Instructions for use

CMV RNA ELITe MGB® Kit

Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

ELITechGroup
A BRUKER COMPANY

REF RTS115ING

UDI 08033891487324

CE 0123

IVD

ÄNDERUNGSVERLAUF

<table>
<tr><th>Rev.</th><th>Änderungsvermerk</th><th>Datum (TT.MM. JJ)</th></tr>
<tr><td>05</td><td>Aktualisierung des Abschnitts: „Sonstige benötigte Produkte“
Aktualisierung des Abschnitts: „Anwenderhinweise“
Aktualisierung des Abschnitts: „Quellen“</td><td>04/09/25</td></tr>
<tr><td>04</td><td>Haltbarkeit des Produkts auf 60 Tage nach dem ersten Öffnen verlängert.
Röhrchen und Verschlüsse zur Prozessverbesserung verändert.</td><td>03/06/25</td></tr>
<tr><td>03</td><td>Erweiterte Verwendung mit ELITe BeGenius
Neue grafische und inhaltliche Gestaltung der Gebrauchsanweisung.</td><td>29/11/24</td></tr>
<tr><td>02</td><td>Aktualisierung zur Einhaltung der Anforderungen der IVD-Verordnung (EU) 2017/746 über In-vitro-Diagnostika.
HINWEIS!
Die Produkte mit den in der nachstehenden Tabelle angegebenen Chargennummern, die sich nur für Forschungszwecke (Research Use Only (RUO)) noch auf dem Markt befinden, werden nicht zurückgerufen. Diese Produkte können bis zu den unten angegebenen Verfallsdaten verwendet werden. Wenn diese Chargen in Ihrem Bestand sind, verwenden Sie sie bitte gemäß dem in der Anweisung zum Gebrauch für Forschungszwecke (RUO) beschriebenen Verwendungszweck und nur in Verbindung mit den zugehörigen Produkten STD115ING und CTR115ING (ebenfalls im RUO-Format). Bitte wenden Sie sich an das ELITechGroup-Mitarbeiterteam, um die RUO-Gebrauchsanweisung zu erhalten.
<table>
<tr><th>PRODUKTREF.</th><th>Chargennummer</th><th>Verfallsdatum</th></tr>
<tr><td>RTS115ING</td><td>U0524-001</td><td>31/03/2025</td></tr>
<tr><td>RTS115ING</td><td>U1123-075</td><td>31/01/2025</td></tr>
</table>
Verwenden Sie das neue Produkt RTS115ING, das als CE-IVDR-Produkt vermarktet wird, nicht zusammen mit den entsprechenden Produkten STD115ING und CTR115ING, die noch im RUO-Format vermarktet werden.
Für den Gebrauch des neuen, als CE-IVDR vermarkteten Produkts RTS115ING müssen die zugehörigen CE-IVD-Assay-Protokolle verwendet werden. Bitte wenden Sie sich an das ELITechGroup-Mitarbeiterteam, wenn Sie weitere Informationen benötigen.</td><td>03/06/24</td></tr>
<tr><td>00–01</td><td>Neuproduktentwicklung und nachfolgende Änderungen</td><td>-</td></tr>
</table>

INHALTSVERZEICHNIS

1 VERWENDUNGSZWECK 4
2 TESTPRINZIP 4
3 BESCHREIBUNG DES PRODUKTS 4
4 MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN 5
5 ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN 5
6 ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE 5
7 WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN 6
8 PROBEN UND KONTROLLEN 7
9 VERFAHREN BEI ELITe InGenius 9
10 VERFAHREN BEI ELITe BeGenius 17
11 LEISTUNGSMERKMALE 24
12 REFERENZEN 34
13 GRENZEN DES VERFAHRENS 35
14 FEHLERBEHEBUNG 36
15 SYMBOLE 39
16 ANWENDERHINWEISE 39
17 HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ 39
Appendix A QUICK START GUIDE 41

1 VERWENDUNGSZWECK

Das Produkt **CMV RNA ELITe MGB® Kit** ist ein *In-vitro*-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal in quantitativen Nukleinsäure-RT- (reverse Transkription) und Real-Time-PCR-Assays zum Nachweis und zur Quantifizierung der **mRNA eines Virons des humanen Cytomegalovirus (CMV-RNA)**, die aus nicht zellulären 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, reversen Transkription, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation mit menschlichen Plasmaproben, die in EDTA entnommen wurden, validiert.

Das Produkt ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Überwachung der CMV-Infektion bei CMV-infizierten Personen bestimmt, die sich einer antiviralen Therapie mit Inhibitoren des CMV-Terminase-Komplexes unterziehen.

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

Dieses Produkt ist nicht dazu bestimmt, das Vorhandensein von oder die Exposition gegenüber übertragbaren Erregern in Blut, Blutbestandteilen, Zellen, Geweben, Organen oder deren Derivaten nachzuweisen, um deren Eignung für Transfusionen, Transplantationen oder Zellverabreichung zu beurteilen. Dieses Produkt ist nicht für das CMV-Screening bei schwangeren Frauen bestimmt.

2 TESTPRINZIP

Bei dem Assay handelt es sich um eine quantitative Ein-Schritt-Real-Time-PCR mit reverser Transkription, mit der die aus Proben isolierte CMV-RNA nachgewiesen, revers transkribiert und dann unter Verwendung eines kompletten Reaktionsgemischs, das Primer und Sonden mit ELITe MGB®-Technologie enthält, amplifiziert wird.

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 CMV-RNA-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 **CMV RNA ELITe MGB Kit** umfasst die folgenden Komponenten:

- **CMV-RNA PCR Mix,** ein optimiertes und stabilisiertes PCR-Gemisch, das die spezifischen Primer und Sonden enthält für:

- UL21.5-mRNA (gespleißte Region), nachgewiesen in Kanal **CMV RNA**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher® gequencht und mit einem FAM-Farbstoff markiert.

- die Internal Control (**IC**), die für eine Region der genomischen RNA des Phagen**MS2**spezifisch ist, nachgewiesen in Kanal**IC**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor® 525 (AP525) markiert.

Der**CMV RNA PCR Mix**enthält außerdem Puffer, Magnesiumchlorid, Nukleotidtriphosphate und „Hot-start"-DNA-Polymerase. Jedes Röhrchen enthält**600 µl**Lösung, die für**24 Tests**ausreicht, sofern mindestens 5 Proben pro Lauf verarbeitet werden.

- **RT EnzymeMix,** ein optimiertes und stabilisiertes Gemisch aus Enzymen zur reversen Transkription. Jedes Röhrchen enthält**20 µl**Lösung, die für**48 Tests**ausreicht, sofern mindestens 5 Proben pro Lauf verarbeitet werden.

Das**CMV RNA ELITe MGB Kit**enthält ausreichend Reagenzien für**96 Tests auf dem ELITe InGenius und ELITe BeGenius**, wobei 20 µl**CMV RNA PCR Mix**und 0,3 µl**RT EnzymeMix**pro Reaktion verwendet werden.

4 MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN

Tabelle 1

Komponente	Beschreibung	Menge	Gefahrenklasse
CMV RNA PCR Mix Art.-Nr. RTS115ING	Gemisch aus Reagenzien für die reverse Transkription und Real-Time-PCR in Röhrchen mit **NATURFARBENEM Verschluss**	4 x 600 µl	-
RT EnzymeMix Art.-Nr. RTS003-RT	Enzyme zur reversen Transkriptase in Röhrchen mit **Verschluss mit SCHWARZEM Einsatz**	2 x 20 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 Probe, 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, reverse Transkription, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation von Proben werden die folgenden Produkte benötigt:

Tabelle 2

Geräte und Software	Produkte und Reagenzien
ELITe InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, Art.-Nr. INT030) **ELITe InGenius Software**, Version 1.3.0.19 (oder später) **CMVRNA ELITe_STD**, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Kalibratorenanalyse **CMVRNA ELITe_PC**, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Positive Control-Analyse **CMVRNA ELITe_NC**, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Negative Control-Analyse **CMVRNA ELITe_PL_600_50**, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Plasmaproben-Analyse	**CMV RNA ELITe Standard** (EG SpA, Art.-Nr. STD115ING) **CMV RNA - ELITe Positive Control** (EG SpA, Art.-Nr. CTR115ING) **CPE - Internal Control** (EG SpA, Art.-Nr. CTRCPE) **ELITe InGenius SP 1000** (EG SpA, Art.-Nr. INT033SP1000) **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius** Verbrauchsmaterialien (siehe ELITe InGenius und ELITe BeGenius Gebrauchsanweisung)
ELITe BeGenius (EG SpA, Art.-Nr. INT040) **ELITe BeGenius Software**, Version 2.3.0 (oder später) **CMVRNA ELITe_Be_STD**, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Kalibratorenanalyse **CMVRNA ELITe_Be_PC**, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Positive Control-Analyse **CMVRNA ELITe_Be_NC**, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Negative Control-Analyse **CMVRNA ELITe_Be_PL_600_50**, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Plasmaproben-Analyse	

7 WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

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

7.1 Allgemeine Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

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

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

Geeignete Schutzkleidung und Schutzhandschuhe sowie Augen-/Gesichtsschutz tragen.

Lösungen niemals mit dem Mund pipettieren.

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

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

Restliche Reagenzien und Abfälle gemäß den geltenden Vorschriften entsorgen.

Vor der Durchführung des Assays alle bereitgestellten Anweisungen aufmerksam lesen.

Bei der Durchführung des Tests die bereitgestellten Produktanweisungen befolgen.

Das Produkt nicht nach dem angegebenen Ablaufdatum verwenden.

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

Keine Reagenzien aus unterschiedlichen Chargen verwenden.

Keine Reagenzien anderer Hersteller verwenden.

7.2 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen für die Molekularbiologie

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

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

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

Die Reagenzien müssen unter einer Sicherheitswerkbank gehandhabt werden. Die Pipetten, die für die Handhabung der Reagenzien verwendet werden, dürfen nur für diesen Zweck verwendet werden. Die Pipetten müssen entweder Direktverdrängungspipetten sein oder zusammen mit Aerosolfilterspitzen verwendet werden. Die verwendeten Spitzen müssen steril 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
CMV RNA PCR Mix	-20 °C oder darunter (lichtgeschützt)	60 Tage	bis zu fünf
RT EnzymeMix	-20°C oder darunter	60 Tage	bis zu zehn Mal, bis zu zehn Minuten bei +2 bis +8 ° C

8 PROBEN UND KONTROLLEN

8.1 Proben

Dieses Produkt ist für die Verwendung auf dem **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius** mit den folgenden nicht zellulären 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**
Plasma	EDTA	≤ 24 Stunden	≤ 24 Stunden	≤ 1 Monat	Nicht getestet

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

HINWEIS!

Vollblutproben für die Plasmazubereitung müssen in EDTA entnommen, transportiert und dürfen vor der Zentrifugation bei Raumtemperatur oder bei +2 bis +8 °C für maximal 24 Stunden aufbewahrt werden.

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

Tabelle 5 Assay-Protokolle für CMV RNA ELITe MGB Kit

Probe	Gerät	Name des Assay-Protokolls	Melden Sie	Eigenschaften
EDTA-Plasma	**ELITe InGenius**	**CMVRNA ELITe_PL_600_50**	Kopien/ml /	Extraktion Eingangsvolumen: 600 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 50 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1,7 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
	ELITe BeGenius	**CMVRNA ELITe_Be_PL_ 600_50**	Kopien/ml	Extraktion Eingangsvolumen: 600 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 50 µl Interne Kontrolle: 10 µl Verdünnungsfaktor: 1,0 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl

Bei allen Protokollen müssen 600 µl Plasmaprobe in ein **Extraktionsröhrchen** (bei ELITe InGenius) bzw. ein 2-ml-Sarstedt-Röhrchen (bei ELITe BeGenius) überführt werden.

HINWEIS!

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

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

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

Daten zu störenden Substanzen sind im Abschnitt „11 LEISTUNGSMERKMALE page 24“ unter „Potenziell interferierende Substanzen“ aufgeführt.

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 **CMV RNA ELITe Standard** (nicht im Lieferumfang dieses Kits enthalten) mit dem Assay-Protokoll **CMVRNA ELITe_STD** oder **CMVRNA ELITe_Be_STD** verwenden.

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

- Für die Positive Control das Produkt **CMV RNA - ELITe Positive Control** (nicht in diesem Kit enthalten) mit dem Assay-Protokoll **CMVRNA ELITe_PC** oder **CMVRNA ELITe_Be_PC** verwenden,
- Für die Negative Control hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) mit dem Assay-Protokoll **CMVRNA ELITe_NC** oder **CMVRNA 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 **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 **CMV RNA ELITe MGB Kit** mit dem **ELITe InGenius** anzuwendende Verfahren besteht aus drei Schritten:

Tabelle 6

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

9.1 SCHRITT 1 – Prüfung der Systembereitschaft

Vor Beginn des Laufs:

- **ELITe InGenius** einschalten und den Modus „**CLOSED**“ (geschlossen) auswählen,
- auf der Startseite im Menü „Calibration“ (Kalibration) bestätigen, dass die Kalibratoren (**Q - PCR Standard**) für die zu verwendende Charge des **PCR Mix** genehmigt und gültig (Status) sind. Wenn keine gültigen Kalibratoren für die Charge **PCR Mix** verfügbar sind, Kalibration wie in den folgenden Abschnitten beschrieben durchführen,
- auf der Startseite im Menü „Controls“ (Kontrollen) bestätigen, dass die PCR-Kontrollen (**Positive Control**, **Negative Control**) für die zu verwendende Charge des **PCR Mix** genehmigt und gültig (Status) sind. Wenn

keine gültigen PCR-Kontrollen für die Charge **PCR Mix** verfügbar sind, die PCR-Kontrollen wie in den folgenden Abschnitten beschrieben durchführen,

- Den Typ des Laufs auswählen, dazu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche zur Einrichtung des Laufs befolgen und die von EG SpA bereitgestellten Assay-Protokolle verwenden (siehe „Proben und Kontrollen“).

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

9.2 SCHRITT 2 – Einrichtung des Laufs

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

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

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

C. Kalibrationslauf (PCR Only [nur PCR]),

D. 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 vom Rechenzentrum des Labors heruntergeladen werden können. Weitere Informationen finden Sie im Gerätehandbuch.

Vor dem Einrichten eines Laufs:

1. Die benötigten **PCR Mix**-Röhrchen 30 Minuten bei Raumtemperatur auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für **24 Tests** unter optimalen Bedingungen (mindestens 5 Tests pro Lauf). Dreimal durch Vortexen bei niedriger Drehzahl 10 Sekunden lang mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

HINWEIS!

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

2. Die benötigten **RT EnzymeMix** Röhrchen herausnehmen. Jedes Röhrchen reicht aus für **48 Tests** unter optimalen Bedingungen (mindestens 5 Tests pro Lauf). Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

HINWEIS!

Der **RT EnzymeMix** darf nicht länger als 10 Minuten Temperaturen über -20 °C ausgesetzt werden.

3. Ein 2-ml-Röhrchen (Sarstedt Art.-Nr. 72.694.005, nicht im Lieferumfang des Kits enthalten) für das **komplette Reaktionsgemisch** zubereiten und mit einem Permanentmarker beschriften.

4. Die benötigten Volumina von **PCR Mix** und **RT EnzymeMix** für die Zubereitung des **kompletten Reaktionsgemischs** auf Grundlage der Anzahl (N) an zu analysierenden Proben berechnen, wie in der nachstehenden Tabelle beschrieben.

Tabelle 7

Probenanzahl (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µl	(N + 1) x 0,3 µl
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µl	(N + 2) x 0,3 µl
N = 12	290 µl	4,4 µl

5. Das **komplette Reaktionsgemisch** zubereiten: dazu die errechneten Volumina der zwei Komponenten in das beschriftete 2-ml-Röhrchen überführen. Dreimal durch Vortexen bei niedriger Drehzahl 10 Sekunden lang mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

HINWEIS!

Das **komplette Reaktionsgemisch** kann innerhalb von **7** Stunden verwendet werden, wenn es in einem gekühlten Block aufbewahrt wird (für 2 Läufe von je 3 Stunden und für die Zeit, die zum Starten eines dritten Laufs benötigt wird). Das komplette Reaktionsgemisch **darf nicht** zur Wiederverwendung aufbewahrt werden.

HINWEIS!

Das **komplette Reaktionsgemisch** ist lichtempfindlich und darf daher keinem direkten Licht ausgesetzt werden.

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

Tabelle 8

	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 600 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 Extraktionen.	**Elution Tube** (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.
2	Auf der Startseite „**Perform Run**“ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „**Perform Run**“ (Lauf durchführen) auswählen.
3	Sicherstellen, dass das angezeigte „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 1000 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 50 µl beträgt.	Sicherstellen, dass das angezeigte „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 1000 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 50 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)** „**1,7**“ 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)** „**1,7**“ beträgt.
8	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
9	**CPE** und das **komplette Reaktionsgemisch** 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.	Das **komplette Reaktionsgemisch** 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.

Tabelle 8 (continued)

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])
10	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
11	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.
12	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
13	PCR-Kassette, ELITe InGenius SP 1000 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.

Tabelle 9

	C. Kalibrationslauf (PCR Only [nur PCR])	D. Lauf für die Positive Control und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
1	Die **Q-PCR Standard-Röhrchen auftauen** (Cal1: Q-PCR Standard 10^2, Cal2: Q-PCR Standard 10^3, Cal3: Q-PCR Standard 10^4, Cal4: Q-PCR Standard 10^5) 30 Minuten bei Raumtemperatur. 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 angezeigte „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 1000 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 50 µl beträgt.	Sicherstellen, dass das angezeigte „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 1000 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 50 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.	Für die Kontrollen die Spur („Track“) zuweisen und 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	Das **komplette Reaktionsgemisch** 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.	Das **komplette Reaktionsgemisch** 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 den „**Tip Racks**“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.
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 und Röhrchen für die 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 °C oder darunter aufbewahrt werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

HINWEIS!

Das **komplette Reaktionsgemisch** kann bis zu 7 Stunden (für 2 Läufe von jeweils 3 Stunden sowie für die zum Starten eines dritten Laufs nötige Zeit) im gekühlten Block des Geräts verbleiben. Vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt. Das komplette Reaktionsgemisch **darf nicht** zur Wiederverwendung aufbewahrt werden.

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 gelagert 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-Kassette** 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 **CMV RNA 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.

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“) aufgezeichnet. Sie können von Benutzern mit der Qualifikation „Administrator“ oder „Analyst“ durch Befolgen der Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche angezeigt oder genehmigt werden.

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

HINWEIS!

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

Validierung der Ergebnisse des Amplifikationslaufs für die Positivkontrolle und Negativkontrolle

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

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

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

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

Validierung der Probenergebnisse

Die **ELITe InGenius Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse für die Zielsequenz (Kanal **CMV RNA**) und die Internal Control (Kanal **IC**) mit den Assay-Protokoll-Parametern **CMVRNA ELITe_PL_600_50**. Die resultierenden Ct-Zielwerte werden in Konzentrationswerte umgerechnet.

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

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

Tabelle 10

1) Kalibrationskurve	**Status**
CMV RNA Q-PCR Standard	APPROVED (Genehmigt)
2) Positivkontrolle	**Status**
CMV RNA Positive Control	APPROVED (Genehmigt)
3) Negativkontrolle	Status
CMV RNA 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-RNAs nachgewiesen wurden oder nicht.

Tabelle 11

Ergebnis des Probenlaufs	**Interpretation**
CMV RNA:RNA detected, quantity equal to XXX copies/mL (CMV RNA: RNA Erkannt, Menge gleich XXX Kopien/ml)	In der Probe wurde **CMV-RNA** innerhalb des Messbereichs des Assays **nachgewiesen**, ihre Konzentration wird angezeigt.
CMV RNA:RNA detected, quantity below LLoQ copies/mL (CMV RNA: RNA Erkannt, Menge unter LLoQ Kopien/ml)	In der Probe wurde **CMV-RNA nachgewiesen**, ihre Konzentration liegt unterhalb der unteren Bestimmungsgrenze des Assays.
CMV RNA:RNA detected, quantity beyond ULoQ copies/mL (CMV RNA: RNA Erkannt, Menge über ULoQ Kopien/ml)	In der Probe wurde **CMV-RNA nachgewiesen**, ihre Konzentration liegt oberhalb der oberen Bestimmungsgrenze des Assays.
CMV RNA:RNA not detected or below LoD copies/mL (CMV RNA: RNA nicht erkannt oder unter LoD Kopien/ml)	In der Probe wurde **keine CMV-RNA nachgewiesen**. Die Probe wurde negativ auf die Ziel-RNA 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.

HINWEIS!

Die Quantifizierung von CMV-RNA kann nur in Kopien/ml angegeben und nicht auf die internationale Einheit nach WHO-Standard zurückgeführt werden, da sich dieser auf genomische CMV-DNA bezieht.

Als „Invalid-Retest Sample“ (Ungültig - Probe erneut testen) ausgegebene Proben: In diesem Fall wurde die Internal-Control-RNA möglicherweise aufgrund von Problemen beim Probenentnahme-, Extraktions-, RT- (reverse Transkription) oder

PCR-Schritt nicht effizient erkannt (z. B. falsche Probenahme, Abbau oder Verlust von RNA 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 36).

Als „CMV RNA:RNA not detected or below LoD copies/mL“ (CMV-RNA: RNA nicht nachgewiesen oder unterhalb der Nachweisgrenze in Kopien/ml) ausgegebene Proben sind für die Analyse geeignet, CMV-RNA wurde jedoch nicht nachgewiesen. In diesem Fall kann entweder die Probe für CMV-RNA negativ sein oder die CMV-RNA ist bei einer Konzentration unter der Nachweisgrenze des Tests vorhanden (siehe 11 LEISTUNGSMERKMALE page 24).

CMV-RNA-positive Proben mit einer Konzentration unter der Nachweisgrenze (und der unteren Bestimmungsgrenze) des Assays werden, falls nachgewiesen, als „CMV RNA: RNA detected, quantity below LLoQ copies/mL“ (CMV-RNA: RNA erkannt, Menge unter LLoQ Kopien/ml) ausgegeben (siehe 11 LEISTUNGSMERKMALE page 24).

CMV-RNA-positive Proben innerhalb des linearen Messbereichs (siehe 11 LEISTUNGSMERKMALE page 24) werden erkannt und als „CMV RNA: RNA detected, quantity equal to “XXX” copies/mL“ (CMV-RNA: RNA erkannt, Menge gleich „XXX“ Kopien/ml) ausgegeben.

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

HINWEIS!

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

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

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 **CMV RNA ELITe MGB Kit** mit dem **ELITe BeGenius** anzuwendende Verfahren besteht aus drei Schritten:

Tabelle 12

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 12 (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

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.

SCHRITT 2 – Einrichtung des Laufs

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

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

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

C. Kalibrationslauf (PCR Only [nur PCR]),

D. 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 vom Rechenzentrum des Labors heruntergeladen werden können. Weitere Informationen finden Sie im Gerätehandbuch.

Vor dem Einrichten eines Laufs:

1. Die benötigten **PCR Mix**-Röhrchen 30 Minuten bei Raumtemperatur auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für **24 Tests** unter optimalen Bedingungen (mindestens 5 Tests pro Lauf). Dreimal durch Vortexen bei niedriger Drehzahl 10 Sekunden lang mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

HINWEIS!

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

2. Die benötigten **RT EnzymeMix** Röhrchen herausnehmen. Jedes Röhrchen reicht aus für **48 Tests** unter optimalen Bedingungen (mindestens 5 Tests pro Lauf). Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

HINWEIS!

Der **RT EnzymeMix** darf nicht länger als 10 Minuten Temperaturen über -20 °C ausgesetzt werden.

3. Ein 2-ml-Röhrchen (Sarstedt Art.-Nr. 72.694.005, nicht im Lieferumfang des Kits enthalten) für das **komplette Reaktionsgemisch** zubereiten und mit einem Permanentmarker beschriften.
4. Die benötigten Volumina von **PCR Mix** und **RT EnzymeMix** für die Zubereitung des **kompletten Reaktionsgemischs** auf Grundlage der Anzahl (N) an zu analysierenden Proben berechnen, wie in der nachstehenden Tabelle beschrieben.

Tabelle 13

Probenanzahl (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µl	(N + 1) x 0,3 µl
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µl	(N + 2) x 0,3 µl
N = 12	290 µl	4,4 µl
13 ≤ N ≤ 18	(N + 3) x 20 µl	(N + 3) x 0,3 µl
19 ≤ N ≤ 23	(N + 4) x 20 µl	(N + 4) x 0,3 µl
N = 24	580 µl	8,7 µl

5. Das **komplette Reaktionsgemisch** zubereiten: dazu die errechneten Volumina der zwei Komponenten in das beschriftete 2-ml-Röhrchen überführen. Dreimal durch Vortexen bei niedriger Drehzahl 10 Sekunden lang mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

HINWEIS!

Das **komplette Reaktionsgemisch** kann innerhalb von **7** Stunden verwendet werden, wenn es in einem gekühlten Block aufbewahrt wird (für 2 Läufe von je 3 Stunden und für die Zeit, die zum Starten eines dritten Laufs benötigt wird). Das komplette Reaktionsgemisch **darf nicht** zur Wiederverwendung aufbewahrt werden.

HINWEIS!

Das **komplette Reaktionsgemisch** ist lichtempfindlich und darf daher keinem direkten Licht ausgesetzt werden.

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

Tabelle 14

	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 Test müssen 600 µl Probe in ein zuvor etikettiertes 2-ml-Sarstedt-Röhrchen (nicht im Lieferumfang enthalten) überführt werden. ELITe BeGenius behält überschüssiges Volumen im Röhrchen. 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.	Falls erforderlich, die **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.
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.
4	Den Laufmodus („Run mode“) wählen: „**Extract + PCR**“ (Extraktion + PCR).	Den Laufmodus („Run mode“) wählen: „PCR Only“ (Nur PCR).
5	**Die Proben** in das Probenrack („Sample Rack“) **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 Elutionsrack („Elution Rack“) **laden**.
6	Das „Sample Rack“ in die „Cooler Unit“ einsetzen, beginnend mit „Lane 5“ (L5). 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). Für jede „Position“ die Proben-ID („Sample ID“), die Probenmatrix („Sample Matrix“), das Extraktionskit („Extraction Kit“) und das extrahierte Eluatvolumen („Extracted eluate vol.“) eingeben.
7	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
8	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 600 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 50 µl beträgt.	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 600 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 50 µl beträgt.
9	Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“).	Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“).
10	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
11	Bei Verarbeitung von mehr als 12 Proben das Verfahren ab Punkt 6 wiederholen.	Bei Verarbeitung von mehr als 12 Proben das Verfahren ab Punkt 6 wiederholen.
12	Die „Elution tubes“ (Elutionsröhr) in das „Elution Rack“ (Elutionsablage) laden (Elutionsröhrchen können zur Verbesserung der Rückverfolgbarkeit mit einem Barcode etikettiert werden).	Nicht anwendbar
13	Das „Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ einsetzen, beginnend mit „Lane 3“ (L3). Bei Verarbeitung von mehr als 12 Proben das Verfahren wiederholen und dabei „Lane 2“ (L2) verwenden.	Nicht anwendbar
14	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Nicht anwendbar

Tabelle 14 (continued)

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])
15	**CPE** und das **komplette Reaktionsgemisch** in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenzrack/Elutionsablage) laden.	Das **komplette Reaktionsgemisch** in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenzrack/Elutionsablage) **laden**.
16	Das „Reagent/Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ in „Lane 2“ (L2), falls verfügbar, oder in „Lane 1“ (L1) einsetzen. Für jeden PCR-Mix und/oder CP 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. Für jeden PCR-Mix unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.
17	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
18	Die Spitzen in dem/den „Tip Rack(s)“ (Spitzenständer/n) im „Inventory Area“ (Invetarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in dem/den „Tip Rack(s)“ (Spitzenständer/n) im „Inventory Area“ (Invetarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.
19	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
20	Das „**PCR Rack**“ mit „**PCR Cassette**“ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) laden.	Das „**PCR Rack**“ mit „**PCR Cassette**“ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) laden.
21	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
22	Den „**Extraction Rack**“ (Extraktionsrack) mit den „ELITe InGenius SP 1000“ Extraktionskartuschen und die für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden.	Nicht anwendbar
23	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.
24	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.

Tabelle 15

	C. Kalibrationslauf (PCR Only [nur PCR])	D. Lauf für die Positive Control und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
1	Die **Q-PCR Standard-Röhrchen auftauen** (Cal1: Q-PCR Standard 10^2, Cal2: Q-PCR Standard 10^3, Cal3: Q-PCR Standard 10^4, Cal4: Q-PCR Standard 10^5) 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 Reagenznamen, unter „S/N" die Seriennummer, unter „Lot No." die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.	Das „**Elution Rack**“ in die „Cooler Unit“ **einsetzen**, beginnend mit „Lane 3“ (L3). Falls erforderlich, für jede „Position" unter „Reagent name" den Reagenznamen, unter „S/N" die Seriennummer, unter „Lot No." die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.
7	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
8	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 600 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 50 µl beträgt.	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 600 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 50 µl beträgt.
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	Das **komplette Reaktionsgemisch** in das „Reagent/ Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) **laden**.	Das **komplette Reaktionsgemisch** in das „Reagent/ Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) **laden**.
12	Das „**Reagent/Elution Rack**“ in die „Cooler Unit“ in „Lane 2“ (L2) **einsetzen**. 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**. 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.
13	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
14	Die Spitzen in dem/den „Tip Rack(s)“ (Spitzenständer/n) im „Inventory Area“ (Invetarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in dem/den „Tip Rack(s)“ (Spitzenständer/ n) im „Inventory Area“ (Invetarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.
15	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
16	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**.

Tabelle 15 (continued)

	C. Kalibrationslauf (PCR Only [nur PCR])	D. Lauf für die Positive Control und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
17	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
18	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.
19	„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 °C oder darunter aufbewahrt werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

HINWEIS!

Das **komplette Reaktionsgemisch** kann bis zu 7 Stunden (für 2 Läufe von jeweils 3 Stunden und für die Zeit, die zum Starten eines dritten Laufs benötigt wird) im gekühlten Block des Geräts verbleiben. Vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt. Das komplette Reaktionsgemisch **darf nicht** zur Wiederverwendung aufbewahrt werden.

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 gelagert 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-Kassette** und die anderen Verbrauchsmaterialien unter Berücksichtigung sämtlicher gesetzlicher und umweltrechtlicher Vorschriften entsorgt werden. Ein Verschütten der Reaktionsprodukte vermeiden.

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 **CMV RNA 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 Nachweisgrenze (LoD)

Die Nachweisgrenze (LoD) des Assays wurde auf ELITe InGenius mit Plasmaproben bestimmt. Hierfür wurde eine Verdünnung von CMV-RNA-Referenzmaterial (Universität Turin) verwendet. Es wurde eine Probit-Regressionsanalyse der Ergebnisse durchgeführt und die LoD als die Konzentration definiert, bei der eine 95 %-ige Wahrscheinlichkeit eines positiven Ergebnisses vorliegt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 16 Nachweisgrenze bei Plasmaproben und ELITe InGenius

Zielsequenz	LoD	95 % Konfidenzintervall	
		Untergrenze	Obergrenze
CMV-DNA	0,19 PbE/ml	0,15 PbE/ml	0,29 PbE/ml
	30 Kopien/ml	-	-

Der berechnete LoD-Wert wurde durch Testen von Plasmaproben, die mit CMV-RNA-Referenzmaterial (Universität Turin) in der behaupteten Konzentration dotiert waren, verifiziert. Die erhaltenen Ergebnisse bestätigten die angegebene Konzentration für die Zielsequenz.

Der berechnete LoD-Wert von 30 Kopien/ml wurde durch Testen von Plasmaproben, die mit CMV-RNA-Referenzmaterial (NoToVir) in der behaupteten Konzentration dotiert waren, mit ELITe BeGenius verifiziert. Die erhaltenen Ergebnisse bestätigten die angegebene Konzentration für die Zielsequenz.

11.2 Linearer Messbereich

Der lineare Messbereich des Assays wurde mit Plasmaproben auf ELITe InGenius und ELITe BeGenius verifiziert, wobei Verdünnungen von CMV-RNA-Referenzmaterial (NoToVir) zum Einsatz kamen. Die lineare Regression wurde anhand der Ergebnisse durchgeführt und der lineare Messbereich wurde verifiziert.

Die Ergebnisse sind in den folgenden Abbildungen aufgeführt.

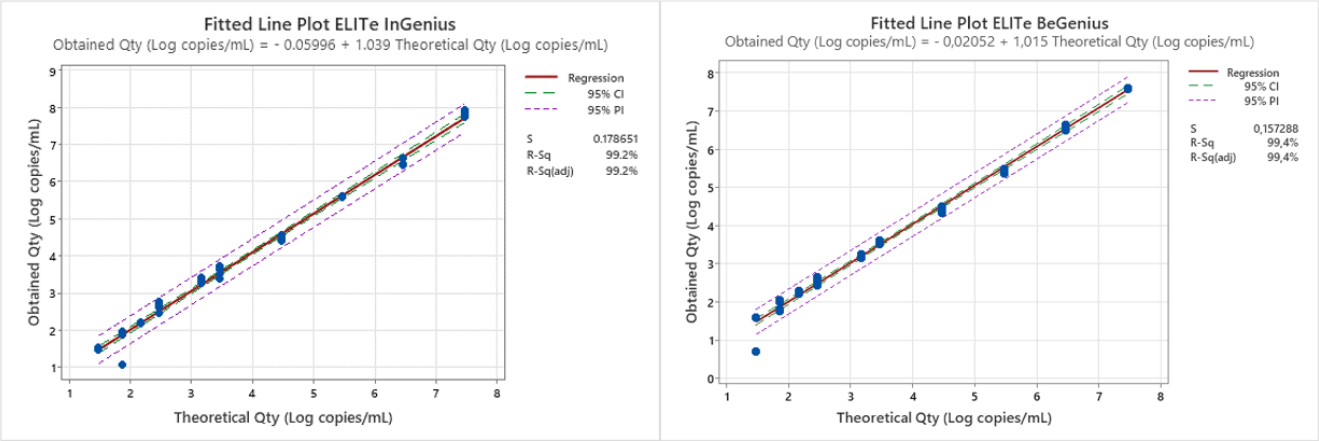


Bild 1

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 17 Linearer Messbereich für Plasmaproben auf ELITe InGenius und ELITe BeGenius

Untere Bestimmungsgrenze (LLOQ)	Obere Bestimmungsgrenze (ULOQ)
30 Kopien/ml	29.392.000 Kopien/ml

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

Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung zusammengefasst.

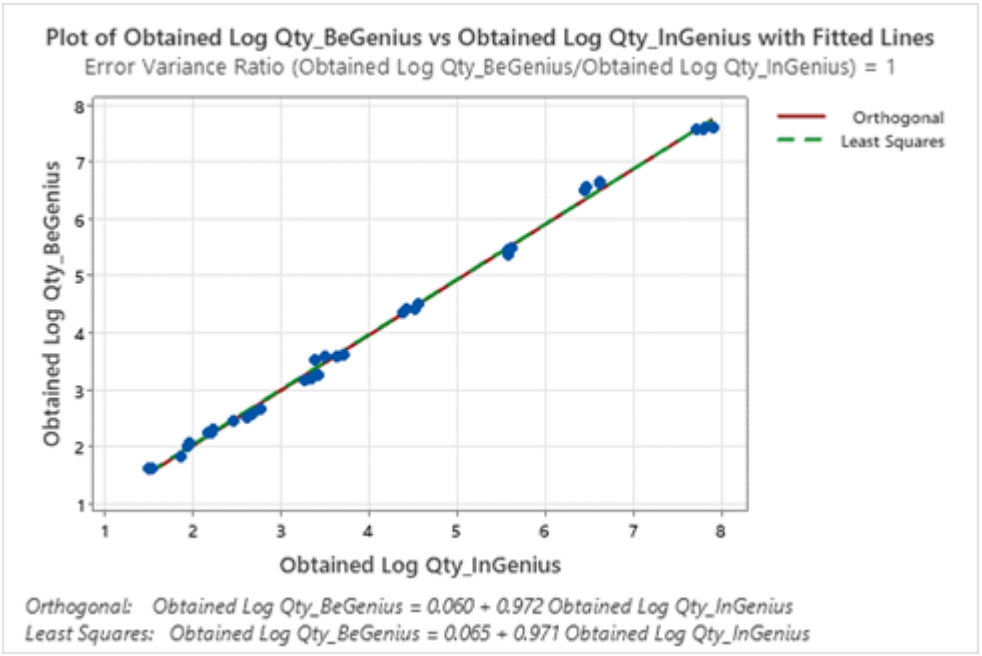


Bild 2

Die orthogonale Regressionsanalyse ergab einen Achsenabschnitt von 0,060 (95%-KI: -0,015 bis 0,135) und eine Steigung von 0,972 (95%-KI: 0,956 bis 0,989). Die Analyse der linearen Regression ergab einen R2-Wert von 0,997.

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 0,1588 log Kopien/Reaktion.

Tabelle 18

Standardkurven-Levels	Theoretisch Log Kopien/Reaktion	SD	Erweiterte kombinierte Unsicherheit
CMV RNA Standard 10^5	5,0000	0,0273	0,1588
CMV RNA Standard 10^4	4,0000	0,0234	
CMV RNA Standard 10^3	3,0000	0,0329	
CMV RNA Standard 10^2	2,0000	0,0627	

11.4 Inklusivität: Nachweis- und Quantifizierungseffizienz bei verschiedenen Genotypen

Die Inklusivität des Assays als die Nachweis- und Quantifizierungseffizienz für verschiedene Genotypen und Stämme des CMV wurde mittels *In-silico*-Analyse der in den Nukleotid-Datenbanken verfügbaren Sequenzen bewertet.

Die Analyse zeigte eine Sequenzerhaltung und ein Nichtvorhandensein signifikanter Mutationen in den verfügbaren CMV-Sequenzen. Daher sind ein effizienter Nachweis und eine effiziente Quantifizierung bei den verschiedenen CMV-Genotypen und -Stämmen zu erwarten.

Zur Überprüfung der Inklusivität des Assays mit ELITe InGenius wurden verschiedene CMV-Referenzmaterialien (ATCC und Universität Turin) in niedriger Konzentration getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 19

CMV-Stamm	Pos. / Wiederh.	Ergebnis
AD169	3/3	CMV RNA detected (CMV-RNA nachgewiesen)
Towne	3/3	CMV RNA detected (CMV-RNA nachgewiesen)
Davis	3/3	CMV RNA detected (CMV-RNA nachgewiesen)
Merlin	3/3	CMV RNA detected (CMV-RNA nachgewiesen)

Alle Proben wurden mit dem CMV RNA ELITe MGB Kit auf ELITe InGenius korrekt als positiv auf CMV-RNA getestet.

11.5 Potenziell interferierende Marker: Kreuzreaktivität

Die potenzielle Kreuzreaktivität des Assays mit genomischer CMV-DNA und anderen Nichtzielorganismen wurde durch *In-silico*-Analyse von in Nukleotiddatenbanken verfügbaren Sequenzen bewertet. Die Analyse ergab **signifikante** Nichtübereinstimmungen mit genomischer CMV-DNA, so dass keine Kreuzreaktivität zu erwarten ist. Die Analyse ergab keine signifikante Homologie mit anderen unbeabsichtigten Organismen, so dass keine Kreuzreaktivität zu erwarten ist.

Die potenzielle Kreuzreaktivität mit anderen Organismen, die in klinischen Plasmaproben vorkommen können, wurde mit ELITe InGenius ebenfalls durch das Testen einer Reihe zertifizierter Referenzmaterialien (ATCC und NIBSC) in hohem Titer verifiziert.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 20

Probe	Pos. / Wiederh.	Ergebnis
HIV1	0/3	Keine Kreuzreaktivität
EBV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HAV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HBV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HHV6	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HSV1	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HSV2	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HEV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
RSV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
VZV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Influenza-A-Virus (H1N1)	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Influenza-B-Virus (Florida)	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Dengue-Virus Typ 3	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Adenovirus 2	0/3	Keine Kreuzreaktivität
West-Nil-Virus	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Echovirus 4	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Parvovirus B19	0/3	Keine Kreuzreaktivität
HCV	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Aspergillus fumigatus	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Staphylococcus aureus	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Candida albicans	0/3	Keine Kreuzreaktivität

Alle getesteten potenziell interferierenden Marker wiesen für die CMV-RNA-Zielamplifikation mit dem CMV RNA ELITe MGB Kit keine Kreuzreaktivität auf.

11.6 Potenziell interferierende Marker: Inhibition

Die durch andere, in klinischen Plasmaproben möglicherweise vorhandene Organismen verursachte potenzielle Inhibition wurde durch das Testen einer Reihe zertifizierter Referenzmaterialien (ATCC und NIBSC), in hohem Titer mit CMV-RNA-Referenzmaterial (Universität Turin) in einer Konzentration von 3 x LoD dotiert, verifiziert.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 21

Probe	Pos. / Wiederh.	Ergebnis
HIV1	3/3	Keine Inhibition
EBV	3/3	Keine Inhibition
HAV	3/3	Keine Inhibition
HBV	3/3	Keine Inhibition

Tabelle 21 (continued)

Probe	Pos. / Wiederh.	Ergebnis
HHV6	3/3	Keine Inhibition
HSV1	3/3	Keine Inhibition
HSV2	3/3	Keine Inhibition
HEV	3/3	Keine Inhibition
RSV	3/3	Keine Inhibition
VZV	3/3	Keine Inhibition
Influenza-A-Virus (H1N1)	3/3	Keine Inhibition
Influenza-B-Virus (Florida)	3/3	Keine Inhibition
Dengue-Virus Typ 3	3/3	Keine Inhibition
Adenovirus 2	3/3	Keine Inhibition
West-Nil-Virus	3/3	Keine Inhibition
Echovirus 4	3/3	Keine Inhibition
Parvovirus B19	3/3	Keine Inhibition
HCV	3/3	Keine Inhibition
Aspergillus fumigatus	3/3	Keine Inhibition
Staphylococcus aureus	3/3	Keine Inhibition
Candida albicans	3/3	Keine Inhibition

Bei allen getesteten potenziell interferierenden Organismen zeigte der Test mit dem CMV RNA ELITe MGB Kit keine Inhibition des Nachweises und der Quantifizierung der CMV-RNA-Zielsequenz.

11.7 Potenziell interferierende Substanzen: Kreuzreaktivität

Die Kreuzreaktivität des Assays mit potenziell interferierenden (endogenen und exogenen) Substanzen, die in klinischen Plasmaproben vorkommen können, wurde durch die Analyse einer Reihe von Substanzen in relevanter Konzentration bewertet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 22

Probe	Pos. / Wiederh.	Ergebnis
Ikterisches Plasma	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Lipämisches Plasma	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Hämolytisches Blut hoch	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Hämolytisches Blut mittel	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Hämolytisches Blut niedrig	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Heparinisiertes Plasma	0/3	Ungültige Probe
EDTA-Plasma	0/3	Keine Kreuzreaktivität

Tabelle 22 (continued)

Probe	Pos. / Wiederh.	Ergebnis
Azithromycin	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Cyclosporin A	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Valganciclovir	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Cidofovir	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Abacavir	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Ganciclovir	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Foscarnet	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Ribavirin	0/3	Keine Kreuzreaktivität
Letermovir	0/3	Keine Kreuzreaktivität

Der Test zeigte, dass bei Verwendung des CMV RNA ELITe MGB Kit keine der Substanzen mit der CMV-RNA-Zielamplifikation kreuzreagiert.

Es wurde bestätigt, dass Heparin in der Lage ist, den Assay zu hemmen, da diese Proben aufgrund eines Versagens der Internal Control (IC Ct > 32) als „ungültig“ und nicht als „negativ“ ausfielen.

11.8 Potenziell interferierende Substanzen: Inhibition

Die Inhibition des Assays mit potenziell interferierenden Substanzen (endogen und exogen), die in klinischen Plasmaproben vorkommen können, wurde mit ELITe InGenius durch die Analyse eines Panels von Substanzen in relevanten Konzentrationen in Proben bewertet, die in einer Konzentration von 3 x LoD mit CMV-RNA-Referenzmaterial (Universität Turin) dotiert waren, bewertet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 23

Probe	Pos. / Wiederh.	Ergebnis
Ikterisches Plasma	3/3	Keine Inhibition
Lipämisches Plasma	3/3	Keine Inhibition
Hämolytisches Blut hoch	3/3	Keine Inhibition
Hämolytisches Blut mittel	3/3	Keine Inhibition
Hämolytisches Blut niedrig	3/3	Keine Inhibition
Heparinisiertes Plasma	0/3	Ungültige Probe
EDTA-Plasma	3/3	Keine Inhibition
Azithromycin	3/3	Keine Inhibition
Cyclosporin A	3/3	Keine Inhibition
Valganciclovir	3/3	Keine Inhibition
Cidofovir	3/3	Keine Inhibition
Abacavir	3/3	Keine Inhibition
Ganciclovir	3/3	Keine Inhibition

Tabelle 23 (continued)

Probe	Pos. / Wiederh.	Ergebnis
Foscarnet	3/3	Keine Inhibition
Ribavirin	3/3	Keine Inhibition
Letermovir	3/3	Keine Inhibition

Der Test zeigte, dass keine der Substanzen, mit Ausnahme von Heparin, den Nachweis und die Quantifizierung der CMV-RNA-Zielsequenz mit dem CMV RNA ELITe MGB Kit hemmt.

Es wurde bestätigt, dass Heparin in der Lage ist, den Assay zu hemmen. Aufgrund des Versagens der Internal Control (IC Ct > 32) wurden diese Proben jedoch als „ungültig“ und nicht als falsch „negativ“ eingestuft.

11.9 Kreuzkontamination

Die mögliche Kreuzkontamination während der Analyse wurde mit ELITe InGenius bewertet, indem 30 CMV-RNA-negative Plasmaproben im Wechsel mit 30 Plasmaproben, mit CMV-RNA-Referenzmaterial (Universität Turin) dotiert waren, getestet wurden.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 24

Proben	Anzahl	Negativ	Positiv	Übereinstim-mung
In einer Konzentration von ~1x10^6 Kopien/ml mit CMV-RNA-dotiertes Plasma	30	0	30	100 %
CMV-RNA-negatives Plasma	30	30	0	100 %

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

11.10 Fehlerrate des Gesamtsystems

Die Fehlerrate des Gesamtsystems wurde mit ELITe InGenius durch die Analyse eines Panels von Proben, die mit CMV-RNA-Referenzmaterial (Universität Turin) in einer Konzentration von 3 x LoD dotiert waren, bewertet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 25

Proben	Anzahl	Negativ	Positiv	Fehlerrate des Gesamtsystems
CMV-RNA-dotiertes Plasma	50	0	50	0 %

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

11.11 Wiederholpräzision

Zur Bewertung der Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs und der laufübergreifenden Wiederholpräzision des Assays wurde auf ELITe InGenius eine Reihe von Plasmaproben analysiert, einschließlich einer negativen Probe und zweier Proben, die in Konzentrationen von 3 x LoD und 10 x LoD mit CMV-RNA-Referenzmaterial (Universität Turin) dotiert waren.

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

Tabelle 26 Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs bei ELITe InGenius (Tag 1)

Probe	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Übereinstimmung
Negativ	0/8	-	-	-	100 %
3 x LoD	8/8	33,19	0,43	1,30	100 %
10 x LoD	8/8	31,69	0,09	0,27	100 %

Ein Beispiel für die Ergebnisse der laufübergreifenden Wiederholpräzision (an zwei Tagen) ist in den nachstehenden Tabellen aufgeführt.

Tabelle 27 Laufübergreifende Wiederholpräzision bei ELITe InGenius (Tag 1 und Tag 2)

Probe	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Übereinstimmung
Negativ	0/16	-	-	-	100 %
3 x LoD	16/16	33,19	0,34	1,03	100 %
10 x LoD	16/16	31,62	0,18	0,56	100 %

Bei Tests der Wiederholpräzision mit ELITe InGenius erkannte der CMV RNA ELITe MGB Kit die CMV-RNA-Zielsequenz wie erwartet und wies eine maximale Variabilität der Ct-Zielwerte als VK% von weniger als 5 % aus.

Zur Bewertung der Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs und der laufübergreifenden Wiederholpräzision des Assays wurde auf ELITe BeGenius eine Reihe von Plasmaproben analysiert, einschließlich einer negativen Probe und zweier Proben, die in Konzentrationen von 3 x LoD und 10 x LoD mit CMV-RNA-Referenzmaterial (NoToVir) dotiert waren.

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

Tabelle 28 Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs bei ELITe BeGenius (Tag 1)

Probe	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Übereinstimmung
Negativ	0/8	-	-	-	100 %
3 x LoD	8/8	36,17	0,87	2,40	100 %
10 x LoD	8/8	33,64	0,28	0,82	100 %

Ein Beispiel für die Ergebnisse der laufübergreifenden Wiederholpräzision (an zwei Tagen) ist in den nachstehenden Tabellen aufgeführt.

Tabelle 29 Laufübergreifende Wiederholpräzision bei ELITe BeGenius (Tag 1 und Tag 2)

Probe	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Übereinstimmung
Negativ	0/16	-	-	-	100 %
3 x LoD	16/16	35,82	0,79	2,22	100 %
10 x LoD	16/16	33,54	0,29	0,86	100 %

Bei Tests der Wiederholpräzision mit ELITe BeGenius erkannte der CMV RNA ELITe MGB Kit die CMV-RNA-Zielsequenz wie erwartet und wies eine maximale Variabilität der Ct-Zielwerte als VK% von weniger als 5 % aus.

11.12 Vergleichspräzision

Zur Bewertung der chargen- und geräteübergreifenden Vergleichspräzision des Assays wurde auf ELITe InGenius eine Reihe von Plasmaproben analysiert, einschließlich einer negativen Probe und zweier Proben, die in Konzentrationen von 3 x LoD und 10 x LoD mit CMV-RNA-Referenzmaterial (Universität Turin) dotiert waren.

Eine Übersicht der chargenübergreifenden Vergleichspräzision (bei drei Chargen) ist in den nachfolgenden Tabellen dargestellt.

Tabelle 30 Chargenübergreifende Vergleichspräzision bei ELITe InGenius

Probe	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Übereinstimmung
Negativ	0/48	-	-	-	100 %
3 x LoD	48/48	33,18	0,33	0,99	100 %
10 x LoD	48/48	31,47	0,31	1,00	100 %

Eine Übersicht der geräteübergreifenden Vergleichspräzision (bei drei Geräten) ist in der nachfolgenden Tabelle dargestellt.

Tabelle 31 Geräteübergreifende Vergleichspräzision bei ELITe InGenius

Probe	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Übereinstimmung
Negativ	0/24	-	-	-	100 %
3 x LoD	24/24	34,53	0,56	1,63	100 %
10 x LoD	24/24	32,28	0,31	0,97	100 %

Bei Tests der Vergleichspräzision mit ELITe InGenius erkannte der CMV RNA ELITe MGB Kit die CMV-RNA-Zielsequenz wie erwartet und wies eine maximale Variabilität der Ct-Zielwerte als VK% von weniger als 5 % aus.

Zur Bewertung der chargen- und geräteübergreifenden Vergleichspräzision des Assays wurde auf ELITe BeGenius eine Reihe von Plasmaproben analysiert, einschließlich einer negativen Probe und zweier Proben, die in Konzentrationen von 3 x LoD und 10 x LoD mit CMV-RNA-Referenzmaterial (NoToVir) dotiert waren.

Ein Beispiel der Ergebnisse der chargenübergreifenden Vergleichspräzision (auf einem Gerät, mit zwei Chargen) ist in den nachfolgenden Tabellen dargestellt.

Tabelle 32 Chargenübergreifende Vergleichspräzision bei ELITe BeGenius

Probe	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Übereinstimmung
Negativ	0/8	-	-	-	100 %
3 x LoD	8/8	34,96	0,16	0,46	100 %
10 x LoD	8/8	32,80	0,25	0,75	100 %

Eine Übersicht der geräteübergreifenden Vergleichspräzision (bei zwei Geräten) ist in der nachfolgenden Tabelle dargestellt.

Tabelle 33 Geräteübergreifende Vergleichspräzision bei ELITe BeGenius

Probe	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Übereinstimmung
Negativ	0/16	-	-	-	100 %
3 x LoD	16/16	34,48	0,58	1,67	100 %
10 x LoD	16/16	32,58	0,34	1,05	100 %

Bei Tests der Vergleichspräzision mit ELITe BeGenius erkannte der CMV RNA ELITe MGB Kit die CMV-RNA-Zielsequenz wie erwartet und wies eine maximale Variabilität der Ct-Zielwerte als VK% von weniger als 5 % aus.

11.13 Diagnostische Spezifität: Bestätigung negativer Proben

Die diagnostische Spezifität des Assays, die durch negative prozentuale Übereinstimmung mit einer Referenzmethode ermittelt wurde, wurde durch Analyse CMV-DNA-negativer klinischer Plasmaproben, die mit einer CE/IVD-gekennzeichneten molekulardiagnostischen Referenzmethode (EG SpA) in einem externen Labor getestet wurden, 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 der Studie zur diagnostischen Spezifität nach Diskrepanzanalyse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 34

Proben	An-zahl	Positiv	Negativ	Ungültig	Diagnostische Spezifität
Plasma aus CMV-DNA-negativem Vollblut	100	0	100	0	100 %

Die diagnostische Spezifität des CMV RNA ELITe MGB Kit betrug 100 %.

Der Ct-Grenzwert für die Internal Control wurde für die validierte Plasmamatrix auf 32 festgelegt.

11.14 Diagnostische Sensitivität: Bestätigung positiver Proben

Zur Ermittlung der diagnostischen Sensitivität des Assays, die anhand der positiven prozentualen Übereinstimmung mit der Referenzmethode und mit dem Referenzmaterial bewertet wurde, wurde Folgendes analysiert:

- klinische CMV-DNA-positive Plasmaproben von 8 Transplantationspatienten, die sich einer antiviralen Therapie mit einem Inhibitor des CMV-Terminase-Komplexes (Letermovir, PREVYMIS™, Merck & Co.) unterzogen, die mit einer CE/IVD-gekennzeichneten Referenzmethode (EG SpA) nach der DNase-Behandlung (I. Cassaniti et al. 2021) von einem externen Labor getestet wurden,
- in einer Konzentration von 3 x, 5 x, 10 x, 30 x und 50 x LoD mit CMV-RNA-Referenzmaterial (Universität Turin) dotierte klinische Plasmaproben.

DaELITe BeGeniusgleichwertige analytische Leistungen wieELITe InGeniusaufweist, ist die diagnostische Güte der auf den beiden Geräten durchgeführten Tests ebenfalls als gleichwertig anzusehen. Daher gilt die mitELITe InGeniuserhaltene diagnostische Sensitivität des Assays auch fürELITe BeGenius.

Die Ergebnisse der Studie zur diagnostischen Sensitivität nach Diskrepanzanalyse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 35

Proben	An-zahl	Positiv	Negativ	Ungültig	Diagnostische Sensitivität
CMV-DNA-positives Plasma nach DNase-Behandlung	10	9	1	0	90 %
Mit CMV-RNA dotiertes Plasma	70	70	0	0	100 %
Alle Plasmaproben	80	79	1	0	98,75 %

Die diagnostische Gesamtspezifität desCMV RNA ELITe MGB Kitbetrug 98,75 %.

11.15 Diagnostische Sensitivität: Methodenübereinstimmung

Die diagnostische Sensitivität des Assays als Übereinstimmung mit der Referenzmethode unter Verwendung des Cohen's Kappa-Wertes wurde durch Analyse CMV-DNA-negativer und CMV-DNA-positiver klinischer Plasmaproben von 27 Transplantationspatienten, die sich einer antiviralen Therapie mit einem Inhibitor des CMV-Terminase-Komplexes (Letermovir, PREVYMIS™, Merck & Co.) unterzogen, die mit einer CE/IVD-gekennzeichneten Referenzmethode (EG SpA) nach der DNase-Behandlung (I. Cassaniti et al. 2021) von einem externen Labor getestet wurden, bewertet.

DaELITe BeGeniusgleichwertige analytische Leistungen wieELITe InGeniusaufweist, ist die diagnostische Güte der auf den beiden Geräten durchgeführten Tests ebenfalls als gleichwertig anzusehen. Daher gilt die mitELITe InGeniuserhaltene diagnostische Sensitivität des Assays auch fürELITe BeGenius.

Die Ergebnisse der Studie zur diagnostischen Sensitivität nach Diskrepanzanalyse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 36

		CMV-DNA nach DNase-Behandlung		
		Pos.	**Neg.**	**Gesamt**
CMV RNA ELITe MGB Kit	**Pos.**	9	2	11
	Neg.	1	81	82
	Gesamt	10	83	93

DasCMV RNA ELITe MGB Kiterzielte in dieser Analyse eine Fläche unter der Kurve (AUC) von 96,8 % und einen Cohen's Kappa-Wert von 0,839, was einer perfekten Übereinstimmung mit den Ergebnissen entspricht, die für die CMV-DNA bei DNase-behandeltem Plasma erzielt wurden.

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 „CMV RNA ELITe MGB Kit“, FTP 115ING, aufgeführt.

12 REFERENZEN

W. D. Rawlinson et al. (1993) *J. Virology* 67: 5502 - 5513

D. Wang et al. (2004) *PNAS* 101: 16642 - 16647

W. A. Bresnahan (2000) *Science* 288: 2373 - 2376

A. E. Greijer et al. (2000) *J. Virology* 74: 9078 - 9082

E. Terhune et al. (2004) *J. Virology* 78: 10390 - 10398

E. Sarcinella et al. (2004) *Virus Research* 104: 129 - 137

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

G. Gerna et al. (2019) *Expert Opinion on Pharmacotherapy* 20: 1429 - 1438

I. Cassaniti et al. (2021) *Am. J. Transplantat.* 21: 1622 - 1628

C. N. Kotton et al. (2025) *Transplantation* 1; 109(7):1066-1110

G. Piccirilli et al. (2024) *J. Clinical Microbiology* 62(5): e0163023.

13 GRENZEN DES VERFAHRENS

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

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

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

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

Dieses Produkt ist nicht dazu bestimmt, das Vorhandensein von oder die Exposition gegenüber übertragbaren Erregern in Blut, Blutbestandteilen, Zellen, Geweben, Organen oder deren Derivaten nachzuweisen, um deren Eignung für Transfusionen, Transplantationen oder Zellverabreichung zu beurteilen.

Dieses Produkt ist nicht für das CMV-Screening bei schwangeren Frauen bestimmt.

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

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

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

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

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

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

Eine räumliche Trennung von Vorbereitung des kompletten Reaktionsgemischs und die Extraktion/Amplifikation/ Detektion von Amplifikationsprodukten ist zu beachten, um falsch-positive Ergebnisse zu vermeiden.

Vor einer Umstellung auf ein neues Produkt sollten die Anwender aufgrund von inhärenten Unterschieden zwischen verschiedenen Technologien Korrelationsstudien zu den Methoden durchführen.

Ein mit diesem Produkt erhaltenes negatives Ergebnis zeigt, dass die Ziel-RNA nicht in der RNA, 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 RNA können den Nachweis und die Quantifizierung der Ziel-RNA 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 37

Ungültige Reaktion von Q-PCR Standard, Standardkurve oder Positive Control	
Mögliche Ursachen	**Abhilfemaßnahmen**
Einstellfehler des Geräts.	Position von komplettem Reaktionsgemisch, Q-PCR Standards und Positivkontrolle kontrollieren. Volumina von komplettem Reaktionsgemisch, Q-PCR Standards und Positivkontrolle kontrollieren.
Fehler bei der Zubereitung des kompletten Reaktionsgemischs.	Volumina der bei der Zubereitung des kompletten Reaktionsgemischs verwendeten Reagenzien kontrollieren.
Abbau des kompletten Reaktionsgemischs oder seiner Komponenten.	Das komplette Reaktionsgemisch 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. Den RT EnzymeMix nicht länger als 10 Minuten bei Temperaturen über -20 °C aufbewahren. Das komplette Reaktionsgemisch erneut zubereiten. Ein neues Aliquot Komponenten verwenden.
Abbau von Q-PCR Standards oder Positive Control.	Den Q-PCR Standard nicht für mehr als 4 unabhängige Läufe verwenden (jeweils 2 Stunden im Extraktionsbereich oder in der Cooler Unit). Die Positive Control nicht für mehr als 4 unabhängige Arbeitsläufe 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 38

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

Tabelle 39

Ungültige Probenreaktion	
Mögliche Ursachen	**Abhilfemaßnahmen**
Einstellfehler des Geräts.	Position von komplettem Reaktionsgemisch, Internal Control und Probe kontrollieren. Volumina von komplettem Reaktionsgemisch, Internal Control und Probe kontrollieren.
Fehler bei der Zubereitung des kompletten Reaktionsgemischs.	Volumina der bei der Zubereitung des kompletten Reaktionsgemischs verwendeten Reagenzien kontrollieren.
Abbau des kompletten Reaktionsgemischs oder seiner Komponenten.	Das komplette Reaktionsgemisch 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. Den RT EnzymeMix nicht länger als 10 Minuten bei Temperaturen über -20 °C aufbewahren. Das komplette Reaktionsgemisch erneut zubereiten. Ein neues Aliquot Komponenten verwenden.
Abbau der Vorlage für die Internal Control.	Ein neues Aliquot der Internal Control verwenden.
Inhibition durch Störsubstanzen in der Probe.	Amplifikation der eluierten Probe mit einer 1:2-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „PCR Only“-Lauf (nur PCR) wiederholen. Extraktion mit einer 1:2-Verdünnung der Probe in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „Extract + PCR“-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Tabelle 40

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 41

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

Tabelle 42

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

15 SYMBOLE

REF	Katalognummer.
	Temperaturobergrenze.
LOT	Chargenbezeichnung.
	Verfallsdatum (letzter Tag des Monats).
IVD	*In-vitro*-Diagnostikum.
CE 0123	Erfüllt die Anforderungen der Verordnung (EU) 2017/746 über *In-vitro*-Diagnostika (IVDR). Zertifizierung ausgestellt von der TÜV SÜD Product Service GmbH, Deutschland.
UDI	Unique Device Identification, eindeutige Gerätekennung
	Ausreichend für „N" Tests
	Gebrauchsanweisung beachten.
CONT	Inhalt.
	Vor Sonneneinstrahlung schützen.
	Hersteller.

16 ANWENDERHINWEISE

Jeder schwerwiegende Zwischenfall, der im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetreten ist, muss dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedsstaates, in dem der Anwender und/oder der Patient ansässig ist, gemeldet werden. Um den Hersteller dieses Geräts zu informieren, verwenden Sie 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 EG SpA 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 „Methode zum Nachweis und zur Quantifizierung des humanen Cytomegalovirus mit Hilfe von Virionen-RNAs“ ist Gegenstand eines italienischen Patents 102020000007357 und anhängiger Anmeldungen.

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

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

MGB®, Eclipse Dark Quencher®, AquaPhluor®, ELITe MGB®, das ELITe MGB®-Gerätelogo, ELITe InGenius® und ELITe BeGenius® sind eingetragene Marken der ELITechGroup in der Europäischen Union. AcroMetrix™ ist eine eingetragene Marke von Thermo Fisher Scientific Inc. PREVYMIS™ ist eine Marke von Merck & Co.

Appendix A CMV RNA 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 **CMV RNA ELITe MGB® Kit** ist ein *In-vitro*-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal in quantitativen Nukleinsäure-RT- (reverse Transkription) und Real-Time-PCR-Assays zum Nachweis und zur Quantifizierung der **mRNA eines Virons des humanen Cytomegalovirus (CMV-RNA)**, die aus nicht zellulären 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, reversen Transkription, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation mit menschlichen Plasmaproben, die in EDTA entnommen wurden, validiert.

Das Produkt ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Überwachung der CMV-Infektion bei CMV-infizierten Personen bestimmt, die sich einer antiviralen Therapie mit Inhibitoren des CMV-Terminase-Komplexes unterziehen.

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

Dieses Produkt ist nicht dazu bestimmt, das Vorhandensein von oder die Exposition gegenüber übertragbaren Erregern in Blut, Blutbestandteilen, Zellen, Geweben, Organen oder deren Derivaten nachzuweisen, um deren Eignung für Transfusionen, Transplantationen oder Zellverabreichung zu beurteilen. Dieses Produkt ist nicht für das CMV-Screening bei schwangeren Frauen bestimmt.

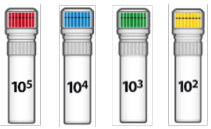
Amplifizierte Sequenz

Sequenz	Gen	Fluorophor	Kanal
Zielsequenz	UL21.5-mRNA (gespleißte Region)	FAM	CMV-DNA
Internal Control	MS2-Phage	AP525	IC

Validierte Matrizes

- In EDTA entnommenes **Plasma**

Kit-Inhalt und zugehörige Produkte

CMV RNA ELITe MGB Kit (RTS115ING)		CMV RNA ELITe Standard (STD115ING)	CMV RNA - ELITe Positive Control (CTR115ING)
 X 4	 x 2	 X 2	 X 2
CMV-DNAPCR Mix 4 Röhrchen mit 600 µl 96 Reaktionen pro Kit 5 Gefrier- und Auftauzyklen	RT EnzymeMix 2 Röhrchen mit 20 µl 96 Reaktionen pro Kit 10 Gefrier- und Auftauzyklen	4 Konzentrationen (gebrauchsfertig): 10^5, 10^4, 10^3, 10^2 2 Sets à 4 Röhrchen mit 160 µl 4 Gefrier- und Auftauzyklen	Gebrauchsfertige Positive Control 2 Röhrchen mit 160 µl 8 Reaktionen pro Kit 4 Gefrier- und Auftauzyklen
Maximale Haltbarkeitsdauer: **18 Monate** Lagerungstemperatur: **-20 °C**		Maximale Haltbarkeitsdauer: **24 Monate** Lagerungstemperatur: **-20 °C**	Maximale Haltbarkeitsdauer: **24 Monate** Lagerungstemperatur: **-20 °C**

Weitere benötigte, nicht im Kit enthaltene Produkte

- ELITe InGenius-Gerät: INT030.
- ELITe BeGenius-Gerät: INT040.
- ELITe InGenius SP 1000: INT033SP1000.
- CPE – Internal Control: CTRCPE
- **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius** Verbrauchsmaterialien (siehe ELITe InGenius und ELITe BeGenius Gebrauchsanweisung)

ELITe InGenius- und ELITe BeGenius-Protokoll

Tabelle 43

› Extraktion Eingangsvolumen › CPE-Volumen › Extrahiertes Elutionsvolumen › Eingangsvolumen Proben-PCR	600 µl 10 µl 50 µl 20 µl	› Volumen PCR-Mix › Häufigkeit der Kontrollen › Häufigkeit der Kalibrierung › Einheit des quantitativen Ergebnisses	20 µl 15 Tage 60 Tage Kopien/ml

Leistungsdaten für ELITe InGenius und ELITe BeGenius

Matrix	Nachweisgrenze	Sensitivität	Spezifität
EDTA-Plasma	30 Kopien/ml	**98,75 %** *80 getestete Proben*	**100 %** *100 getestete Proben*

Probenvorbereitung

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

Tabelle 44

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

ELITe InGenius-Verfahren

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

Vor der Analyse

1. ELITe InGenius einschalten. Mit dem Benutzernamen und Passwort anmelden. Den Modus „**CLOSED**“ (Geschlossen) wählen.	**2.** Kalibratoren überprüfen: **Q-PCR Standard** im Menü „Calibration“ (Kalibrierung). Kontrollen überprüfen: **Positive Control** sowie Negative Control im Menü „Controls“ (Kontrollen). Hinweis: Alle müssen ausgeführt und genehmigt worden sein und dürfen nicht abgelaufen sein.	**3.** Den **PCR Mix** (lichtgeschützt) und die **CTRCPE**-Röhrchen auftauen. Vorsichtig vortexen. 5 Sek. herunterzentrifugieren. Den **RT EnzymeMix** auf Eis oder in einem Kühlblock aufbewahren.

4. Das komplette Reaktionsgemisch zubereiten

Probenanzahl (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µl	(N + 1) x 0,3 µl
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µl	(N + 2) x 0,3 µl
N = 12	290 µl	4,4 µl

5. Vorsichtig vortexen
5 Sek. herunterzentrifugieren.
Das komplette Reaktionsgemisch auf Eis Keinem direkten Licht aussetzen.

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

1. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.	**2.** Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingangsvolumen: „1000 µL“, Elutionsvolumen: „50 µL“.	**3.** Die Proben-Barcodes mit dem tragbaren Barcodeleser scannen oder die Proben-ID eingeben.
4. Das Assay-Protokoll („Assay Protocol“) auswählen: CMVRNA ELITe_PL_600_50	**5.** Die Methode „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) und die Probenposition „Extraction Tube“ (Extraktionsröhrchen) auswählen. . Sicherstellen, dass der Verdünnungsfaktor („Dilution factor“) „1,7“ beträgt.	**6.** Das komplette Reaktionsgemisch in den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden.
7. Folgendes laden: PCR-Kassette, Extraktionskartusche, Elution tube (Elutionsröhrchen), Spitzenkassette, Extraction Tube (Extraktionsröhrchen)-Racks.	**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. bis 4. Das oben beschriebene Verfahren 1 befolgen (die Assay-Protokolle auswählen: (CMVRNA ELITe_PC und CMVRNA ELITe_NC oder CMVRNA ELITe_STD oder CMVRNA ELITe_PL_600_50)	**5.** Die Methode „PCR Only“ (Nur PCR) und die „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube“ (Elutionsröhrchen) auswählen	**6.** Das komplette Reaktionsgemisch in den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden
7. Folgendes laden: PCR Cassette-Rack und Elution tube (Elutionsröhrchen)-Rack mit der extrahierten Nukleinsäure	**8.** Tür schließen. Analyselauf starten	**9.** Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern

ELITe BeGenius-Verfahren

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

Vor der Analyse

1. ELITe BeGenius einschalten. Mit dem Benutzernamen und Passwort anmelden. Den Modus „**CLOSED**“ (Geschlossen) wählen.	**2.** Kalibratoren überprüfen: **Q-PCR Standard** im Menü „Calibration“ (Kalibrierung). Kontrollen überprüfen: **Positive Control** sowie Negative Control im Menü „Controls“ (Kontrollen). Hinweis: Alle müssen ausgeführt und genehmigt worden sein und dürfen nicht abgelaufen sein.	**3.** Den **PCR Mix** (lichtgeschützt) und die **CTRCPE**-Röhrchen auftauen. Vorsichtig vortexen. 5 Sek. herunterzentrifugieren. Den **RT EnzymeMix** auf Eis oder in einem Kühlblock aufbewahren.

4. Das komplette Reaktionsgemisch zubereiten:

Probenanzahl (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µl	(N + 1) x 0,3 µl
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µl	(N + 2) x 0,3 µl
N = 12	290 µl	4,4 µl
13 ≤ N ≤ 18	(N + 3) x 20 µl	(N + 3) x 0,3 µl
19 ≤ N ≤ 23	(N + 4) x 20 µl	(N + 4) x 0,3 µl
N = 24	580 µl	8,7 µl

5. Vorsichtig vortexen
5 Sek. herunterzentrifugieren.
Das komplette Reaktionsgemisch auf Eis Keinem direkten Licht aussetzen.

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: Eingangsvolumen: „1000 µL“, Elutionsvolumen: „50 µL“
4. Das Assay-Protokoll („Assay protocol“) auswählen: (CMVRNA ELITe_Be_PL_600_50) **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.** Das komplette Reaktionsgemisch 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 Rack“ (Extraktionsrack) mit den „ELITe InGenius SP 200“ Extraktionskartuschen und die für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden	**8.** Tür schließen. Analyselauf starten	**9.** Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern

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

Verfahren 2: „PCR Only“ (Nur PCR) (z. B. Eluate, 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.** Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingangsvolumen: „1000 µL“, Elutionsvolumen: „50 µL“
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: (CMVRNA ELITe_Be_PC und (CMVRNA ELITe_Be_NC oder (CMVRNA ELITe_Be_STD oder (CMVRNA ELITe_Be_PL_600_50)	**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