ Extraktionskartuschen und die für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden.	Nicht anwendbar	Nicht anwendbar
22	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.
23	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

10.3 SCHRITT 3 - Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

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

Am Ende des Laufs wird der Bildschirm „Results Display“ (Ergebnisanzeige) automatisch angezeigt. Auf diesem Bildschirm werden die Ergebnisse und Laufdaten angezeigt. Über diesen Bildschirm können die Ergebnisse genehmigt und die Berichte („Sample Report“ (Probenbericht) oder „Track Report“ (Spurbericht)) ausgedruckt oder gespeichert werden. Weitere Informationen finden Sie im Gerätehandbuch.

HINWEIS!

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

ELITe BeGenius generiert die Ergebnisse mithilfe des **HPV PLUS ELITe MGB Kit** und geht dabei folgendermaßen vor:

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

HINWEIS!

Einzelheiten sind dem entsprechenden Abschnitt unter „Verfahren bei **ELITe InGenius**“ zu entnehmen.

11 LEISTUNGSMERKMALE

11.1 Nachweisgrenze (LoD)

Die Nachweisgrenze (LoD) des Assays wurde für das Gerät ELITe BeGenius bestimmt, wobei ein Pool negativer Proben von Zervixproben getestet wurde, die in ThinPrep-Lösung, die mit Referenzmaterialien von SiHa-Zellen (HPV16) und HeLa-Zellen (HPV18) dotiert war, zusammen entnommen wurden.

Es wurde eine Probit-Regressionsanalyse der Ergebnisse durchgeführt und die Nachweisgrenze als die Konzentration geschätzt, bei der eine 95 %-ige Wahrscheinlichkeit eines positiven Ergebnisses vorliegt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 12 Nachweisgrenze für in ThinPrep entnommene Zervixproben bei ELITe BeGenius

Zelllinie	LoD (Zellen/ml)	Grenzen des 95%-Konfidenzintervalls	
		Untere Grenze	Obere Grenze
SiHa (HPV16)	202	142	368
HeLa (HPV18)	56	40	98

Zur Verifizierung des berechneten LoD-Werts wurden auf den Geräten Elite InGenius und ELITe BeGenius negative Pools von in ThinPrep und in SurePath entnommenen Zervixproben, die mit Referenzmaterial gemäß internationalen WHO-Standards von HPV16-, HPV18-, HPV31-, HPV33- und HPV45-Genotypen und mit Plasmid-DNA des HPV35-Genotyps mit einem Titer, der dem berechneten LoD-Wert der HeLa-Zellen entspricht, getestet.

Die Ergebnisse der LoD-Bestätigung sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 13 LoD-Bestätigung mit in ThinPrep und SurePath entnommenen Zervixproben auf ELITe BeGenius und ELITe InGenius

Probe	LoD-Bestätigung					
	HPV16	HPV18	HPV31	HPV33	HPV45	HPV35
Zieltiter IU/ml (oder *Kopien/ml)	1.700	1.700	1.700	2.000	1.700	1.700*
Replikate (N)	24	24	24	24	24	24
Prozentsatz positiver Ergebnisse	> 87 %	> 87 %	> 87 %	> 87 %	> 87 %	> 87 %

11.2 Inklusivität: Nachweiseffizienz bei verschiedenen Hochrisiko-HPV-Genotypen

Die Inklusivität des Assays als die Nachweiseffizienz für die wichtigsten Hochrisiko-HPV-Genotypen (HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) wurde mittels *In-silico*-Analyse bewertet. Die Analyse zeigte eine Sequenzerhaltung und ein Nichtvorhandensein signifikanter Mutationen. Daher wird ein effizienter Nachweis für die verschiedenen Stämme oder Isolate erwartet.

Die Inklusivität wurde außerdem durch die Analyse der 14 wichtigsten Hochrisiko-HPV-Genotypen verifiziert. Hierzu wurden zertifizierte Referenzmaterialien verschiedener Anbieter (ATCC, Vircell, SeraCare, AcroMetrix, NIBSC und Microbix) oder Plasmid-DNAs (EG SpA), wenn kein Referenzmaterial verfügbar war, verwendet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 14 Inklusivitäts-Testergebnisse auf ELITe BeGenius

Zielorganismus	Reihe	Pos. / Wiederh.	Ergebnis
HPV16	WHO IU, NIBSC	6/6	HPV16_31:DNA Detected Type HPV16 (HPV16_31: DNA Erkannt Typ HPV16)
	AcroMetrix	6/6	HPV16_31:DNA Detected Type HPV16 (HPV16_31: DNA Erkannt Typ HPV16)
	Microbix	6/6	HPV16_31:DNA Detected Type HPV16 (HPV16_31: DNA Erkannt Typ HPV16)
	ATCC	6/6	HPV16_31:DNA Detected Type HPV16 (HPV16_31: DNA Erkannt Typ HPV16)
	SeraCare	6/6	HPV16_31:DNA Detected Type HPV16 (HPV16_31: DNA Erkannt Typ HPV16)
	Vircell	6/6	HPV16_31:DNA Detected Type HPV16 (HPV16_31: DNA Erkannt Typ HPV16)
HPV18	WHO IU, NIBSC	6/6	HPV18_45:DNA Detected Type HPV18 (HPV18_45: DNA Erkannt Typ HPV18)
	AcroMetrix	6/6	HPV18_45:DNA Detected Type HPV18 (HPV18_45: DNA Erkannt Typ HPV18)
	Microbix	6/6	HPV18_45:DNA Detected Type HPV18 (HPV18_45: DNA Erkannt Typ HPV18)
	ATCC	6/6	HPV18_45:DNA Detected Type HPV18 (HPV18_45: DNA Erkannt Typ HPV18)
	SeraCare	6/6	HPV18_45:DNA Detected Type HPV18 (HPV18_45: DNA Erkannt Typ HPV18)
	Vircell	6/6	HPV18_45:DNA Detected Type HPV18 (HPV18_45: DNA Erkannt Typ HPV18)
HPV31	WHO IU, NIBSC	6/6	HPV16_31:DNA Detected Type HPV31 (HPV16_31: DNA Erkannt Typ HPV31)
	Microbix	6/6	HPV16_31:DNA Detected Type HPV31 (HPV16_31: DNA Erkannt Typ HPV31)
	ATCC	6/6	HPV16_31:DNA Detected Type HPV31 (HPV16_31: DNA Erkannt Typ HPV31)
HPV45	WHO IU, NIBSC	6/6	HPV18_45:DNA Detected Type HPV45 (HPV18_45: DNA Erkannt Typ HPV45)
	Microbix	6/6	HPV18_45:DNA Detected Type HPV45 (HPV18_45: DNA Erkannt Typ HPV45)
HPV33	WHO IU, NIBSC	6/6	HPV_HR1:DNA Detected (HPV_HR1: DNA Erkannt)
	Microbix	6/6	HPV_HR1:DNA Detected (HPV_HR1: DNA Erkannt)
HPV52	WHO IU, NIBSC	6/6	HPV_HR1:DNA Detected (HPV_HR1: DNA Erkannt)
HPV58	WHO IU, NIBSC	6/6	HPV_HR2:DNA Detected (HPV_HR2: DNA Erkannt)

Tabelle 14 Inklusivitäts-Testergebnisse auf ELITe BeGenius (continued)

Zielorganismus	Reihe	Pos. / Wiederh.	Ergebnis
HPV68	AcroMetrix	6/6	HPV_HR2:DNA Detected (HPV_HR2: DNA Erkannt)
HPV39	Microbix	6/6	HPV_HR2:DNA Detected (HPV_HR2: DNA Erkannt)
HPV51	SeraCare	6/6	HPV_HR2:DNA Detected (HPV_HR2: DNA Erkannt)
HPV35	Plasmid-DNA	6/6	HPV_HR2:DNA Detected (HPV_HR2: DNA Erkannt)
HPV56	Plasmid-DNA	6/6	HPV_HR2:DNA Detected (HPV_HR2: DNA Erkannt)
HPV59	Plasmid-DNA	6/6	HPV_HR2:DNA Detected (HPV_HR2: DNA Erkannt)
HPV66	Plasmid-DNA	6/6	HPV_HR2:DNA Detected (HPV_HR2: DNA Erkannt)
Negativ	AcroMetrix	0/6	All targets:DNA Not detected (Alle Zielsequenzen: DNA nicht nachgewiesen)
	Microbix	0/6	All targets:DNA Not detected (Alle Zielsequenzen: DNA nicht nachgewiesen)
	SeraCare	0/6	All targets:DNA Not detected (Alle Zielsequenzen: DNA nicht nachgewiesen)

Alle Proben wurden mit dem HPV PLUS ELITe MGB Kit richtig erkannt.

11.3 Koinfektionen

Die mögliche Interferenz unter den Zielsequenzen des Assays bei einer Koinfektion wurde durch einen Test der Co-Amplifikation von zwei Zielsequenzen in den Proben unter Verwendung von HPV16-, HPV18-, HPV31-, HPV45-, HPV33- und HPV35-Plasmid-DNA bewertet.

Für jede Zielsequenz ist die bei allen Replikaten (5/5) nachweisbare niedrigere Konzentration in der folgenden Tabelle angegeben.

Tabelle 15 Zusammenfassung des Tests auf Koinfektionen auf ELITe BeGenius

Zielsequenz bei hoher Konzentration	Zielsequenz bei niedriger Konzentration
HPV16, 100.000 Kopien/Reaktion	HPV18, 1.000 Kopien/Reaktion
	HPV31, 10.000 Kopien/Reaktion
	HPV33, 3.000 Kopien/Reaktion
	HPV35, 2.000 Kopien/Reaktion
	HPV45, 500 Kopien/Reaktion
HPV31, 100.000 Kopien/Reaktion	HPV16, 5.000 Kopien/Reaktion
	HPV18, 1.000 Kopien/Reaktion
	HPV33, 4.000 Kopien/Reaktion
	HPV35, 500 Kopien/Reaktion
	HPV45, 1.000 Kopien/Reaktion
HPV18, 100.000 Kopien/Reaktion	HPV16, 750 Kopien/Reaktion
	HPV31, 500 Kopien/Reaktion
	HPV33, 3.000 Kopien/Reaktion
	HPV35, 500 Kopien/Reaktion
	HPV45, 15.000 Kopien/Reaktion
HPV45, 100.000 Kopien/Reaktion	HPV16, 750 Kopien/Reaktion
	HPV18, 5.000 Kopien/Reaktion
	HPV31, 500 Kopien/Reaktion
	HPV33, 5.000 Kopien/Reaktion
	HPV35, 500 Kopien/Reaktion
HPV33, 100.000 Kopien/Reaktion	HPV16, 1.000 Kopien/Reaktion
	HPV18, 1.000 Kopien/Reaktion
	HPV31, 500 Kopien/Reaktion
	HPV35, 500 Kopien/Reaktion
	HPV45, 1.000 Kopien/Reaktion
HPV35, 100.000 Kopien/Reaktion	HPV16, 2.000 Kopien/Reaktion
	HPV18, 500 Kopien/Reaktion
	HPV31, 500 Kopien/Reaktion
	HPV33, 4.000 Kopien/Reaktion
	HPV45, 1.000 Kopien/Reaktion

Das HPV PLUS ELITe MGB Kit zeigt eine minimale Interferenz zwischen den Zielsequenzen im Falle einer Koinfektion.

11.4 Potenziell interferierende Organismen: Kreuzreaktivität

Die potenzielle Kreuzreaktivität mit unbeabsichtigten Organismen und anderen HPV-Genotypen, die nicht unter den Verwendungszweck des Produkts fallen und in klinischen Proben vorkommen können, wurde für den Assay durch eine *In-silico*-Analyse bewertet. Die Analyse ergab keine signifikante Homologie mit anderen unbeabsichtigten Organismen (Viren, Bakterien, Protozoen und Pilze) und mit den meisten HPV-Genotypen, die nicht unter den Verwendungszweck fallen.

Das Fehlen einer Kreuzreaktivität wurde auch verifiziert durch die Analyse einer Reihe zertifizierter Referenzmaterialien unbeabsichtigter Organismen (ATCC, Vircell, DSMZ, NIBSC) und von Referenzmaterialien (NIBSC) und Plasmid-DNAs (EG SpA), welche die E6/E7-Genregion von HPV-Genotypen enthalten, die nicht unter den Verwendungszweck des Produkts fallen (bei etwa 10^5 Kopien/Reaktion).

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 16 Ergebnisse zur Kreuzreaktivität mit potenziell interferierenden Organismen auf ELITe BeGenius

Probe	Positiv / Replikate					Ergebnis
	HPV 16-31	HPV HR2	HPV HR1	HPV 18-45	IC	
Herpes-simplex-Virus 1	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
Herpes-simplex-Virus 2	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
Mycoplasma hominis	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
Ureaplasma urealyticum	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
Ureaplasma parvum	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
Treponema pallidum	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
Gardnerella vaginalis	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
Mobiluncus mulieris	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
Bacteroides fragilis	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
Peptostreptococcus anaerobius	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
Candida albicans	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
Lactobacillus acidophilus	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
Chlamydia trachomatis	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
Neisseria gonorrhoeae	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
Mycoplasma genitalium	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
Trichomonas vaginalis	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
HPV6	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
HPV11	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
HPV42	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
HPV43	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
HPV44	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
HPV26	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
HPV30	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität

Tabelle 16 Ergebnisse zur Kreuzreaktivität mit potenziell interferierenden Organismen auf ELITe BeGenius (continued)

Probe	Positiv / Replikate					Ergebnis
	HPV 16-31	HPV HR2	HPV HR1	HPV 18-45	IC	
HPV34	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
HPV40	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
HPV53	0/5	5/5	0/5	0/5	5/5	Kreuzreaktivität
HPV54	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
HPV61	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
HPV67	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
HPV69	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
HPV70	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
HPV72_a	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
HPV72_b	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
HPV73	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
HPV82	0/5	5/5	0/5	0/5	5/5	Kreuzreaktivität

Bei den HPV53- und HPV82-Genotypen wurde eine Kreuzreaktivität für die HPV HR2-Zielsequenz unter Verwendung des HPV PLUS ELITe MGB Kit beobachtet.

Der HPV82-Genotyp wurde als HPV-HR2-Zielsequenz mit hoher Effizienz nachgewiesen (≥ 1 x 10^3 Kopien/ml).

Der HPV53-Genotyp wurde als HPV-HR2-Zielsequenz mit niedriger Effizienz nachgewiesen (≥ 1 x 10^6 Kopien/ml).

Beide Genotypen sind auf der Grundlage epidemiologischer, phylogenetischer und funktioneller Studien als möglicherweise krebserregend (Gruppe 2B, IARC-Klassifizierung) eingestuft.

11.5 Potenziell interferierende Organismen: Inhibition

Die Bewertung der potenziellen Inhibition mit unbeabsichtigten Organismen und anderen HPV-Genotypen, die nicht unter den Verwendungszweck des Produkts fallen, jedoch in klinischen Proben vorkommen können, erfolgte für den Assay durch die Analyse einer Reihe zertifizierter Referenzmaterialien unbeabsichtigter Organismen (ATCC, Vircell, DSMZ, NIBSC) und von Referenzmaterialien (NIBSC) und Plasmid-DNAs (EG SpA), die die E6/E7-Genregion von HPV-Genotypen enthalten, die nicht unter den Verwendungszweck fallen (etwa 10^5 Kopien/Reaktion), dotiert mit HPV PLUS - ELITe Positive Control in einer Verdünnung von 1:10 (100 Kopien/Reaktion von HPV16-, HPV18-, HPV33-, HPV35-Plasmid-DNAs).

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 17 Ergebnisse zur Inhibition mit potenziell interferierenden Organismen auf ELITe BeGenius

Im Verhältnis 1:10 mit PC dotierte Probe	Positiv / Replikate					Ergebnis
	HPV 16-31	HPV HR2	HPV HR1	HPV 18-45	IC	
Herpes-simplex-Virus 1	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Herpes-simplex-Virus 2	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition

Tabelle 17 Ergebnisse zur Inhibition mit potenziell interferierenden Organismen auf ELITe BeGenius (continued)

Im Verhältnis 1:10 mit PC dotierte Probe	Positiv / Replikate					Ergebnis
	HPV 16-31	HPV HR2	HPV HR1	HPV 18-45	IC	
Mycoplasma hominis	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Ureaplasma urealyticum	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Ureaplasma parvum	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Treponema pallidum	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Gardnerella vaginalis	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Mobiluncus mulieris	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Bacteroides fragilis	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Peptostreptococcus anaerobius	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Candida albicans	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Lactobacillus acidophilus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Chlamydia trachomatis	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Neisseria gonorrhoeae	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Mycoplasma genitalium	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Trichomonas vaginalis	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
HPV6	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
HPV11	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
HPV42	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
HPV43	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
HPV44	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
HPV26	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
HPV30	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
HPV34	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
HPV40	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
HPV53	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
HPV54	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
HPV61	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
HPV67	3/5	5/5	0/5	5/5	5/5	Inhibition
HPV69	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
HPV70	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
HPV72_a	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
HPV72_b	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition

Tabelle 17 Ergebnisse zur Inhibition mit potenziell interferierenden Organismen auf ELITe BeGenius (continued)

Im Verhältnis 1:10 mit PC dotierte Probe	Positiv / Replikate					Ergebnis
	HPV 16-31	HPV HR2	HPV HR1	HPV 18-45	IC	
HPV73	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
HPV82	0/5	5/5	0/5	0/5	5/5	Inhibition

Bei den HPV67- und HPV82-Genotypen wurde eine Inhibition unter Verwendung des HPV PLUS ELITe MGB Kit beobachtet.

Die niedrigste nachweisbare Konzentration von Zielsubsequenzen bei Vorhandensein dieser beiden HPV-Genotypen wurde wie in der folgenden Tabelle angegeben definiert.

Tabelle 18

HPV-Genotyp	Getestete Zielsequenz	Konzentration Getestete Zielsequenz	Pos. / Wiederh.	Ergebnis
HPV67 (100.000 Kopien/Reaktion)	HPV16	200 Kopien/ Reaktion	5/5	Leichte Inhibition
	HPV18	100 Kopien/ Reaktion	5/5	Keine Inhibition
	HPV33	1.000 Kopien/ Reaktion	5/5	Teilweise Inhibition
	HPV35	100 Kopien/ Reaktion	5/5	Keine Inhibition
HPV82 (100.000 Kopien/Reaktion)	HPV16	1.000 Kopien/ Reaktion	5/5	Teilweise Inhibition
	HPV18	1.000 Kopien/ Reaktion	5/5	Teilweise Inhibition
	HPV33	4.000 Kopien/ Reaktion	5/5	Teilweise Inhibition

Hinweis: HPV82 wird als HPV-HR2-Zielsequenz amplifiziert. Daher ist eine teilweise Inhibition der Amplifikation anderer Zielsequenzen in niedriger Konzentration zu erwarten.

Beide Genotypen sind auf der Grundlage epidemiologischer, phylogenetischer und funktioneller Studien als möglicherweise krebserregend (Gruppe 2B, IARC-Klassifizierung) eingestuft.

11.6 Potenziell interferierende Substanzen: Kreuzreaktivität

Die Kreuzreaktivität mit potenziell störenden (endogenen und exogenen) Substanzen, die in klinischen Proben vorkommen können, wurde für den Assay durch die Analyse einer Reihe von Substanzen in relevanten Konzentrationen in einem Pool von in ThinPrep entnommenen, negativen Zervixproben bewertet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 19 Ergebnisse zur Kreuzreaktivität mit potenziell interferierenden Substanzen auf ELITe BeGenius

Probe	Positiv / Replikate					Ergebnis
	HPV 16-31	HPV HR2	HPV HR1	HPV 18-45	IC	
Mucin	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
Periphere Blutleukozyten (PBL)	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
Vollblut	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
Acyclovir	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
Clotrimazol	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
Metronidazol	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
Nonoxinol 9	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
Progesteron	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
Vaseline	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
Vagisil-Deodorant	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität
Vagisil-Gel	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Keine Kreuzreaktivität

Der Test zeigte, dass bei Verwendung des HPV PLUS ELITe MGB Kit keine der getesteten Substanzen mit den Zielsequenzen kreuzreagiert.

11.7 Potenziell interferierende Substanzen: Inhibition

Die potenzielle Inhibition interferierender Substanzen (endogen und exogen), die in klinischen Proben vorkommen können, wurde für den Assay durch die Analyse einer Reihe von Substanzen in relevanter Konzentration in einem Pool negativer Zervixproben bewertet, die in ThinPrep entnommen und mit Referenzmaterialien (HPV16-SiHa-Zellen, HPV18-HeLa-Zellen, pHPV33-Plasmid-DNA, pHPV35-Plasmid-DNA) auf 3 x LoD dotiert wurden.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 20 Ergebnisse zur Inhibition mit potenziell interferierenden Substanzen auf ELITe BeGenius

Mit Referenzmaterialien dotierte Proben	Positiv / Replikate					Ergebnis
	HPV 16-31	HPV HR2	HPV HR1	HPV 18-45	IC	
Mucin	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Periphere Blutleukozyten (PBL)	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Vollblut	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Acyclovir	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Clotrimazol	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Metronidazol	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition

Tabelle 20 Ergebnisse zur Inhibition mit potenziell interferierenden Substanzen auf ELITe BeGenius (continued)

Mit Referenzmaterialien dotierte Proben	Positiv / Replikate					Ergebnis
	HPV 16-31	HPV HR2	HPV HR1	HPV 18-45	IC	
Nonoxinol 9	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Progesteron	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Vaseline	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Vagisil-Deodorant	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Vagisil-Gel 1 %	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition

Der Test zeigte, dass bei Verwendung des HPV PLUS ELITe MGB Kit keine der getesteten Substanzen mit der Zielamplifikation interferiert.

Hinweis: Eine Hemmung wurde bei Vaginal Moisturizer (Vagisil-Gel) in hoher Konzentration (> 1 Gew.-%) beobachtet.

11.8 Wiederholpräzision

Zur Bewertung der Wiederholpräzision des Assays mit ELITe BeGenius und ELITe InGenius wurde ein Pool negativer Zervixproben analysiert, die unverdünnt in ThinPrep entnommen und mit Referenzmaterialien (HPV16-SiHa-Zellen, HPV18-HeLa-Zellen, pHPV33-Plasmid-DNA, pHPV35-Plasmid-DNA) dotiert wurden.

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

Tabelle 21 Test der Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs – Ct-Ergebnisse (ein Tag / eine Charge)

Probe	Zielsequenz	Anzahl	ELITe BeGenius				ELITe InGenius			
			Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	HPV16-31	6	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
16+18 3 x LoD		6	33,13	0,31	0,93	100 %	32,68	0,48	1,47	100 %
33+35 3 x LoD		6	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
10xLoD		6	31,33	0,30	0,95	100 %	30,86	0,33	1,07	100 %
Neg.	HPV18-45	6	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
16+18 3 x LoD		6	35,22	0,49	1,38	100 %	33,11	0,32	0,95	100 %
33+35 3 x LoD		6	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
10xLoD		6	33,69	0,57	1,68	100 %	31,46	0,14	0,43	100 %

Tabelle 21 Test der Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs – Ct-Ergebnisse (ein Tag / eine Charge) (continued)

Probe	Zielsequenz	Anzahl	ELITe BeGenius				ELITe InGenius			
			Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	HPV-HR1	6	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
16+18 3 x LoD		6	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
33+35 3 x LoD		6	34,72	0,43	1,23	100 %	33,51	0,10	0,31	100 %
10xLoD		6	31,52	0,58	1,83	100 %	30,54	0,12	0,38	100 %
Neg.	HPV-HR2	6	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
16+18 3 x LoD		6	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
33+35 3 x LoD		6	33,38	0,39	1,18	100 %	33,17	0,18	0,54	100 %
10xLoD		6	31,48	0,39	1,23	100 %	31,16	0,15	0,48	100 %

Ein Beispiel für die Ct-Ergebnisse der laufübergreifenden Wiederholpräzision (an zwei Tagen) ist in der nachstehenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 22 Test der laufübergreifenden Wiederholpräzision – Ct-Ergebnisse (zwei Tage / eine Charge)

Probe	Zielsequenz	Anzahl	ELITe BeGenius				ELITe InGenius			
			Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	HPV16-31	12	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
16+18 3 x LoD		12	33,11	0,44	1,33	100 %	32,57	0,45	1,39	100 %
33+35 3 x LoD		12	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
10xLoD		12	31,21	0,37	1,19	100 %	30,72	0,33	1,08	100 %
Neg.	HPV18-45	12	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
16+18 3 x LoD		12	35,49	0,58	1,62	100 %	33,12	0,37	1,11	100 %
33+35 3 x LoD		12	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
10xLoD		12	34,19	0,73	2,12	100 %	31,82	0,50	1,56	100 %

Tabelle 22 Test der laufübergreifenden Wiederholpräzision – Ct-Ergebnisse (zwei Tage / eine Charge) (continued)

Probe	Zielsequenz	Anzahl	ELITe BeGenius				ELITe InGenius			
			Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	HPV-HR1	12	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
16+18 3 x LoD		12	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
33+35 3 x LoD		12	34,07	0,77	2,26	100 %	32,65	0,91	2,80	100 %
10xLoD		12	31,27	0,56	1,78	100 %	30,23	0,35	1,15	100 %
Neg.	HPV-HR2	12	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
16+18 3 x LoD		12	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
33+35 3 x LoD		12	33,32	0,31	0,92	100 %	32,84	0,37	1,13	100 %
10xLoD		12	31,42	0,30	0,94	100 %	31,07	0,18	0,59	100 %

Beim Test der Wiederholpräzision erkannte der HPV PLUS ELITe MGB Kit alle Proben wie erwartet und wies eine maximale Variabilität der Ct-Zielwerte als VK % gleich 2,80 % aus (und eine maximale Variabilität der Tm-Zielwerte als VK% gleich 0,58 % aus).

11.9 Vergleichspräzision

Zur Bewertung der Vergleichspräzision des Assays mit ELITe BeGenius und ELITe InGenius wurde ein Pool negativer Zervixproben analysiert, die in ThinPrep entnommen und mit Referenzmaterialien (HPV16-SiHa-Zellen, HPV18-HeLa-Zellen, pHPV33-Plasmid-DNA, pHPV35-Plasmid-DNA) dotiert wurden.

Die Ct-Ergebnisse der chargenübergreifenden Vergleichspräzision (bei drei Chargen) sind in der nachfolgenden Tabelle dargestellt.

Tabelle 23 Test der chargenübergreifenden Vergleichspräzision – Ct-Ergebnisse (sechs Tage / drei Chargen)

Probe	Zielsequenz	Anzahl	ELITe BeGenius				ELITe InGenius			
			Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	HPV16-31	36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
16+18 3 x LoD		36	32,88	0,55	1,68	100 %	32,24	0,46	1,44	100 %
33+35 3 x LoD		36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
10xLoD		36	30,81	0,52	1,68	100 %	30,22	0,54	1,79	100 %
Neg.	HPV18-45	36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
16+18 3 x LoD		36	35,30	0,64	1,82	100 %	33,39	0,41	1,24	100 %
33+35 3 x LoD		36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
10xLoD		36	33,92	0,69	2,04	100 %	31,94	0,48	1,51	100 %
Neg.	HPV-HR1	36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
16+18 3 x LoD		36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
33+35 3 x LoD		36	33,55	0,74	2,21	100 %	32,49	0,67	2,08	100 %
10xLoD		36	31,01	0,54	1,74	100 %	30,12	0,33	1,10	100 %
Neg.	HPV-HR2	36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
16+18 3 x LoD		36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
33+35 3 x LoD		36	33,07	0,49	1,47	100 %	32,71	0,33	1,02	100 %
10xLoD		36	31,18	0,36	1,15	100 %	30,97	0,21	0,66	100 %

Die Ergebnisse der geräteübergreifenden Vergleichspräzision (bei drei Geräten) sind in der nachfolgenden Tabelle dargestellt.

Tabelle 24 Test der geräteübergreifenden Vergleichspräzision – Ct-Ergebnisse (sechs Tage / drei Chargen / drei Geräte)

Probe	Zielsequenz	Anzahl	ELITe BeGenius				ELITe InGenius			
			Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	HPV16-31	36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
16+18 3 x LoD		36	32,47	0,46	1,42	100 %	31,67	0,87	2,74	100 %
33+35 3 x LoD		36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
10xLoD		36	30,35	0,45	1,50	100 %	29,64	0,71	2,40	100 %
Neg.	HPV18-45	36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
16+18 3 x LoD		36	34,37	0,45	1,30	100 %	33,21	0,42	1,28	100 %
33+35 3 x LoD		36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
10xLoD		36	33,06	0,46	1,38	100 %	31,80	0,37	1,18	100 %
Neg.	HPV-HR1	36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
16+18 3 x LoD		36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
33+35 3 x LoD		36	32,90	0,39	1,18	100 %	32,73	0,41	1,26	100 %
10xLoD		36	30,35	0,25	0,83	100 %	30,09	0,30	1,01	100 %
Neg.	HPV-HR2	36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
16+18 3 x LoD		36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
33+35 3 x LoD		36	32,82	0,32	0,98	100 %	32,72	0,25	0,76	100 %
10xLoD		36	30,85	0,27	0,88	100 %	30,79	0,24	0,77	100 %

Beim Test der Vergleichspräzision erkannte der HPV PLUS ELITe MGB Kit alle Proben wie erwartet und wies eine maximale Variabilität der Ct-Zielwerte als VK% gleich 2,74 % aus (und eine maximale Variabilität der Tm-Zielwerte als VK% gleich 0,41 % aus).

11.10 Kreuzkontamination

Zur Bewertung der möglichen Kreuzkontamination während der Analyse wurden für den Assay 60 Wiederholungen eines Pools negativer, in ThinPrep entnommener Zervixproben im Wechsel mit 60 Wiederholungen desselben Pools, die mit pHPV16-Plasmid-DNA (EG SpA) in einer Konzentration von ~1x10^7 Kopien/ml dotiert waren, in 5 Läufen getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 25 Testergebnisse zur Kreuzkontamination auf ELITe BeGenius

Proben	Anzahl	Positiv	Negativ	% Übereinstim-mung
Positiv	60	60	0	100 %
Negativ	60	0	60	100 %

Mit dem HPV PLUS ELITe MGB Kit wurde weder innerhalb der Läufe noch zwischen den Läufen eine Kreuzkontamination festgestellt.

11.11 Fehlerrate des Gesamtsystems

Zur Bewertung der Fehlerrate des Gesamtsystems für den Assay wurde eine Reihe von 100 negativen Zervixproben, die in ThinPrep entnommen und auf 3 x LoD mit HPV16 WHO International Standard (NIBSC) dotiert wurden, getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 26 Testergebnisse zur Fehlerrate des Gesamtsystems auf ELITe BeGenius

Proben	Anzahl	Positiv	Negativ	Fehlerrate des Gesamtsy-stems
Zervixproben, dotiert auf 3 x LoD	100	100	0	0 %

Bei keiner der getesteten HPV16-positiven Proben wurden mit dem HPV PLUS ELITe MGB Kit falsch-negative Ergebnisse erhalten. Die Fehlerrate des Gesamtsystems lag bei 0 %.

11.12 Klinische Leistung

Zur Bewertung der klinischen Leistung unter Berücksichtigung der diagnostischen Sensitivität und diagnostischen Spezifität wurden humane Zervixproben, die für zytologische Untersuchungen in ein Fixiermittel auf Alkoholbasis eingelegt wurden, mit ELITe BeGenius analysiert.

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

Die in die Studie aufgenommenen klinischen Proben stammten von Frauen im Alter zwischen 17 und 89 Jahren mit einem früheren zytologischen oder HPV-molekularbiologischen positiven Testergebnis. Die Proben wurden von einem HPV-Referenzlabor mit einer validierten Referenzmethode als negativ oder positiv bestätigt.

Die klinische Leistung gemäß der Referenzmethode wurde anhand des Cohen’s-Kappa-Werts bewertet, und die Ergebnisse für die einzelnen HR-HPV-Kanäle sind in den folgenden Tabellen zusammengefasst.

Tabelle 27 HPV16–31 Klinische Leistung

		Referenzmethode			AUC	Cohen's Kappa
		Positiv	Negativ	Gesamt		
HPV PLUS ELITe MGB Kit	**Positiv**	56	0	56	**98,4 %**	**0,967**
	Negativ	2	65	67		
	Gesamt	58	65	123		

Tabelle 28 HPV HR2 Klinische Leistung

		Referenzmethode			AUC	Cohen's Kappa
		Positiv	Negativ	Gesamt		
HPV PLUS ELITe MGB Kit	Positiv	54	3	57	94,2 %	0,885
	Negativ	4	59	63		
	Gesamt	58	62	120		

Tabelle 29 HPV HR1 Klinische Leistung

		Referenzmethode			AUC	Cohen's Kappa
		Positiv	Negativ	Gesamt		
HPV PLUS ELITe MGB Kit	Positiv	49	0	49	96,6 %	0,931
	Negativ	4	65	69		
	Gesamt	53	65	118		

Tabelle 30 HPV18–45 Klinische Leistung

		Referenzmethode			AUC	Cohen's Kappa
		Positiv	Negativ	Gesamt		
HPV PLUS ELITe MGB Kit	Positiv	53	1	54	97,5 %	0,950
	Negativ	2	64	66		
	Gesamt	55	65	120		

In dieser Analyse erzielte das HPV PLUS ELITe MGB Kit eine Fläche unter der Kurve (AUC) und einen Cohen's-Kappa-Wert, die nahezu perfekt mit den Ergebnissen übereinstimmten, die mit der Referenzmethode für alle HR-HPV-Kanäle erzielt wurden.

12 REFERENZEN

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

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

G. Anderson and M. Scott (1991) Clin. Chem. 37: 398 – 402.

A. Marrone and J. Ballantyne (2010) Forensic Sci. Intern. Genetics 4: 168 – 177.

A. Pal and R. Kundu (2020) Front. Microbiol. 10: 3116

J. Rotondo and F. Martini (2020) Front. Microbiol. 11: 591452.

N. Muñoz et al. (2003) The New England Journal of Medicine 348: 518 – 527.

C. J. L. M. Meijer et al. (2009) Int J Cancer 124: 516 – 520.

IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans (2012). Volume 100 B.

13 GRENZEN DES VERFAHRENS

Dieses Produkt darf ausschließlich mit den folgenden klinischen Proben verwendet werden: Zervixproben, die für zytologische Untersuchungen in ein Fixiermittel auf Alkoholbasis (ThinPrep oder Surepath) eingelegt wurden.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Bei Koinfektionen kann die Sensitivität für eine Zielsequenz durch die Amplifikation einer zweiten Zielsequenz (siehe „Leistungsmerkmale“) beeinträchtigt werden.

Mit diesem Produkt erhaltene Ergebnisse können manchmal aufgrund von Ausfällen der internen Kontrolle ungültig sein. In diesem Fall ist die Probe beginnend mit der Extraktion erneut zu testen, was zu einer Verzögerung der endgültigen Testergebnisse führen kann.

Etwaige Polymorphismen, Insertionen oder Deletionen in der Primer- oder Sondenbindungsregion der Ziel-DNA können den Nachweis der Ziel-DNA beeinträchtigen.

Eine Kreuzreaktivität wurde beobachtet bei HPV53 und HPV82, zwei möglicherweise karzinogenen HPV-Genotypen (Gruppe 2B), die nicht unter den Verwendungszweck des Produkts fallen (siehe 11 LEISTUNGSMERKMALE page 19).

Eine teilweise Inhibition wurde beobachtet bei HPV67 und HPV82, zwei möglicherweise karzinogenen HPV-Genotypen (Gruppe 2B), die nicht unter den Verwendungszweck des Produkts fallen (siehe 11 LEISTUNGSMERKMALE page 19).

Eine Inhibition ist bei Vaginal Moisturizer in hoher Konzentration (> 1 Gew.-%) zu beobachten (siehe 11 LEISTUNGSMERKMALE page 19).

Das Produkt ist nicht gemäß den Richtlinien für HPV-DNS-Screenings nach Meijer validiert.

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

Wie bei allen diagnostischen Produkten besteht auch bei diesem Produkt ein Restrisiko von ungültigen oder fehlerhaften Ergebnissen. Dieses Restrisiko kann nicht eliminiert oder weiter minimiert werden. In manchen Fällen kann dieses Restrisiko zu falschen Entscheidungen mit potenziell gefährlichen Auswirkungen auf den Patienten beitragen. Dieses Restrisiko im Zusammenhang mit dem Verwendungszweck des Produkts wurde jedoch gegen den potenziellen Nutzen für den Patienten abgewogen und als akzeptabel eingestuft.

14 FEHLERBEHEBUNG

Tabelle 31

Ungültige Positive Control-Reaktion	
Mögliche Ursachen	**Abhilfemaßnahmen**
Einstellfehler des Geräts.	Position von PCR Mix und Positive Control kontrollieren. Volumina von PCR Mix und Positive Control kontrollieren.
Abbau des PCR Mix.	Den PCR Mix nicht für mehr als 7 unabhängige Läufe verwenden (jeweils etwa 3 Stunden im gekühlten Reagenzienblock oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix nicht für mehr als 3 aufeinander folgende Läufe verwenden (7 Stunden im gekühlten Reagenzienblock oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix nicht länger als 30 Minuten bei Raumtemperatur aufbewahren. Ein neues Aliquot des PCR Mix verwenden.
Abbau des Positive Control.	Die Positive Control nicht für mehr als 4 unabhängige Läufe verwenden (jeweils etwa 3 Stunden im Extraktionsbereich oder in der Cooler Unit). Ein neues Aliquot des Positive Control verwenden.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Tabelle 32

Ungültige Reaktion der Negativkontrolle	
Mögliche Ursachen	**Abhilfemaßnahmen**
Einstellfehler des Geräts.	Position von PCR Mix und Negative Control kontrollieren. Volumina von PCR Mix und Negative Control kontrollieren.
Kontamination der Negative Control.	Die Negative Control nicht für mehr als 1 Lauf verwenden. Ein neues Aliquot hochreines Wasser für die Molekularbiologie verwenden.
Kontamination der PCR Mix.	Ein neues Aliquot des PCR Mix verwenden.
Kontamination des Extraktionsbereichs, der Racks, des Bestandsmanager oder der Cooler Unit.	Oberflächen mit wässrigen Reinigungsmitteln reinigen, Laborkittel waschen, verwendete Röhrchen und Spitzen austauschen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Tabelle 33

Ungültige Probenreaktion	
Mögliche Ursachen	**Abhilfemaßnahmen**
Einstellfehler des Geräts.	Position von PCR Mix, Internal Control und Probe kontrollieren. Volumina von PCR Mix, Internal Control und Probe kontrollieren.
Abbau des PCR Mix.	Den PCR Mix nicht für mehr als 7 unabhängige Läufe verwenden (jeweils etwa 3 Stunden im Inventory Area (Inventarbereich) oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix nicht für mehr als 3 aufeinander folgende Läufe verwenden (7 Stunden im gekühlten Reagenzienblock oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix nicht länger als 30 Minuten bei Raumtemperatur aufbewahren. Ein neues Aliquot PCR Mix vorbereiten.
Inhibition durch Störsubstanzen in der Probe.	Amplifikation der eluierten Probe mit einer 1:2-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „PCR Only"-Lauf (nur PCR) wiederholen. Extraktion mit einer 1:2-Verdünnung der Probe in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „Extract + PCR"-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Tabelle 34

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

Tabelle 35

Fehler bei der Berechnung des Ct-Werts	
Mögliche Ursachen	**Abhilfemaßnahmen**
Zu hohe Konzentration von Ziel-DNA in der Probe oder Probe mit anomalem Fluoreszenzsignal.	Wenn im PCR-Diagramm eine signifikante Amplifikation zu beobachten ist, entsprechende Spur für die Probe auswählen und Ergebnis manuell als positiv bestätigen. Wenn im PCR-Diagramm keine Amplifikation zu beobachten ist, entsprechende Spur für die Probe auswählen und Ergebnis manuell als negativ bestätigen oder als ungültig belassen. Wenn ein Ct-Wert benötigt wird: - Amplifikation der eluierten Probe mit einer 1:10-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „PCR Only"-Lauf (nur PCR) wiederholen. - Extraktion der Probe mit einer 1:10-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „Extract + PCR"-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen.

Tabelle 36

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

15 SYMBOLE

REF — Katalognummer.

— Temperaturobergrenze.

LOT — Chargenbezeichnung.

— Verfallsdatum (letzter Tag des Monats).

IVD — *In-vitro*-Diagnostikum.

CE 0123 — Erfüllt die Anforderungen der Verordnung (EU) 2017/746 über *In-vitro*-Diagnostika (IVDR). Zertifizierung ausgestellt von der TÜV SÜD Product Service GmbH, Deutschland.

UDI — Unique Device Identification, eindeutige Gerätekennung

— Ausreichend für „N“ Tests

— Vorsicht, Gebrauchsanweisung beachten.

CONT — Inhalt.

— Vor Sonneneinstrahlung schützen.

— Hersteller.

16 ANWENDERHINWEISE

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

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

17 HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ

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

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

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

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

MGB®, Eclipse Dark Quencher®, AquaPhluor®, ELITe MGB®, das ELITe MGB®-Gerätelogo, ELITe InGenius® und ELITe BeGenius® sind eingetragene Marken der ELITechGroup in der Europäischen Union.
ThinPrep® Pap Test PreservCyt® ist eine eingetragene Marke von Hologic Inc.; BD SurePath™ ist eine eingetragene Marke von Benton, Dickinson and Company.

Appendix A HPV PLUS ELITe MGB Kit zur Verwendung mit Plattformen der Genius-Reihe®

VORSICHT

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

VERWENDUNGSZWECK

Das Produkt **HPV PLUS ELITe MGB® Kit** ist ein In-vitro-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal in einem qualitativen Multiplex-Nukleinsäure-Real-Time-PCR-Assay zum Nachweis und zur Identifizierung der **genomischen DNA des humanen Papillomvirus**, genauer gesagt der folgenden 14 Hochrisiko-HPV-Typen bestimmt ist: Nachweis und Typisierung der Hochrisiko-HPV-Typen 16, 18, 31 und 45, Nachweis der HPV-HR1-Gruppe (33, 52, 58) und Nachweis der Hochrisiko-HPV-HR2-Gruppe, nicht impfbare Typen, (35, 39, 51, 56, 59, 66 und 68), aus klinischen Proben extrahiert.

Dieser Assay ist in Verbindung mit den Geräten **ELITe InGenius®** und **ELITe BeGenius®**, automatisierten und integrierten Systemen zur Extraktion, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation mit humanen Zervixproben, die für zytologische Untersuchungen in ein Fixiermittel auf Alkoholbasis eingelegt wurden, validiert.

Das Produkt ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Diagnose von HPV-Infektionen bei Patienten mit zervixzytologischen oder molekularbiologischen HPV-positiven Testergebnissen bestimmt. Bei der Interpretation der Ergebnisse müssen alle relevanten klinischen Beobachtungen und Laborbefunde herangezogen werden.

Amplifizierte Sequenz

Sequenz	Gen	Fluorophor	Kanal
Zielsequenz 1	E6/E7	FAM	HPV16-31
Zielsequenz 2	E6/E7	AP690	HPV18-45
Zielsequenz 3	E6/E7	AP639	HPV HR1
Zielsequenz 4	E6/E7	AP593	HPV HR2
Internal Control	beta-Globin	AP525	IC

Validierte Matrix

Zervixprobe für die Flüssigzytologie, entnommen in ThinPrep® Pap Test PreservCyt® Solution (Hologic, Inc.)
Zervixprobe für die Flüssigzytologie, entnommen in BD SurePath™ Collection Vial 10 mL (Becton, Dickinson and C.)

Kit-Inhalt und zugehörige Produkte

HPV PLUS ELITe MGB Kit Kit (RTS402ING)		HPV PLUS - ELITe Positive Control (CTR402ING)	
X 8		X 3	
HPV PLUS PCR Mix 8 Röhrchen mit 280 µl 12 Reaktionen pro Röhrchen 96 Reaktionen pro Kit 7 Einfrier- und Auftau-Zyklen pro Röhrchen		HPV PLUS Positive Control 3 Röhrchen mit 160 µl 4 Reaktionen pro Röhrchen 12 Reaktionen pro Kit 4 Gefrier- und Auftauzyklen	
Maximale Haltbarkeitsdauer:	**24 Monate**	Maximale Haltbarkeitsdauer	**24 Monate**
Umgebungstemperatur bei Lagerung	**≤ -20°C**	Umgebungstemperatur bei Lagerung	**≤ -20°C**

Weitere benötigte, nicht im Kit enthaltene Produkte

› ELITe InGenius-Gerät: INT030. › ELITe BeGenius-Gerät: INT040. › ELITe InGenius SP 200: INT032SP200. › ELITe InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS. › ELITe InGenius PCR Cassette: INT035PCR. › ELITe InGenius Waste Box: F2102-000. › 300 µL Filter Tips Axigen: TF-350-L-R-S. › 1000 µL Filter Tips Tecan: 30180118.	**ThinPrep® Pap Test PreservCyt® Solution** (Hologic, Inc., Bestell-Nr. 70098-002, 20 ml PreservCyt® Solution). **BD SurePath™ Collection Vial 10 mL** (Becton, Dickinson and Company, Bestell-Nr. 491439 / 491438 / 491440, 10 ml SurePath® Preservative Fluid [Konservierungslösung]).

ELITe InGenius- und ELITe BeGenius-Protokoll

› Probenvolumen › Gesamtes Elutionsvolumen	200 µl 100 µl	› PCR-Eingangsvolumen für die Elution › Volumen PCR-Mix › Häufigkeit der Kontrollen	20 µl 20 µl 15 Tage

Leistungsdaten für ELITe InGenius und ELITe BeGenius

Matrix	Zielorganismus	Klinische Leistung	
		AUC	Cohen's Kappa
Zervixproben für die Flüssigzytologie	**HPV16-31**	**98,4 %**	**0,967**
	HPV HR2	**94,2 %**	**0,885**
	HPV HR1	**96,6 %**	**0,931**
	HPV18–45	**97,5 %**	**0,950**

Matrix	Zielorganismus	Nachweisgrenze
In ThinPrep und SurePath entnommenen Zervixproben auf ELITe BeGenius und ELITe InGenius	HPV16	1.700 (IU/ml)
	HPV18	1.700 (IU/ml)
	HPV31	1.700 (IU/ml)
	HPV33	2.000 (IU/ml)
	HPV45	1.700 (IU/ml)
	HPV35	1.700 (Kopien/ml)

Probenvorbereitung

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

Probentyp	Anforderungen an die Entnahme	Transport-/Lagerbedingungen			
		+16 bis +26 °C (Raumtemperatur)	**+2 / +8 °C**	**- 20 ± 10 °C**	**- 70 ± 15 °C**
Zervixproben für die Flüssigzytologie	ThinPrep® Pap Test PreservCyt® Solution (Hologic, Inc.)	≤ 6 Monate	≤ 6 Monate	n. e.	n. e.
	BD SurePath™ Collection Vial 10 mL (Becton, Dickinson and C.)	≤ 3 Monate	≤ 6 Monate	n. e.	n. e.

n. e.: nicht empfohlen

ELITe InGenius-Verfahren

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

Vor der Analyse

1. ELITe InGenius einschalten. Mit dem Benutzernamen und Passwort anmelden. Den Modus „**CLOSED**“ (Geschlossen) wählen.	**2.** Kontrollen überprüfen: **Positive Control** sowie **Negative Control** im Menü „Controls“ (Kontrollen). Hinweis: Beide müssen ausgeführt und genehmigt worden sein und dürfen nicht abgelaufen sein.	**3.** Die **PCR Mix**-Röhrchen auftauen. Vorsichtig vortexen. 5 Sek. herunterzentrifugieren.

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

1. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen	**2.** Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingang: „200 µL“, Elutionsvolumen: „100 µL“	**3.** Die Proben-Barcodes mit dem tragbaren Barcodeleser scannen oder die Proben-ID eingeben
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: HPV PLUS ELITe_Cyt_Sense_200_100.	**5.** Die Methode „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) und die „Sample Position“ (Probenposition) auswählen: Extraction Tube (Extraktionsröhrchen)	**6.** Den PCR Mix in den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden
7. PCR Cassetten, ELITe InGenius SP 200 Extraktionskartuschen und alle benötigten Verbrauchsmaterialien und zu extrahierenden Proben laden	**8.** Tür schließen. Analyselauf starten	**9.** Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern

HINWEIS!

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

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

1. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen	**2.** Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingang: „200 µL“, Elutionsvolumen: „100 µL“	**3.** Die Proben-Barcodes mit dem tragbaren Barcodeleser scannen oder die Proben-ID eingeben
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: HPV PLUS ELITe_Cyt_Sense_200_100 oder HPV PLUS ELITe_PC or HPV PLUS ELITe_NC	**5.** Die Methode „PCR Only“ (Nur PCR) und die „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube“ (Elutionsröhrchen) auswählen	**6.** Den PCR Mix in den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden
7. Folgendes laden: PCR-Kassette, Extraktionskartusche, Elution tube (Elutionsröhrchen), Spitzenkassette, Extraction Tube (Extraktionsröhrchen)-Rack	8. Tür schließen. Analyselauf starten	**9.** Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern

ELITe BeGenius-Verfahren

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

Vor der Analyse

1. ELITe BeGenius einschalten. Mit dem Benutzernamen und Passwort anmelden. Den Modus „**CLOSED**“ (Geschlossen) wählen.	**2.** Kontrollen überprüfen: **Positive Control** sowie **Negative Control** im Menü „Controls“ (Kontrollen). Hinweis: Beide müssen ausgeführt und genehmigt worden sein und dürfen nicht abgelaufen sein.	**3.** Die **PCR Mix**-Röhrchen auftauen. Vorsichtig vortexen. 5 Sek. herunterzentrifugieren.

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

1. Auf dem Touchscreen „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen und anschließend auf den Laufmodus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) klicken.	**2.** Das Sample Rack (Probenständer) mit den barcodierten Proben in die Cooler Unit einsetzen. Der Barcode-Scan ist bereits aktiv	**3.** Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingang: „200 µL“, Elutionsvolumen: „100 µL“
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: HPV PLUS ELITe_Be_Cyt_Sense_200_100 Hinweis: Bei Durchführung einer zweiten Extraktion die Schritte 2 bis 4 wiederholen	**5.** Die Etiketten ausdrucken, um die leeren Elution Tubes (Elutionsröhrchen) mit einem Barcode zu versehen. Die Röhrchen in das Elution Rack (Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen	**6.** Den PCR Mix in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen
7. Das „PCR Rack“ mit der „PCR Cassette“ und das „Extraction Rack“ (Extraktionsrack) mit den „ELITe InGenius SP 200“ Extraktionskartuschen und die für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden	**8.** Tür schließen. Analyselauf starten	**9.** Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern

HINWEIS!

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

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

1. Auf dem Touchscreen „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen und anschließend auf den Run mode „PCR Only“ (Nur PCR) klicken	**2.** Die barcodierten Röhrchen mit der extrahierten Nukleinsäure oder den Kontrollen in das Elution Rack (Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen	**3.** Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingang: „200 µL“, Elutionsvolumen: „100 µL“
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: HPV PLUS ELITe_Be_Cyt_Sense_200_100 oder HPV PLUS ELITe_Be_PC or HPV PLUS ELITe_Be_NC.	**5.** Den PCR-Mix in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen	**6.** „PCR Rack“ mit „PCR Cassette“ beladen
7. Tür schließen. Analyselauf starten	**8.** Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern	

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