

Instructions for use

MRSA/SA ELITe MGB® Kit

Reagenzien für die DNA-Real-Time-PCR



REF M800351

UDI 08033891486556



ÄNDERUNGSVERLAUF

Rev.	Änderungsvermerk	Datum (TT.MM.JJ)
11	Aktualisierung des Abschnitts „Grenzen des Verfahrens“ Aktualisierung des Abschnitts: „Sonstige benötigte Produkte“	07/11/25
10	Erweiterte Verwendung des Produkts in Verbindung mit dem Gerät „ELITe BeGenius®“ (REF INT040) und den Matrices Nasenabstriche und Blutkulturen. Ultraschallprotokoll während des Extraktionsschritts entfernt Aktualisierung des Abschnitts „Symbole“ mit dem Symbol „Gebrauchsanweisung beachten“ Neue grafische und inhaltliche Gestaltung der Gebrauchsanweisung	27/03/25
09	Einführung der neuen Produktreferenz „ELITe InGenius Sonication tubes“ (Ref. INT032SON) zur Verwendung in Kombination mit dem Produkt für die Probenbeschallung	13/10/20
08	Formale Korrekturen	06/02/19
00–07	Neuproduktentwicklung und nachfolgende Änderungen	

HINWEIS!

Die Revision dieser Gebrauchsanweisung ist auch mit den früheren Versionen des Kits kompatibel

INHALTSVERZEICHNIS

1 VERWENDUNGSZWECK.....	4
2 ERLÄUTERUNG DES ASSAYS	4
3 TESTPRINZIP	5
4 BESCHREIBUNG DES PRODUKTS	5
5 MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN.....	5
6 ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN	6
7 ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE	6
8 WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN	7
9 PROBEN UND KONTROLLEN bei ELITE InGenius und ELITE BeGenius	9
10 ELITE InGenius VERFAHREN.....	11
11 ELITE BeGenius VERFAHREN	16
12 LEISTUNGSMERKMALE BEI ELITE InGenius und ELITE BeGenius	21
13 PROBEN UND KONTROLLEN BEI ANDEREN SYSTEMEN	26
14 VERFAHREN BEI ANDEREN SYSTEMEN.....	28
15 LEISTUNGSMERKMALE BEI ANDEREN SYSTEMEN	34
16 REFERENZEN	39
17 GRENZEN DES VERFAHRENS	39
18 FEHLERBEHEBUNG	40
19 SYMBOLE	44
20 HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ.....	45
Appendix A QUICK START GUIDE.....	46

1 VERWENDUNGSZWECK

Das **MRSA/SA ELITE MGB® Kit** ist ein *In-vitro*-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal in qualitativen Nukleinsäure-Real-Time-PCR-Assays zum Nachweis der DNA von *Staphylococcus aureus* (SA) und Methicillin-resistentem *Staphylococcus aureus* (MRSA, einschließlich des *mecC*-Stamms), die aus klinischen Proben extrahiert wurde, bestimmt ist.

Dieser Assay ist in Verbindung mit den Geräten **ELITE InGenius®** und **ELITE BeGenius®**, automatisierten und integrierten Systemen zur Extraktion, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation mit humanen Nasenabstrich- und Blutkulturproben, validiert.

Der Assay ist außerdem in Verbindung mit dem **7500 Real-Time PCR Instrument** für die Verwendung mit humanen Nasenabstrich- und Blutkulturproben validiert.

Das Produkt ist zur Verwendung bei der Vorbeugung und Kontrolle von MRSA-Infektionen im Gesundheitswesen vorgesehen und soll bei der Diagnose von MRSA-Infektionen helfen, nicht aber die Behandlung von MRSA-Infektionen anleiten oder überwachen. Ein negatives Ergebnis schließt eine nasale MRSA/SA-Kolonisation nicht aus. Begleitende Kulturen sind erforderlich, um Organismen für die epidemiologische Typisierung oder für weitere Empfindlichkeitstests zu gewinnen.

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

2 ERLÄUTERUNG DES ASSAYS

Staphylococcus aureus ist ein opportunistischer Erreger, der als kommensaler Organismus auf der Haut und in den Nasenlöchern von etwa 30 % der Normalbevölkerung vorkommt und ein breites Spektrum von Krankheiten verursachen kann.

SA und insbesondere MRSA sind durchweg eine der Hauptursachen für nosokomiale Infektionen und mit einer hohen Morbidität und Mortalität sowie erheblichen Kosten verbunden. Das Auftreten von Community-assoziierten MRSA-Infektionen erfordert eine aktive Überwachung von Patienten, die mit SA und MRSA in Krankenhäuser oder andere Gesundheitseinrichtungen eingewiesen werden, um Patienten zu identifizieren, die ein Infektionsreservoir für andere Patienten darstellen könnten.

Das **MRSA/SA ELITE MGB Kit** ist ein auf Echtzeit-Amplifikation basierender Triplex-Assay, der auf die konservativen Regionen in einem ***Staphylococcus aureus*-spezifischen Gen** abzielt, das für die Identifizierung von Koagulase-positivem SA verantwortlich ist.

Der Assay zielt auch auf das ***mecA*-Gen** ab, einschließlich der ***mecC***-Variante, die als ***mecC*-Gen** bezeichnet wurde (Ito T. et al.) und für die Resistenz gegen Methicillin und andere Beta-Lactam-Antibiotika verantwortlich ist, sowie auf eine exogene interne Kontrolle, um die Reaktionshemmung und die Integrität des Reagenzes zu kontrollieren.

Das *Staphylococcus aureus*-spezifische Gen weist eindeutig auf Koagulase-positiven SA hin, und die *mecA*-Gene weisen eindeutig auf Methicillinresistenz hin.

Das Vorhandensein beider Marker in der gleichen relativen Menge, gemessen als Differenz beim Zyklusschwellenwert, ist ein Hinweis auf MRSA; unterschiedliche relative Mengen oder das Vorhandensein nur des *Staphylococcus aureus*-spezifischen Genmarkers sind ein Hinweis auf SA.

Auf Echtzeit-Amplifikation basierende MRSA/SA-Assays verkürzen die Laborzeit im Vergleich zu Standard-Kulturtests erheblich und verbessern die Effizienz des Verfahrens. Aktuelle Echtzeit-PCR-MRSA-Nachweistests zielen auf die *SCCmec*-Insertionsstelle (*mecA*-tragendes mobiles genetisches Element, genannt Staphylokokken-Kassetten-Chromosom) und/oder das *mecA*-Gen und/oder das *spa*-Gen ab.

Das **MRSA/SA ELITE MGB Kit** zielt auf konservative Regionen in den genetischen Markern von MRSA und SA ab, wodurch falsch negative Ergebnisse aufgrund einer natürlichen Variabilität der *SCCmec*-Insertionsstelle und falsch positive Ergebnisse aufgrund des Problems der „leeren Kassette“ auf ein Minimum reduziert werden.

3 TESTPRINZIP

Der Assay ist eine qualitative Real-Time-PCR für den Nachweis der SA- und MRSA DNA, die aus Proben isoliert und mit dem Testreagenz MRSA/SA PCR Mix, das Primer und ELITE MGB Kit-Technologie-Sonden enthält, amplifiziert wurde.

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

Bei den ELITE MGB Kit-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.

4 BESCHREIBUNG DES PRODUKTS

Das **MRSA/SA ELITE MGB Kit** enthält das Assay-Reagenz **MRSA/SA PCR Mix**, ein optimiertes und stabilisierter PCR Mix, der die spezifischen Primer und Sonden enthält für:

- das SA-spezifische Gen (spezifisch für eine konservative Region des Koagulase-positiven ***Staphylococcus aureus***), nachgewiesen in Kanal **SA**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher®gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor®554 (AP525) markiert,
- die im Kanal **MecA** nachgewiesenen Gene *mecA* und *mecC* (spezifisch für konservative Regionen im ***mecA***- und im ***mecC***-Gen, die für die Resistenz gegen Methicillin und andere Beta-Lactam-Antibiotika verantwortlich sind); die Sonden sind durch MGB stabilisiert, durch Eclipse Dark Quencher®gequencht und mit einem FAM-Farbstoff markiert,
- die Internal Control (**IC**), die für die künstliche Sequenz **IC2** spezifisch ist, nachgewiesen in Kanal **IC**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher®gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 642 (AP642) markiert.

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

Das **MRSA/SA ELITE MGB Kit** enthält ausreichend Reagenzien für **96 Tests** auf **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius (24 Tests pro Röhrchen)** und für **100 Tests** auf **anderen Systemen (25 Tests pro Röhrchen)**, wobei 20 µl pro Reaktion verwendet werden.

Das **MRSA/SA ELITE MGB Kit** kann auch in Verbindung mit gleichwertigen Geräten verwendet werden.

5 MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN

Tabelle 1

Komponente	Beschreibung	Menge	Gefahrenklasse
MRSA/SA PCR Mix Art.-Nr. M800351	Gemisch aus Reagenzien für Real-Time-PCR- mit Röhrchen WEISSEM Verschluss	4 x 540 µl	-

6 **ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN**

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

7 **ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE**

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

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

Tabelle 2

Geräte und Software	Produkte und Reagenzien
ELITE InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, Art.-Nr. INT030) ELITE InGenius Software Version 1.3.0.19 (oder später) MRSA-SA ELITE_PC_200_100 oder MRSA-SA ELITE_PC_200_50 , Assay-Protokolle mit Parametern für die Analyse von Positive Control MRSA-SA ELITE_NC_200_100 oder MRSA-SA ELITE_NC_200_50 , Assay-Protokolle mit Parametern für die Analyse von Negative Control MRSA-SA ELITE_NS_200_50 , Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Analyse von Nasenabstrichproben MRSA-SA ELITE_BC_200_100 , Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Analyse von Blutkulturproben	MRSA-SA — ELITE Positive Control (EG SpA, Art.-Nr. M800356) CPE – Internal Control (EG SpA, Art.-Nr. CTCRCPE) ELITE InGenius SP200 (EG SpA, Art.-Nr. INT032SP200) ELITE InGenius und ELITE BeGenius Verbrauchsmaterialien (siehe ELITE InGenius und ELITE BeGenius Gebrauchsanweisung) eNAT™ kit (Copan, Art.-Nr. 608CS01R), eSwab Collection Kit (Copan, Art.-Nr. 480CE),
ELITE BeGenius (EG SpA, Art.-Nr. INT040) ELITE BeGenius Software Version 2.3.0. (oder später) MRSA-SA ELITE_Be_PC_200_100 oder MRSA-SA ELITE_Be_PC_200_50 , Assay-Protokolle mit Parametern für die Analyse von Positive Control MRSA-SA ELITE_Be_NC_200_100 oder MRSA-SA ELITE_Be_NC_200_50 , Assay-Protokolle mit Parametern für die Analyse von Negative Control MRSA-SA ELITE_Be_NS_200_50 , Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Analyse von Nasenabstrichproben MRSA-SA ELITE_Be_BC_200_100 , Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Analyse von Blutkulturproben	MRSA-SA — ELITE Positive Control (EG SpA, Art.-Nr. M800356) CPE – Internal Control (EG SpA, Art.-Nr. CTCRCPE) MicroAmp Fast Optical 96-Well Reaction Plate with Barcode, 0.1 mL (Life Technologies, Art.-Nr. 4346906) NucliSENS easyMAG Reagents (bioMérieux SA, Art.-Nr. 280130, 280131, 280132, 280133, 280134, 280135) NucliSENSeasyMAGStrip for Premix (bioMérieux SA, Art.-Nr. 278303) bioHit Electronic Multichannel Pipettor (bioMérieux SA, Art.-Nr. 280141) Filter tips for bioHit (bioMérieux SA, Art.-Nr. 280146) BBL CultureSwab Plus Amies Gel without Charcoal swabs (Becton-Dickinson, Art.-Nr. 220116)
7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument (ThermoFisher Scientific, Art.-Nr. 4406985) NucliSENS® easyMAG (bioMérieux SA, Art.-Nr. 200111)	

8 WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

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

8.1 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.

8.2 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen für die Molekularbiologie

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

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

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

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

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

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

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

8.3 Komponentenspezifische Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Tabelle 3

Komponente	Umgebungstemperatur bei Lagerung	Haltbarkeit nach Anbruch	Gefrier- und Auftauzyklen	On-Board-Stabilität (ELITE InGenius und ELITE BeGenius)
MRSA/SA PCR Mix	-20°C oder darunter (lichtgeschützt)	einen Monat	bis zu fünf	bis zu 15 Stunden (5 Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden)

9 PROBEN UND KONTROLLEN bei ELITE InGenius und ELITE BeGenius

9.1 Proben

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

Tabelle 4

Probe	Anforderungen an die Entnahme	Transport-/Lagerbedingungen			
		+16 / +26 °C (Raumtemperatur)	+2 – +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Nasenabstrich	entnommen mit eNAT™ kit		≤ 4 Wochen	≤ 6 Monate	-
Nasenabstrich	entnommen mit eSwab Collection Kit	≤ 2 Stunden	≤ 48 Stunden	≤ 6 Monate	-
Blutkultur	-	≤ 24 Stunden	-	-	-

Vor der Analyse die Blutkulturprobe im Verhältnis 1:1000 in hochreinem Wasser (mindestens 10 µl Probe in 10 µl hochreinem Wasser) auflösen, durch Vortexen mischen und 0,2 ml der verdünnten Proben in ein Extraktionsröhrchen (beim Gerät ELITE InGenius) oder in ein 2-ml-Sarstedt-Röhrchen (beim Gerät ELITE BeGenius) überführen.

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

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

Tabelle 5 Assay-Protokolle für MRSA/SA ELITE MGB Kit

Probe	Instrument	Name des Assay-Protokolls	Melden Sie	Eigenschaften
Nasenabstrich	ELITE InGenius	MRSA-SA ELITE_NS_200_50	Positiv/negativ	Extraktion Eingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 50 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 PCR Mix-Volumen: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 10 µl
	ELITE BeGenius	MRSA-SA ELITE_Be_NS_200_50	Positiv/negativ	
Blutkultur	ELITE InGenius	MRSA-SA ELITE_BC_200_100	Positiv/negativ	Extraktion Eingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE PCR Mix-Volumen: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 10 µl
	ELITE BeGenius	MRSA-SA ELITE_Be_BC_200_100	Positiv/negativ	

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

HINWEIS!

Das Pipettieren in das **Extraction Tube (Extraktionsröhrchen)** oder das **2-ml-Sarstedt-Röhrchen** kann **Kontamination verursachen**. Die geeigneten Pipetten verwenden und alle im Abschnitt 8 WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN page 7 aufgeführten Empfehlungen befolgen.

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

Daten zu störenden Substanzen sind im Abschnitt „[12 LEISTUNGSMERKMALE BEI ELITE InGenius und ELITE BeGenius page 21](#)“ sind „Potenziell interferierende Substanzen“ aufgeführt.

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

9.2 PCR-Kontrollen

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

- Für die Positive Control das Produkt **MRSA/SA - ELITE Positive Control** (nicht im Lieferumfang dieses Kits enthalten) mit den Assay-Protokollen **MRSA-SA ELITE_PC_200_50** oder **MRSA-SA ELITE_PC_200_100** und **MRSA-SA ELITE_Be_PC_200_50** oder **MRSA-SA ELITE_Be_PC_200_100** verwenden.
- Für die Negative Control hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht im Lieferumfang dieses Kits enthalten) mit den Assay-Protokollen **MRSA-SA ELITE_NC_200_50** oder **MRSA-SA ELITE_NC_200_100** und **MRSA-SA ELITE_Be_NC_200_50** oder **MRSA-SA ELITE_Be_NC_200_100** verwenden.

HINWEIS!

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

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

9.3 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.

10 ELITE InGenius VERFAHREN

Das beim Gebrauch des **MRSA/SA ELITE MGB Kit** mit **ELITE InGenius** anzuwendende Verfahren besteht aus drei Schritten:

Tabelle 6

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

10.1 SCHRITT 1 - Prüfung der Systembereitschaft

Vor Beginn des Laufs:

- **ELITE InGenius** einschalten und den Modus „**CLOSED**“ (geschlossen) auswählen,
- auf der Startseite im Menü „Controls“ (Kontrollen) bestätigen, dass die PCR-Kontrollen (**MRSA/SA - Positive Control** und **LGA251/SA Positive Control**, **MRSA/SA Negative Control**) für die zu verwendende Charge des **MRSA/SAPCR Mix** genehmigt und gültig (Status) sind. Wenn keine gültigen PCR-Kontrollen für die Charge **MRSA/SA 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 [9 PROBEN UND KONTROLLEN bei ELITE InGenius und ELITE BeGenius page 9](#)).
- Falls das betreffende Assay-Protokoll nicht im System geladen ist, wenden Sie sich an Ihren ELITechGroup S. p.A. Kundendienstvertreter vor Ort.

10.2 SCHRITT 2 - Einrichtung des Laufs

Das **MRSA/SA ELITE MGB Kit** kann auf **ELITE InGenius** für die folgenden Läufe verwendet werden:

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

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

HINWEIS!

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

Vor dem Einrichten eines Laufs:

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

HINWEIS!

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

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

Tabelle 7

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])	C. Lauf für Positive und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
1	Proben identifizieren und, falls erforderlich, auf Raumtemperatur auftauen. 200 µl Probe in ein zuvor etikettiertes Extraction Tube (Extraktionsröhrchen) überführen.	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.	Die Positive Control-Röhrchen (MRSA/SA Positive Control und LGA251/SA Positive Control) 30 Minuten bei Raumtemperatur auftauen. Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. (Jedes Röhrchen reicht aus für 4 Reaktionen.)
2	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.	Nicht anwendbar	Die Negative Control vorbereiten : dazu mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie in ein „Elution Tube“ (Elutionsröhr.) überführen, das im Lieferumfang des ELiTe InGenius SP 200 Consumable Set enthalten ist.
3	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
4	Wenn Nasenabstrichproben verarbeitet werden, sicherstellen, dass das Extraktionseingangsvolumen 200 µl und das extrahierte Eluatvolumen 50 µl beträgt. Wenn Blutkulturproben verarbeitet werden, sicherstellen, dass das Extraktionseingangsvolumen 200 µl und das extrahierte Eluatvolumen 100 µl beträgt.	Wenn Nasenabstrichproben verarbeitet werden, sicherstellen, dass das Extraktionseingangsvolumen 200 µl und das extrahierte Eluatvolumen 50 µl beträgt. Wenn Blutkulturproben verarbeitet werden, sicherstellen, dass das Extraktionseingangsvolumen 200 µl und das extrahierte Eluatvolumen 100 µl beträgt.	Selbst wenn keine Extraktion durchgeführt wird, sicherstellen, dass das Extraktionseingangsvolumen 200 µl und das extrahierte Eluatvolumen „50 µl“ (bei Nasenabstrich) bzw. „100 µl“ (bei Blutkultur) beträgt.
5	Für jede Probe eine Spur zuweisen und unter „SampleID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.	Für jede Probe eine Spur zuweisen und unter „SampleID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.	Nicht anwendbar
6	Das Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“).	Das Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“).	Das 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.

Tabelle 7 (continued)

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

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

Am Ende des Laufs kann der **PCR Mix** aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und bei -20 °C oder darunter aufbewahrt oder bis zu 5 Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden im gekühlten Block aufbewahrt werden; vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

10.3 SCHRITT 3 - Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

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

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

HINWEIS!

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

ELiTe InGenius generiert Ergebnisse mithilfe des **MRSA/SA ELiTe MGB Kit** und geht dabei folgendermaßen vor:

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

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

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

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

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

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

10.3.2 Validierung der Probenergebnisse

Die **ELITE InGenius-Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse für die Zielsequenzen (Kanäle **mecA** und **SA**) und die Internal Control (Kanal **IC**) mit den Assay-Protokoll-Parametern **MRSA-SA ELITE_NS_200_50** und **MRSA-SA ELITE_BC_200_100**.

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

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

Tabelle 8

1) Positive Control	„Status“
MRSA/SA – Positive Control	APPROVED (Genehmigt)
LGA251/SA Positive Control	APPROVED (Genehmigt)
2) Negative Control	„Status“
MRSA/SA – Negative Control	APPROVED (Genehmigt)

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

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

Tabelle 9

Ergebnis des Probenlaufs	Interpretation
MRSA:detected (MRSA:erkannt)	In der Probe wurde MRSA-DNA nachgewiesen .
MRSA/SA:not detected or below the LoD (MRSA/SA: nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde keine MRSA/SA-DNA nachgewiesen . Die Probe ist gültig negativ oder die Zielkonzentrationen liegen unterhalb der Nachweisgrenze des Tests.
MRSA:not detected or below LoD, SA detected (MRSA: nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze, SA erkannt)	In der Probe wurde keine MRSA-DNA nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf diese Zielsequenz getestet oder ihre Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays, SA wurde nachgewiesen
Invalid-Retest Sample (Ungültig – Probe erneut testen)	Ungültiges Testergebnis durch fehlerhafte interne Kontrolle (falsche Extraktion, Verschleppung von Inhibitoren). Der Test sollte wiederholt werden.

Als „MRSA/SA: not detected or below the LoD“ (MRSA/SA: nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze) ausgegebene Proben sind für die Analyse geeignet, es war jedoch nicht möglich, MRSA/SA-DNA nachzuweisen. In diesem Fall kann nicht ausgeschlossen werden, dass MRSA/SA-DNA bei einer Konzentration unter der Nachweisgrenze des Assays vorhanden ist (siehe „12 LEISTUNGSMERKMALE BEI ELITE InGenius und ELITE BeGenius page 21“).

Als „Invalid-Retest Sample“ (Ungültig – Probe erneut testen) ausgegebene Proben: In diesem Fall wurde die Internal Control-DNA möglicherweise aufgrund von Problemen beim Probenentnahme-, Extraktions- oder PCR-Schritt nicht effizient erkannt (z. B. falsche Probenahme, Abbau oder Verlust von DNA während der Extraktion oder Inhibitoren im Eluat), was zu falschen Ergebnissen führen kann. Wenn ausreichend Eluatvolumen übrig bleibt, kann das Eluat 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 „18 FEHLERBEHEBUNG page 40“).

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.

10.3.3 Ausgabe des Probenergebnisberichts

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

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

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

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

11 ELITE BeGenius VERFAHREN

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

Tabelle 10

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

11.1 SCHRITT 1 - Prüfung der Systembereitschaft

Vor Beginn des Laufs:

- **ELiTe BeGenius** einschalten und den Modus „**CLOSED**“ (geschlossen) auswählen,
- auf der Startseite im Menü „Controls“ (Kontrollen) bestätigen, dass die PCR-Kontrollen (**MRSA/SA - Positive Control** und **LGA251/ SA Positive Control, MRSA/SA Negative Control**) für die zu verwendende Charge des **MRSA/SAPCR Mix** genehmigt und gültig (Status) sind. Wenn keine gültigen PCR-Kontrollen für die Charge **MRSA/SA 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 „[9 PROBEN UND KONTROLLEN bei ELiTe InGenius und ELiTe BeGenius page 9](#)“).

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

11.2 SCHRITT 2 - Einrichtung des Laufs

Das **MRSA/SA ELiTe MGB Kit** kann auf **ELiTe BeGenius** für die folgenden Läufe verwendet werden:

- A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR]),
- B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR]),
- C. Positive Control und Negative Control-Lauf (PCR Only [nur PCR])

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

HINWEIS!

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

Vor dem Einrichten eines Laufs:

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

HINWEIS!

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

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

Tabelle 11

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])	C. Lauf für Positive und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
1	Proben identifizieren und, falls erforderlich, auf Raumtemperatur auftauen. 200 µl Probe in ein zuvor etikettiertes 2-ml-Sarstedt-Röhrchen überführen.	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.	Die Positive Control-Röhrchen (MRSA/SA Positive Control und LGA251/SA Positive Control) 30 Minuten bei Raumtemperatur auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 4 Reaktionen. Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.
2	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.	Nicht anwendbar	Die Negative Control vorbereiten: dazu mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie in ein „Elution Tube“ (Elutionsröhr.) überführen, das im Lieferumfang des ELITe InGenius SP 200 Consumable Set enthalten ist.
3	Auf der Startseite „ Perform Run “ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „ Perform Run “ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „ Perform Run “ (Lauf durchführen) auswählen.
4	Alle Racks aus der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.	Die „Racks“ aus „Lane 1, 2 und 3 (L1, L2 und L3) der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.	Die „Racks“ aus „Lane 1, 2 und 3 (L1, L2 und L3) der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.
5	Den Laufmodus („Run mode“) wählen: „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR).	Den Laufmodus („Run mode“) wählen: „PCR Only“ (Nur PCR).	Den Laufmodus („Run mode“) wählen: „PCR Only“ (Nur PCR).
6	Die Proben in das Probenrack („Sample Rack“) laden . Wenn als Sekundärröhrchen „2 mL Tubes“ (2-ml-Röhrchen) geladen werden, verwenden Sie die blauen Adapter für das „Sample Rack“.	Die Proben in das „Elution Rack“ (Elutionsablage) laden .	Die Positive Control- und Negative Control-Röhrchen in das „Elution Rack“ (Elutionsablage) laden .
7	Das „Sample Rack“ in die „Cooler Unit“ einsetzen , beginnend mit „Lane 5“ (L5). Falls erforderlich, unter „Sample ID“ (SID) die Proben-ID für jede verwendete „Position“ eingeben (Beim Laden von Sekundärröhrchen „2 mL Tube“ (2-ml-Röhrchen) angeben). Bei Sekundärröhrchen ohne Barcode die Proben-ID manuell eingeben.	Das „Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ einsetzen , beginnend mit „Lane 3“ (L3). Falls erforderlich, für jede „Position“ die Proben-ID („Sample ID“), die Probenmatrix („Sample Matrix“), das Extraktionskit („Extraction Kit“) und das extrahierte Eluatvolumen („Extracted eluate vol.“) eingeben.	Das „Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ einsetzen , beginnend mit „Lane 3“ (L3). Falls erforderlich, für jede „Position“ unter „Reagent name“ den Reagenznamen, unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.
8	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
9	Wenn Nasenabstrichproben verarbeitet werden, sicherstellen, dass das Extraktionseingangsvolumen 200 µl und das extrahierte Eluatvolumen 50 µl beträgt. Wenn Blutkulturproben verarbeitet werden, sicherstellen, dass das Extraktionseingangsvolumen 200 µl und das extrahierte Eluatvolumen 100 µl beträgt.	Wenn Nasenabstrichproben verarbeitet werden, sicherstellen, dass das Extraktionseingangsvolumen 200 µl und das extrahierte Eluatvolumen 50 µl beträgt. Wenn Blutkulturproben verarbeitet werden, sicherstellen, dass das Extraktionseingangsvolumen 200 µl und das extrahierte Eluatvolumen 100 µl beträgt.	Selbst wenn keine Extraktion durchgeführt wird, sicherstellen, dass das Extraktionseingangsvolumen 200 µl und das extrahierte Eluatvolumen „50 µl“ (bei Nasenabstrich) bzw. „100 µl“ (bei Blutkultur) beträgt.

Tabelle 11 (continued)

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])	C. Lauf für Positive und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
10	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“).	Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“).
11	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
	HINWEIS! Hinweis: 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	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	Nicht anwendbar
14	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Nicht anwendbar	Nicht anwendbar
15	CPE und PCR Mix in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsrack) laden.	Den PCR Mix in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsrack) laden .	Den PCR Mix in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsrack) laden .
16	Das „Reagent/Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ in „Lane 2“ (L2), falls verfügbar, oder in „Lane 1“ (L1) einsetzen. Falls erforderlich, für jedes PCR Mix-Reagenz und/oder CPE unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.	Das „Reagent/Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ in „Lane 2“ (L2), falls verfügbar, oder in „Lane 1“ (L1) einsetzen. Falls erforderlich, für jedes PCR Mix-Reagenz unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.	Das „Reagent/Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ in „Lane 2“ (L2), falls verfügbar, oder in „Lane 1“ (L1) einsetzen. Falls erforderlich, für jedes PCR Mix-Reagenz unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.
17	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
18	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.
19	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	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.	Das „ PCR Rack “ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) laden.

Tabelle 11 (continued)

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

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

Am Ende des Laufs kann der **PCR Mix** aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und bei -20 °C oder darunter aufbewahrt oder für bis zu 5 Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden im gekühlten Block aufbewahrt werden; vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

11.3 SCHRITT 3 - Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

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

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

HINWEIS!

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

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

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

HINWEIS!

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

12 LEISTUNGSMERKMALE BEI ELITE InGenius und ELITE BeGenius

12.1 Analytische Sensitivität: Nachweisgrenze

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

Die Nachweisgrenze dieses Assays wurde mithilfe von Plasmid-DNA getestet. Diese enthielt die Amplifikationsprodukte, deren Ausgangskonzentrationen mit einem Spektrophotometer gemessen wurden. Die Plasmid-DNA wurde auf einen Titer von zirka 20 Kopien / 10 µl bei Vorhandensein von 40.000 Kopien von Internal Control (IC) / 10 µl verdünnt. Diese Proben wurden in 18 Wiederholungen auf ELITE InGenius getestet. Dabei wurde die Amplifikation mit Produkten der ELITEchGroup S. p. A. auf zwei verschiedenen Geräten durchgeführt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 12

Proben	Anzahl	positiv	negativ	Mec A Mittlerer Ct-Wert	Diagnostische Mittlerer Ct-Wert
20 Kopien Plasmid-MRSA/SA-DNA + 40.000 Kopien IC	18	17	1	35,04	34,43
20 Kopien Plasmid-LGA251/SA-DNA + 40.000 Kopien IC	18	18	0	34,75	34,12

Der theoretische LoD-Wert wurde bestätigt, indem auf ELITE InGenius und ELITE BeGenius 20 Replikate von Plasmid-MRSA/SA und 20 Replikate von Plasmid-LGA251/SA in der angegebenen Konzentration (20 Kopien/Reaktion) getestet wurden.

Die Nachweisgrenze der Methode wurde auf ELITE InGenius und ELITE BeGenius durch Testen von in eSwab entnommenen Nasenabstrichproben, in eNat entnommenen Nasenabstrichproben und Blutkulturproben, die mit MRSA/SA - ELITE Positive Control (Plasmid-MRSA/SA und Plasmid-LGA251/SA) bei 1000 Kopien/ml für Nasenabstrichproben und 2000 Kopien/ml für Blutkulturproben dotiert waren, verifiziert.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 13 Nachweisgrenze (Kopien/ml) bei Nasenabstrichproben und Blutkulturproben auf ELITE InGenius und auf ELITE BeGenius

Probe	LoD (Kopien/ml)
Nasenabstrich	1000
Blutkultur	2000

Die erhaltenen Ergebnisse bestätigten die angegebene Konzentration für die Zielsequenz von MRSA/SA auf ELITE InGenius und ELITE BeGenius.

12.2 Analytische Sensitivität: Reproduzierbarkeit mit zertifiziertem Referenzmaterial

Für die Bewertung der analytischen Sensitivität des Assays als die Reproduzierbarkeit des Werts eines kalibrierten Referenzmaterials wurde das „QCMD 2014 Methicillin Resistant S. aureus EQA Panel“ (Qnostics, Ltd, Vereinigtes Königreich), eine Reihe von MRSA/SA-Verdünnungen innerhalb der Grenzkonzentration, als Referenzmaterial verwendet. Jede Probe der Reihe wurde in 2 Wiederholungen getestet. Hierfür wurden das gesamte Analyseverfahren, die Extraktion, Amplifikation, Detektion und Ergebnisinterpretation, mit **ELITE InGenius** und Produkten der ELITechGroup S.p.A. durchgeführt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 14 Tests mit kalibrierten Referenzmaterialien und ELITE InGenius

Probe	Probeninhalt	Erwartetes Ergebnis	Tatsächliches Ergebnis
MRSADNA14-01	MRSA N315	MRSA Detected (MRSA Erkannt)	MRSA Detected (MRSA Erkannt)
MRSADNA14-02	MSSA ATCC 29213	MRSA negativ	MRSA negativ
MRSADNA14-03	MSSA 29213 + MRCoNS 634	MRSA negativ	MRSA negativ
MRSADNA14-04	E. coli ATCC 35218	MRSA negativ	MRSA negativ
MRSADNA14-05	MRSA N315	MRSA Frequently Detected (MRSA häufig nachgewiesen)	MRSA Detected (Cdiff: DNA Erkannt)
MRSADNA14-06	Nur MHB	MRSA negativ	MRSA negativ
MRSADNA14-07	MRSA N315	MRSA Infrequently Detected (MRSA selten nachgewiesen)	MRSA Detected (MRSA Erkannt)
MRSADNA14-08	MRSA mecC	MRSA Infrequently Detected (MRSA selten nachgewiesen)	MRSA Detected (MRSA Erkannt)
MRSADNA14-09	MRCoNS 634	MRSA negativ	MRSA negativ
MRSADNA14-10	MRSA ST398	MRSA Detected (MRSA Erkannt)	MRSA Detected (MRSA Erkannt)
MRSADNA14-11	MRSA N315	MRSA Frequently Detected (MRSA häufig nachgewiesen)	MRSA Detected (MRSA Erkannt)
MRSADNA14-12	MRSA N315	MRSA Detected (MRSA Erkannt)	MRSA Detected (MRSA Erkannt)

Alle Proben wurden richtig erkannt.

Für die Bewertung der analytischen Sensitivität des Assays als die Reproduzierbarkeit des Werts eines kalibrierten Referenzmaterials wurde außerdem das „NATrol™ MRSA/SA Panel“ (Zeptomatrix, USA), eine Reihe von *S. aureus* oder *S. epidermidis*, als Referenzmaterial verwendet. Jede Probe der Reihe wurde in 2 Wiederholungen getestet. Hierfür wurden das gesamte Analyseverfahren, die Extraktion, Amplifikation, Detektion und Ergebnisinterpretation, mit **ELITE InGenius** und Produkten der ELITechGroup S.p.A. durchgeführt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 15 Tests mit kalibrierten Referenzmaterialien und ELITE InGenius

Probe	Erwartetes Ergebnis	Tatsächliches Ergebnis
S. aureus_MRSA Community Strain	MRSA-positiv	MRSA Detected (MRSA Erkannt)
S. aureus_MRSA Hospital Strain	MRSA-positiv	MRSA Detected (MRSA Erkannt)
S. aureus_MSSA	MSSA-positiv	MSSA Detected (MRSA Erkannt)
S. aureus_MSSA – leere Kassette	MSSA-positiv	MSSA Detected (MRSA Erkannt)
S. epidermidis_MSSE HER 1292	Negativ	Negativ

Alle Proben wurden richtig erkannt.

12.3 Wiederholpräzision

Zur Bewertung der Wiederholpräzision des Assays wurde auf den Geräten **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius** eine Reihe von eSwab-Nasalabstrichproben analysiert, einschließlich einer negativen Probe und positiven, mit MRSA/SA - ELITE Positive Control dotierten Proben.

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

Tabelle 16 Wiederholpräzision innerhalb des Laufs auf ELITE InGenius

Probe	Anzahl	MecA-Ziel			SA-Ziel			% Übereinstimmung
		Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	
Negativ	8	-	-	-	-	-	-	100 %
3 x LoD	8	33,10	0,24	0,73	32,89	0,31	0,93	100 %
10 x LoD	8	31,14	0,09	0,28	30,96	0,17	0,54	100 %

Tabelle 17 Wiederholpräzision innerhalb des Laufs auf ELITE BeGenius

Probe	Anzahl	MecA-Ziel			SA-Ziel			% Übereinstimmung
		Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	
Negativ	8	-	-	-	-	-	-	100 %
3 x LoD	8	32,55	0,29	0,90	31,73	0,29	0,90	100 %
10 x LoD	8	31,01	0,23	0,75	30,17	0,31	1,03	100 %

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

Tabelle 18 Laufübergreifende Wiederholpräzision auf ELITE InGenius

Probe	Anzahl	MecA-Ziel			SA-Ziel			% Übereinstimmung
		Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	
Negativ	16	-	-	-	-	-	-	100 %
3 x LoD	16	33,24	0,37	1,10	32,95	0,40	1,22	100 %
10 x LoD	16	31,51	0,69	2,20	31,38	0,74	2,37	100 %

Tabelle 19 Laufübergreifende Wiederholpräzision auf ELITE BeGenius

Probe	Anzahl	MecA-Ziel			SA-Ziel			% Übereinstimmung
		Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	
Negativ	16	-	-	-	-	-	-	100 %
3 x LoD	16	32,69	0,36	1,10	31,86	0,34	1,07	100 %
10 x LoD	16	30,90	0,29	0,94	30,11	0,30	1,01	100 %

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

12.4 Vergleichspräzision

Zur Bewertung der Vergleichspräzision des Assays wurde auf den Geräten **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius** eine Reihe von eSwab-Nasalabstrichproben analysiert, einschließlich einer negativen Probe und positiven, mit MRSA/SA - ELITE Positive Control dotierten Proben.

Ein Beispiel der chargenübergreifenden Vergleichspräzision (bei zwei Chargen) ist in den nachfolgenden Tabellen dargestellt.

Tabelle 20 Chargenübergreifende Vergleichspräzision auf ELITE InGenius

Probe	Anzahl	MecA-Ziel			SA-Ziel			% Übereinstimmung
		Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	
Negativ	16	-	-	-	-	-	-	100 %
3 x LoD	16	33,37	0,34	1,01	33,17	0,42	1,27	100 %
10 x LoD	16	31,58	0,67	2,11	31,61	0,64	2,01	100 %

Tabelle 21 Chargenübergreifende Vergleichspräzision auf ELITE BeGenius

Probe	Anzahl	MecA-Ziel			SA-Ziel			% Übereinstimmung
		Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	
Negativ	16	-	-	-	-	-	-	100 %
3 x LoD	16	32,72	0,30	0,92	31,94	0,33	1,04	100 %
10 x LoD	16	31,01	0,21	0,67	30,25	0,25	0,83	100 %

Ein Beispiel der geräteübergreifenden Vergleichspräzision (bei zwei Geräten) ist in den nachfolgenden Tabellen dargestellt.

Tabelle 22 Geräteübergreifende Vergleichspräzision auf ELITE InGenius

Probe	Anzahl	MecA-Ziel			SA-Ziel			% Übereinstimmung
		Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	
Negativ	16	-	-	-	-	-	-	100 %
3 x LoD	16	32,94	0,47	1,44	33,04	0,39	1,18	100 %
10 x LoD	16	30,97	0,38	1,23	31,09	0,43	1,37	100 %

Tabelle 23 Geräteübergreifende Vergleichspräzision auf ELITE BeGenius

Probe	Anzahl	MecA-Ziel			SA-Ziel			% Übereinstimmung
		Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	
Negativ	16	-	-	-	-	-	-	100 %
3 x LoD	16	32,83	0,21	0,65	32,18	0,26	0,82	100 %
10 x LoD	16	30,92	0,25	0,81	30,32	0,20	0,68	100 %

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

12.5 Diagnostische Spezifität: Bestätigung negativer Proben

Zur Bewertung der diagnostischen Spezifität des Assays als Bestätigung negativer Proben wurden in Verbindung mit **ELITE InGenius** klinischem MRSA/SA-negative Nasenabstrich- und Blutkulturproben analysiert.

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

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 24

Proben	Anzahl	positiv	negativ	Diagnostische Spezifität in %
MRSA/SA-DNA-negative Nasenabstrichproben	48	0	48	100
MRSA/SA-DNA-negative Blutkulturproben	34	0	34	100

Der Ct-Grenzwert für die IC wurde beim Test mit ELITE InGenius bzw. ELITE BeGenius für Nasenabstrich- und Blutkulturproben auf 29 festgelegt.

12.6 Diagnostische Sensitivität: Bestätigung positiver Proben

Zur Bewertung der diagnostischen Sensitivität des Assays als Bestätigung positiver klinischer Proben wurden in Verbindung mit **ELITE InGenius** klinische Nasenabstrichproben, die für MRSA oder MSSA positiv oder für MRSA-DNA mit MRSA BAA-1556 (ATCC) mit einem Titer von 100.000 KBE/ml dotiert waren, sowie Blutkulturproben, die für MRSA und MSSA positiv oder mit MRSA-Isolaten dotiert waren, analysiert, da es schwierig war, für einige MRSA-Zielgene eine signifikante Anzahl positiver klinischer Proben zu finden.

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

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 25

Proben	Anzahl	positiv	negativ	Diagnostische Sensitivität in %
MSSA-DNA-positive Nasenabstrichproben	60	56	4	93
MRSA-DNA-positive Nasenabstrichproben	41	40	1	98
MSSA-DNA-positive Blutkulturproben	39	39	0	100
MRSA-DNA-positive Blutkulturproben	31	31	0	100

13 PROBEN UND KONTROLLEN BEI ANDEREN SYSTEMEN

13.1 Proben

Dieses Produkt darf ausschließlich mit aus folgenden klinischen Proben **extrahierter DNA** verwendet werden: Nasenabstriche.

Die für die DNA-Extraktion bestimmten Nasenabstrichproben sollten mit „BBL Culture Swab Plus Amies Gel without Charcoal swabs“ (Becton-Dickinson) entnommen und gemäß den Laborrichtlinien identifiziert werden.

Die Nasenabstrichproben dürfen maximal einen Tag bei +18 bis +25 °C transportiert und aufbewahrt werden; andernfalls müssen sie bei +2 bis +8 °C für maximal sieben Tage aufbewahrt werden. Die Nasenabstrichproben müssen in 1 ml Trypticase-Soja-Bouillon (TSB) getaucht und vor Beginn des Extraktionsverfahrens 10 Sekunden lang gevortext werden.

HINWEIS!

Beim Extrahieren von DNA mit dem System „**NucliSENS® easyMAG®**“ sind die folgenden Einstellungen zu verwenden.

Die Extraktionsparameter wie folgt definieren:

- Matrix = Sonstige
- Protokoll = Generic 2.0.1
- Volumen (ml) = 1,0 ml
- Eluat (µl) = 50 µl
- Typ = Primär

1 ml jeder TSB-Probe in das 8-Well-Einweg-Probengefäß überführen, wie in der Arbeitsliste des Geräts angegeben, und den Lysispuffer dispensieren. Während der 10-minütigen Inkubation die Magnetic Silica-Suspension für 8 Proben vorbereiten; hierzu **550 µl NucliSENS®easyMAG®Magnetic Silica**, **545 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie** und **5 µl CPE** mischen. Für jede Probe den BioHit-Pipettierer verwenden, um 125 µl der Magnetic Silica-Suspension in den NucliSENS easyMAG Strip for Premix zu geben. Den BioHit-Pipettierer verwenden, um 100 µl der Magnetic Silica-Suspension in jede Probe im 8-Well-Einweg-Probengefäß zu geben, durch dreimaliges Auf- und Abpipettieren gut mischen und anschließend das Extraktionsverfahren starten.

13.2 Störende Substanzen

Zu den Substanzen, die den Nachweis von SA und MRSA mit dem **MRSA/SA ELITE MGB Kit** beeinträchtigen und möglicherweise zu ungültigen Ergebnissen führen können, gehören Propylenglykol und übermäßige Mengen von Nasensekret/Schleim.

Die unten aufgeführten exogenen Substanzen, die Bestandteile von Dekongestiva und Substanzen zur Linderung von Nasentrockenheit und/oder -reizung sind, beeinträchtigen mit Ausnahme von Propylenglykol den Nachweis von MRSA/SA mit dem **MRSA/SA ELITe MGB Kit** nachweislich nicht. Das Vorhandensein von menschlichem Blut in der Probe hat nachweislich keine Auswirkungen auf den Nachweis von MRSA/SA mit dem **MRSA/SA ELITe MGB Kit**, das in Verbindung mit **NucliSENS® easyMAG®** verwendet wird.

Tabelle 26

Potenziell interferierende Substanz (Art)	Wirkstoff	Interferenzen?
Mucin, Submaxillardrüse vom Rind, Typ I-S	Gereinigtes Mucin-Protein	Nein
Blut (human)	Hämoglobin	Nein
Nasensprays oder -tropfen	Phenylephrin	Nein
	Oxymetazolin	Nein
	Natriumchlorid mit Konservierungsmitteln	Nein
	Benzalkoniumchlorid	Nein
	Natriumphosphat	Nein
	Phenylmethanol	Nein
	Propylenglykol	Ja
	Sorbitol, Benzylalkohol	Nein
	Dinatriumedetat, Hypromellose	Nein
	Phosphorsäure	Nein
Basale Kortikosteroide oder Nasentropfen	Dexamethason	Nein
	Triamcinolon	Nein
	Beclometason	Nein
	Flunisolid	Nein
	Budesonid	Nein
	Mometason	Nein
	Fluticason	Nein
Nasengel	Luffa operculata, Schwefel	Nein
Homöopathisches Allergiemittel	Galphimia glauca	Nein
	Histaminum hydrochloricum	Nein
Impfstoff	Intranasaler Lebendimpfstoff gegen das Influenzavirus	Nein
Halstabletten, orales Anästhetikum und Analgetikum	Benzocain, Menthol	Nein
Antivirale Medikamente	Zanamivir, Oseltamivirphosphat	Nein

Tabelle 26 (continued)

Potenziell interferierende Substanz (Art)	Wirkstoff	Interferenzen?
Antibiotikum, Nasensalbe	Mupirocin	Nein
Antibakterium, systemisch	Tobramycin	Nein

Zur Gewinnung der experimentellen Interferenzdaten wurden das Extraktionssystem NucliSENS® easyMAG® und die Detektionsplattform 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument mit einer früheren Version des Assays **MRSA/SA ELITE MGB Kit** verwendet, die mit dem aktuellen Assay identisch ist, mit der Ausnahme, dass sie keine *mecC*-spezifischen Oligonukleotide enthält.

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

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

13.3 Amplifikationskontrollen

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

Für die Negative Control hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) verwenden.

Für die Positive Control das Produkt **MRSA/SA - ELITE Positive Control** (nicht im Lieferumfang dieses Kits enthalten) verwenden.

13.4 Qualitätskontrollen

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

14 VERFAHREN BEI ANDEREN SYSTEMEN

14.1 Einrichten des Echtzeit-Amplifikationslaufs

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

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

Vor Beginn des Laufs die in der Dokumentation des Geräts enthaltenen Herstellerempfehlungen befolgen und:

- Computer einschalten, Echtzeit-Thermocycler einschalten, dedizierte Software ausführen, einen Lauf für die „absolute Quantifizierung“ öffnen
- bei Verwendung des **7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument** „Run mode: Fast 7500“ (Laufmodus: Fast 7500) auswählen.
- ein neues Detektor-Set („detector“) erstellen oder durch Auswahl des Detector Manager den entsprechenden Detektor im Menü „Tool“ (Werkzeug) einstellen:
 1. den Detektor („detector“) für die SA-spezifische Gensonde so einrichten, dass „reporter“ (Reporter) = „TAMRA“ (AP554 ähnelt TAMRA) und „quencher“ (Quencher) = „none“ (nicht fluoreszenzierend) ist, und „SA“ nennen;
 2. den Detektor („detector“) für die SA-spezifische Gensonde so einrichten, dass „reporter“ (Reporter) = „TAMRA“ (AP554 ähnelt TAMRA) und „quencher“ (Quencher) = „none“ (nicht fluoreszenzierend) ist, und „SA“ nennen;
 3. den Detektor („detector“) für die *mecA*- und die *mecC*-Gensonde so einrichten, dass „reporter“ (Reporter) = „FAM“ und „quencher“ (Quencher) = „none“ (nicht fluoreszenzierend) ist, und „mecA“ nennen;

4. den Detektor („detector“) für die Internal-Control-Sonde so einrichten, dass „reporter“ (Reporter) = „Cy5“ (AP642 ähnelt Cy5) und „quencher“ (Quencher) = „none“ (nicht fluoreszenzierend) ist, und „IC“ nennen;
- in das Menü „View“ (Ansicht) gehen, den Well Inspector auswählen und für jede in der Mikrotiterplatte verwendete Vertiefung den Detektor („detector“) (zu messender Fluoreszenztyp), die „passive reference“ (passive Referenz) = „ROX“ (AP593 ist analog zu ROX, Normalisierung der gemessenen Fluoreszenz) und den Reaktionstyp (Probe, Amplifikations-Negativkontrolle, Amplifikations-Positivkontrolle) einrichten. Diese Informationen zum Arbeitsblatt am Ende dieser Gebrauchsanweisung hinzufügen oder die Mikrotiterplatten-Einrichtung ausdrucken. Das **Arbeitsblatt** muss bei der Überführung des Reaktionsgemischs und der Proben in die Vertiefungen sorgfältig befolgt werden.

Nachstehend ist ein Beispiel aufgeführt, wie eine qualitative Analyse von 12 Proben organisiert werden kann.

S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12
NC	PC1	PC2									

Legende: S1 -S12: Zu analysierende Proben; NC: Negative Control der Amplifikation;

PC1: MRSA/SA-Amplifikations-Positive Control; PC2: LGA251/SA-Amplifikations-Positive Control

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

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

HINWEIS!

Die Fluoreszenzerfassung („Instrument > Thermal Cycler Protocol > Settings > Data Collection“ (Gerät > Thermocycler-Protokoll > Einstellungen > Datenerfassung)) muss während des Hybridisierungsschritts auf 56 °C eingestellt sein.

- die Zeitsteuerung wie in der nachstehenden Tabelle „**Temperaturzyklus**“ angegeben ändern;
- die Anzahl Zyklen auf **45** einstellen;
- das Reaktionsvolumen auf **30 µl** einstellen.

Tabelle 27

Temperaturzyklus		
Phase	Temperaturen	Zeitsteuerung
Dekontamination	50 °C	2 min.
Erste Denaturierung	93 °C	2 min.
Amplifikation und Detektion (45 Zyklen)	93 °C	10 s
	56 °C (Datenerfassung)	30 s
	72 °C	15 s

14.2 Einrichten der Amplifikation

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

Vor Beginn des Laufs muss Folgendes durchgeführt werden:

- die Röhrchen mit den zu analysierenden Proben auftauen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis lagern;
 - die für den Lauf benötigten **MRSA/SA PCR Mix** Röhrchen auftauen und beachten, dass jedes Röhrchen für die Vorbereitung von **25 Reaktionen** ausreicht. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis lagern;
 - ein **MRSA/SA Positive Control** Röhrchen (Positivkontrolle der Echtzeit-Amplifikationsreaktionen für das SA-spezifische Gen und für das *mecA*-Gen) auftauen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und maximal vier Stunden auf Eis lagern;
 - ein **LGA251/SA Positive Control**-Röhrchen (Positivkontrolle der Echtzeit-Amplifikationsreaktionen für das *mecC*-Gen) auftauen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und maximal vier Stunden auf Eis lagern;
 - die während des Laufs verwendete **Amplifikations-Mikrotiterplatte** zur Hand nehmen; dabei puderfreie Handschuhe tragen und darauf achten, dass die Vertiefungen nicht beschädigt werden.
1. **20 µl MRSA/SA PCR Mix** präzise auf den Boden der Vertiefungen der **Amplifikations-Mikrotiterplatte** geben, wie zuvor im **Arbeitsblatt** festgelegt. Bläschenbildung vermeiden

HINWEIS!

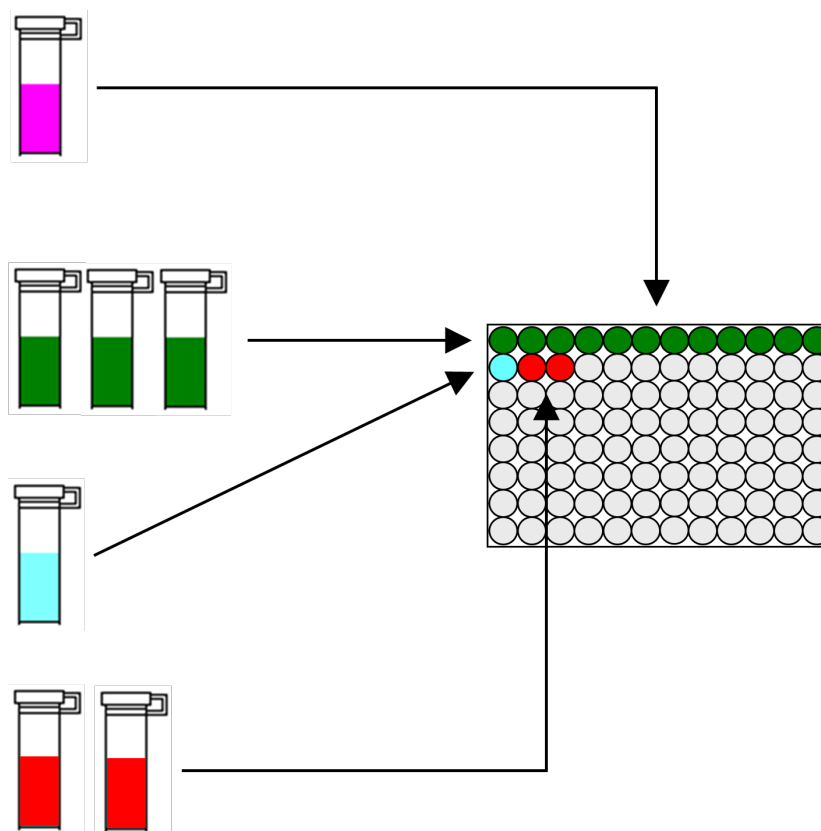
Wenn das Reaktionsgemisch nicht vollständig aufgebraucht wird, das Restvolumen maximal einen Monat bei -20 °C dunkel aufbewahren. Das Reaktionsgemisch maximal **fünf** Gefrier- und Auftauzyklen unterziehen.

2. Zum Reaktionsgemisch **10 µl** der ersten verarbeiteten Probe in die dafür vorgesehene Vertiefung hinzufügen, wie zuvor im **Arbeitsblatt** festgelegt. Die Probe gut mischen, dazu die **extrahierte DNA** dreimal in das Reaktionsgemisch pipettieren. Bläschenbildung vermeiden. Mit den übrigen extrahierten Proben auf die gleiche Weise verfahren.
3. Zum Reaktionsgemisch **10 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie** (nicht mitgeliefert) in der Vertiefung für die Negativkontrolle hinzufügen, wie zuvor im **Arbeitsblatt** festgelegt. Die Negativkontrolle gut mischen, dazu das **hochreine Wasser für die Molekularbiologie** dreimal in das Reaktionsgemisch pipettieren. Bläschenbildung vermeiden.
4. Zum Reaktionsgemisch **10 µl MRSA/SA Positive Control** in die entsprechende Vertiefung hinzufügen, wie zuvor im **Arbeitsblatt** festgelegt. Den Standard gut mischen, dazu die **MRSA/SA Positive Control** dreimal in das Reaktionsgemisch pipettieren. Bläschenbildung vermeiden.
5. Zum Reaktionsgemisch **10 µl LGA251/SA Positive Control** in die entsprechende Vertiefung hinzufügen, wie zuvor im **Arbeitsblatt** festgelegt. Den Standard gut mischen, dazu die **LGA251/SA Positive Control** dreimal in das Reaktionsgemisch pipettieren. Bläschenbildung vermeiden.
6. Die **Amplifikations-Mikrotiterplatte** mit der **Amplifikations-Klebefolie** dicht verschließen.
7. Die **Amplifikations-Mikrotiterplatte** in den Echtzeit-Thermocycler im Bereich für die Amplifikation/Detektion von Amplifikationsprodukten transferieren und den Temperaturzyklus für die Amplifikation starten. Die Laufeinstellung mit einem eindeutigen und wiedererkennbaren Dateinamen (z. B. „Jahr-Monat-Tag-MRSA/SA-EGSpA“) speichern.

HINWEIS!

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

In der folgenden Abbildung ist die Vorbereitung der Amplifikationsreaktion zusammengefasst.



1. 20 µl PCR Mix hinzufügen
2. 10 µl extrahierte DNAs hinzufügen
3. 10 µl Negative Control hinzufügen
4. 10 µl Positive Controls hinzufügen

14.3 Qualitative Analyse der Ergebnisse

Die aufgezeichneten Werte der von der SA-spezifischen Gensonde (TAMRA-Detektor „SA“), der *mecA*- und der *mecC*-Gensonde (FAM-Detektor „mecA“) und der Internal Control-Sonde (CY5-Detektor „IC“) während der Amplifikationsreaktionen ausgesendeten Fluoreszenz müssen von der Gerätesoftware analysiert werden.

Vor Beginn der Analyse die in der Dokumentation des Geräts enthaltenen Herstellerempfehlungen befolgen und:

- unter „Results > Amplification plot > delta Rn vs. Cycle“ (Ergebnisse > Amplifikationsdarstellung > Delta Rn vs. Zyklus) die **Analyseeeinstellungen** („**Analysis Settings**“) für alle Detektoren auf „**Auto Baseline**“ (**Auto-Baseline**) und „**Manual Ct**“ (**manueller Ct-Wert**) sowie den **Schwellenwert** („**Threshold**“) auf **0,1** einstellen. Die Schaltfläche **Analyze** drücken und die Ergebnisse **speichern**.

Die Werte der von den spezifischen Sonden während der Amplifikationsreaktion ausgesendeten Fluoreszenz und der **Schwellenwert** („**Threshold**“) der Fluoreszenz ermöglichen die Bestimmung des **Schwellenwertzyklus** („**Threshold cycle (Ct)**“). Der Ct ist der Zyklus, in dem die Fluoreszenz den **Schwellenwert** erreicht und ist proportional zur anfänglichen Zielmenge.

In den Amplifikationsreaktionen der **MRSA/SA Positive Control** und der **LGA251/SA Positive Control** dienen die **Ct**-Werte des SA- und des *mecA*-Detektors („Results > Report“ (Ergebnisse > Bericht)) der Validierung der Amplifikation und des Nachweises, wie in der folgenden Tabelle dargestellt:

Tabelle 28

Reaktion der Positive Control TAMRA-Detektor „SA“	Assayergebnis	Amplifikation/Detektion
Ct ≤ 35	POSITIV	KORREKT

Tabelle 29

Reaktion der Positive Control FAM- Detektor „mecA“	Assayergebnis	Amplifikation/Detektion
Ct ≤ 35	POSITIV	KORREKT

Wenn das Ergebnis der Amplifikation der **Positive Controls** beim SA- und beim mecA-Detektor **Ct > 35** oder **Ct Undetermined (Ct unbestimmt)** ist, wurde die Ziel-DNA nicht korrekt nachgewiesen. Das heißt, dass während des Amplifikations- oder des Detektionsschritts Probleme aufgetreten sind (falsches Dispensieren des Reaktionsgemischs oder der Positivkontrollen, Abbau des Reaktionsgemischs oder der Positivkontrollen, falsche Einstellung der Position der Positivkontrollen, falsche Einstellung des Temperaturzyklus), die zu falschen Ergebnissen führen können. Der Lauf ist ungültig und muss ab dem Amplifikationsschritt wiederholt werden.

In der Amplifikationsreaktion der **Negative Control** dienen die **Ct-Werte** des SA-, des mecA- und des IC-Detektors („Results > Report“ (Ergebnisse > Bericht)) der Validierung der Amplifikation und des Nachweises, wie in der folgenden Tabelle dargestellt:

Tabelle 30

Reaktion der Negative Control TAMRA-Detektor „SA“	Assayergebnis	Amplifikation/Detektion
Ct unbestimmt oder Ct > 35	NEGATIV	KORREKT

Tabelle 31

Reaktion der Negative Control FAM- Detektor „mecA“	Assayergebnis	Amplifikation/Detektion
Ct unbestimmt oder Ct > 35	NEGATIV	KORREKT

Tabelle 32

Reaktion der Negative Control Cy5- Detektor „IC“	Assayergebnis	Amplifikation/Detektion
Ct unbestimmt oder Ct ≥ 34	NEGATIV	KORREKT

Wenn das Ergebnis der Amplifikation der **Negative Control Ct ≤ 35** beim SA- oder beim mecA-Detektor bzw. **Ct < 34** beim IC-Detektor ist, wurde die Ziel-DNA nicht korrekt nachgewiesen. Das heißt, dass während des Amplifikationsschritts Probleme aufgetreten sind (Kontamination), die zu falschen und falsch-positiven Ergebnissen führen können. Der Lauf ist ungültig und muss ab dem Amplifikationsschritt wiederholt werden.

Bei jeder **Proben**-Amplifikationsreaktion werden die **Ct-Werte** des mecA- und des SA-Detektors zum Nachweis der Ziel-DNA herangezogen, während der **Ct-Wert** der Internal Control zur Validierung der Extraktion, Amplifikation und Detektion dient.

HINWEIS!

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

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

Tabelle 33

Probenreaktion				Assayergebnis	
TAMRA-Detektor „SA“ (Ct1)	FAM-Detektor „mecA“ (Ct2)	$\Delta Ct[Ct1 - Ct2]$	Cy5-Detektor „C“	SA-Ergebnis	MRSA-Ergebnis
Unbestimmt oder Ct > 35	Unbestimmt oder Ct > 35	n. z.	Ct < 34	Negativ	Negativ
		n. z.	Unbestimmt oder Ct $\geq$ 34	Ungültig	Ungültig
Bestimmt, Ct $\leq$ 35	Unbestimmt oder Ct > 35	n. z.	n. z.	Positiv	Negativ
	Bestimmt, Ct $\leq$ 35	$\Delta Ct \geq 2$	n. z.	Positiv	Negativ
		$\Delta Ct < 2$	n. z.	Positiv	Positiv
Unbestimmt oder Ct > 35	Bestimmt, Ct $\leq$ 35	n. z.	n. z.	Negativ	Negativ

Tabelle 34

Assayergebnis		Ergebnisinterpretation
SA-Ergebnis	MRSA-Ergebnis	
Negativ	Negativ	Kein SA, einschließlich MRSA, DNA nachgewiesen. Vermutlich negativ für alle SA, einschließlich MRSA, oder Anzahl der Organismen kann unterhalb der Nachweisgrenze liegen.
Ungültig	Ungültig	Ungültiges Ergebnis. Lauf mit der Extraktion der Probe oder einer neuen Probe wiederholen.
Positiv	Negativ	Keine MRSA-DNA nachgewiesen. Vermutlich negativ für MRSA, oder MRSA-Anzahl kann unterhalb der Nachweisgrenze liegen. SA-DNA Erkannt. Vermutlich positiv auf SA.
Positiv	Positiv	MRSA-DNA Erkannt. Vermutlich positiv auf MRSA.

NA = Nicht anwendbar

Das Vorhandensein beider Marker (SA-Gen und *mecA*), gemessen anhand des Ct-Werts, in der gleichen relativen Menge (eine Differenz beim Ct-Wert von weniger als 2) ist ein Hinweis auf MRSA (einschließlich des *mecC*-Stamms); unterschiedliche relative Mengen (eine Differenz beim Ct-Wert von 2 oder mehr) oder das Vorhandensein nur des *Staphylococcus aureus*-spezifischen Genmarkers sind ein Hinweis auf SA.

Lautet das Ergebnis der Proben-Amplifikationsreaktion **Ct Undetermined (Ct unbestimmt)** oder **Ct > 35** beim SA- und beim *mecA*-Detektor und **Ct Undetermined (Ct unbestimmt)** oder **Ct $\geq$ 34** beim IC-Detektor, bedeutet dies, dass es nicht möglich war, die Internal-Control-DNA effizient nachzuweisen. In diesem Fall sind während des Amplifikationsschritts (ineffiziente oder keine Amplifikation) oder während des Extraktionsschritts (Abbau von DNA, Verlust von DNA während der Extraktion oder Vorhandensein von Inhibitoren in der extrahierten DNA) Probleme aufgetreten, die zu falschen und falsch-negativen Ergebnissen führen können. Die Probe ist ungeeignet, der Assay ist ungültig und muss ab der Extraktion der Probe oder einer neuen Probe desselben Patienten wiederholt werden.

Lautet das Ergebnis der Proben-Amplifikation **Ct Undetermined (Ct unbestimmt)** oder **Ct > 35** beim SA-Detektor und **Ct < 34** beim IC-Detektor, bedeutet dies, dass die SA (einschließlich MRSA)-DNA in der verarbeiteten Probe nicht nachgewiesen wurde. Die Probe ist vermutlich negativ oder die Anzahl der Organismen in der Probe liegt unter der Nachweisgrenze des Produkts (siehe [15 LEISTUNGSMERKMALE BEI ANDEREN SYSTEMEN page 34](#)). In diesem Fall kann das Ergebnis falsch-negativ sein.

HINWEIS!

Wenn SA- oder MRSA-DNA in einer Probe nachgewiesen wird, kann der IC-Detektor **Ct Undetermined (Ct unbestimmt)** oder **Ct ≥ 34** sein. Tatsächlich kann die hohe Effizienz der SA- oder MRSA-Amplifikation mit der geringen Effizienz der Internal Control-Amplifikation konkurrieren. In diesem Fall ist die Probe geeignet und das positive Ergebnis des Assays gültig.

15 LEISTUNGSMERKMALE BEI ANDEREN SYSTEMEN

15.1 Klinische Leistungsfähigkeit

Die Leistungsmerkmale des Assays wurden durch den Vergleich des zusammen mit **NucliSENS® easyMAG®** verwendeten **MRSA/SA ELITE MGB Kit** mit Remel Spectra™ MRSA und/oder Agglutinations-/Empfindlichkeitstests bestimmt. Eine echte kulturpositive MRSA-Probe wurde definiert als eine Probe, bei der MRSA durch eine der verwendeten Kulturtechniken identifiziert wurde. Eine echte Methicillin-empfindliche SA-Kultur-positive Probe wurde definiert als eine Probe, die für alle verwendeten Kulturtechniken mit Ausnahme des Latex-Agglutinationstests negativ war.

Von jedem Patienten wurde ein Nasenabstrich entnommen und zur Beimpfung einer selektiven chromogenen MRSA-Screening-Agarplatte (Remel Spectra™ MRSA) verwendet. Im Anschluss wurde der Abstrichtupfer in ein Röhrchen mit Trypticase-Soja-Bouillon gegeben und gründlich gemischt, bevor das gesamte Volumen der Zellsuspension wie oben beschrieben verarbeitet wurde. Jeder Tupfer wurde dann in Trypticase-Soja-Bouillon mit 6,5 % NaCl angereichert. Die angereicherten Kulturproben wurden auf Trypticase-Soja-Blutagarplatten beimpft. Die Kolonien von den Trypticase-Soja-Blutagar-Platten wurden für den Latex-Agglutinationstest (Remel Staphaurex®) verwendet. Positiv auf Latex-Agglutination getestete Proben wurden für den Cefoxitin-Empfindlichkeitstest (BD BBL™ Sensi-Disc™ Susceptibility Test Disc Cefoxitin 20) gemäß der jeweiligen Gebrauchsanweisung verwendet.

Die Leistung des **MRSA/SA ELITE MGB Kit** wurde in Bezug auf die Kombination aus direkter chromogener Kultur und Bouillon-Kultur mit anschließenden Latex-Agglutinations- und Cefoxitin-Empfindlichkeitstest-Ergebnissen berechnet.

Nasenabstrichproben wurden durch eine Gesundheitseinrichtung von gesunden Spendern entnommen und wie oben beschrieben mit einer Kombination von Kulturmethoden untersucht. Auf diese Weise wurden 20 MRSA-Kultur-positive, 20 MSSA-Kultur-positive und 40 SA-Kultur-negative Proben identifiziert. Von den 40 SA-Kultur-negativen Proben wurden 20 Proben mit dem MRSA-Stamm BAA-2312 (mit *mecC*-Gen) etwa bis zur Nachweisgrenze aufgestockt.

Im Vergleich zur Referenz-Kulturmethode identifizierte das **MRSA/SA ELITE MGB Kit** 100 % der MRSA- und MRSA *mecC*-positiven Proben mit der Referenzmethode (diagnostische Sensitivität), und 97,5 % der negativen Proben (diagnostische Spezifität). Bei den getesteten Proben lag der positive Vorhersagewert (PPV, positive predictive value) für MRSA bei 97,6 % und der negative Vorhersagewert (NPV, negative predictive value) für MRSA bei 100 %.

Tabelle 35 Mit dem MRSA/SA ELITE MGB Kit erhaltene MRSA-Ergebnisse im Vergleich zur Referenzmethode.

	Diagnostische Sensitivität MRSA <i>mecA</i>	Diagnostische Sensitivität MRSA <i>mecC</i>	Diagnostische Spezifität MRSA
7500 Fast Dx Real Time PCR Instrument	100 %	100 %	97,5 %
7500 Real Time PCR System	100 %	100 %	97,5 %

Im Vergleich zur Referenz-Kulturmethode identifizierte das **MRSA/SA ELITE MGB Kit** 95 % der SA-positiven Proben mit der Referenzmethode (diagnostische Sensitivität), und 100 % der negativen Proben (diagnostische Spezifität). Bei den getesteten Proben lag der positive Vorhersagewert (PPV, positive predictive value) für SA bei 100 % und der negative Vorhersagewert (NPV, negative predictive value) für SA bei 95 %.

Tabelle 36 Mit dem MRSA/SA ELITE MGB Kit erhaltene SA-Ergebnisse im Vergleich zur Referenzmethode

	Diagnostische Sensitivität SA	Diagnostische Spezifität SA
7500 Fast dx Real Time PCR Instrument	95 %	100 %
7500 Real Time PCR System	95 %	100 %

15.2 Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze des **MRSA/SA ELITE MGB Kit** bei Verwendung mit **NucliSENS® easyMAG®** wurde anhand der nachfolgend aufgeführten Stämme bestimmt. Die Kulturen dieser Stämme wurden quantifiziert, in simulierter Nasenmatrix auf Werte im Bereich von etwa 5 bis 1500 koloniebildenden Einheiten (KbE) verdünnt und auf Abstrichtupfer aufgetragen. Alle Verdünnungen wurden getestet, und die Nachweisgrenze wurde mittels Probit-Analyse bestimmt. Die Nachweisgrenze für jeden Stamm stellt die niedrigste Anzahl von KBE/Abstrich dar, bei der mit 95 %iger Wahrscheinlichkeit und mit mindestens 95 %iger Sicherheit ein positives Ergebnis erhalten wird. Die Nachweisgrenze wurde anschließend durch Testen von mindestens 20 Wiederholungen für jeden Stamm überprüft.

Tabelle 37 Liste der Bakterienstämme für Untersuchungen zur Bestimmung der Nachweisgrenze

Stamm-Nr.	Bezeichnung	Beschreibung	Arzneimittelresistenz
ATCC 29213	Wichita	QC-Stamm	MSSA
ATCC BAA-1556	MRSA252	im Krankenhaus erworben, UK	MRSA
ATCC BAA-2312	M10/0061	LGA251	MRSA

Tabelle 38 Ergebnisse Nachweisgrenze (KbE/Abstrich)

	ATCC 29213	BAA-1556	BAA-2312
ABI 7500 Fast	210	159	237
ABI 7500 Standard	262	141	314

15.3 Effizienz des Genotypnachweises (Inklusivität)

Die Leistungsfähigkeit des **MRSA/SA ELITE MGB Kit** bei Verwendung mit **NucliSENS® easyMAG®** wurde mit der MRSA/SA QCMD-Ringversuchsreihe getestet. Alle Stämme wurden korrekt identifiziert. Zur Gewinnung der¹ Darüber hinaus wurde der Assay an 75 gut charakterisierten MRSA- und Methicillin-empfindlichen SA-Isolaten getestet, die für die weltweite genetische Vielfalt repräsentativ sind, einschließlich Klonkomplexe und Sequenztypen sowie verschiedener PFGE-Typen und MHK-Werte (minimale Hemmkonzentration).

Die Stämme wurden über das Programm „Network on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus* (NARSA)“ und von der „American Tissue Culture Collection“ (ATCC) bezogen oder waren ein².

1. experimentellen Daten des Assays wurden das Extraktionssystem NucliSENS® easyMAG® und das 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument mit einer früheren Version des Assays verwendet, die mit der aktuellen identisch ist, mit der Ausnahme, dass sie keine *mecALGA251*-spezifischen Oligonukleotide enthält.
2. Geschenk von Dr. Nathan A. Ledebouer, Medical College of Wisconsin, Wisconsin, USA; die Stämme sind beschrieben in: Buchan, B.W, Ledebouer, N.A. Identification of Two Borderline Oxacillin-Resistant Strains of *Staphylococcus aureus* From Routine Nares Swab Specimens by One of Three Chromogenic Agars Evaluated for the Detection of MRSA, Microbiology and Infectious Disease.2010;134:921-927

Alle Stämme wurden auf Tupfern nahe der Nachweisgrenze absorbiert und getestet. Darüber hinaus wurden alle Methicillin-empfindlichen SA-Stämme mit 1×10^6 KbE/Tupfer getestet. Alle Methicillin-empfindlichen SA-Stämme wurden positiv auf SA und negativ auf MRSA getestet. Alle MRSA-Stämme wurden positiv auf MRSA getestet. Zwei BORSA (Borderline Oxacillin Resistant *Staphylococcus aureus*)-Isolate, denen das *mecA*-Gen fehlt, wurden SA-positiv und MRSA-negativ getestet, was eine Gesamteffizienz des Genotypnachweises (Inklusivität) von 97,3 % ergibt.

Die Analyse der für die Hybridisierung der Primer und Fluoreszenzmarker ausgewählten Regionen in der Anordnung der in der Datenbank für die SSC *mecA*-Elemente, einschließlich *mecC*, verfügbaren Sequenzen ergab eine Erhaltung und ein Nichtvorhandensein von signifikanten Mutationen.

15.4 Analytische Spezifität (Kreuzreaktivität)

Die Analyse der Anordnung der Sequenzen der SA-Primer und des Fluoreszenzmarkers mit den Sequenzen von Arten, die phylogenetisch mit *Staphylococcus aureus*, pathogenen Mikroorganismen und in der normalen nasalen Mikroflora häufig vorkommenden und in Datenbanken für andere Organismen als SA aufgeführten Mikroorganismen verwandt sind, zeigte deren Spezifität und das Fehlen einer signifikanten Homologie für das MRSA/SA ELITE MGB Kit.

Tabelle 39 Durch Sequenzdatenbankanalyse auf Kreuzreaktivität getestete Arten

Staphylokokken-Arten		Andere Organismen	Viren
<i>Staphylococcus arlettae</i>	CoNS	<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	<i>Adenovirus Typ 1, 7</i>
<i>Staphylococcus capitis</i>	CoNS	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Humanes Coronavirus 229E; OC 43</i>
<i>Staphylococcus carnosus</i>	CoNS	<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Cytomegalovirus</i>
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	CoNS	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Coxsackievirus A21</i>
<i>Staphylococcus delphini</i>	MSCoPS	<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Epstein-Barr-Virus</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	MSCoNS	<i>Corynebacterium aquaticum</i>	<i>Humanes Influenzavirus A, B</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	MRCoNS	<i>Corynebacterium bovis</i>	Humanes Parainfluenzavirus 1, 2, 3, 4
<i>Staphylococcus equorum</i>	CoNS	<i>Corynebacterium flavesens</i>	Humanes Metapneumovirus
<i>Staphylococcus felis</i>	CoNS	<i>Corynebacterium genitalium</i>	Masernvirus
<i>Staphylococcus gallinarum</i>	CoNS	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Mumpsvirus
<i>Staphylococcus hyicus</i>	CoPS	<i>Enterococcus faecalis</i>	Respiratorisches Synzytialvirus
<i>Staphylococcus intermedius</i>	CoPS	<i>Enterococcus flavescens</i>	Rhinovirus
<i>Staphylococcus kloosii</i>	CoNS	<i>Enterococcus gallinarum</i>	
<i>Staphylococcus lentus</i>	CoNS	<i>Enterococcus hirae</i>	
<i>Staphylococcus pulvereri</i>	CoNS	<i>Escherichia coli</i>	
<i>Staphylococcus simulans</i>	CoNS	<i>Klebsiella oxytoca</i>	
<i>Staphylococcus warneri</i>	CoNS	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ,	
<i>Staphylococcus xylosus</i>	MSCoNS	<i>Listeria monocytogenes</i>	
		<i>Micrococcus luteus</i>	

Tabelle 39 Durch Sequenzdatenbankanalyse auf Kreuzreaktivität getestete Arten (continued)

Staphylokokken-Arten		Andere Organismen	Viren
		<i>Moraxella catarrhalis</i>	
		<i>Pasteurella aerogenes</i>	
		<i>Proteus mirabilis</i>	
		<i>Proteus vulgaris</i>	
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
		<i>Salmonella typhimurium</i>	
		<i>Serratia marcescens</i>	
		<i>Shigella sonnei</i>	
		<i>Streptococcus mitis</i>	
		<i>Streptococcus salivarius</i>	
		<i>Yersinia enterocolitica</i>	
		<i>Candida albicans</i>	
		<i>Candida glabrata</i>	
		<i>Cryptococcus neoformans</i>	
		<i>Lactobacillus acidophilus</i>	
		<i>Legionella pneumophila</i>	
		<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	
		<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	
		<i>Neisseria meningitidis</i>	
		<i>Streptococcus mutans</i>	
		<i>Streptococcus pneumoniae</i>	
		<i>Streptococcus pyogenes</i>	
		<i>Homo sapiens</i>	

CoNS = Koagulase-negativer *Staphylococcus* (Coagulase Negative *Staphylococcus*)

MSCoNS = Methicillin-empfindlicher Koagulase-negativer *Staphylococcus* (methicillin-sensitive Coagulase Negative *Staphylococcus*)

MRCoNS = Methicillin-resistenter Koagulase-negativer *Staphylococcus* (methicillin-resistant Coagulase Negative *Staphylococcus*)

CoPS = Koagulase-positiver *Staphylococcus* (Coagulase Positive *Staphylococcus*)

15.5 Reproduzierbarkeit mit zertifiziertem Referenzmaterial

Die analytische Sensitivität des Assays als die Reproduzierbarkeit von Ergebnissen, die verglichen wurden mit Ergebnissen, die mit anderen Assays in verschiedenen Laboren erhalten wurden, wurde durch Testen von zertifiziertem Referenzmaterial überprüft.

Die Tests wurden unter Verwendung einer MRSA-Verdünnungsreihe (QCMD 2010 Methicillin Resistant *S. aureus* EQA Panel) als kalibriertes und zertifiziertes Referenzmaterial durchgeführt. Das Panel besteht aus sechs Proben mit verschiedenen MRSA-Konzentrationen, drei Proben mit Methicillin-empfindlichem *Staphylococcus aureus* (MSSA), einer Probe mit Methicillin-resistenten Koagulase-negativen Staphylokokken (MRCoNS), einer Probe mit *Escherichia coli* (*E. coli*) und einer echt negativen Probe. Jede Probe der Reihe wurde in 2 Wiederholungen getestet. Hierfür wurden das gesamte Analyseverfahren, die Extraktion mit **NucliSENS® easyMAG®** und die Amplifikation mit Produkten der ELITechGroup S.p.A. durchgeführt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 40 Tests mit zertifiziertem Referenzmaterial

Proben-ID	Inhalt	Probenkonz. KbE/ml	Erwartetes Ergebnis	Tatsächliches Ergebnis
MRSADNA10-04	MRSA	1×10^8	Häufig erkannt	Erkannt
MRSADNA10-03	MRSA	5×10^7	Häufig erkannt	Erkannt
MRSADNA10-01	MRSA	5×10^6	Häufig erkannt	Erkannt
MRSADNA10-09	MRSA	5×10^5	Häufig erkannt	Erkannt
MRSADNA10-08	MRSA	5×10^5	Häufig erkannt	Erkannt
MRSADNA10-02	MRSA	5×10^5	Erkannt	Erkannt
MRSADNA10-05	MSSA	5×10^6	MRSA negativ	MRSA-negativ, SA-positiv
MRSADNA10-06	MSSA	1×10^7	MRSA negativ	MRSA-negativ, SA-positiv
MRSADNA10-07	MSSA	5×10^6	MRSA negativ	MRSA-negativ, SA-positiv
MRSADNA10-12	MRCoNS	1×10^7	Negativ	Negativ
MRSADNA10-10	<i>E. coli</i>	5×10^6	Negativ	Negativ
MRSADNA10-11	MHBonly	-	Negativ	Negativ

Alle Proben wurden richtig erkannt.

15.6 Verschleppung / Kreuzkontamination

Zur Bewertung des Potenzials für eine Kreuzkontamination zwischen Proben mit einer hohen MRSA (1×10^7 KbE/ml)-Konzentration und negativen Proben wurde mit dem **MRSA/SA ELITE MGB Kit** eine analytische Studie durchgeführt. Zwei Bediener führten fünf Extraktionsläufe mit 24 Proben (11 hochtitrige MRSA-Proben, 11 negative Proben, 1 Positive-Control-Probe und 1 Negative-Control-Probe pro Lauf) in einem Schachbrettmuster durch (hochtitrige MRSA-Proben unterbrochen von vollständig negativen Proben). Die verarbeiteten Proben wurden dann in fünf separaten Läufen amplifiziert, wobei mit zwei verschiedene Schachbrettmuster angewendet wurden. Die Kreuzkontaminationstests ergaben null falsch-negative Ergebnisse bei 55 hoch MRSA-positiven Proben und eine falsch-positive Probe bei 55 negativen Proben.

Zur Gewinnung der Verschleppungs-/Kreuzkontaminationsdaten wurden das Extraktionssystem NucliSENS® easyMAG® und das 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument mit einer früheren Version des Assays **MRSA/SA ELITE MGB Kit** verwendet, die mit der aktuellen identisch ist, mit der Ausnahme, dass sie keine *mecC*-spezifischen Oligonukleotide enthält.

HINWEIS!

Die vollständigen Daten und Ergebnisse der Tests, die zur Bewertung der Leistungsmerkmale des Produkts mit Geräten durchgeführt wurden, sind im Abschnitt 7 der technischen Dokumentation „MRSA/SA ELITE MGB® Kit“, FTP M800351, aufgeführt.

16 REFERENZEN

Centers for Disease Control and Prevention. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System report, data summary from January 1992 through June 2004. Am J Infect Control 2004; 32:470-485.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Surveillance for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Principles, Practices, and Challenges; A Report. CLSI Document X07-R (ISBN 1-56238-719-7) Wayne, PA:CLSI, 2010.

Jernigan, J. A. et al. Prevalence of and risk factors for colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at the time of hospital admission. Infect Control Hosp Epidemiol. 2003; 24:409-414.

Garcia-Alvarez, L. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. Lancet Infect Dis 2011; 11:595-603.

Stegger, M. et al. Rapid detection, differentiation and typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* harbouring either *mecA* or the new *mecA* homologue *mecALGA251*. Clin Microbiol Infect 2012; 18:395-400.

Ito T. et al. Guidelines for reporting novel *mecA* Gene homologues. Antimicrob Agents Chemother. 2012 October; 56(10): 4997-4999.

17 GRENZEN DES VERFAHRENS

Dieses Produkt darf nur mit den folgenden klinischen Proben verwendet werden: Nasenabstriche und Blutkulturen.

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

Keine extrahierte DNA, die mit Mucoproteinen, Propylenglykol, Ethanol oder 2-Propanol kontaminiert ist, mit diesem Produkt verwenden. Diese Substanzen hemmen die Amplifikation von Nukleinsäuren und können zu ungünstigen Ergebnissen führen.

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

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

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

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

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

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

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

Eine räumliche Trennung von Extraktion/Vorbereitung der Amplifikationsreaktionen und Amplifikation/Detektion von Amplifikationsprodukten ist zu beachten, um falsch-positive Ergebnisse zu vermeiden.

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

Ein mit diesem Produkt erhaltenes positives Ergebnis weist nicht auf das Vorhandensein von lebensfähigem SA oder MRSA hin, sondern lässt das Vorhandensein von SA oder MRSA vermuten. Daher bedeutet ein positives Ergebnis nicht unbedingt, dass die Eradikation fehlgeschlagen ist, da nicht lebensfähige DNA vorhanden sein kann.

Ein mit diesem Produkt erhaltenes negatives Ergebnis bedeutet, dass die SA- oder MRSA-DNA nicht in der DNA, die aus der Probe extrahiert wurde, nachgewiesen wurde. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass die Erregerlast unter dem Detektionslimit des Produkts liegt (siehe [12 LEISTUNGSMERKMALE BEI ELITE InGenius und ELITE BeGenius page 21](#)). In diesem Fall kann das Ergebnis falsch-negativ sein.

Ein negatives Ergebnis, das auf ein vorheriges positives Ergebnis folgt, kann auf einen Eradikationserfolg hindeuten, muss es aber nicht.

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

Wenn auch selten, können Polymorphismen in der Primer- oder Sondenbindungsregion des bakteriellen Genoms den Nachweis beeinträchtigen.

Bei unausgeglichene Koinfektionen oder Kokolonisierungen mit MSSA-, MRSA- oder MRCoNS-Stämmen können die mit diesem Produkt erzielten Testergebnisse beeinträchtigt sein.

Borderline-Oxacillin-resistenter *Staphylococcus aureus* (BORSA)-Stämme, die das *mecA*-Gen nicht tragen, werden von dem Produkt nicht erkannt.

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.

18 FEHLERBEHEBUNG

ELITE InGenius und ELITE BeGenius

Tabelle 41

Ungültige Positive Control-Reaktion	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Einstellfehler des Geräts.	Position von PCR Mix und Positive Control kontrollieren. Volumina von PCR Mix und Positive Control kontrollieren.
Abbau des PCR Mix.	Den PCR Mix nicht für mehr als 5 unabhängige Läufe verwenden (jeweils 3 Stunden im gekühlten Reagenzienblock oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix nicht für mehr als 5 aufeinander folgende Läufe verwenden (im gekühlten Reagenzienblock oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix nicht länger als 30 Minuten bei Raumtemperatur aufbewahren. Ein neues Aliquot des PCR Mix verwenden.

Tabelle 41 (continued)

Ungültige Positive Control-Reaktion	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Abbau des Positive Control.	Die Positive Control nicht für mehr als 4 unabhängige Läufe verwenden (jeweils 3 Stunden im Extraktionsbereich oder in der Cooler Unit). Ein neues Aliquot des Positive Control verwenden.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Tabelle 42

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

Tabelle 43

Ungültige Probenreaktion	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Einstellfehler des Geräts.	Position von PCR Mix, Internal Control und Probe kontrollieren. Volumina von PCR Mix, Internal Control und Probe kontrollieren.
Abbau des PCR Mix.	Den PCR Mix nicht für mehr als 5 unabhängige Läufe verwenden (jeweils 3 Stunden im Inventory Area (Inventarbereich) oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix nicht für mehr als 5 aufeinander folgende Läufe verwenden (im gekühlten Reagenzienblock oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix nicht länger als 30 Minuten bei Raumtemperatur aufbewahren. Ein neues Aliquot des PCR Mix verwenden.
Abbau der Vorlage für die Internal Control.	Ein neues Aliquot 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 44

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

Tabelle 45

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 46

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

Offene Plattform:

Tabelle 47

Ziel-DNA in der Reaktion der Positive Control nicht erkannt	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Falsches Dispensieren in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte.	Beim Dispensieren von Reaktionen in die Vertiefungen der Mikrotiterplatten vorsichtig vorgehen und das Arbeitsblatt befolgen. Volumina des dispensierten PCR Mix überprüfen. Volumina der dispensierten Positivkontrolle überprüfen.
Abbau des PCR Mix.	Ein neues Aliquot mit PCR Mix verwenden.
Abbau des Positive Control.	Ein neues Aliquot des Positive Control verwenden.
Einstellfehler des Geräts.	Positionseinstellungen für die Positive Control-Reaktion des Geräts überprüfen. Temperaturzyklus-Einstellungen des Geräts überprüfen.

Tabelle 48

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

Tabelle 49

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

Tabelle 50

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

19 SYMBOLE



Katalognummer.



Temperaturobergrenze.



Chargenbezeichnung.



Verfallsdatum (letzter Tag des Monats).



In-vitro-Diagnostikum.



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



Unique Device Identification, eindeutige Geräteerkennung



Ausreichend für „N“ Tests



Gebrauchsanweisung beachten.



Inhalt.



Vor Sonneneinstrahlung schützen.



Hersteller.

20 HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ

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

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

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

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

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.
eSwab® ist eine eingetragene Marke von COPAN Italia S.p.A.

Appendix A MRSA/SA 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 **MRSA/SA ELITE MGB® Kit** ist ein *In-vitro*-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal in qualitativen Nukleinsäure-Real-Time-PCR-Assays zum Nachweis der DNA von *Staphylococcus aureus* (SA) und Methicillin-resistentem *Staphylococcus aureus* (MRSA, einschließlich des mecC-Stamms), die aus klinischen Proben extrahiert wurde, bestimmt ist.

Dieser Assay ist in Verbindung mit den Geräten **ELITE InGenius®** und **ELITE BeGenius®**, automatisierten und integrierten Systemen zur Extraktion, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation mit humanen Nasenabstrich- und Blutkulturproben, validiert.

Der Assay ist außerdem in Verbindung mit dem **7500 Real-Time PCR Instrument** für die Verwendung mit humanen Nasenabstrich- und Blutkulturproben validiert.

Das Produkt ist zur Verwendung bei der Vorbeugung und Kontrolle von MRSA-Infektionen im Gesundheitswesen vorgesehen und soll bei der Diagnose von MRSA-Infektionen helfen, nicht aber die Behandlung von MRSA-Infektionen anleiten oder überwachen. Ein negatives Ergebnis schließt eine nasale MRSA/SA-Kolonisation nicht aus. Begleitende Kulturen sind erforderlich, um Organismen für die epidemiologische Typisierung oder für weitere Empfindlichkeitstests zu gewinnen.

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

Amplifizierte Sequenz

Sequenz	Gen	Fluorophor	Kanal
Zielsequenz 1	konservative Region im Koagulase-positiven <i>Staphylococcus aureus</i> -Gen	AP554	Diagnostische
Zielsequenz 2	konservative Regionen in den Genen mecA und mecC (verantwortlich für die Resistenz gegen Methicillin und andere Beta-Lactam-Antibiotika)	FAM	MeCA
Internal Control	künstliche Sequenz IC2	AP642	IC

Validierte Matrix

- In eNAT™ Kit entnommene Nasenabstriche
- In eSWAB Collection Kit entnommene Nasenabstriche
- Blutkultur

Kit-Inhalt und zugehörige Produkte

MRSA/SA ELITE MGB Kit (M800351)		MRSA/SA ELITE - Positive Control (M800356)	
 X 4		 X 2  X 2	
MRSA/SA PCR Mix 4 Röhrchen mit 540 µl 24 Reaktionen pro Röhrchen 96 Reaktionen pro Kit 4 Einfrier- und Auftau-Zyklen pro Röhrchen		MRSA/SA - Positive Control und LGA251/ SA Positive Control 2 Röhrchen mit 160 µl für MRSA/SA 2 Röhrchen mit 160 µl für LGA251/SA 5 Reaktionen pro Röhrchen 10 Reaktionen pro Kit 12 Gefrier- und Auftauzyklen	
Maximale Haltbarkeitsdauer:	24 Monate	Maximale Haltbarkeitsdauer	24 Monate
Umgebungstemperatur bei Lagerung	≤ -20°C	Umgebungstemperatur bei Lagerung	≤ -20°C

Weitere benötigte, nicht im Kit enthaltene Produkte

• ELITE InGenius-Gerät: INT030. • ELITE BeGenius-Gerät: INT040. • ELITE InGenius SP 200: INT032SP200.	• CPE – Internal Control: CTCRCPE ELITE InGenius und ELITE BeGenius Verbrauchsmaterialien (siehe ELITE InGenius und ELITE BeGenius Gebrauchsanweisung)
---	--

ELITE InGenius- und ELITE BeGenius-Protokoll

› Probenvolumen	200 µl	› PCR-Eingangsvolumen für die Elution	10 µl
› CPE-Volumen	10 µl	› Volumen Q-PCR-Mix	20 µl
› Gesamtes Elutionsvolumen	100 µl (bei Blutkultur) oder 50 µl (bei Nasenabstrich)	› Häufigkeit der Kontrollen	15 Tage

Leistungsdaten für ELITE InGenius und ELITE BeGenius

Matrix	Nachweisgrenze	Sensitivität	Spezifität
Nasenabstrich	1000 Kopien/ml	MSSA: 93 % (56/60) MRSA: 98 % (40/41)	100 % (48/48)
Blutkultur	2000 Kopien/ml	MSSA: 100 % (39/39) MRSA: 100 % (31/31)	100 % (34/34)

Probenvorbereitung

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

Tabelle 51

Probe	Anforderungen an die Entnahme	Transport-/Lagerbedingungen			
		+16 / +26 °C (Raumtemperatur)	+2 – +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Nasenabstrich	entnommen mit eNAT™ kit	-	≤ 4 Wochen	≤ 6 Monate	-
Nasenabstrich	entnommen mit eSwab Collection Kit	≤ 2 Stunden	≤ 48 Stunden	≤ 6 Monate	-
Blutkultur	-	≤ 24 Stunden	-	-	-

ELiTe InGenius-Verfahren

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

Vor der Analyse

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

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

1. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen	2. Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingangsvolumen: „200 µL“, Elutionsvolumen: „50 µl“ (bei Nasenabstrich) oder „100 µl“ (bei Blutkultur)	3. Die Proben-Barcodes mit dem tragbaren Barcodeleser scannen oder die Proben-ID eingeben
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: MRSA-SA ELiTe_NS_200_50 oder MRSA-SA ELiTe_BC_200_100.	5. Die Methode „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) und die „Sample Position“ (Probenposition) auswählen: Extraction Tube (Extraktionsröhrchen)	6. Den PCR Mix und die Internal-Control in den Inventory Block (Bestandsmanager) laden
7. Folgendes laden: PCR Cassette, Extraktionskartusche, Elution tube (Elutionsröhrchen), Spitzenkassette, Extraction Tube (Extraktionsröhrchen)-Rack	8. Tür schließen. Analyselauf starten	9. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern

HINWEIS!

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

Verfahren 2: „PCR only“ (nur PCR) (z. B. Eluate, Kontrollen)

1. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen	2. Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingangsvolumen: „200 µL“, Elutionsvolumen: „50 µl“ (bei Nasenabstrich) oder „100 µl“ (bei Blutkultur)	3. Die Proben-Barcodes mit dem tragbaren Barcodeleser scannen oder die Proben-ID eingeben
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: MRSA-SA ELITe_NS_200_50 oder MRSA-SA ELITe_BC_200_100, MRSA-SA ELITe_PC_200_100 oder MRSA-SA ELITe_PC_200_50, MRSA-SA ELITe_NC_200_100 oder MRSA-SA ELITe_NC_200_50	5. Die Methode „PCR Only“ (Nur PCR) und die „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube“ (Elutionsröhrchen) auswählen	6. Den PCR Mix in den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden
7. Folgendes laden: PCR 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. Kontrollen überprüfen: Positive Control sowie Negative Control im Menü „Controls“ (Kontrollen). Hinweis: Beide müssen ausgeführt und genehmigt worden sein und dürfen nicht abgelaufen sein.	3. PCR Mix und CTRCPE -Röhrchen auftauen. Vorsichtig vortexen. 5 Sek. herunterzentrifugieren.
---	--	---

Verfahren 1 – Vollständiger Lauf: „Extraction + 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: „200 µL“, Elutionsvolumen: „50 µl“ (bei Nasenabstrich) oder „100 µl“ (bei Blutkultur)
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: MRSA-SA ELITe_Be_NS_200_50 oder MRSA-SA ELITe_Be_BC_200_100. Hinweis: Bei Durchführung einer zweiten Extraktion die Schritte 2 bis 4 wiederholen	5. Die Etiketten ausdrucken, um die leeren Elution Tubes (Elutionsröhrchen) mit einem Barcode zu versehen. Die Röhrchen in das Elution Rack (Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen	6. Den PCR Mix und die Internal Control in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen
7. Das „PCR Rack“ mit der „PCR Cassette“ und den „Extraction Basket“ (Korb) mit den „ELITe InGenius SP 200“ Extraktionskartuschen und die für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden	8. Tür schließen. Analyselauf starten	9. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern

HINWEIS!

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

Verfahren 2: „PCR only“ (nur PCR) (z. B. Eluate, 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: „200 µL“, Elutionsvolumen: „50 µl“ (bei Nasenabstrich) oder „100 µl“ (bei Blutkultur)
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: MRSA-SA ELITe_Be_NS_200_50 oder MRSA-SA ELITe_Be_BC_200_100, MRSA-SA ELITe_Be_PC_200_100 oder MRSA-SA ELITe_Be_PC_200_50 MRSA-SA ELITe_Be_NC_200_100 oder MRSA-SA ELITe_Be_NC_200_50	5. Den PCR-Mix in das „Reagent/ Elution Rack“ (Reagenz-/ Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen	6. „PCR Rack“ mit „PCR Cassette“ beladen
7. Tür schließen. Analyselauf starten	8. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern	



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