

Instructions for use

Parvovirus B19 ELITe MGB® Kit

Reagenzien für die DNA-Real-Time-PCR



REF RTS070PLD

UDI 08033891483623

CE
0123

IVD

ÄNDERUNGSVERLAUF

Rev.	Änderungsvermerk	Datum (TT.MM.JJ)
17-R	Aktualisierung zur Einhaltung der Anforderungen der IVD-Verordnung (EU) 2017/746 über In-vitro-Diagnostika. Aktualisierung der verbesserten analytischen und diagnostischen Leistungen im Abschnitt „LEISTUNGSMERKMALE“. Aktualisierung des Verwendungszwecks: Validierung der Produkte in Verbindung mit den Geräten ELITE InGenius (REF INT030) und ELITE BeGenius (REF INT040) mit den Matrices in EDTA entnommenes Vollblut und Fruchtwasser. Die Produktzusammensetzung bleibt unverändert. Neue grafische und inhaltliche Gestaltung der Gebrauchsanweisung.	30/01/26
16	Erweiterte Verwendung auf dem automatisierten und integrierten Gerät ELITE BeGenius und mit Fruchtwasser als Matrix. Hinzufügung von UDI-Informationen	03/06/24
15	Verwendung des Produkts in Verbindung mit dem Gerät „ELITE BeGenius®“ (REF INT040) aktualisiert.	28/01/22
14	<i>Namen der zusammen mit dem ELITE InGenius® System zu verwendenden AP aktualisiert</i>	30/01/20
13	Erweiterte Verwendung mit der Matrix Fruchtwasser in Verbindung mit dem Gerät ELITE InGenius®	11/10/17
00–12	Neuproduktentwicklung und nachfolgende Änderungen	-

HINWEIS!

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

PRODUKTREF.	Chargennummer	Verfallsdatum
RTS070PLD	U0624-073	30/04/26
RTS070PLD	U1124-016	30/06/26
RTS070PLD	U0625-043	30/06/27

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

INHALTSVERZEICHNIS

1 VERWENDUNGSZWECK	4
2 TESTPRINZIP	4
3 BESCHREIBUNG DES PRODUKTS	4
4 MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN	5
5 ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN	5
6 ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE	6
7 WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN	6
8 PROBEN UND KONTROLLEN	7
9 VERFAHREN BEI ELITe InGenius	10
10 VERFAHREN BEI ELITe BeGenius	17
11 LEISTUNGSMERKMALE	23
12 REFERENZEN	32
13 GRENZEN DES VERFAHRENS	32
14 FEHLERBEHEBUNG	33
15 SYMBOLE	36
16 ANWENDERHINWEISE	37
17 HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ	37
Appendix A QUICK START GUIDE	38

1 VERWENDUNGSZWECK

Das Produkt **Parvovirus B19 ELITE MGB® Kit** ist ein *In-vitro*-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal als quantitativer Nukleinsäure-Real-Time-PCR-Assay zum **Nachweis und zur Identifizierung der DNA von humanem Parvovirus B19 (PVB19)**, die aus klinischen Proben extrahiert wurde, bestimmt ist.

Dieser Assay ist in Verbindung mit den **ELITE InGenius®** und **ELITE BeGenius®** Geräten, automatisierten und integrierten Systemen für die Extraktion, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation mit humanen Proben von in EDTA entnommenem Vollblut und Fruchtwasser validiert.

Dieses Produkt ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Diagnose und Überwachung von Parvovirus-B19-Infektionen bei Patienten bestimmt, bei denen Verdacht auf eine Parvovirus-B19-Infektion besteht oder die auf Parvovirus-B19-Infektionen überwacht werden.

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

Das Produkt ist nicht zum Screening oder zum Nachweis des Vorhandenseins von oder die Exposition gegenüber übertragbaren Erregern in Blut, Blutbestandteilen, Zellen, Geweben, Organen oder deren Derivaten bestimmt, um deren Eignung für Transfusionen, Transplantationen oder Zellverabreichung zu beurteilen.

2 TESTPRINZIP

Der Assay ist eine quantitative Real-Time-PCR für den Nachweis der DNA des Parvovirus, die aus Proben isoliert und mit dem Testreagenz **PVB19 Q – PCR Mix**, das Primer und ELITE MGB-Technologie-Sonden enthält, amplifiziert wurde.

Die ELITE MGB-Sonden werden aktiviert, wenn sie mit den jeweiligen PCR-Produkten hybridisieren. **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius** überwachen den Fluoreszenzanstieg und berechnen den Schwellenwertzyklus (Ct) sowie die Schmelztemperaturen (Tm). Die Berechnung der **PVB19**-DNA-Menge erfolgt auf der Grundlage einer gespeicherten Kalibrationskurve.

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

HINWEIS!

Mithilfe eines Umrechnungsfaktors (Fc) können die Ergebnisse der quantitativen Analyse in internationalen Einheiten (IU) von PVB19 gemäß dem „3rd WHO International Standard for Parvovirus B19 DNA for Nucleic Acid Amplification (NAT) Assay“ (NIBSC-Code 12/208, Vereinigtes Königreich) ausgedrückt werden.

3 BESCHREIBUNG DES PRODUKTS

Das **Parvovirus B19 ELITE MGB Kit** enthält das Assay-Reagenz **PVB19 Q – PCR Mix**, ein optimiertes und stabilisiertes PCR-Gemisch, das die spezifischen Primer und Sonden enthält für:

- die **VP1**-Region von PVB19, nachgewiesen im Kanal **PVB19**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher® gequencht und mit einem FAM-Farbstoff markiert.
- die Internal Control (IC), die für die **Promoter- und 5'-UTR**-Region des **humanen beta-Globin**-Gens spezifisch ist, nachgewiesen in Kanal **IC**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher® gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor® 525 (AP525) markiert.

Der **PVB19 Q – PCR Mix** enthält außerdem Puffer, Magnesiumchlorid, Nukleotidtriphosphate, 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 Produkt **Parvovirus B19 ELITE MGB Kit** enthält ausreichend Reagenzien für 96 Tests (**24 Tests pro Röhrchen**), wobei 20 µl pro Reaktion verwendet werden.

4 MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN

Tabelle 1

Komponente	Beschreibung	Menge	Gefahrenklasse
PVB19 Q - PCR Mix Art.-Nr. RTS070PLD	Gemisch aus Reagenzien für die Real-Time-PCR in Röhrchen mit naturfarbenem Verschluss	4 x 540 µl	-

5 ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN

- Laminar-Flow-Haube.
- Puderfreie Einweghandschuhe aus Nitril oder einem ähnlichen Material.
- Vortex-Mixer.
- Tischzentrifuge (~5.000 U/min).
- Tisch-Mikrozentrifuge (~13.000 U/min).
- Mikropipetten und sterile Spitzen mit Aerosolfilter oder sterile Direktverdrängerspitzen (Volumenbereich: 0,5–1000 µl).
- Sterile 2,0-ml-Röhrchen mit Schraubverschluss (Sarstedt, 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.

6 ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE

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

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

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) PVB19 ELiTe _STD , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Kalibratorenanalyse PVB19 ELiTe _PC , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Positive Control-Analyse PVB19 ELiTe _NC , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Negative Control-Analyse PVB19 ELiTe _WB_200_100 , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Vollblutproben-Analyse PVB19 ELiTe _AF_200_100 , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Analyse von Fruchtwasserproben	Parvovirus B19 ELiTe Standard (EG SpA, Art.-Nr. STD070PLD) Parvovirus B19 – ELiTe Positive Control (EG SpA, Art.-Nr. CTR070PLD) CPE – Internal Control (EG SpA, Art.-Nr. CTCPE) ELiTe InGenius SP200 (EG SpA., Art.-Nr. INT032SP200) ELiTe InGenius und ELiTe BeGenius Verbrauchsmaterialien (siehe ELiTe InGenius und ELiTe BeGenius Gebrauchsanweisung)
ELiTe BeGenius (EG SpA, Art.-Nr. INT040) ELiTe BeGenius Software , Version 2.3.0. (oder später) PVB19 ELiTe _Be_STD , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Kalibratorenanalyse PVB19 ELiTe _Be_PC , Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Positive Control-Analyse PVB19 ELiTe _Be_NC , Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Negative Control-Analyse PVB19 ELiTe _Be_WB_200_100 , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Vollblutproben-Analyse PVB19 ELiTe _Be_AF_200_100 , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Analyse von Fruchtwasserproben	

7 WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

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

7.1 Allgemeine Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

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

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

- Geeignete Schutzkleidung und Handschuhe zum Schutz der Augen und des Gesichts tragen.
- Lösungen niemals mit dem Mund pipettieren,

- Essen, Trinken, Rauchen und Schminken sind in den Arbeitsbereichen verboten.
- Die Hände nach der Handhabung von Proben und Reagenzien gründlich waschen.
- Übrig gebliebene Reagenzien und Abfälle gemäß den geltenden Vorschriften entsorgen.
- Vor der Durchführung des Assays alle bereitgestellten Anweisungen aufmerksam lesen.
- Bei der Durchführung des Tests die bereitgestellten Produktanweisungen befolgen.
- Das Produkt darf nach Ablauf des angegebenen Ablaufdatums nicht mehr verwendet werden.
- Es dürfen nur mit dem Produkt bereitgestellte und vom Hersteller empfohlene Reagenzien verwendet werden.
- Reagenzien von anderen Chargen dürfen nicht verwendet werden.
- Keine Reagenzien anderer Hersteller verwenden.

7.2 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen für die Molekularbiologie

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

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

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

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

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

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

7.3 Komponentenspezifische Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Tabelle 2

Komponente	Umgebungstemperatur bei Lagerung	Haltbarkeit nach Anbruch	Gefrier- und Auftauzyklen	On-Board-Stabilität (ELiTe InGenius und ELiTe BeGenius)
PVB19 Q – PCR Mix	-20°C oder darunter (lichtgeschützt)	einen Monat	bis zu fünf	bis zu fünf getrennte* Läufe von je drei Stunden oder bis zu 7 aufeinanderfolgende Stunden (2 Läufe von je 3 Stunden und die Zeit, die für den Beginn eines dritten Laufs benötigt wird)

* mit zwischenzeitlichem Gefrierzyklus

8 PROBEN UND KONTROLLEN

8.1 Proben und Assay-Protokolle

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 3

Probe	Anforderungen an die Entnahme	Transport-/Lagerbedingungen			
		+16 / +26 °C (Raumtemperatur)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Vollblut	EDTA	≤ 24 Stunden	≤ 3 Tage	≤ 30 Tage	≤ 30 Tage
Fruchtwasser	ohne Konservierungsmittel entnommen	≤ 4 Stunden	≤ 4 Stunden	≤ 30 Tage	≤ 30 Tage

EDTA: Ethylendiamintetraessigsäure

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 4 Assay-Protokolle (Assay Protocol) für Parvovirus B19 ELITE MGB Kit

Probe	Instrument	Name des Assay Protocol (Assay-Protokoll)	Melden Sie	Eigenschaften
Vollblut	ELITE InGenius	PVB19 ELITE_WB_200_100	Kopien/ml oder IU/ml	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
	ELITE BeGenius	PVB19 ELITE_Be_WB_200_100	Kopien/ml oder IU/ml	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
Fruchtwasser	ELITE InGenius	PVB19 ELITE_AF_200_100	Kopien/ml oder IU/ml	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
	ELITE BeGenius	PVB19 ELITE_Be_AF_200_100	Kopien/ml oder IU/ml	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl

IU: internationale Einheiten

HINWEIS!

Überprüfen Sie, ob das Primärröhrchen und das Probenvolumen mit ELITE InGenius oder ELITE BeGenius kompatibel sind, und befolgen Sie dabei die Gebrauchsanweisung des Extraktionskits **ELITeInGeniusSP200** (EG SpA, Art.-Nr. INT032SP200).

Das Volumen der Probe in einem Primärröhrchen variiert je nach Art des geladenen Röhrchens. Weitere Informationen zur Einrichtung und Durchführung des Extraktionsverfahrens sind der Gebrauchsanweisung des Extraktionskits zu entnehmen.

Falls erforderlich, 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 7 WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN page 6“ aufgeführten Empfehlungen befolgen.

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

Daten zu störenden Substanzen sind im Abschnitt **11 LEISTUNGSMERKMALE page 23** unter „Potenziell interferierende Substanzen“ aufgeführt.

8.2 PCR-Kalibratoren und -Kontrolle

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

- Für die Kalibrationskurve die vier Konzentrationen des Produkts **Parvovirus B19 ELITE Standard** (nicht im Lieferumfang dieses Kits enthalten) mit dem Assay-Protokoll **PVB19 ELITE_STD** oder **PVB19 ELITE_Be_STD** verwenden.

HINWEIS!

Die Konzentrationen der Q – PCR Standards sind in Kopien/Reaktion (10⁵ Kopien/Reaktion, 10⁴ Kopien/Reaktion, 10³ Kopien/Reaktion, 10² Kopien/Reaktion) ausgedrückt. Siehe „Unsicherheit der Standardkurve“ unter **11 LEISTUNGSMERKMALE page 23**

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

- Für die Positive Control das Produkt **Parvovirus B19 - ELITE Positive Control** (nicht in diesem Kit enthalten) mit dem Assay-Protokoll **PVB19 ELITE_PC** oder **PVB19 ELITE_Be_PC** verwenden.
- Für die Negative Control hochreines Wasser (nicht in diesem Kit enthalten) mit dem Assay-Protokoll **PVB19 ELITE_NC** oder **PVB19 ELITE_Be_NC** verwenden.

HINWEIS!

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

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

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

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

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

8.3 Qualitätskontrollen

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

9 VERFAHREN BEI ELiTe InGenius

Das beim Gebrauch des **Parvovirus B19 ELiTe MGB Kit** mit **ELiTe InGenius** anzuwendende Verfahren besteht aus drei Schritten:

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

9.1 SCHRITT 1 – Prüfung der Systembereitschaft

Vor Beginn des Laufs:

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

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

9.2 SCHRITT 2 – Einrichtung des Laufs

Das **Parvovirus B19 ELiTe MGB Kit** kann auf **ELiTe InGenius** für die folgenden Läufe verwendet werden:

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

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

HINWEIS!

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

Vor dem Einrichten eines Laufs:

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

HINWEIS!

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

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

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])
1	Proben identifizieren und, falls erforderlich, auf Raumtemperatur auftauen, vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Falls erforderlich, 200 µl Probe in ein zuvor etikettiertes Extraction Tube (Extraktionsröhrchen) überführen. Die benötigten CPE-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen . Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Extraktionen.	Elution Tube (Elutionsröhr) mit den extrahierten Nukleinsäuren auf Raumtemperatur auftauen . Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.
2	Auf der Startseite „ Perform Run “ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „ Perform Run “ (Lauf durchführen) auswählen.
3	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.
4	Für jede Probe eine Spur zuweisen und unter „SampleID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.	Für jede Probe eine Spur zuweisen und unter „SampleID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.
5	Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“).	Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“).
6	Sicherstellen, dass unter „Protocol“ (Protokoll) Folgendes angezeigt wird: „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR).	In der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) auswählen.
7	Als Proben-Ladeposition „Primary Tube“ (Primärröhrchen) oder „Extraction Tube“ (Extraktionsröhrchen) in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) auswählen. Sicherstellen, dass der Verdünnungsfaktor (Dilution factor) „1“ beträgt.	Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr [untere Reihe]) lautet. Sicherstellen, dass der Verdünnungsfaktor (Dilution factor) „1“ beträgt.
8	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
9	CPE und den PCR Mix gemäß der „Load List“ (Liste Laden) auf den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden und die Chargennummer und das Ablaufdatum des CPE und PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.	Den PCR Mix gemäß der „Load List“ (Liste Laden) auf den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])
10	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
11	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.
12	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
13	PCR-Kassette, ELITE InGenius SP 200 Extraktionskartuschen und alle benötigten Verbrauchsmaterialien und zu extrahierenden Proben laden .	PCR-Kassette und Elution Tube (Elutionsröhr) mit extrahierten Proben laden .
14	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
15	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.
16	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.

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

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

9.3 SCHRITT 3 – Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

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

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

HINWEIS!

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

ELITE InGenius generiert Ergebnisse mithilfe des **Parvovirus B19 ELITE MGB Kit** und geht dabei folgendermaßen vor:

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

9.3.1 Validierung der Kalibrationskurve

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

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

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

HINWEIS!

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

9.3.2 Validierung der Ergebnisse des Amplifikationslaufs für die Positivkontrolle und Negativkontrolle

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

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

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

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

9.3.3 Validierung der Probenergebnisse

Die **ELITe InGenius Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse für die Zielsequenz (Kanal **PVB19**) und die Internal Control (Kanal **IC**) mit den Assay-Protokoll-Parametern **PVB19 ELITe_WB_200_100** und **PVB19 ELITe_AF_200_100**. Die resultierenden Ct-Zielwerte werden in Konzentrationswerte umgerechnet.

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

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

1) Kalibrationskurve	„Status“
PVB19 Q-PCR Standard	APPROVED (Genehmigt)
2) Positivkontrolle	„Status“
PVB19 Positive Control	APPROVED (Genehmigt)
3) Negativkontrolle	„Status“
PVB19 Negative Control	APPROVED (Genehmigt)

Die Probenergebnisse werden von der **ELITE InGenius-Software** anhand der Assay-Protocol-Parameter automatisch interpretiert.

Die möglichen Ergebnismeldungen sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt.

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

Ergebnis des Probenlaufs	Interpretation
PVB19:DNA Detected, quantity equal to XXX copies / mL or IU / mL (PVB19:DNA Erkannt, Menge gleich XXX Kopien/ml bzw. IU/ ml)	In der Probe wurde PVB19-DNA innerhalb des Messbereichs des Assays nachgewiesen , ihre Konzentration wird angezeigt.
PVB19:DNA Detected, quantity below LLoQ copies / mL or IU / mL (PVB19:DNA Erkannt, Menge unter LLoQ Kopien/ml bzw. IU/ ml)	In der Probe wurde PVB19-DNA nachgewiesen , ihre Konzentration liegt unterhalb der unteren Bestimmungsgrenze des Assays.
PVB19:DNA Detected, quantity beyond ULoQ copies / mL or IU / mL (PVB19:DNA Erkannt, Menge über ULoQ Kopien/ml bzw. IU/ ml)	In der Probe wurde PVB19-DNA nachgewiesen , ihre Konzentration liegt oberhalb der oberen Bestimmungsgrenze des Assays.
PVB19:DNA Not detected or below LoD copies / mL or IU / mL (PVB19:DNA Nicht erkannt oder unter LoD Kopien/ml bzw. IU/ml)	In der Probe wurde keine PVB19-DNA nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf die Ziel-DNA getestet oder die Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
Invalid-Retest Sample (Ungültig – Probe erneut testen)	Ungültiges Testergebnis durch fehlerhafte Internal Control (z. B. aufgrund von falscher Extraktion, Verschleppung von Inhibitoren). Der Test sollte wiederholt werden.

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

Wenn ausreichend Eluatvolumen übrig bleibt, kann das Eluat (verdünnt oder unverdünnt) mithilfe eines Amplifikationslaufs im Modus „PCR Only“ (nur PCR) erneut getestet werden. Ist das zweite Ergebnis ungültig, muss die Probe beginnend mit der Extraktion einer neuen Probe im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) erneut getestet werden (siehe [14 FEHLERBEHEBUNG page 33](#)).

Als „PVB19:DNA Not detected or below “LoD” copies/mL“ (PVB19:DNA Nicht erkannt oder unter LoD Kopien/ml) ausgegebene Proben sind für die Analyse geeignet, PVB19-DNA wurde jedoch nicht nachgewiesen. In diesem Fall kann entweder die Probe für PVB19-DNA negativ sein oder die PVB19-DNA ist bei einer Konzentration unter der Nachweisgrenze des Tests vorhanden (siehe [11 Leistungsmerkmale page 23](#)“).

PVB19-DNA-positive Proben mit einer Konzentration unter der Nachweisgrenze (und der unteren Bestimmungsgrenze) des Assays werden, falls nachgewiesen, als „PVB19:DNA Detected, quantity below “LLoQ” copies/mL“ (PVB19:DNA Erkannt, Menge unter LLoQ Kopien/ml) ausgegeben (siehe [11 Leistungsmerkmale page 23](#)“).

PVB19-DNA-positive Proben innerhalb des linearen Messbereichs werden erkannt und als „PVB19:DNA Detected, quantity equal to „XXX“ copies / mL“ (PVB19:DNA Erkannt, Menge gleich „XXX“ Kopien/ml) ausgegeben (siehe „11 Leistungsmerkmale page 23“).

PVB19-DNA-positive Proben, die oberhalb der oberen Bestimmungsgrenze liegen, werden als „PVB19:DNA Detected, quantity beyond „ULoQ“ copies/mL“ (PVB19:DNA Erkannt, Menge über „ULoQ“ Kopien/ml) ausgegeben und sind nicht zur Quantifizierung geeignet. Falls erforderlich muss die Probe vor der Extraktion oder dem PCR-Test verdünnt und erneut getestet werden, um Ergebnisse innerhalb des linearen Messbereichs des Assays zu erzielen (siehe 11 „Leistungsmerkmale“ page 23).

HINWEIS!

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

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

9.3.4 Ausgabe des Probenergebnisberichts

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

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

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

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

10 VERFAHREN BEI ELITE BeGenius

Das beim Gebrauch des **Parvovirus B19 ELITE MGB Kit** mit **ELITE BeGenius** anzuwendende Verfahren besteht aus drei Schritten:

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

10.1 SCHRITT 1 – Prüfung der Systembereitschaft

Vor Beginn des Laufs:

- **ELITE BeGenius** einschalten und den Modus „CLOSED“ (geschlossen) auswählen,

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

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

10.2 SCHRITT 2 – Einrichtung des Laufs

Das **Parvovirus B19 ELiTe MGB Kit** kann auf **ELiTe BeGenius** für die folgenden Läufe verwendet werden:

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

Alle benötigten Parameter sind in 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**. Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

HINWEIS!

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

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

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])
1	Proben identifizieren und, falls erforderlich, auf Raumtemperatur auftauen, vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Falls erforderlich, 200 µl Probe in ein zuvor etikettiertes 2-ml-Sarstedt-Röhrchen überführen. Die benötigten CPE-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen . Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Extraktionen.	Elution Tube (Elutionsröhr) mit den extrahierten Nukleinsäuren auf Raumtemperatur auftauen . Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.
2	Auf der Startseite „ Perform Run “ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „ Perform Run “ (Lauf durchführen) auswählen.

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

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])
19	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
20	Das „PCR Rack“ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) laden.	Das „PCR Rack“ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) laden.
21	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
22	Den „Extraction Rack“ (Extraktionsrack) mit den „ELITE InGenius SP 200“ Extraktionskartuschen und die für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden.	Nicht anwendbar
23	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.
24	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.

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

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

10.3 SCHRITT 3 – Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

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

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

HINWEIS!

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

ELiTe BeGenius generiert die Ergebnisse mithilfe des **Parvovirus B19 ELiTe MGB Kit** und geht dabei folgendermaßen vor:

1. Validierung der Kalibrationskurve,

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

HINWEIS!

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

11 LEISTUNGSMERKMALE

11.1 Analytische Sensitivität: Nachweisgrenze (LoD)

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

In EDTA entnommenes Vollblut

Der theoretische LoD-Wert wurde verifiziert, indem auf ELITE InGenius und auf ELITE BeGenius ein Pool aus in EDTA entnommenen Vollblutproben getestet wurde, die mit Referenzmaterial des Parvovirus B19 (3rd WHO International Standard, NIBSC) in der angegebenen Konzentration (125 IU/ml) dotiert waren.

Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen aufgeführt.

Tabelle 5 Nachweisgrenze mit ELITE InGenius und ELITE BeGenius bei Vollblut

Nachweisgrenze bei Vollblutproben auf ELITE InGenius und ELITE BeGenius	
Probe	LoD
In EDTA entnommenes Vollblut	125 IU/ml
	250 Kopien/ml

Die erhaltenen Ergebnisse bestätigten die behauptete Konzentration für die Zielsequenz des Parvovirus B19 ELITE MGB Kits auf ELITE InGenius und ELITE BeGenius. Dem LoD-Wert für die PVB19-Zielsequenz in Verbindung mit Vollblutproben wurde bei 125 IU/ml bestätigt, was 250 Kopien/ml entspricht. Der Wert als Kopien/ml wird unter Anwendung des spezifischen Umrechnungsfaktors (0,5 IU/Kopie) berechnet, der im Abschnitt „11.10 Faktor für die Umrechnung in internationale Einheiten page 29“ angegeben ist.

Fruchtwasser

Die Nachweisgrenze des in Verbindung mit Fruchtwasserproben verwendeten Assays wurde auf dem Gerät ELITE InGenius bestimmt, indem eine Reihe von Parvovirus-B19 (PVB19)-negativen Fruchtwasserproben, die mit Referenzmaterial von PVB19 (3rd WHO International Standard, NIBSC) dotiert waren, getestet wurde. Die Ergebnisse wurden einer Probit-Regressionsanalyse unterzogen, und die LoD wurde als die Konzentration geschätzt, die einer 95 %igen Wahrscheinlichkeit eines positiven Ergebnisses entspricht.

Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen aufgeführt.

Tabelle 6 Nachweisgrenze mit ELITE InGenius und ELITE BeGenius bei Fruchtwasser

Nachweisgrenze für Fruchtwasserproben und ELITE InGenius			
Zielsequenz	LoD	95 % Konfidenzintervall	
		Untergrenze	Obergrenze
PVB19	40 IU/ml	24 IU/ml	51 IU/ml
	40 Kopien/ml	24 Kopien/ml	51 Kopien/ml

Die Nachweisgrenze in Kopien/ml wurde für Fruchtwasserproben unter Anwendung des spezifischen Umrechnungsfaktors (1 IU/Kopie) berechnet, der im Abschnitt „[11.10 Faktor für die Umrechnung in internationale Einheiten page 29](#)“ angegeben ist.

Der berechnete LoD-Wert wurde überprüft, indem mit ELiTe InGenius und ELiTe BeGenius ein Pool aus Fruchtwasserproben, die mit zertifiziertem PVB19-Referenzmaterial (3rd WHO International Standard, NIBSC) dotiert waren, in der behaupteten Konzentration getestet wurden.

11.2 Linearer Messbereich und Bestimmungsgrenzen

Zur Bestimmung des linearen Messbereichs des Assays in Verbindung mit EDTA-Vollblut- und Fruchtwasserproben wurde auf **ELiTe InGenius** und **ELiTe BeGenius** ein Panel von PVB19-Referenzmaterialien (NATtrol™ Human Parvovirus B19 Strain inactivated virus, ZeptoMetrix) in Verbindung mit EDTA-Vollblut und (Human Parvovirus Strain: B19 Concentrate 1mL, ZeptoMetrix) in Verbindung mit Fruchtwasser in PVB19-DNA-negativen Matrices verwendet.

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

In EDTA entnommenes Vollblut

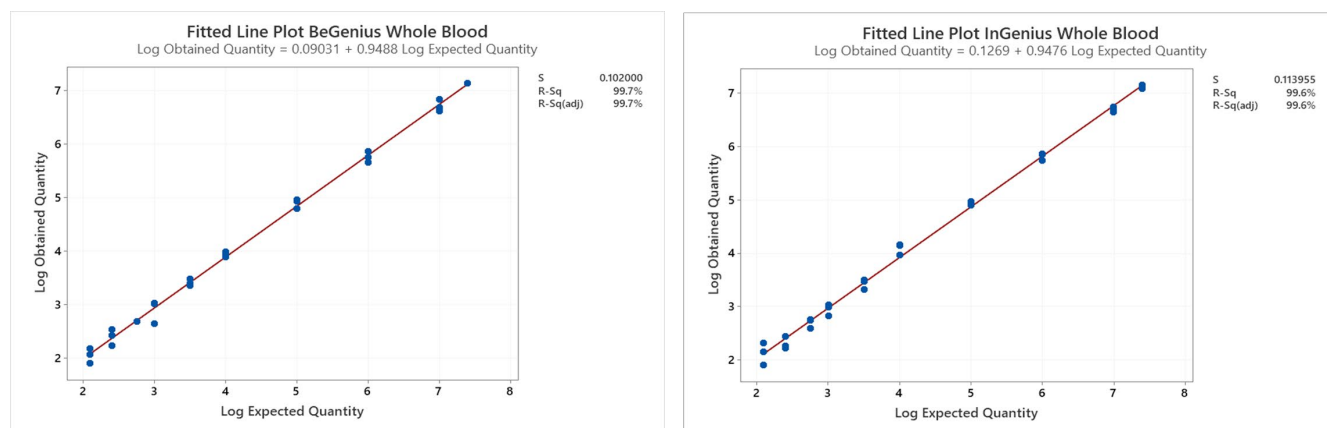


Bild 1

Der lineare Messbereich in Kopien/ml für EDTA-Vollblut wird unter Anwendung des spezifischen Umrechnungsfaktors berechnet, der im entsprechenden Abschnitt angegeben ist. [11.10 Faktor für die Umrechnung in internationale Einheiten page 29](#)

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 7 Linearer Messbereich für Vollblutproben bei ELiTe InGenius und ELiTe BeGenius

Einheit	Untere Grenze	Obere Grenze
IU/ml	125	25000000
Kopien/ml	250	50000000

Fruchtwasser

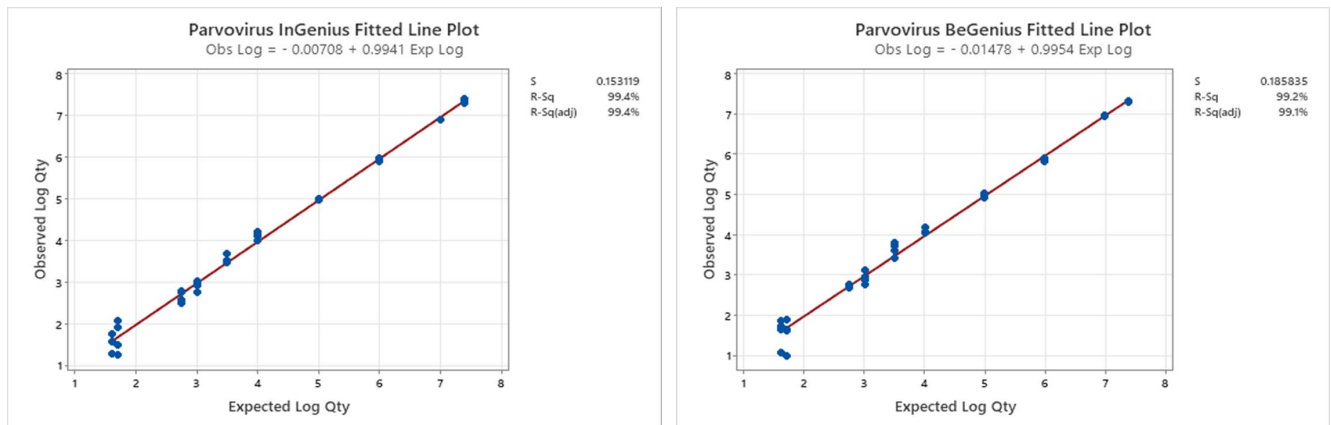


Bild 2

Der lineare Messbereich in Kopien/ml für Fruchtwasser wird unter Anwendung des spezifischen Umrechnungsfaktors berechnet, der in [11.10 Faktor für die Umrechnung in internationale Einheiten page 29](#) angegeben ist.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 8 Linearer Messbereich für Fruchtwasserproben und ELITe InGenius und ELITe BeGenius

Einheit	Untere Grenze	Obere Grenze
IU/ml	40	25000000
Kopien/ml	40	25000000

11.3 Unsicherheit der Standardkurve

Der Unsicherheitswert der Standardkurve wurde durch Kombination der zufälligen Fehler (SD) aller Levelquantifizierungen und Multiplikation mit dem Abdeckungsfaktor $k = 2$ (erweiterte kombinierte Unsicherheit) berechnet und beträgt 0,2535 log Kopien/Reaktion.

Tabelle 9 Unsicherheit der Standardkurve

Standardkurven-Levels	Theoretisch	Gemessen	SD	Erweiterte kombinierte Unsicherheit
	Log Kopien/Reaktion	Log Kopien/Reaktion		
PVB19Q - PCR Standard 10^5	5,0000	4,9961	0,0539	0,2535
PVB19Q - PCR Standard 10^4	4,0000	4,0176	0,0783	
PVB19 Q - PCR Standard 10^3	3,0000	2,9765	0,0548	
PVB19Q - PCR Standard 10^2	2,0000	2,0098	0,0635	

11.4 Inklusivität: Nachweis- und Quantifizierungseffizienz bei verschiedenen Genotypen

Die Inklusivität des Assays als die Nachweiseffizienz für verschiedene PVB19-Stämme wurde mittels *In-silico*-Analyse der in den Nukleotid-Datenbanken verfügbaren Sequenzen bewertet. Die Analyse zeigte eine Sequenzerhaltung und ein Nichtvorhandensein signifikanter Mutationen. Daher wird ein effizienter Nachweis für die verschiedenen Stämme oder Isolate erwartet.

11.5 Potenziell interferierende Organismen: Kreuzreaktivität

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

11.6 Potenziell interferierende Organismen: Inhibition

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

11.7 Potenziell interferierende Substanzen: Inhibition

Die potenzielle Inhibition interferierender Substanzen (endogen und exogen), die in klinischen Proben vorkommen können, wurde für den Assay durch die Analyse einer Reihe von Substanzen in relevanten Konzentrationen in PVB19-positiven Proben bewertet.

Die Ergebnisse für jede Matrix sind in den folgenden Tabellen aufgeführt.

Tabelle 10 EDTA-Vollblut

Probe	PVB19 Pos. / Wiederh.	Ergebnis
Ethanol	5/5	Keine Inhibition
Azithromycin	5/5	Keine Inhibition
Ampicillin	5/5	Keine Inhibition
Vancomycin	5/5	Keine Inhibition
Ganciclovir	5/5	Keine Inhibition
Acyclovir	5/5	Keine Inhibition
Fluconazol	5/5	Keine Inhibition
Cyclosporin A	5/5	Keine Inhibition
EDTA	5/5	Keine Inhibition
Heparin	5/5	Keine Inhibition

Bei Verwendung des Parvovirus B19 MGB Kit mit EDTA-Vollblutproben interferieren die getesteten Substanzen nicht mit der Amplifikation von PVB19 oder der Internal Control.

Tabelle 11 Fruchtwasser

Probe	PVB19 Pos. / Wiederh.	Ergebnis
Azithromycin	5/5	Keine Inhibition
Acyclovir	5/5	Keine Inhibition
Humanes Vollblut	5/5	Keine Inhibition

Bei Verwendung des Parvovirus B19 MGB Kit mit Fruchtwasserproben interferieren die getesteten Substanzen nicht mit der Amplifikation von PVB19 oder der Internal Control.

11.8 Wiederholpräzision

Zur Bewertung der Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs und der laufübergreifenden Wiederholpräzision des Assays wurde mit den Geräten ELITE InGenius und ELITE BeGenius eine Reihe von in EDTA entnommenen Vollblutproben analysiert, einschließlich einer negativen Probe und zweier Proben, die mit zertifiziertem PVB19-Referenzmaterial (3rd WHO International Standard, NIBSC) dotiert waren.

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

Tabelle 12 Wiederholpräzision innerhalb des Laufs, ELITE InGenius

Probe	PVB19				
	Anz.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Negativ	8	-	n. a.	-	100 %
3 x LoD	8	35,81	0,52	1,46	100 %
10 x LoD	8	34,31	0,28	0,83	100 %

Tabelle 13 Wiederholpräzision innerhalb des Laufs, ELITE BeGenius

Probe	PVB19				
	Anz.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Negativ	8	-	-	-	100 %
3 x LoD	8	36,53	0,53	1,46	100 %
10 x LoD	8	34,79	0,21	0,61	100 %

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

Tabelle 14 Laufübergreifende Wiederholpräzision, ELITE InGenius

Probe	PVB19				
	Anz.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Negativ	16	-	-	-	100 %
3 x LoD	16	35,87	0,44	1,23	100 %
10 x LoD	16	34,19	0,28	0,83	100 %

Tabelle 15 Laufübergreifende Wiederholpräzision, ELITE BeGenius

Probe	PVB19				
	Anz.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Negativ	16	-	-	-	100 %
3 x LoD	16	36,40	0,45	1,23	100 %
10 x LoD	16	34,68	0,27	0,79	100 %

Beim Test der Wiederholpräzision erkannte der Parvovirus B19 ELITE MGB Kit die Zielsequenz und wies eine maximale Variabilität der Ct-Zielwerte als VK% unter 5 % aus.

11.9 Vergleichspräzision

Zur Bewertung der geräteübergreifenden und chargenübergreifenden Vergleichspräzision des Assays wurde eine Reihe von in EDTA entnommenen Vollblutproben auf den Geräten ELITE InGenius und ELITE BeGenius analysiert, einschließlich einer negativen Probe und zweier Proben, die mit zertifiziertem PVB19-Referenzmaterial (3rd WHO International Standard, NIBSC) dotiert waren.

Eine Übersicht der geräteübergreifenden Vergleichspräzision (bei zwei verschiedenen Geräten) ist in den nachfolgenden Tabellen dargestellt.

Tabelle 16 Geräteübergreifende Vergleichspräzision, ELITE InGenius

Probe	PVB19				
	Anz.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Negativ	8	-	-	-	100 %
3 x LoD	8	36,89	0,62	1,68	100 %
10 x LoD	8	34,85	0,26	0,74	100 %

Tabelle 17 Geräteübergreifende Vergleichspräzision, ELITE BeGenius

Probe	PVB19				
	Anz.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Negativ	8	-	-	-	100 %
3 x LoD	8	37,00	0,37	1,00	100 %
10 x LoD	8	35,14	0,51	1,46	100 %

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

Tabelle 18 Chargenübergreifende Vergleichspräzision, ELITe InGenius

Probe	PVB19				
	Anz.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Negativ	8	-	-	-	100 %
3 x LoD	8	36,80	0,67	1,82	100 %
10 x LoD	8	35,18	0,71	2,02	100 %

Tabelle 19 Chargenübergreifende Vergleichspräzision, ELITe BeGenius

Probe	PVB19				
	Anz.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Negativ	8	-	-	-	100 %
3 x LoD	8	37,41	0,27	0,72	100 %
10 x LoD	8	35,31	0,32	0,90	100 %

Beim Test der geräte- und chargenübergreifenden Vergleichspräzision erkannte der Parvovirus B19 ELITe MGB Kit alle Proben wie erwartet korrekt und wies eine maximale Variabilität der Ct-Zielwerte als VK% unter 5 % aus.

11.10 Faktor für die Umrechnung in internationale Einheiten

Der Umrechnungsfaktor (Fc) zur Angabe der quantitativen Ergebnisse von Kopien/ml in internationale Einheiten (IU)/ml wurde mit ELITe InGenius unter Verwendung des zertifizierten kalibrierten PVB19-Referenzmaterials (NIBSC) berechnet.

In EDTA entnommenes Vollblut

Der Umrechnungsfaktor wurde mit ELITe InGenius anhand einer Reihe von Verdünnungen von PVB19-Referenzmaterial (2nd WHO International Standard, NIBSC) in negativen EDTA-Vollblutproben mit 0,5 IU/Kopie ermittelt.

Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 20 Umrechnungsfaktor zur Berechnung der internationalen Einheiten mit ELITe InGenius

Probe			Ergebnis			Differenz von Log (Ref.-Test)
IU/ml	log IU/ml	Anzahl	Mittlere Kopien/ml	Mittelwert IU/ml	Mittelwert log IU/ml	
100000	5,0000	10	214661	107331	5,0210	-0,0210
10000	4,0000	10	21433	10716	4,0080	-0,0080
1000	3,0000	10	2136	1068	2,9850	+0,0150

Der Wert des Umrechnungsfaktors wurde mit **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius** unter Verwendung des zertifizierten kalibrierten Referenzmaterials (3rd WHO International Standard, NIBSC) verifiziert und von 5,0000 Log IU/ml auf 2,0970 Log IU/ml berichtigt. Die erhaltenen Ergebnisse wurden mittels orthogonaler und linearer Regression analysiert, um ihre Korrelation zu berechnen.

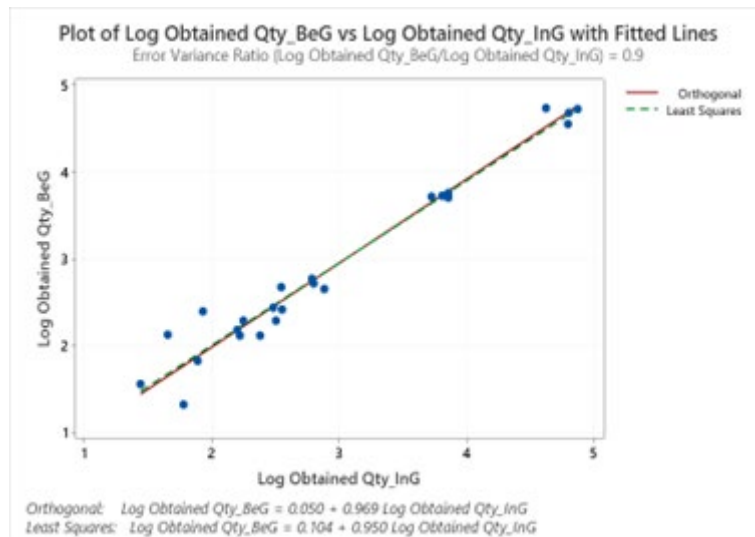


Bild 3

Die orthogonale Regressionsanalyse ergab einen Achsenabschnitt von 0,050 (95%-KI: 0,197– 0,296) und eine Steigung von 0,969 (95%-KI: 0,889–1,048). Die Analyse der linearen Regression ergab einen R²-Wert von 0,963.

Fruchtwasser

Der Umrechnungsfaktor wurde mit ELiTe InGenius anhand einer Reihe von Verdünnungen von PVB19-Referenzmaterial (3rd WHO International Standard, NIBSC) in negativen Fruchtwasserproben mit 1 IU/Kopie ermittelt.

Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 21 Umrechnungsfaktor zur Berechnung der internationalen Einheiten mit ELiTe InGenius

Probe			Ergebnis			Differenz von Log (Ref.-Test)
IU/ml	log IU/ml	Anzahl	Mittlere Kopien/ml	Mittelwert IU/ml	Mittelwert log IU/ml	
316228	5,5000	16	273604	273604	5,4360	0,0640
100000	5,0000	16	88997	88997	4,9470	0,0530
31623	4,5000	16	34559	34559	4,5340	-0,0340
10000	4,0000	16	11089	11089	4,0390	-0,0390
3162	3,5000	15*	3704	3704	3,5580	-0,0580
1000	3,0000	16	932	932	2,9520	0,0480

* Eine Probe erwies sich als Ausreißer und wurde von der Analyse ausgeschlossen.

Der Wert des Umrechnungsfaktors wurde mit **ELiTe InGenius** und **ELiTe BeGenius** unter Verwendung des zertifizierten kalibrierten Referenzmaterials (3rd WHO International Standard, NIBSC) verifiziert und von 5,0000 Log IU/ml auf 2,0970 Log IU/ml berichtigt. Die erhaltenen Ergebnisse wurden mittels orthogonaler und linearer Regression analysiert, um ihre Korrelation zu berechnen.

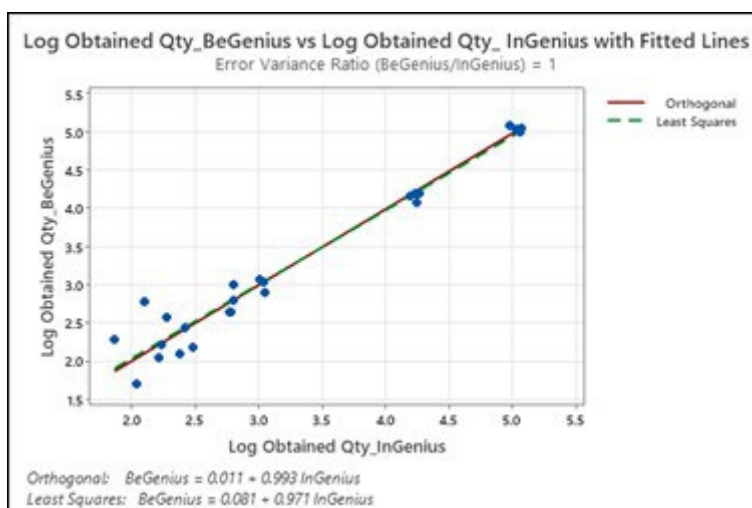


Bild 4

Die orthogonale Regressionsanalyse ergab einen Achsenabschnitt von 0,0112 (95%-KI: 0,2879 bis 0,3103) und eine Steigung von 0,9928 (95%-KI: 0,9046 bis 1,0810). Die Analyse der linearen Regression ergab einen R²-Wert von 0,957.

Die Ergebnisse für jede Matrix sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 22 Faktor zur Umrechnung in internationale Einheiten mit ELITE InGenius und ELITE BeGenius

Matrix	Umrechnungsfaktor Fc (IU/Kopien)
Vollblut	0,5
Fruchtwasser	1,0

11.11 Diagnostische Spezifität: Bestätigung negativer Proben

Zur Bewertung der diagnostischen Spezifität des Assays als Bestätigung negativer Proben wurden klinische Proben von in EDTA entnommenem Vollblut und Fruchtwasser mit ELITE InGenius analysiert und für die Zielsequenz als negativ oder vermutlich negativ bestätigt. 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 23 Diagnostische Spezifität

Proben	Anzahl	Positiv	Negativ	Diagnostische Spezifität in %
In EDTA entnommenes, PVB19-DNA-negatives Vollblut	53	0	53	100
PVB19-DNA-negatives Fruchtwasser	70	0	70	100

Der Ct-Grenzwert für die IC wurde beim Test mit ELITE InGenius bzw. ELITE BeGenius für in EDTA entnommene Vollblutproben und für Fruchtwasserproben auf 35 festgelegt.

11.12 Diagnostische Sensitivität: Bestätigung positiver Proben

Zur Bewertung der diagnostischen Sensitivität des Assays als Bestätigung positiver Proben wurden mit ELITE InGenius klinische Proben von in EDTA entnommenem Vollblut und Fruchtwasser, die für die Zielsequenz als positiv bestätigt oder mit Referenzmaterial dotiert waren, 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 Sensitivität des Assays auch für ELITE BeGenius.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 24 Diagnostische Sensitivität

Proben	Anzahl	Positiv	Negativ	Diagnostische Sensitivität in %
In EDTA entnommenes und PVB19-DNA-positives Vollblut	51	51	0	100
Mit PVB19 dotiertes Fruchtwasser	56	56	0	100

HINWEIS!

Die vollständigen Daten und Ergebnisse der Tests, die zur Bewertung der Leistungsmerkmale des Produkts mit Matrices und Geräten durchgeführt wurden, sind in der technischen Dokumentation „PARVOVIRUS ELITE MGB® Kit“, FTP 070PLD, aufgeführt.

12 REFERENZEN

F. McOmish et al. (1993) J. Clin. Microbiol. 31: 323 - 328.

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

C. N. Kotton et al. (2025) Transplantation 109: 1066-1110

13 GRENZEN DES VERFAHRENS

Dieses Produkt darf nur mit den folgenden klinischen Proben verwendet werden: in EDTA entnommenes Vollblut und Fruchtwasser.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Die mit diesem Produkt erhaltenen Ergebnisse können manchmal aufgrund von Ausfällen der internen Kontrolle ungültig sein. In diesem Fall muss die Probe ab der Extraktion erneut getestet werden, was zu einer Verzögerung der endgültigen Testergebnisse führen kann.

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

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

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

14 FEHLERBEHEBUNG

Tabelle 25

Ungültige Reaktion von Q-PCR Standard, Standardkurve oder Positive Control	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Einstellfehler des Geräts.	Position von PCR Mix, Q-PCR Standards und Positive Control kontrollieren. Volumina von PCR Mix, Q-PCR Standards und Positive Control kontrollieren.
Abbau des PCR Mix.	Den PCR Mix nicht für mehr als 5 unabhängige Läufe verwenden (jeweils 3 Stunden im Inventory Area (Inventarbereich), gekühlten Reagenzienblock oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix nicht für mehr als 3 aufeinander folgende Läufe verwenden (7 Stunden im Inventory Area (Inventarbereich), 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 25 (continued)

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

Tabelle 26

Ungültige Reaktion der Negative Control	
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 Bestandsmanagers oder der Cooler Unit.	Oberflächen mit wässrigen Reinigungsmitteln reinigen, Laborkittel waschen, verwendete Röhrchen und Spitzen austauschen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELiTechGroup kontaktieren.

Tabelle 27

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

Tabelle 27 (continued)

Ungültige Probenreaktion	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Inhibition durch Störsubstanzen in der Probe.	Amplifikation der eluierten Probe mit einer 1:2-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „PCR Only“-Lauf (nur PCR) wiederholen. 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 28

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

Tabelle 29

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 30

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.

15 SYMBOLE



Katalognummer.



Temperaturobergrenze.



Chargenbezeichnung.



Verfallsdatum (letzter Tag des Monats).



In-vitro-Diagnostikum.



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



Unique Device Identification, eindeutige Gerätekennung



Ausreichend für „N“ Tests



Gebrauchsanweisung beachten.



Inhalt.



Vor Sonneneinstrahlung schützen.



Hersteller.

16 ANWENDERHINWEISE

Jeder schwerwiegende Zwischenfall, der im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetreten ist, muss dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedsstaates, in dem der Anwender und/oder der Patient ansässig ist, gemeldet werden. Um den Hersteller dieses Geräts zu informieren, verwenden Sie bitte die folgende E-Mail-Adresse: egspa.vigilance@elitechgroup.com.

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

17 HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ

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

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

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

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

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.
Minitip Flocked Swab® ist eine eingetragene Marke von COPAN Italia S.p.A., FecalSwab™ ist eine Marke von COPAN Italia S.p.A.

Appendix A Parvovirus B19 ELITE MGB Kit zur Verwendung mit Plattformen der Genius-Reihe®



VORSICHT

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

Verwendungszweck

Das Produkt **Parvovirus B19 ELITE MGB® Kit** ist ein *In-vitro*-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal als quantitativer Nukleinsäure-Real-Time-PCR-Assay zum **Nachweis und zur Identifizierung der DNA von humanem Parvovirus B19 (PVB19)**, die aus klinischen Proben extrahiert wurde, bestimmt ist.

Dieser Assay ist in Verbindung mit den **ELITE InGenius®** ELITE InGenius und ELITE BeGenius **ELITE BeGenius®** Geräten, automatisierten und integrierten Systemen für die Extraktion, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation mit humanen Proben von in EDTA entnommenem Vollblut und Fruchtwasser validiert.

Dieses Produkt ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Diagnose und Überwachung von Parvovirus-B19-Infektionen bei Patienten bestimmt, bei denen Verdacht auf eine Parvovirus-B19-Infektion besteht oder die auf Parvovirus-B19-Infektionen überwacht werden.

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

Das Produkt ist nicht zum Screening oder zum Nachweis des Vorhandenseins von oder die Exposition gegenüber übertragbaren Erregern in Blut, Blutbestandteilen, Zellen, Geweben, Organen oder deren Derivaten bestimmt, um deren Eignung für Transfusionen, Transplantationen oder Zellverabreichung zu beurteilen.

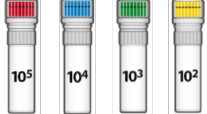
Amplifizierte Sequenz

Sequenz	Gen	Fluorophor	Kanal
Zielsequenz	Kapsidprotein VP1	FAM	PVB19
Internal Control	Humanes beta-Globin-Gen	AP525	IC

Validierte Matrices

- In EDTA entnommenes Vollblut
- Fruchtwasser

Kit-Inhalt und zugehörige Produkte

PARVOVIRUS ELITe MGB Kit	PARVOVIRUS ELITe Standard	PARVOVIRUS- ELITe Positive Control
 X 4	 X 2	 X 2
Gebrauchsfertiger PCR Mix 4 Röhrchen mit 540 µl 96 Reaktionen pro Kit 5 Gefrier- und Auftauzyklen	4 Konzentrationen (gebrauchsfertig): 10 ⁵ , 10 ⁴ , 10 ³ , 10 ² 1 Sets à 4 Röhrchen mit 200 µl 4 Reaktionen pro Kit 4 Gefrier- und Auftauzyklen	Gebrauchsfertige PC 2 Röhrchen mit 160 µl 8 Reaktionen pro Kit 4 Gefrier- und Auftauzyklen

Maximale Haltbarkeitsdauer: **24 Monate**Lagerungstemperatur: **-20 °C**

Weitere benötigte, nicht im Kit enthaltene Produkte

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

ELITe InGenius- und ELITe BeGenius-Protokoll

• Probenvolumen • CPE-Volumen • Gesamtes Elutionsvolumen	• 200 µl • 10 µl • 100 µl	• PCR-Eingangsvolumen für die Elution • Volumen PCR-Mix • Häufigkeit der Kontrollen	• 20 µl • 20 µl • 15 Tage
--	---	---	---

Leistungsdaten für ELITe InGenius und ELITe BeGenius

Matrix	Nachweisgrenze		Diagnostische Sensitivität	Diagnostische Spezifität
	IU/ml	Kopien/ml		
Vollblut	125	250	100 %	100 %
Fruchtwasser	40	40	100 %	100 %

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 gehandhabt und unter den folgenden Bedingungen entnommen, transportiert und aufbewahrt wurden, bestimmt:

Tabelle 31

Probe	Anforderungen an die Entnahme	Transport-/Lagerbedingungen			
		+16 / +26 °C (Raumtemperatur)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Vollblut	EDTA	≤ 24 Stunden	≤ 3 Tage	≤ 30 Tage	≤ 30 Tage
Fruchtwasser	ohne Konservierungsmittel entnommen	≤ 4 Stunden	≤ 4 Stunden	≤ 30 Tage	≤ 30 Tage

ELiTe InGenius-Verfahren

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

Vor der Analyse

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

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

1. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen	2. Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingang: „200 µL“, Elutionsvolumen: „100 µL“	3. Die Proben-Barcodes mit dem tragbaren Barcodeleser scannen oder die Proben-ID eingeben
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: PVB19 ELiTe_WB_200_100 oder PVB19 ELiTe_AF_200_100	5. Die Methode „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) und die „Sample Position“ (Probenposition) auswählen: Primärröhrchen oder 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)-Racks und Primärproben-Racks	8. Tür schließen. Analyselauf starten	9. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern

HINWEIS!

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

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

1. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen	2. Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingangsvolumen: „200 µL“, Elutionsvolumen: „100 µL“	3. Die Proben-Barcodes mit dem tragbaren Barcodeleser scannen oder die Proben-ID eingeben
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: PVB19 ELITE_PC und PVB19 ELITE_NC, oder PVB19 ELITE_STD oder PVB19 ELITE_WB_200_100 oder PVB19 ELITE_AF_200_100	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. Kalibratoren überprüfen: Q-PCR Standard im Menü „Calibration“ (Kalibrierung). Kontrollen überprüfen: Positive Control und Negative Control im Menü „Controls“ (Kontrollen). Hinweis: Alle müssen ausgeführt und genehmigt worden sein und dürfen nicht abgelaufen sein.	3. Die PCR Mix- und CTRCPE- Röhrchen auftauen. Vorsichtig vortexen. 5 Sek. herunterzentrifugieren.
--	---	--

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

1. Auf dem Touchscreen „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen und anschließend auf den Laufmodus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) klicken.	2. Das Sample Rack (Probenständer) mit den barcodierten Proben in die Cooler Unit einsetzen. Der Barcode-Scan ist bereits aktiv	3. Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingang: „200 µL“, Elutionsvolumen: „100 µL“
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: PVB19 ELITE_Be_WB_200_100 oder PVB19 ELITE_Be_AF_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 Rack“ (Extraktionsrack) mit den „ELITE InGenius SP 200“ Extraktionskartuschen und die für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden	8. Tür schließen. Analyselauf starten	9. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern

HINWEIS!

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

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

1. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen	2. Die barcodierten Röhrchen mit der extrahierten Nukleinsäure oder dem Standard oder den Kontrollen in das Elution Rack (Elutionsablage) laden und in die „Cooler Unit“ einsetzen.	3. Bei Standards und Kontrollen: Für jede „Position“ unter „Reagent name“ den Reagenznamen, unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben. Bei Eluaten: Für jede „Position“ die Proben-ID („Sample ID“), die Probenmatrix („Sample Matrix“), das Extraktionskit („Extraction Kit“) und das extrahierte Eluatvolumen („Extracted eluate vol.“) eingeben.
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: PVB19 ELITE_Be_PC und PVB19 ELITE_Be_NC, oder PVB19 ELITE_Be_STD oder PVB19 ELITE_Be_WB_200_100 oder PVB19 ELITE_Be_AF_200_100	5. Das komplette Reaktionsgemisch in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsrack) laden und in die Cooler Unit einsetzen.	6. „PCR Rack“ mit „PCR Cassette“(PCR-Kassette) laden.
7. Tür schließen. Analyselauf starten.	8. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern.	



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