

Instructions for use

Pneumocystis ELITe MGB® Kit

Reagenzien für die DNA-Real-Time-PCR



REF RTS150ING

UDI 08033891486723

CE IVD
0123

ÄNDERUNGSVERLAUF

Revision	Änderungsvermerk	Datum (TT.MM.JJJJ)
04-R	Aktualisierung zur Einhaltung der Anforderungen der IVD-Verordnung (EU) 2017/746 über In-vitro-Diagnostika. Aktualisierung der verbesserten analytischen und diagnostischen Leistungen im Abschnitt „LEISTUNGSMERKMALE“. Aktualisierung des Verwendungszwecks.	09/03/2026
03	Ersetzung von 2-ml-Röhrchen 953-217 und weißer Verschluss 953-223 durch 2-ml-Röhrchen 953-065 in Bezug auf Röhrchen der PCR Mix-Komponente Aktualisierung des Verwendungszwecks. Aktualisierung der Verpackung des PCR Mix-Röhrchens (Abschnitt „Mit dem Produkt bereitgestellte Materialien“) Aktualisierung des Abschnitts „Sonstige benötigte Produkte“ Aktualisierung des Abschnitts „Hinweis an die Benutzer“ Aktualisierung des Abschnitts „Hinweis an den Käufer: eingeschränkte Lizenz“ Aktualisierung des Abschnitts „Symbole“ mit dem Symbol „Gebrauchsanweisung beachten“ Neue grafische und inhaltliche Gestaltung der Gebrauchsanweisung.	09/09/2025
02	Erweiterte Verwendung des Produkts in Verbindung mit dem Gerät „ELITe BeGenius®“ (REF INT040) und Sputum-Matrix. LEISTUNGSMERKMALE aktualisiert: - ULoQ-Wert für Sputum-Matrix aktualisiert - Linearer Messbereich bei Sputumproben, die in Matrix statt in PBS durchgeführt werden, aktualisiert Neue grafische und inhaltliche Gestaltung der Gebrauchsanweisung.	25.07.2024
01	Erweiterte Verwendung des Produkts auf dem Gerät „ELITe BeGenius®“ (REF INT040) und BAL-Matrix. Für BAL-Matrix berechneter ULoQ/ LLoQ-Wert aktualisiert. Beschreibung des IC-Grenzwerts.	15.05.2023
00	Neuproduktentwicklung	11.09.2019

HINWEIS!

Die Produktchargen mit den folgenden Chargennummern werden gemäß Artikel 110 der IVD-Verordnung bis zu ihrem Verfallsdatum weiterhin gemäß IVDD auf dem Markt angeboten. Wenn Sie diese Produktchargen haben, kontaktieren Sie bitte die Mitarbeiter der ELITechGroup, um die entsprechende vorherige, überarbeitete Version der Gebrauchsanweisungen anzufordern.

<u>PRODUKTREF.</u>	<u>Chargennummer</u>	<u>Verfallsdatum</u>
RTS150PLD	U01224-002	31/12/2026
RTS150PLD	U0425-100	28/02/2027
RTS150PLD	U1025-037	31/05/2027
RTS150PLD	U0226-034	28/02/2028

Die Produktchargen der Positive Control und des Standards, die weiterhin gemäß IVDD auf dem Markt angeboten werden (identifiziert durch die in der Gebrauchsanweisungen für die Positive Control und den Standard angegebenen Chargennummern), sind technisch mit der neuen IVDR-Version des Amplifikationskits kompatibel und können in Verbindung mit der neuen IVDR-Version des Amplifikationskits und gemäß dessen Verwendungszweck verwendet werden, bis sie aufgebraucht sind.

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	6
6 ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE	6
7 WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN	7
8 PROBEN UND KONTROLLEN	8
9 VERFAHREN BEI ELITe InGenius	10
10 VERFAHREN BEI ELITe BeGenius	17
11 LEISTUNGSMERKMALE	22
12 REFERENZEN	28
13 GRENZEN DES VERFAHRENS	28
14 FEHLERBEHEBUNG	29
15 SYMBOLE	32
16 ANWENDERHINWEISE	33
17 HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ	33
Appendix A QUICK START GUIDE	34

1 VERWENDUNGSZWECK

Das Produkt **Pneumocystis ELITE MGB Kit** ist ein *In-vitro*-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal als quantitativer Nukleinsäure- und Real-Time-PCR-Assay zum **Nachweis und zur Quantifizierung der genomischen DNA** von *Pneumocystis jirovecii* (**PJ**), die aus klinischen Proben extrahiert wurde, bestimmt ist.

Dieser Assay ist in Verbindung mit den Geräten **ELITE InGenius®** und **ELITE BeGenius®**, automatisierten und integrierten Systemen zur Extraktion, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation mit humanen Proben von bronchoalveolärer Lavage (BAL), Bronchialaspirat (BA) und Sputum, validiert.

Das Produkt ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Diagnose und Überwachung von *Pneumocystis jirovecii*-Infektionen bei Patienten bestimmt, bei denen Verdacht auf eine *Pneumocystis jirovecii*-Infektionen besteht oder die auf *Pneumocystis jirovecii*-Infektionen überwacht werden.

Bei der Interpretation der Ergebnisse müssen alle relevanten klinischen Beobachtungen und Laborbefunde herangezogen werden.

2 TESTPRINZIP

Der Assay ist eine quantitative Real-Time-PCR für den Nachweis von *Pneumocystis jirovecii* (**PJ**) -DNA, die aus Proben isoliert und mit dem Testreagenz **PJ PCR Mix**, das Primer und ELITE MGB®-Technologie-Sonden enthält, amplifiziert wurde.

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

Bei den ELITE MGB-Sonden werden die Fluorophore im spiralförmig gefalteten, einzelsträngigen Zustand der Sonde gequencht. Die Fluorophore sind in der Sonden/Amplicon-Duplex aktiv, da der Quencher räumlich von dem Fluorophor getrennt ist. Es ist zu beachten, dass das Fluorophor während der PCR nicht abgespalten wird und für die Dissoziationsanalyse und die Berechnung der Schmelztemperatur verwendet werden kann.

3 BESCHREIBUNG DES PRODUKTS

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

- die **mitochondriale große Untereinheit des rRNA-Gens (mtLSU)** von PJ, nachgewiesen in Kanal **PJ**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher® gequencht und mit einem FAM-Farbstoff markiert,
- die Internal Control, die künstliche Sequenz **IC2**, nachgewiesen in Kanal **IC**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 525 (AP525) markiert.

Der **PJ PCR Mix** enthält außerdem Puffer, Magnesiumchlorid, Triphosphat-Nukleotide und „Hot-start“-DNA-Polymerase.

Das **Pneumocystis ELITE MGB Kit** enthält ausreichend Reagenzien für 96 Tests in Verbindung mit **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius (12 Tests pro Röhrchen)**, wobei 20 µl pro Reaktion verwendet werden.

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

4 MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN

Tabelle 1

Komponente	Beschreibung	Menge	Gefahrenklasse
PJ PCR Mix Art.-Nr. RTS150ING	Gemisch aus Reagenzien für die Real-Time-PCR in Röhrchen mit NATURFARBENEM 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 (Volumenbereich: 0,5–1000 µl).
- sterile 2,0-ml-Röhrchen mit Schraubverschluss (Sarstedt, Art.-Nr. 72.694.005).
- sterile 0,5-ml-Röhrchen mit Schraubverschluss (Sarstedt, Art.-Nr. 72.730.005)
- Hochreines Wasser für die Molekularbiologie.

6 ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE

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

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

Tabelle 2

Geräte und Software	Produkte und Reagenzien
<p>ELITe InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, Art.-Nr. INT030)</p> <p>ELITe InGenius Software Version 1.3.0.19 (oder später)</p> <p>PJ ELITe _STD, Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Kalibratorenanalyse</p> <p>PJ ELITe _PC, Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Positive Control-Analyse</p> <p>PJ ELITe _NC, Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Negative Control-Analyse</p> <p>PJ ELITe _BAL_200_100, Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die BAL/BA-Proben-Analyse</p> <p>PJ ELITe _SP_200_100, Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Sputumproben-Analyse</p>	<p>Pneumocystis - ELITe Positive Control (EG SpA, Art.-Nr. CTR150PLD).</p> <p>Pneumocystis ELITe Standard (EG SpA, Art.-Nr. STD150PLD)</p> <p>ELITe InGenius SP200 (EG SpA., Art.-Nr. INT032SP200)</p> <p>CPE - Internal Control (EG SpA, Art.-Nr. CTCRCPE).</p> <p>ELITe InGenius und ELITe BeGenius Verbrauchsmaterialien (siehe ELITe InGenius und ELITe BeGenius Gebrauchsanweisung)</p>
<p>ELITe BeGenius (EG SpA, Art.-Nr. INT040)</p> <p>ELITe BeGenius Software Version 2.3.0. (oder später)</p> <p>PJ ELITe _Be_STD, Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Kalibratorenanalyse</p> <p>PJ ELITe _Be_PC, Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Positive Control-Analyse</p> <p>PJ ELITe _Be_NC, Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Negative Control-Analyse</p> <p>PJ ELITe _Be_BAL_200_100, Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die BAL/BA-Proben-Analyse</p> <p>PJ ELITe _Be_SP_200_100, Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Sputumproben-Analyse</p>	

7 WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

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

7.1 Allgemeine Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

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

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

- Geeignete Schutzkleidung und Handschuhe zum Schutz der Augen und des Gesichts tragen.
- Lösungen niemals mit dem Mund pipettieren,
- Essen, Trinken, Rauchen und Schminken sind in den Arbeitsbereichen verboten.
- Die Hände nach der Handhabung von Proben und Reagenzien gründlich waschen.
- Übrig gebliebene Reagenzien und Abfälle gemäß den geltenden Vorschriften entsorgen.
- Vor der Durchführung des Assays alle bereitgestellten Anweisungen aufmerksam lesen.
- Bei der Durchführung des Tests die bereitgestellten Produkthanweisungen befolgen.
- Das Produkt darf nach Ablauf des angegebenen Ablaufdatums nicht mehr verwendet werden.
- Es dürfen nur mit dem Produkt bereitgestellte und vom Hersteller empfohlene Reagenzien verwendet werden.
- Reagenzien von anderen Chargen dürfen nicht verwendet werden.
- 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.

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

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

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

Die Reagenzien müssen unter einer Sicherheitswerkbank gehandhabt werden. Die Pipetten, die für die Handhabung der Reagenzien verwendet werden, dürfen nur für diesen Zweck verwendet werden. Die Pipetten müssen entweder Direktverdrängungspipetten sein oder zusammen mit Aerosolfilterspitzen verwendet werden. Die verwendeten Spitzen müssen steril und sowohl DNase- und RNase-frei als auch DNA- und RNA-frei sein.

Die Extraktionsprodukte müssen so verwendet werden, dass eine Freisetzung in die Umgebung verhindert und eine Kontamination des Arbeitsbereichs des Geräts vermieden wird.

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

7.3 Komponentenspezifische Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Tabelle 3

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

* mit zwischenzeitlichem Gefrierzyklus

8 PROBEN UND KONTROLLEN

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
BAL/BA	in steriler physiologischer Lösung oder steriler PBS*	≤ 3 Tage	≤ 1 Woche	≤ 30 Tage	≤ 30 Tage
SP	-	≤ 3 Tage	≤ 1 Woche	≤ 30 Tage	≤ 30 Tage

BAL, bronchoalveoläre Lavage; BA, Bronchialaspirat; SP, Sputum; PBS, Phosphatgepufferte Salzlösung

Auch wenn eine länger Aufbewahrung bei -70 °C möglich ist, wie in der wissenschaftlichen Literatur ausführlich berichtet, sollte eine derartige Anwendung intern von den Endbenutzern des Produkts beurteilt werden.

Besonders viskose BAL-/BA-Proben können gemäß den Laborrichtlinien mit Dithiothreitol-basierten Reagenzien (z. B. Sputasol, Oxoid, Thermo Fisher Scientific) verflüssigt werden.

Sputumproben müssen gemäß den Laborrichtlinien mit Dithiothreitol-basierten Reagenzien (z. B. Sputasol, Oxoid, Thermo Fisher Scientific) verflüssigt werden.

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

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

Tabelle 5 Assay-Protokolle für Pneumocystis ELITE MGB Kit

Probe	Instrument	Name des Assay Protocol (Assay-Protokoll)	Melden Sie	Eigenschaften
Bronchoalveoläre Lavage / Bronchialaspirat (BAL/BA)	ELITE InGenius	PJ ELITE_BAL_200_100	Kopien/ml	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
	ELITE BeGenius	PJ ELITE_Be_BAL_200_100		Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Internal Control: 10 µl Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
Sputum (SP)	ELITE InGenius	PJ ELITE_SP_200_100	Kopien/ml	Extraktion Eingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
	ELITE BeGenius	PJ ELITE_Be_SP_200_100		

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

HINWEIS!

Das Pipettieren in das **Extraction Tube** (Extraktionsröhrchen) oder das **2-ml-Sarstedt-Röhrchen** kann **Kontamination verursachen**. Die geeigneten Pipetten verwenden und alle im Abschnitt 7 WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN page 7 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 22“ unter „Potenziell interferierende Substanzen“ aufgeführt.

Bei aus der Probe extrahierter humaner genomischer DNA in Mengen von über 1 µg kann die Echtzeit-Amplifikation gehemmt werden.

8.2 PCR-Kalibratoren und -Kontrollen

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

- Für die Kalibrationskurve die vier Konzentrationen des Produkts **Pneumocystis ELITE Standard** (nicht im Lieferumfang dieses Kits enthalten) mit dem Assay-Protokoll **PJ ELITE_STD** oder **PJ ELITE_Be_STD** verwenden.

HINWEIS!

Die Konzentrationen der Q – PCR Standards sind in Kopien/Reaktion (10^5 Kopien/Reaktion, 10^4 Kopien/Reaktion, 10^3 Kopien/Reaktion, 10^2 Kopien/Reaktion) ausgedrückt. Siehe „Unsicherheit der Standardkurve“ im Abschnitt 11 LEISTUNGSMERKMALE page 22.

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

- Für die Positive Control das Produkt **Pneumocystis - ELITE Positive Control** (nicht in diesem Kit enthalten) mit dem Assay-Protokoll **PJ ELITE_PC** oder **PJ ELITE_Be_PC** verwenden,
- Für die Negative Control hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) mit dem Assay-Protokoll **PJ ELITE_NC** oder **PJ ELITE_Be_NC** verwenden.

HINWEIS!

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

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

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

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

- eine neue Reagenziencharge wird verwendet,
- die Ergebnisse der Qualitätskontrollanalyse (siehe nächster Abschnitt) liegen außerhalb der Spezifikation,
- eine größere Wartungs- oder Instandhaltungsmaßnahme am Gerät **ELITE InGenius** oder **ELITE BeGenius** durchgeführt wird.

8.3 Qualitätskontrollen

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

9 VERFAHREN BEI ELITE InGenius

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

Tabelle 6

SCHRITT 1	Prüfung der Systembereitschaft		
SCHRITT 2	Einrichtung des Laufs	A) Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	
		B) Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])	
		C) Kalibrationslauf (PCR Only [nur PCR])	
		D) Lauf für die Positive Control und Negative Control (PCR Only [nur PCR])	

Tabelle 6 (continued)

SCHRITT 3	Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse	1) Validierung der Kalibrationskurve
		2) Validierung der Ergebnisse der Positive Control und Negative Control
		3) Validierung der Probenergebnisse
		4) Ausgabe des Probenergebnisberichts

9.1 SCHRITT 1 – Prüfung der Systembereitschaft

Vor Beginn des Laufs:

- **ELITe InGenius** einschalten und den Modus „**CLOSED**“ (geschlossen) auswählen,
- auf der Startseite im Menü „Calibration“ (Kalibration) bestätigen, dass die Kalibratoren (**Q - PCR Standard**) für die zu verwendende Charge des **PCR Mix** genehmigt und gültig (Status) sind. Wenn keine gültigen Kalibratoren für die Charge **PCR Mix** verfügbar sind, Kalibration wie in den folgenden Abschnitten beschrieben durchführen,
- auf der Startseite im Menü „Controls“ (Kontrollen) bestätigen, dass die PCR-Kontrollen (**Positive Control, Negative Control**) für die zu verwendende Charge des PCR Mix genehmigt und gültig (Status) sind. Wenn keine gültigen PCR-Kontrollen für die Charge **PCR Mix** verfügbar sind, die PCR-Kontrollen wie in den folgenden Abschnitten beschrieben durchführen,
- Den Typ des Laufs auswählen, dazu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche zur Einrichtung des Laufs befolgen und die von EG SpA bereitgestellten Assay-Protokolle verwenden (siehe [8 PROBEN UND KONTROLLEN page 8](#)).

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

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

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

HINWEIS!

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

Vor dem Einrichten eines Laufs:

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

HINWEIS!

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

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

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])
1	Proben identifizieren und, falls erforderlich, auf Raumtemperatur auftauen, vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Für diesen Assay müssen 200 µl Probe in ein zuvor etikettiertes Extraktionsröhrchen überführt werden. Die benötigten CPE-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen . Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Reaktionen.	Elution Tube (Elutionsröhr) mit den extrahierten Nukleinsäuren auf Raumtemperatur auftauen . Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.
2	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
3	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 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.
5	Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“).	Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“).
6	Sicherstellen, dass unter „Protocol“ (Protokoll) Folgendes angezeigt wird: „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR).	In der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) auswählen.
7	Als Proben-Ladeposition „Extraction Tube“ (Extraktionsröhrchen) in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) auswählen. Sicherstellen, dass der Verdünnungsfaktor (Dilution factor) „1“ beträgt.	Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr [untere Reihe]) lautet. Sicherstellen, dass der Verdünnungsfaktor (Dilution factor) „1“ beträgt.
8	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
9	CPE und den PCR Mix gemäß der „Load List“ (Liste Laden) auf den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden und die Chargennummer und das Ablaufdatum des CPE und PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.	Den PCR Mix gemäß der „Load List“ (Liste Laden) auf den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.
10	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
11	Die Spitzen in dem/den „Tip Rack(s)“ (Spitzenständer/n) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und „Tip Rack (s)“ ggf. ersetzen.	Die Spitzen in dem/den „Tip Rack (s)“ (Spitzenständer/n) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und „Tip Rack (s)“ ggf. ersetzen.
12	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
13	PCR-Kassette, ELITE InGenius SP 200 Extraktionskartuschen und alle benötigten Verbrauchsmaterialien und zu extrahierenden Proben laden .	PCR-Kassette und Elution Tube (Elutionsröhr) mit extrahierten Proben laden .
14	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
15	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.
16	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.

	C. Kalibrationslauf (PCR Only [nur PCR])	D. Lauf für die Positive Control und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
1	Die benötigten Q-PCR Standard -Röhrchen (Cal1: Q-PCR Standard 10 ² , Cal2: Q-PCR Standard 10 ³ , Cal3: Q-PCR Standard 10 ⁴ , Cal4: Q-PCR Standard 10 ⁷) 30 Minuten 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. Die Negative Control vorbereiten: dazu mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie in ein Elutionsröhrchen überführen, das im Lieferumfang des ELITe InGenius SP 200 Consumable Set enthalten ist.
2	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
3	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.	Sicherstellen, dass „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.
4	Für den Q-PCR Standard die Spur („Track“) zuweisen, das Assay Protocol (Assay-Protokoll) (siehe „Proben und Kontrollen“) in der Spalte „Assay“ auswählen und die Reagenzien-Chargennummer und das Verfallsdatum eingeben.	Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“). Die Chargennummer und das Ablaufdatum der Positive Control und des hochreinen Wassers für die Molekularbiologie eingeben.
5	Sicherstellen, dass in der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) ausgewählt ist.	Sicherstellen, dass in der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) ausgewählt ist.
6	Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr [untere Reihe]) lautet.	Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr [untere Reihe]) lautet.
7	Den PCR Mix gemäß der „Load List“ (Liste Laden) auf den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.	Den PCR Mix gemäß der „Load List“ (Liste Laden) auf den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.
8	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
9	Die Spitzen in dem/den Spitzenständer/n („Tip Rack (s)“) im Inventory Area (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in dem/den Spitzenständer/n („Tip Rack(s)“) im Inventory Area (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.
10	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
11	Die PCR-Kassette und die Q-PCR-Standard-Röhrchen laden .	PCR-Kassette, Positive Control und Negative Control laden .
12	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
13	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.
14	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

9.3 SCHRITT 3 – Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

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

At the end of the run, the “Results Display” screen is automatically shown. Auf diesem Bildschirm werden die Ergebnisse und Laufdaten angezeigt. Über diesen Bildschirm können die Ergebnisse genehmigt und die Berichte („Sample Report“ (Probenbericht) oder „Track Report“ (Spurbericht)) ausgedruckt oder gespeichert werden. Weitere Informationen finden Sie im Gerätehandbuch.

HINWEIS!

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

ELITE InGenius generiert Ergebnisse mithilfe des **Pneumocystis ELITE MGB Kit** und geht dabei folgendermaßen vor:

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

9.3.1 Validierung der Kalibrationskurve

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

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

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

HINWEIS!

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

9.3.2 Validierung der Ergebnisse des Amplifikationslaufs für die Positivkontrolle und Negativkontrolle

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

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

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

Die **ELITE InGenius Software** verarbeitet die Ergebnisse der Positive Control und Negative Control und generiert Kontrollendiagramme („Control Charts“). Die Genehmigung der Positive Control basiert auf der Auswertung der erhaltenen logarithmischen Größe, die innerhalb des erwarteten logarithmischen Größenbereichs (PC-Diagramm) liegen sollte. Dies stellt sicher, dass die Systemleistung innerhalb der Akzeptanzkriterien liegt. Das zweite Diagramm (L-J-Diagramm) dient ausschließlich der Überwachung des Trends der Positive Control im Zeitverlauf. Weitere Informationen finden Sie im Gerätehandbuch.

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

9.3.3 C. Validierung der Probenergebnisse

Die **ELITE InGenius Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse für die Zielsequenz (Kanal **PJ**) und die Internal Control (Kanal **IC**) mit den Assay-Protokoll-Parametern **PJ ELITE_BAL_200_100** und **PJ ELITE_SP_200_100**. Die resultierenden Ct-Zielwerte werden in Konzentrationswerte umgerechnet.

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

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

1) Kalibrationskurve	„Status“
PJ Q-PCR Standard	APPROVED (Genehmigt)
2) Positivkontrolle	„Status“
PJ Positive Control	APPROVED (Genehmigt)
3) Negativkontrolle	„Status“
PJ 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.

Ergebnis des Probenlaufs	Interpretation
PJ:DNA Detected, quantity equal to XXXcopies/mL (PJ:DNA Erkannt, Menge gleich XXXKopien/ml)	In der Probe wurde PJ-DNA innerhalb des Messbereichs des Assays nachgewiesen , ihre Konzentration wird angezeigt.
PJ:DNA Detected, quantity below LLoQcopies/mL (PJ:DNA Erkannt, Menge unter LLoQKopien/ml)	In der Probe wurde PJ-DNA nachgewiesen , ihre Konzentration liegt unterhalb der unteren Bestimmungsgrenze des Assays.
PJ:DNA Detected, quantity beyond ULoQcopies/mL (PJ:DNA Erkannt, Menge über ULoQKopien/ml)	In der Probe wurde PJ-DNA nachgewiesen , ihre Konzentration liegt oberhalb der oberen Bestimmungsgrenze des Assays.
PJ:DNA Not detected or below LoDcopies/mL (PJ:DNA Nicht erkannt oder unter LoDKopien/ml)	In der Probe wurde keine PJ-DNA nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf die Ziel-DNA getestet oder die Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
Invalid-Retest Sample (Ungültig – Probe erneut testen)	Ungültiges Testergebnis durch fehlerhafte Internal Control (z. B. aufgrund von falscher Extraktion, Verschleppung von Inhibitoren). Der Test sollte wiederholt werden.

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

Wenn ausreichend Eluatvolumen übrig bleibt, kann das Eluat (verdünnt oder unverdünnt) mithilfe eines Amplifikationslaufs im Modus „PCR Only“ (nur PCR) erneut getestet werden. Ist das zweite Ergebnis ungültig, muss die Probe beginnend mit der Extraktion einer neuen Probe im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) erneut getestet werden (siehe [14 „Fehlerbehebung“ page 29](#)).

Als „PJ:DNA Not detected or below LoDcopies/mL (PJ:DNA Nicht erkannt oder unter LoDKopien/ml) ausgegebene Proben sind für die Analyse geeignet, PJ-DNA wurde jedoch nicht nachgewiesen. In diesem Fall kann entweder die Probe für PJ-DNA negativ sein oder die PJ-DNA ist bei einer Konzentration unter der Nachweisgrenze des Tests vorhanden (siehe [11 „Leistungsmerkmale“ page 22](#)).

PJ-DNA-positive Proben mit einer Konzentration unter der Nachweisgrenze (und der unteren Bestimmungsgrenze) des Assays werden, falls nachgewiesen, als „PJ:DNA Detected, quantity below LLoQcopies/mL (PJ:DNA Erkannt, Menge unter LLoQKopien/ml) ausgegeben (siehe [11 „Leistungsmerkmale“ page 22](#)).

PJ-DNA-positive Proben innerhalb des linearen Messbereichs werden erkannt und als „PJ:DNA Detected, quantity equal to XXXcopies/mL (PJ:DNA Erkannt, Menge gleich XXXKopien/ml) ausgegeben (siehe [11 „Leistungsmerkmale“ page 22](#)).

PJ-DNA-positive Proben, die oberhalb der oberen Bestimmungsgrenze liegen, werden als „PJ:DNA Detected, quantity beyond ULoQcopies/mL (PJ:DNA Erkannt, Menge über ULoQKopien/ml) ausgegeben und sind nicht zur Quantifizierung geeignet. Falls erforderlich muss die Probe vor der Extraktion oder dem PCR-Test verdünnt und erneut getestet werden, um Ergebnisse innerhalb des linearen Messbereichs des Assays zu erzielen (siehe [11 „Leistungsmerkmale“ page 22](#)).

HINWEIS!

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

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

9.3.4 Ausgabe des Probenergebnisberichts

Die Probenergebnisse werden in der Datenbank gespeichert, und Berichte können als „Sample Report“ (Probenbericht) und „Track Report“ (Spurbericht) exportiert werden.

Der „Sample Report“ zeigt die Ergebnisdetails sortiert nach ausgewählter Probe (SID, „Sample ID“) an.

Der „Track Report“ zeigt die Ergebnisdetails nach ausgewählter Spur an.

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

10 VERFAHREN BEI ELITE BeGenius

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

Tabelle 7

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

10.1 SCHRITT 1 – Prüfung der Systembereitschaft

Vor Beginn des Laufs:

- **ELITE BeGenius** einschalten und den Modus „**CLOSED**“ (geschlossen) auswählen,
- auf der Startseite im Menü „Calibrations“ (Kalibrationen) bestätigen, dass die Kalibratoren (**Q - PCR Standard**) für die zu verwendende Charge des **PCR Mix** genehmigt und gültig (Status) sind. Wenn keine gültigen

Kalibratoren für die Charge **PCR Mix** verfügbar sind, Kalibration wie in den folgenden Abschnitten beschrieben durchführen,

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

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

10.2 SCHRITT 2 – Einrichtung des Laufs

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

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

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

HINWEIS!

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

Vor dem Einrichten eines Laufs:

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

HINWEIS!

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

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

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])
1	<p>Proben identifizieren und, falls erforderlich, auf Raumtemperatur auftauen, vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.</p> <p>Für diesen Assay müssen 200 µl Probe in ein zuvor etikettiertes 2-ml-Sarstedt-Röhrchen überführt werden.</p> <p>Die benötigten CPE-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Extraktionen.</p>	<p>Falls erforderlich, das 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.</p>
2	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
3	Alle Racks aus der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.	Die „Racks“ aus „Lane 1, 2 und 3 (L1, L2 und L3)“ der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.

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

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])
22	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
23	Den „Extraction Rack“ (Extraktionsrack) mit den „ELITe InGenius SP 200“ Extraktionskartuschen und die für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden.	Nicht anwendbar
24	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.
25	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.

	C. Kalibrationslauf (PCR Only [nur PCR])	D. Lauf für die Positive Control und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
1	Die benötigten Q-PCR Standard -Röhrchen (Cal1: Q-PCR Standard 10 ² , Cal2: Q-PCR Standard 10 ³ , Cal3: Q-PCR Standard 10 ⁴ , Cal4: 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen . Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.	Die Positive Control-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen . Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Die Negative Control vorbereiten: dazu mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie in ein Elutionsröhrchen überführen, das im Lieferumfang des ELITe InGenius SP 200 Consumable Set enthalten ist.
2	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
3	Die „Racks“ aus „Lane 1, 2 und 3 (L1, L2 und L3)“ der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.	Die „Racks“ aus „Lane 1, 2 und 3 (L1, L2 und L3)“ der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.
4	Den Rund Mode („run mode“) wählen: „PCR Only“ (Nur PCR).	Den Laufmodus („Run mode“) wählen: „PCR Only“ (Nur PCR).
5	Die Q-PCR Standard-Röhrchen in das „Elution Rack“ (Elutionsablage) laden .	Die Röhrchen für die Positive Control und Negative Control in das „Elution Rack“ (Elutionsablage) laden .
6	Das „ Elution Rack “ in die „Cooler Unit“ einsetzen , beginnend mit „Lane 3“ (L3). Falls erforderlich, für jede „Position“ unter „Reagent name“ den Reagentnamen, unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.	Das „ Elution Rack “ in die „Cooler Unit“ einsetzen , beginnend mit „Lane 3“ (L3). Falls erforderlich, für jede „Position“ unter „Reagent name“ den Reagentnamen, unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.
7	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
8	Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“).	Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“).
9	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
10	Den PCR Mix in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) laden .	Den PCR Mix in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) laden .
11	Das „ Reagent/Elution Rack “ in die „Cooler Unit“ in „Lane 2“ (L2) einsetzen . Falls erforderlich, für jeden PCR Mix unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.	Das „ Reagent/Elution Rack “ in die „Cooler Unit“ in „Lane 2“ (L2) einsetzen. Falls erforderlich, für jeden PCR Mix unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.
12	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.

	C. Kalibrationslauf (PCR Only [nur PCR])	D. Lauf für die Positive Control und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
13	Die Spitzen in den Spitzenständern („Tip Racks“) im „Inventory Area“ (Invetarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den Spitzenständern („Tip Racks“) im „Inventory Area“ (Invetarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.
14	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
15	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 .
16	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
17	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.
18	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

10.3 SCHRITT 3 – Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

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

At the end of the run, the “Results Display” screen is automatically shown. Auf diesem Bildschirm werden die Ergebnisse und Laufdaten angezeigt. Über diesen Bildschirm können die Ergebnisse genehmigt und die Berichte („Sample Report“ (Probenbericht) oder „Track Report“ (Spurbericht)) ausgedruckt oder gespeichert werden. Weitere Informationen finden Sie im Gerätehandbuch.

HINWEIS!

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

ELITE BeGenius generiert die Ergebnisse mithilfe des **Pneumocystis ELITE MGB Kit** und geht dabei folgendermaßen vor:

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

HINWEIS!

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

11 LEISTUNGSMERKMALE

11.1 Analytische Sensitivität: Nachweisgrenze (LoD)

Die analytische Sensitivität des Pneumocystis ELITE MGB Kit als Nachweisgrenze (LoD) wurde in Kombination mit BAL/BA-Proben und dem **ELITE InGenius** System definiert.

Die LoD wurde berechnet, indem ein Panel aus negativen BAL/BA-Proben getestet wurde, die mit zertifiziertem *Pneumocystis jirovecii* (PJ)-Referenzmaterial mit bekanntem Titer dotiert waren (Qnostics). Die LoD wurde mittels Probit-Regressionsanalyse der Daten als die Konzentration erhalten, bei der eine 95% ige Wahrscheinlichkeit eines positiven Ergebnisses vorliegt.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 8 Nachweisgrenze bei BAL/BA mit ELITE InGenius

LoD	95 % Konfidenzintervall	
	Untergrenze	Obergrenze
97 Kopien/ml	60 Kopien/ml	275 Kopien/ml

Zur Verifizierung des berechneten LoD-Werts für die einzelnen Matrices wurde ein Pool von BAL/BA- und SP-Proben, die in der angegebenen Konzentration mit Pneumocystis-Referenzmaterial dotiert waren, auf **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius** getestet.

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

11.2 Linearer Messbereich und Bestimmungsgrenzen

Der lineare Messbereich des Assays wurde in Verbindung mit den einzelnen Matrizes auf **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius** anhand einer Reihe von PJ-DNA-negativen Matrizes, die mit Verdünnungen von PJ-Ziel-DNA (quantifizierte Plasmid-DNA, die das Amplifikat der mtLSU enthielt) dotiert waren, bestimmt.

Die Ergebnisse für jede Matrix sind in den folgenden Abschnitten angegeben.

Sputum

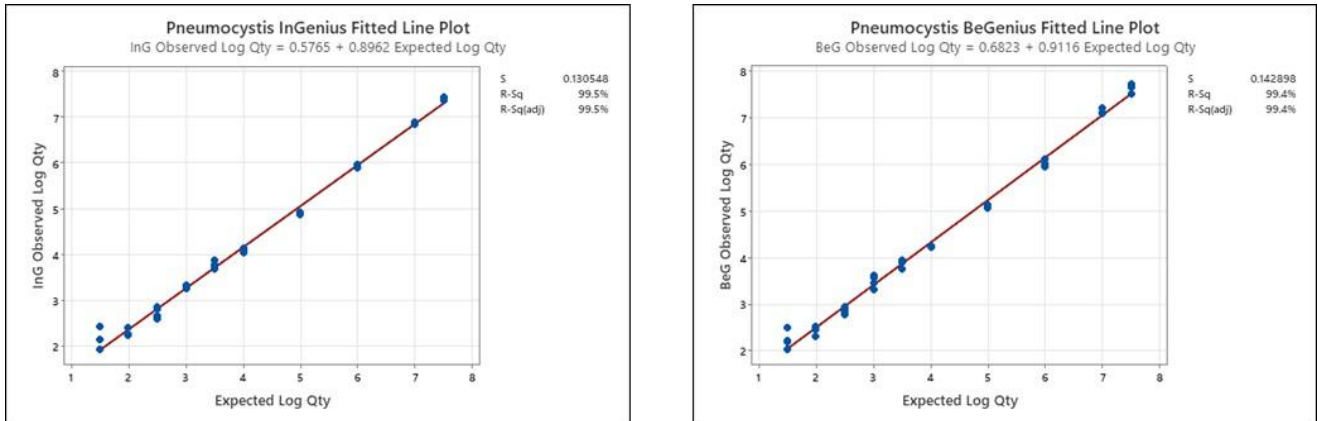


Bild 1

BAL/BA

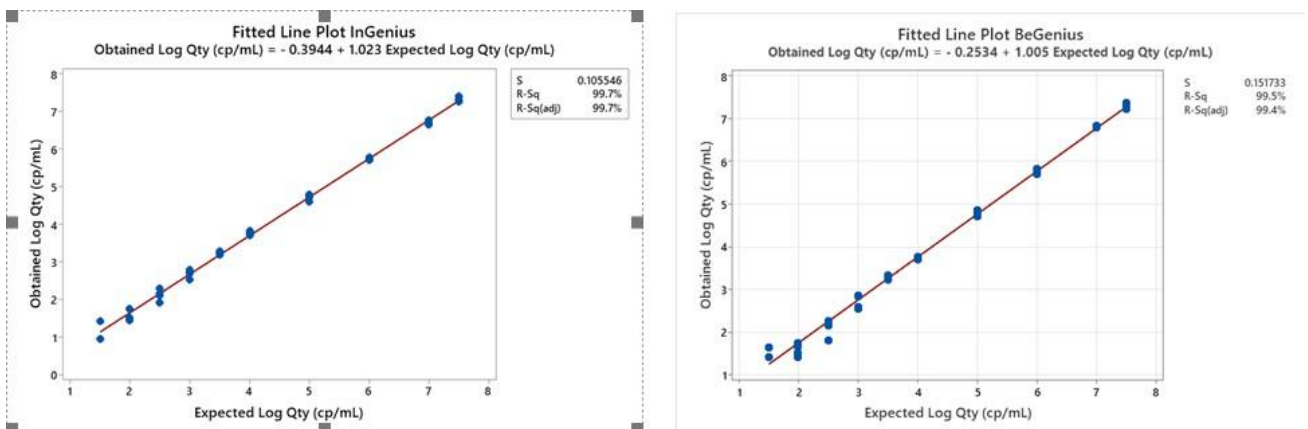


Bild 2

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 9 Linearer Messbereich für Sputum und BAL/BA auf ELITe InGenius und ELITe BeGenius

Untere Grenze	Obere Grenze
97 Kopien/ml	31.622.777 Kopien/ml

11.3 Unsicherheit der Standardkurve

Der Unsicherheitswert der Standardkurve wurde durch Kombination der zufälligen Fehler (SD) aller Levelquantifizierungen und Multiplikation mit dem Abdeckungsfaktor $k = 2$ (erweiterte kombinierte Unsicherheit) berechnet und beträgt 0,3078 log Kopien/Reaktion.

Tabelle 10

Standardkurven-Levels	Theoretisch	Gemessen	SD	Erweiterte kombinierte Unsicherheit
	Log Kopien/Reaktion	Log Kopien/Reaktion		
PJ - PCR Standard 10 ⁵	5,0000	4,9934	0,0841	0,3078
PJ - PCR Standard 10 ⁴	4,0000	4,0233	0,0619	
PJ - PCR Standard 10 ³	3,0000	2,9733	0,0892	
PJ - PCR Standard 10 ²	2,0000	2,0100	0,0694	

11.4 Inklusivität: Nachweis- und Quantifizierungseffizienz bei verschiedenen Genotypen

Die Inklusivität des Assays als die Nachweiseffizienz für verschiedene Stämme von *Pneumocystis jirovecii* wurde mittels *In-silico*-Analyse der in Nukleotid-Datenbanken verfügbaren Sequenzen bewertet. Die Analyse zeigte eine mtLSU-Sequenzerhaltung und ein Nichtvorhandensein signifikanter Mutationen. Daher wird ein effizienter Nachweis der verschiedenen Stämme oder Isolate erwartet.

11.5 Potenziell interferierende Organismen: Kreuzreaktivität

Die potenzielle Kreuzreaktivität mit unbeabsichtigten Organismen, die in klinischen Proben vorkommen können, wurde durch eine *In-silico*-Analyse bewertet. Die Analyse ergab keine signifikante Homologie mit anderen unbeabsichtigten Organismen (Viren, Prokaryoten, Wirbellose, Pilze, Phagen und Menschen). Es dürfte daher keine Kreuzreaktivität zu erwarten sein.

11.6 Potenziell interferierende Organismen: Inhibition

Die potenzielle Inhibition unbeabsichtigter Organismen, die in klinischen Proben vorkommen können, wurde durch eine *In-silico*-Analyse bewertet. Die Analyse ergab keine signifikante Homologie mit anderen unbeabsichtigten Organismen (Viren, Prokaryoten, Wirbellose, Pilze, Phagen und Menschen). Es dürfte daher keine Inhibition zu erwarten sein.

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 relevanten Konzentrationen in PJ-positiven Sputumproben bewertet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 11 Sputum

Probe	PJ Pos. / Wiederh.	Ergebnis
Ambroxolhydrochlorid	5/5	Keine Inhibition
Sulfamethoxazol	5/5	Keine Inhibition
Trimetoprim	5/5	Keine Inhibition
Ampicillin	5/5	Keine Inhibition
Azithromicin,	5/5	Keine Inhibition
Benzocain	5/5	Keine Inhibition
Beclometason	5/5	Keine Inhibition
Prednison	5/5	Keine Inhibition
Phenylephrin	5/5	Keine Inhibition

Tabelle 11 Sputum (continued)

Bilastin,	5/5	Keine Inhibition
Osetamivir	5/5	Keine Inhibition
Nikotin	5/5	Keine Inhibition
Natriumchlorid	5/5	Keine Inhibition
Mucin	5/5	Keine Inhibition
Vollblut	5/5	Keine Inhibition
Albumin	5/5	Keine Inhibition
BAL	5/5	Keine Inhibition

Bei Verwendung des Pneumocystis ELITE MGB Kit mit Sputumproben interferieren die getesteten Substanzen nicht mit der Amplifikation von PJ oder der Internal Control.

11.8 Wiederholpräzision

Zur Bewertung der Wiederholpräzision des Assays wurde auf den Geräten **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius** eine Reihe von BAL/BA-Proben analysiert, einschließlich einer negativen Probe und zwei Proben, die mit PJ-DNA dotiert waren.

Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabellen dargestellt.

Tabelle 12 Wiederholpräzision innerhalb des Laufs auf ELITE InGenius

Probe	Anzahl	PJ			
		Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Negativ	8	n. z.	n. z.	n. z.	100 %
3 x LoD	8	37,08	0,42	1,13	100 %
10 x LoD	8	35,04	0,48	1,37	100 %

Tabelle 13 Laufübergreifende Wiederholpräzision auf ELITE InGenius

Probe	Anzahl	PJ			
		Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Negativ	16	n. z.	n. z.	n. z.	100 %
3 x LoD	16	37,23	0,72	1,93	100 %
10 x LoD	16	35,28	0,46	1,30	100 %

Tabelle 14 Wiederholpräzision innerhalb des Laufs auf ELITE BeGenius

Probe	Anzahl	PJ			
		Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Negativ	8	n. z.	n. z.	n. z.	100 %
3 x LoD	8	37,45	0,32	0,86	100 %
10 x LoD	8	35,37	0,44	1,25	100 %

Tabelle 15 Laufübergreifende Wiederholpräzision auf ELITE BeGenius

Probe	Anzahl	PJ			
		Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Negativ	16	n. z.	n. z.	n. z.	100 %
3 x LoD	16	37,98	1,05	2,76	100 %
10 x LoD	16	35,79	0,63	1,76	100 %

Beim Test der Wiederholpräzision erkannte das Pneumocystis ELITE MGB Kit alle Proben wie erwartet und wies eine maximale Variabilität der Ct-Zielwerte als VK% unter 5 % aus.

11.9 Vergleichspräzision

Zur Bewertung der Vergleichspräzision des Assays wurde auf den Geräten **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius** eine Reihe von BAL/BA-Proben analysiert, einschließlich einer negativen Probe und zwei Proben, die mit PJ-DNA dotiert waren.

Eine Übersicht der geräteübergreifenden Vergleichspräzision ist in den nachfolgenden Tabellen dargestellt.

Tabelle 16 Geräteübergreifende Vergleichspräzision auf ELITE InGenius

Probe	Anzahl	PJ			
		Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Negativ	8	n. z.	n. z.	n. z.	100 %
3 x LoD	8	36,63	0,63	1,72	100 %
10 x LoD	8	34,42	0,48	1,39	100 %

Tabelle 17 Geräteübergreifende Vergleichspräzision auf ELITE BeGenius

Probe	Anzahl	PJ			
		Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Negativ	8	n. z.	n. z.	n. z.	100 %

Tabelle 17 Geräteübergreifende Vergleichspräzision auf ELITE BeGenius (continued)

3 x LoD	8	37,26	0,41	1,11	100 %
10 x LoD	8	34,92	0,40	1,16	100 %

Tabelle 18 Chargenübergreifende Vergleichspräzision auf ELITE InGenius

Probe	Anzahl	PJ			
		Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Negativ	8	n. z.	n. z.	n. z.	100 %
3 x LoD	8	36,99	0,48	1,29	100 %
10 x LoD	8	35,03	0,44	1,25	100 %

Tabelle 19 Chargenübergreifende Vergleichspräzision auf ELITE BeGenius

Probe	Anzahl	PJ			
		Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Negativ	8	n. z.	n. z.	n. z.	100 %
3 x LoD	8	37,59	0,38	1,02	100 %
10 x LoD	8	35,70	0,59	1,65	100 %

Beim Test der Vergleichspräzision erkannte das Pneumocystis ELITE MGB Kit alle Proben wie erwartet und wies eine maximale Variabilität der Ct-Zielwerte als VK% unter 5 % aus.

11.10 Diagnostische Spezifität: Bestätigung negativer Proben

Die diagnostische Spezifität des Assays als die Bestätigung negativer klinischer Proben wurde mit **ELITE InGenius** durch Analyse von PJ-DNA-negativen (getestet mit einem validierten Produkt zur Echtzeit-Amplifikation) BAL/BA- und Sputumproben bewertet. Da **ELITE BeGenius** gleichwertige analytische Leistungen wie **ELITE InGenius** aufweist, ist die diagnostische Güte der auf den beiden Geräten durchgeführten Tests ebenfalls als gleichwertig anzusehen. Daher gilt die mit **ELITE InGenius** erhaltene diagnostische Spezifität des Assays auch für **ELITE BeGenius**.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	Anzahl	Positiv	Negativ	Diagnostische Spezifität in %
PJ-negative(s) BAL/BA	72	2	70	97,2
PJ-negatives Sputum	65	1	64	98,5

Der Ct-Grenzwert für die Internal Control (IC Ct) wurde für BAL/BA-Proben auf 34 bei **ELITE InGenius** und auf 35 bei **ELITE BeGenius** festgelegt.

Der Ct-Grenzwert für die Internal Control (IC Ct) wurde beim Test mit **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius** für Sputumproben auf 37 festgelegt.

11.11 Diagnostische Sensitivität: Bestätigung positiver Proben

Die diagnostische Sensitivität des Assays für die Bestätigung positiver klinischer Proben wurde mit ELITE InGenius durch Analyse von PJ-DNA-positiven (getestet mit einem validierten Real-Time-PCR-Kit) bzw. mit PJ-Referenzmaterial dotierten klinischen BAL/BA- und Sputumproben bewertet. Da ELITE BeGenius gleichwertige analytische Leistungen wie ELITE InGenius aufweist, ist die diagnostische Güte der auf den beiden Geräten durchgeführten Tests ebenfalls als gleichwertig anzusehen. Daher gilt die mit ELITE InGenius erhaltene diagnostische Sensitivität des Assays auch für ELITE BeGenius.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	Anzahl	Positiv	Negativ	Diagnostische Sensitivität in %
PJ-positive(s) BAL/BA	74	74	0	100
PJ-positives Sputum	54	53	1	98,4
PJ-dotiertes Sputum	7	7	0	
Sputum insgesamt	61	60	1	

HINWEIS!

Die vollständigen Daten und Ergebnisse der Tests, die zur Bewertung der Leistungsmerkmale des Produkts mit Matrizes und Geräten durchgeführt wurden, sind in der technischen Produktdokumentation „PJ ELITE MGB Kit“, FTP150ING, aufgeführt.

12 REFERENZEN

- C. Valero et al. (2016) *Front. Microbiol.* 7:1413
M. Maillet et al. (2014) *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 33(3):331-6
E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e30
C. N. Kotton et al. (2025) *Transplantation* 109: 1066-1110

13 GRENZEN DES VERFAHRENS

Dieses Produkt darf nur mit den folgenden klinischen Proben verwendet werden: BAL/BA, Sputum.

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

Dieses Produkt nicht mit Proben verwenden, die zu viel Mucin enthalten: Proben mit einer hohen Viskosität hemmen die Amplifikationsreaktion von Nukleinsäuren und können zu ungültigen Ergebnissen führen.

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

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 ernststen Folgen für den Anwender und andere Personen vermieden werden.

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

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

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

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

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

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

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

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

Wie bei allen diagnostischen Produkten besteht auch bei diesem Produkt ein Restrisiko von ungültigen oder fehlerhaften Ergebnissen. Dieses Restrisiko kann nicht eliminiert oder weiter minimiert werden. In manchen Fällen kann dieses Restrisiko zu falschen Entscheidungen mit potenziell gefährlichen Auswirkungen auf den Patienten beitragen.

Dieses Restrisiko im Zusammenhang mit dem Verwendungszweck des Produkts wurde jedoch gegen den potenziellen Nutzen für den Patienten abgewogen und als akzeptabel eingestuft.

14 FEHLERBEHEBUNG

Tabelle 20

Ungültige Reaktion von Q-PCR Standard, Standardkurve oder Positive Control-Reaktion	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Einstellfehler des Geräts.	Position von PCR Mix, Q-PCR Standards und Positive Control kontrollieren. Volumina von PCR Mix, Q-PCR Standards und Positive Control kontrollieren.
Abbau des PCR Mix.	Den PCR Mix nicht für mehr als 7 unabhängige Läufe verwenden (jeweils 3 Stunden im gekühlten Reagenzienblock oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix nicht für mehr als drei 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.

Tabelle 20 (continued)

Ungültige Reaktion von Q-PCR Standard, Standardkurve oder Positive Control-Reaktion	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Abbau von Q-PCR Standards oder Positive Control.	Den Q-PCR Standard nicht für mehr als 4 unabhängige Läufe verwenden (jeweils 2 Stunden im Extraktionsbereich oder in der Cooler Unit). Die Positive Control nicht für mehr als 4 unabhängige Läufe verwenden (jeweils 3 Stunden im Extraktionsbereich oder in der Cooler Unit). Neue Aliquote von Q-PCR Standards oder Positive Control verwenden.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Tabelle 21

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 PCR Mix.	Ein neues Aliquot des PCR Mix verwenden.
Kontamination der Negative Control.	Die Negative Control nicht für mehr als einen Lauf verwenden. Ein neues Aliquot hochreines Wasser für die Molekularbiologie verwenden.
Kontamination des Extraktionsbereichs, der Racks, des gekühlten Reagenzienblocks oder in der Cooler Unit.	Oberflächen mit wässrigen Reinigungsmitteln reinigen, Laborkittel waschen, verwendete Röhrchen und Spitzen austauschen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Tabelle 22

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 3 Stunden im Inventory Area (Inventarbereich) oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix nicht für mehr als 3 aufeinander folgende Läufe verwenden (7 Stunden im gekühlten Reagenzienblock oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix nicht länger als 30 Minuten bei Raumtemperatur aufbewahren. Ein neues Aliquot des PCR Mix verwenden.
Abbau der Vorlage für die Internal Control.	Ein neues Aliquot des Internal Control verwenden.

Tabelle 22 (continued)

Ungültige Probenreaktion	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
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. Wenn eine neue Extraktion erforderlich ist, den Verflüssigungsschritt der Primärprobe wie in Abschn. 8.1 „Proben“ angegeben durchführen oder wiederholen, und die Extraktion in einem „Extract + PCR“-Lauf wiederholen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Tabelle 23

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

Tabelle 24

Fehler bei der Berechnung des Ct-Werts	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Zu hohe Konzentration von Ziel-DNA in der 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 oder - Extraktion der Probe mit einer 1:10-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „Extract + PCR“-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen.

Tabelle 25

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 Präanalyse-schritten.	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 mit PCR Mix und/oder KbE verwenden.

15 SYMBOLE



Katalognummer.



Temperaturobergrenze.



Chargenbezeichnung.



Verfallsdatum (letzter Tag des Monats).



In-vitro-Diagnostikum.



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



Unique Device Identification, eindeutige Geräteerkennung



Ausreichend für „N“ Tests



Gebrauchsanweisung beachten.



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. Um den Hersteller dieses Geräts zu informieren, verwenden Sie bitte die folgende E-Mail-Adresse: egspa.vigilance@elitechgroup.com.

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, 7541454, 7671218, 7723038, 7767834, 8163910, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529 und der EP-Patente mit den Nummern 2689031, 2714939, 2736916, 2997161 sowie durch anhängige Patentanmeldungen geschützt.

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

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

Appendix A Pneumocystis 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 **Pneumocystis ELITE MGB Kit** ist ein *In-vitro*-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal als quantitativer Nukleinsäure- und Real-Time-PCR-Assay zum **Nachweis und zur Quantifizierung der genomischen DNA** von *Pneumocystis jirovecii* (**PJ**), die aus klinischen Proben extrahiert wurde, bestimmt ist.

Dieser Assay ist in Verbindung mit den Geräten **ELITE InGenius®** und **ELITE BeGenius®**, automatisierten und integrierten Systemen zur Extraktion, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation mit humanen Proben von bronchoalveolärer Lavage (BAL), Bronchialaspirat (BA) und Sputum, validiert.

Das Produkt ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Diagnose und Überwachung von *Pneumocystis jirovecii*-Infektionen bei Patienten bestimmt, bei denen Verdacht auf eine *Pneumocystis jirovecii*-Infektionen besteht oder die auf *Pneumocystis jirovecii*-Infektionen überwacht werden.

Bei der Interpretation der Ergebnisse müssen alle relevanten klinischen Beobachtungen und Laborbefunde herangezogen werden.


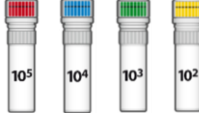

Amplifizierte Sequenz

Sequenz	Gen	Fluorophor	Kanal
Zielorganismus	mtLSU	FAM	PJ
Internal Control	künstliche Sequenz (IC2)	AP525	IC

Validierte Matrizes

- BAL/BA
- Sputumproben

Kit-Inhalt und zugehörige Produkte

Pneumocystis ELITE MGB Kit	Pneumocystis ELITE Standard	Pneumocystis - ELITE Positive Control
 X 8	 X 2	 X 3
Gebrauchsfertiger PCR Mix 8 Röhrchen mit 280 µl 96 Reaktionen pro Kit 7 Einfrier- und Auftau-Zyklen pro Röhrchen	4 Konzentrationen (gebrauchsfertig): 10 ⁵ , 10 ⁴ , 10 ³ , 10 ² 2 Sets à 4 Röhrchen mit 200 µl 4 Einfrier- und Auftau-Zyklen pro Röhrchen	Gebrauchsfertige PC 3 Röhrchen mit 160 µl 12 Reaktionen pro Kit 4 Einfrier- und Auftau-Zyklen pro Röhrchen

Maximale Haltbarkeitsdauer: **24 Monate**

Lagerungstemperatur: **-20 °C**

Weitere benötigte, nicht im Kit enthaltene Produkte

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

ELITe InGenius- und ELITe BeGenius-Protokoll

Tabelle 26

› Probenvolumen	200 µl	› PJ-Volumen	20 µl
› CPE-Volumen	10 µl	› Häufigkeit der Kontrollen	15 Tage
› Gesamtes Elutionsvolumen	100 µl	› Häufigkeit der Kalibrierung	60 Tage
› PCR-Eingangsvolumen für die Elution	20 µl	Einheit des quantitativen Ergebnisses	Kopien/ml

Leistungsdaten für ELITe InGenius und ELITe BeGenius

Matrix	Nachweisgrenze	Linearitätsbereich	Diagnostische Sensitivität	Diagnostische Spezifität
BAL/BA	97 Kopien/ml	97 – 31622777	100 % 74/74*	97,2 % 70/72*
Sputum	97 Kopien/ml	97 – 31622777	98,4 % 60/61*	98,5 % 64/65*

* bestätigte Proben / getestete Proben

Probenvorbereitung

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

Probe	Anforderungen an die Entnahme	Transport-/Lagerbedingungen			
		+16 / +26 °C (Raumtemperatur)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Bronchoalveoläre Lavage / Bronchialaspirat (BAL/BA)	in steriler physiologischer Lösung oder steriler PBS*	≤ 3 Tage	≤ 1 Woche	≤ 30 Tage	≤ 30 Tage
Sputum (SP)	-	≤ 3 Tage	≤ 1 Woche	≤ 30 Tage	> 30 Tage

BAL, bronchoalveoläre Lavage; BA, Bronchialaspirat; SP, Sputum; PBS, Phosphatgepufferte Salzlösung.

Auch wenn eine länger Aufbewahrung bei -70 °C möglich ist, wie in der wissenschaftlichen Literatur ausführlich berichtet, sollte eine derartige Anwendung intern von den Endbenutzern des Produkts beurteilt werden.

ELITe InGenius-Verfahren

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

Vor der Analyse

<p>1. ELITe InGenius einschalten. Mit dem Benutzernamen und Passwort anmelden. Den Modus „CLOSED“ (Geschlossen) wählen.</p>	<p>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.</p>	<p>3. Den PCR Mix und die CTRCPE-Röhrchen auftauen. Vorsichtig vortexen. 5 Sek. herunterzentrifugieren.</p>
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

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

<p>1. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen</p>	<p>2. Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingang: „200 µL“, Elutionsvolumen: „100 µL“</p>	<p>3. Die Proben-Barcodes mit dem tragbaren Barcodeleser scannen oder die Proben-ID eingeben</p>
<p>4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: PJ ELITe_BAL_200_100 oder PJ ELITe_SP_200_100 oder</p>	<p>5. Die Methode „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) und die „Sample Position“ (Probenposition) auswählen: Primärröhrchen oder Extraktionsröhrchen</p>	<p>6. Den PCR Mix und die Internal-Control in den Inventory Block (Bestandsmanager) laden</p>
<p>7. Folgendes laden: PCR Cassette, Extraktionskartusche, Elution tube (Elutionsröhrchen), Spitzencassette, Extraction Tube (Extraktionsröhrchen)-Racks und Primärproben-Racks</p>	<p>8. Tür schließen. Analyselauf starten</p>	<p>9. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern</p>

HINWEIS!

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

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

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

ELITe BeGenius-Verfahren

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

Vor der Analyse

<p>1. ELITe InGenius einschalten. Mit dem Benutzernamen und Passwort anmelden. Den Modus „CLOSED“ (Geschlossen) wählen.</p>	<p>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.</p>	<p>3. PCR Mix und CTRCPE-Röhrchen auftauen. Vorsichtig vortexen. 5 Sek. herunterzentrifugieren.</p>
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

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: (PJ ELITE_Be_BAL_200_100 oder PJ ELITE_Be_SP_200_100 oder 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 und die Internal Control in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen
7. Das „PCR Rack“ mit der „PCR Cassette“ und den „Extraction Basket“ (Korb) 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, Standards, 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. Bei Kontrollen: Für jede „Position“ unter „Reagent name“ den Reagenznamen, unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben. Bei Eluaten: Für jede „Position“ die Proben-ID („Sample ID“), die Probenmatrix („Sample Matrix“), das Extraktionskit („Extraction Kit“) und das extrahierte Eluatvolumen („Extracted eluate vol.“) eingeben.
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: (PJ ELITE_Be_PC und PJ ELITE_Be_NC oder PJ ELITE_Be_STD)	5. Das komplette Reaktionsgemisch in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen	6. „PCR Rack“ mit „PCR Cassette“ laden
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

