



ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185
10149 Torino ITALIA

Uffici: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76 11
E-mail: emd.support@elitechgroup.com
Sito internet: www.elitechgroup.com

NOTICE of CHANGE dated 16/09/2021

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«MDR/MTB ELITe MGB Kit» Ref. RTS120ING

This new revision of the Instruction for Use (IFU) contains the following change:

- *Correction of Tm value of katG probe for INH negative resistance.*

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

PLEASE NOTE



LA REVISIONE DI QUESTO IFU E' COMPATIBILE ANCHE CON LA VERSIONE PRECEDENTE DEL KIT



THE REVIEW OF THIS IFU IS ALSO COMPATIBLE WITH THE PREVIOUS VERSION OF THE KIT



CET IFU MIS A JOUR ANNULE ET REMPLACE ET EST PARFAITEMENT COMPATIBLE AVEC LA VERSION PRECEDENTE DU KIT



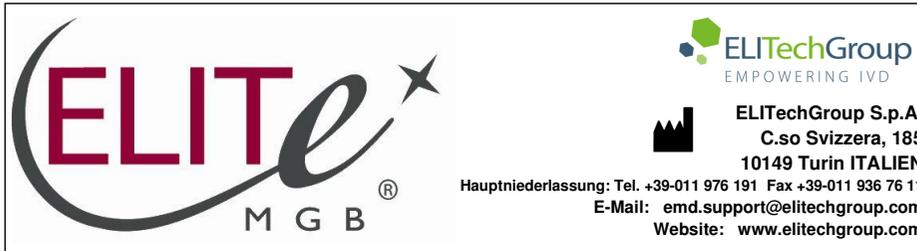
LA REVISIÓN DE ESTE IFU ES COMPATIBLE TAMBIÉN CON LA VERSIÓN ANTERIOR DEL KIT



A REVISÃO DO ESTE IFU ÉTAMBÉM COMPATÍVEL COM A VERSÃO ANTERIOR DO KIT



DIESE FASSUNG DER GEBRAUCHSANLEITUNG IST KOMPATIBEL MIT DER VORHERIGEN VERSION DES TESTKITS



MDR/MTB ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die DNA-Amplifikation in Echtzeit

REF RTS120ING

TESTPRINZIPIEN

Der Assay besteht aus einer Multiplex-Echtzeit-Amplifikationsreaktion, die mit **ELITe InGenius**, einem automatisierten und integrierten System zur Extraktion, zur Amplifikation, zum Nachweis sowie zur Ergebnisinterpretation, durchgeführt wird.

Zum ausschließlichen Zweck des Nachweises von Tuberkulose und der Identifizierung der genotypischen Resistenz des MTB-Komplexes werden ausgehend von der aus jeder zu untersuchenden Probe extrahierten DNA im selben Analyselauf zwei Amplifikationsreaktionen unter Verwendung des TB1 PCR Mix und des TB2 PCR Mix in zwei PCR-Kassetten durchgeführt.

Das **TB1 PCR Mix** Teströhrchen amplifiziert die folgenden Zielsequenzen:

- eine Region der sich wiederholenden Sequenz IS6110, die mit einer spezifischen Sonde (Kanal MTB) nachgewiesen wird, um den MTB-Komplex zu identifizieren,
- die 81-bp-Hotspot-Region des rpoB-Gens, die mit drei spezifischen Sonden (Kanäle rpoB2, rpoB3 und rpoB4) nachgewiesen wurde, um die genotypische Resistenz gegen Rifampicin zu ermitteln.

Das **TB2 PCR Mix** Teströhrchen amplifiziert die folgenden Zielsequenzen:

- die 81-bp-Hotspot-Region des rpoB-Gens, die mit einer spezifischen Sonde (Kanal rpoB1) nachgewiesen wurde, um die genotypische Resistenz gegen Rifampicin zu ermitteln,
- die Region von Codon 315 des katG-Gens, die mit einer spezifischen Sonde (Kanal katG) nachgewiesen wurde, um die genotypische Resistenz gegen Isoniazid zu ermitteln,
- die -15 / -8-Promoter-Region des inhA-Gens, die mit einer spezifischen Sonde (Kanal inhA) nachgewiesen wurde, um die genotypische Resistenz gegen Isoniazid zu ermitteln,

Außerdem wird die exogene Internal Control im TB1 PCR Mix und TB2 PCR Mix amplifiziert. Die Internal Control basiert auf einer künstlichen Sequenz (IC2) und wird durch eine spezifische Sonde (Kanal IC) nachgewiesen.

Die Sonden mit ELITe MGB®-Technologie werden aktiviert, wenn sie mit dem spezifischen Produkt der Amplifikationsreaktion hybridisieren. Die Fluoreszenzemission wird vom Gerät gemessen und aufgezeichnet.

Am Ende des Amplifikationszyklus analysiert das Gerät ELITe InGenius automatisch:

- Fluoreszenzkurven, um die „Schwellenwertzyklen“ (Ct) für den Nachweis des MTB-Komplexes zu berechnen,
- Dissoziationskurven, um die Schmelztemperaturen (Tm) zu berechnen, anhand derer das Vorhandensein normaler und/oder mutierter Zielgene (rpoB, katG und inhA) identifiziert werden kann.

Der Assay wurde mit dem System **ELITe InGenius** validiert. Als Ausgangsmaterial wurden zuvor verflüssigte, dekontaminierte und inaktivierte Sputumproben, bronchoalveoläre Lavagen (BAL), Bronchialaspirat (BA), Urin, Hohlraumflüssigkeiten, Biopsien und Magenaspirate verwendet.

PRODUKTBESCHREIBUNG

Das Produkt „**MDR/MTB ELITe MGB® Kit**“ enthält zwei **gebrauchsfertige** Komplettgemische für die Echtzeit-Amplifikation, TB1 PCR Mix und TB2 PCR Mix, die **jeweils in vier Teströhrchen aliquotiert sind**. Jedes Röhrchen enthält **280 µl** Lösung, die bei Verwendung mit dem Gerät **ELITe InGenius** für **12 Tests** unter optimalen Reagenzverbrauchsbedingungen (mindestens 2 Proben pro Lauf) ausreicht.

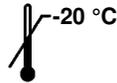
Der **TB1 PCR Mix** enthält die spezifischen Primer und Sonden für:

- die wiederholte Sequenz des **IS6110 MTB-Komplexes**. Die Sonde (MTB) ist mit FAM-Fluorophor markiert, durch die MGB®-Gruppe stabilisiert und durch einen nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht.
- die 81 bp-Hotspot-Region des **rpoB**-Gens. Die Sonden (rpoB2, rpoB3 und rpoB4) sind mit des Fluorophoren AP639, AP525 bzw. AP593 markiert, durch die MGB®-Gruppe stabilisiert und durch einen nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht,
- die künstliche Sequenz **IC2** der Internal Control. Die Sonde (IC) ist mit AP680-Fluorophor markiert, durch die MGB®-Gruppe stabilisiert und durch einen nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht.

MDR/MTB ELITe MGB® Kit

Reagenzien für die DNA-Amplifikation in Echtzeit

REF RTS120ING



INHALTSVERZEICHNIS

VERWENDUNGSZWECK

TESTPRINZIPIEN

PRODUKTBESCHREIBUNG

IM LIEFERUMFANG DES PRODUKTS ENTHALTENE MATERIALIEN

BENÖTIGTE MATERIALIEN (NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN)

SONSTIGE BENÖTIGTE PRODUKTE

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

PROBEN UND KONTROLLEN

VERFAHREN

LEISTUNGSMERKMALE

QUELLENANGABEN

GRENZEN DES VERFAHRENS

FEHLERBEHEBUNG

SYMBOLE

HINWEIS AN DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ

Seite 1

Seite 2

Seite 3

Seite 3

Seite 3

Seite 4

Seite 5

Seite 7

Seite 15

Seite 28

Seite 28

Seite 29

Seite 30

Seite 31

VERWENDUNGSZWECK

Das „**MDR/MTB ELITe MGB® Kit**“ ist Teil eines qualitativen Nukleinsäure-Amplifikationstests zum Nachweis der DNA des *Mycobacterium tuberculosis*-Komplexes (*M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. canettii*, *M. microti*, *M. caprae*) und zur Identifizierung der wichtigsten Mutationen im Zusammenhang mit der Resistenz gegen Rifampicin und/oder Isoniazid.

Der Assay muss mit dem System **ELITe InGenius®** durchgeführt werden. Als Ausgangsmaterial werden zuvor verflüssigte, dekontaminierte und inaktivierte Sputumproben, Bronchialaspirat (BA), bronchoalveoläre Lavagen (BAL), Urin, Hohlraumflüssigkeiten, Biopsien und Magenaspirate verwendet.

Das Produkt kann für zwei verschiedene Zwecke verwendet werden:

- als Hilfsmittel bei der Diagnose von Tuberkulose durch den *Mycobacterium tuberculosis*-Komplex, in Verbindung mit den klinischen Daten des Patienten und anderen Labortestergebnissen, insbesondere den Kulturmethoden für *Mycobacterium*,
- als Hilfsmittel bei der Diagnose von Tuberkulose und der genotypischen Resistenz des *Mycobacterium tuberculosis*-Komplexes, in Verbindung mit den klinischen Daten des Patienten und anderen Labortestergebnissen, insbesondere der phänotypischen Untersuchung der Antibiotikaempfindlichkeit.

MDR/MTB ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die DNA-Amplifikation in Echtzeit

REF RTS120ING

- Der **TB2 PCR Mix** enthält die spezifischen Primer und die Sonde für:
- die 81 bp-Hotspot-Region des **rpoB**-Gens. Die Sonde (rpoB1) ist mit AP639-Fluorophor markiert, durch die MGB®-Gruppe stabilisiert und durch einen nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht.
 - die Codon 315-Region des **katG**-Gens. Die Sonde (katG) ist mit FAM-Fluorophor markiert, durch die MGB®-Gruppe stabilisiert und durch einen nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht,
 - die -15 / -8-Region des Promotors des **inhA**-Gens. Die Sonde (inhA) ist mit AP593-Fluorophor markiert, durch die MGB®-Gruppe stabilisiert und durch einen nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht,
 - die künstliche Sequenz **IC2** der Internal Control. Die Sonde (IC) ist mit AP680-Fluorophor markiert, durch die MGB®-Gruppe stabilisiert und durch einen nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht.

PCR Mix TB1 und PCR Mix TB2 enthalten Puffer, Magnesiumchlorid, Nukleotidtriphosphate, Stabilisatoren und das Enzym DNA-Polymerase mit thermischer Aktivierung (Warmstart).

Das Produkt reicht aus für **48 Tests mit ELITe InGenius** einschließlich Kontrollen.

IM LIEFERUMFANG DES PRODUKTS ENTHALTENE MATERIALIEN

Komponente	Beschreibung	Menge	Risikoklassifizierung
TB1 PCR Mix	Komplettes Reaktionsgemisch ROTTER Verschluss	4 x 280 µl	-
TB2 PCR Mix	Komplettes Reaktionsgemisch WEISSER Verschluss	4 x 280 µl	-

BENÖTIGTE MATERIALIEN (NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN)

- Laminar-Flow-Haube.
- Puderfreie Einweghandschuhe aus Nitril oder einem ähnlichen Material.
- Vortex-Mixer.
- Tisch-Mikrozentrifuge (12.000–14.000 U/min).
- Mikropipetten und sterile Spitzen mit Aerosolfilter oder sterile Direktverdrängerspitzen (2–20 µl, 5–50 µl, 50–200 µl, 200–1000 µl).
- Hochreines Wasser für die Molekularbiologie.

SONSTIGE BENÖTIGTE PRODUKTE

Die Reagenzien für die Extraktion von DNA aus den zu analysierenden Proben, die interne Extraktions- und Inhibitionskontrolle, die Amplifikations-Positive-Control und die Verbrauchsmaterialien sind **nicht** in diesem Produkt enthalten.

Für die automatische DNA-Extraktion, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation von Proben werden das Gerät „**ELITe InGenius**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT030) und die folgenden spezifischen Assay-Protokolle benötigt:

- Parameter für die Amplifikation der Positive Control „**MDR-MTB ELITe_PC**“,
- Parameter für die Amplifikation der Negative Control „**MDR-MTB ELITe_NC**“,
- Parameter für zu analysierende Proben „**MDR-MTB ELITe_SP_200_100**“, „**MDR-MTB ELITe_BAL_200_100**“, „**MDR-MTB ELITe_U_200_100**“, „**MDR-MTB ELITe_CL_200_100**“, „**MDR-MTB ELITe_B_200_100**“, „**MDR-MTB ELITe_GA_200_100**“.

Bei dem Gerät „**ELITe InGenius**“ werden die folgenden generischen Produkte benötigt:

- Extraktionskartuschen „**ELITe InGenius® SP 200**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT032SP200),
- Verbrauchsmaterialien für die Extraktion und Amplifikation „**ELITe InGenius® SP 200 Consumable Set**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT032CS),

MDR/MTB ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die DNA-Amplifikation in Echtzeit

REF RTS120ING

- Amplifikationskartuschen „**ELITe InGenius® PCR Cassette**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT035PCR),
- Spitzen „**300 µL Filter tips Axygen**“ (Axygen BioScience Inc., CA, Art.-Nr. TF-350-L-R-S),
- Abfallboxen „**ELITe InGenius® Waste Box**“ (ELITechGroup S.p.A, Art.-Nr. F2102-000).

Als Vorlage für die Internal Control der Extraktion und Inhibition wird das generische Produkt „**CPE - Internal Control**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. CTCPE) benötigt. Dabei handelt es sich um eine stabilisierte Lösung, die Plasmid-DNAs und die genomische RNA des Phagen enthält.

Als Vorlage für die Positive Control der Amplifikation wird das spezifische Produkt „**MDR MTB - ELITe Positive Control**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. CTR120ING), benötigt. Dabei handelt es sich um eine stabilisierte Lösung mit Plasmid-DNAs.

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Dieses Produkt ist ausschließlich für die *In-vitro*-Anwendung bestimmt.

Allgemeine Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Klinische Proben von Patienten mit Verdacht auf Tuberkulose müssen gemäß den staatlichen oder örtlichen Sicherheitsvorschriften (Arbeitsumgebung und Personalschulung) gehandhabt werden.

Klinische Proben von Patienten mit Verdacht auf Tuberkulose müssen vor der Verwendung in Verbindung mit ELITe InGenius inaktiviert werden.

Alle biologischen Proben sind so zu handhaben und zu entsorgen, als wären sie potenziell infektiös. Direkten Kontakt mit den biologischen Proben vermeiden. Verspritzen und Aerosolbildung vermeiden. Die Materialien, die mit den biologischen Proben in Kontakt kommen, müssen vor der Entsorgung eine Stunde bei 121 °C autoklaviert werden.

Alle zur Durchführung des Tests verwendeten Reagenzien und Materialien sind so zu handhaben und zu entsorgen, als wären sie potenziell 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.

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 mit dem Produkt bereitgestellten Anweisungen aufmerksam lesen.

Während der Durchführung des Assays alle mit dem Produkt bereitgestellten Anweisungen befolgen.

Das Produkt darf nach Ablauf des angegebenen Ablaufdatums nicht mehr verwendet werden.

Es dürfen nur die mit dem Produkt bereitgestellten und vom Hersteller empfohlenen Reagenzien verwendet werden.

Reagenzien von anderen Chargen dürfen nicht verwendet werden.

Reagenzien von anderen Herstellern dürfen nicht verwendet werden.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen für molekularbiologische Anwendungen

Molekularbiologische Verfahren dürfen nur von qualifizierten und geschulten Fachkräften durchgeführt werden, um fehlerhafte Ergebnisse zu vermeiden, insbesondere im Hinblick auf die Zersetzung der in den Proben enthaltenen Nukleinsäuren oder die Kontamination der Proben durch Amplifikationsprodukte.

Für die Einrichtung des Arbeitslaufs werden dafür vorgesehene Laborkittel, Schutzhandschuhe und Hilfsmittel benötigt.

Die Proben müssen geeignet und möglichst für diese Art der Analyse bestimmt sein. Inaktivierte Proben müssen unter einer Sicherheitswerkbank gehandhabt werden. Die zur Verarbeitung der Proben verwendeten Pipetten dürfen ausschließlich für diesen Zweck verwendet werden. Die Pipetten müssen nach dem Verdrängungsprinzip arbeiten oder in Verbindung mit Aerosol-Filterspitzen verwendet werden. Die verwendeten Spitzen müssen steril, frei von DNasen und RNasen sowie frei von DNA und RNA sein.

Die PCR Cassettes müssen so gehandhabt werden, dass die Diffusion von Amplifikationsprodukten in die Umgebung so weit wie möglich reduziert wird, um eine Kontamination der Proben und Reagenzien zu vermeiden.

Komponentenspezifische Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

PCR Mix TB1 und PCR Mix TB2 müssen bei -20 °C dunkel aufbewahrt werden.

Der **PCR Mix TB1** und der **PCR Mix TB2** dürfen maximal **sieben Mal** eingefroren und wieder aufgetaut werden; weitere Gefrier- und Auftauzyklen können zu einem Verlust der Produktleistung führen.

PROBEN UND KONTROLLEN

Proben

Dieses Produkt darf ausschließlich mit den folgenden klinischen Proben verwendet werden:

Sputumproben

Sputumproben für die DNA-Extraktion von müssen gemäß den Laborrichtlinien für die Mykobakteriologie entnommen und identifiziert werden. Sie dürfen maximal zwei Tage bei +2 bis +8 °C transportiert und aufbewahrt werden. Die Proben müssen mit einer N-Acetyl-L-Cystein-Lösung verflüssigt und mit Natronlauge dekontaminiert werden (Mycobacteriology Laboratory Manual, Global Laboratory Initiative). Die verflüssigten und dekontaminierten Proben müssen anschließend 30 Minuten bei 95 °C inaktiviert werden. Vor der Analyse mit diesem Produkt müssen 0,2 ml inaktivierte Probe in das im „**ELITE InGenius SP 200 Consumable Set**“ enthaltene „**Sonication tube**“ (Ultraschallröhrchen) überführt werden.

Verflüssigte und dekontaminierte Sputumproben dürfen tiefgefroren bei -20 °C für maximal einen Monat oder bei -70 °C für längere Zeit aufbewahrt werden. Gefrier- und Auftauzyklen vermeiden.

Hinweis: Für die Durchführung der DNA-Extraktion aus Sputumproben mit **ELITE InGenius** und der **ELITE InGenius Software** Version 1.3 (oder spätere Versionen), das Assay-Protokoll **MDR-MTB ELITE_SP_200_100** verwenden. Dieses Protokoll verarbeitet 200 µl Probe, fügt die **CPE - Internal Control** bei 10 µl/Extraktion hinzu und eluiert die Nukleinsäuren in 100 µl.

Bronchoalveoläre Lavage (BAL), Bronchialaspirat (BA)

BAL/BA-Proben für die DNA-Extraktion von müssen gemäß den Laborrichtlinien für die Mykobakteriologie entnommen und identifiziert werden. Sie dürfen maximal zwei Tage bei +2 bis +8 °C transportiert und aufbewahrt werden. Die Proben müssen mit einer N-Acetyl-L-Cystein-Lösung verflüssigt und mit Natronlauge dekontaminiert werden (Mycobacteriology Laboratory Manual, Global Laboratory Initiative). Die verflüssigten und dekontaminierten Proben müssen anschließend 30 Minuten bei 95 °C inaktiviert werden. Vor der Analyse mit diesem Produkt müssen 0,2 ml inaktivierte Probe in das im „**ELITE InGenius SP 200 Consumable Set**“ enthaltene „**Sonication tube**“ (Ultraschallröhrchen) überführt werden.

Verflüssigte und dekontaminierte BAL/BA-Proben dürfen tiefgefroren bei -20 °C für maximal einen Monat oder bei -70 °C für längere Zeit aufbewahrt werden. Gefrier- und Auftauzyklen vermeiden.

Hinweis: Für die Durchführung der DNA-Extraktion aus BAL/BA-Proben mit **ELITE InGenius** und der **ELITE InGenius Software** Version 1.3 (oder spätere Versionen), das Assay-Protokoll **MDR-MTB ELITE_BAL_200_100** verwenden. Dieses Protokoll verarbeitet 200 µl Probe, fügt die **CPE - Internal Control** bei 10 µl/Extraktion hinzu und eluiert die Nukleinsäuren in 100 µl.

Urin

Urinproben für die DNA-Extraktion von müssen gemäß den Laborrichtlinien für die Mykobakteriologie entnommen und identifiziert werden. Sie dürfen maximal zwei Tage bei +2 bis +8 °C transportiert und aufbewahrt werden. Die Proben müssen konzentriert und mit Natronlauge dekontaminiert werden (Mycobacteriology Laboratory Manual, Global Laboratory Initiative). Die konzentrierten und dekontaminierten Proben müssen anschließend 30 Minuten bei 95 °C inaktiviert werden. Vor der Analyse mit diesem Produkt müssen 0,2 ml inaktivierte Probe in das im „**ELITE InGenius SP 200 Consumable Set**“ enthaltene „**Sonication tube**“ (Ultraschallröhrchen) überführt werden.

Konzentrierte und dekontaminierte Urinproben dürfen tiefgefroren bei -20 °C für maximal einen Monat oder bei -70 °C für längere Zeit aufbewahrt werden. Gefrier- und Auftauzyklen vermeiden.

Hinweis: Für die Durchführung der DNA-Extraktion aus Urinproben mit **ELITE InGenius** und der **ELITE InGenius Software** Version 1.3 (oder spätere Versionen), das Assay-Protokoll **MDR-MTB ELITE_U_200_100** verwenden. Dieses Protokoll verarbeitet 200 µl Probe, fügt die **CPE - Internal Control** bei 10 µl/Extraktion hinzu und eluiert die Nukleinsäuren in 100 µl.

Hohlraumflüssigkeiten

Hohlraumflüssigkeitsproben für die DNA-Extraktion von müssen gemäß den Laborrichtlinien für die Mykobakteriologie entnommen und identifiziert werden. Sie dürfen maximal zwei Tage bei +2 bis +8 °C transportiert und aufbewahrt werden. Die Proben müssen konzentriert und mit Natronlauge dekontaminiert werden (Mycobacteriology Laboratory Manual, Global Laboratory Initiative). Die konzentrierten und dekontaminierten Proben müssen anschließend 30 Minuten bei 95 °C inaktiviert werden. Vor der Analyse mit diesem Produkt müssen 0,2 ml inaktivierte Probe in das im „**ELITE InGenius SP 200 Consumable Set**“ enthaltene „**Sonication tube**“ (Ultraschallröhrchen) überführt werden.

Konzentrierte und dekontaminierte Hohlraumflüssigkeitsproben dürfen tiefgefroren bei -20 °C für maximal einen Monat oder bei -70 °C für längere Zeit aufbewahrt werden. Gefrier- und Auftauzyklen vermeiden.

Hinweis: Für die Durchführung der DNA-Extraktion aus Hohlraumflüssigkeitsproben mit **ELITE InGenius** und der **ELITE InGenius Software** Version 1.3 (oder spätere Versionen), das Assay-Protokoll **MDR-MTB ELITE_CL_200_100** verwenden. Dieses Protokoll verarbeitet 200 µl Probe, fügt die **CPE - Internal Control** bei 10 µl/Extraktion hinzu und eluiert die Nukleinsäuren in 100 µl.

Biopsien

Biopsieproben für die DNA-Extraktion von müssen gemäß den Laborrichtlinien für die Mykobakteriologie entnommen und identifiziert werden. Sie dürfen maximal zwei Tage bei +2 bis +8 °C transportiert und aufbewahrt werden. Die Proben gemäß den Laborverfahren zerlegen und mit Natronlauge dekontaminieren (Mycobacteriology Laboratory Manual, Global Laboratory Initiative). Die dekontaminierten Proben müssen anschließend 30 Minuten bei 95 °C inaktiviert werden. Vor der Analyse mit diesem Produkt müssen 0,2 ml inaktivierte Probe in das im „**ELITE InGenius SP 200 Consumable Set**“ enthaltene „**Sonication tube**“ (Ultraschallröhrchen) überführt werden.

Dekontaminierte Biopsieproben dürfen tiefgefroren bei -20 °C für maximal einen Monat oder bei -70 °C für längere Zeit aufbewahrt werden. Gefrier- und Auftauzyklen vermeiden.

Hinweis: Für die Durchführung der DNA-Extraktion aus Biopsieproben mit **ELITE InGenius** und der **ELITE InGenius Software** Version 1.3 (oder spätere Versionen), das Assay-Protokoll **MDR-MTB ELITE_B_200_100** verwenden. Dieses Protokoll verarbeitet 200 µl Probe, fügt die **CPE - Internal Control** bei 10 µl/Extraktion hinzu und eluiert die Nukleinsäuren in 100 µl.

Magenaspirate

Magenaspiratproben für die DNA-Extraktion von müssen gemäß den Laborrichtlinien für die Mykobakteriologie entnommen und identifiziert werden. Sie dürfen maximal zwei Tage bei +2 bis +8 °C transportiert und aufbewahrt werden. Die Proben müssen mit einer N-Acetyl-L-Cystein-Lösung verflüssigt und mit Natronlauge dekontaminiert werden (Mycobacteriology Laboratory Manual, Global Laboratory Initiative). Die verflüssigten und dekontaminierten Proben müssen anschließend 30 Minuten bei 95 °C inaktiviert werden. Vor der Analyse mit diesem Produkt müssen 0,2 ml inaktivierte Probe in das im „**ELITE InGenius SP 200 Consumable Set**“ enthaltene „**Sonication tube**“ (Ultraschallröhrchen) überführt werden.

Verflüssigte und dekontaminierte Magenaspirtproben dürfen tiefgefroren bei -20 °C für maximal einen Monat oder bei -70 °C für längere Zeit aufbewahrt werden. Gefrier- und Auftauzyklen vermeiden.

Hinweis: Für die Durchführung der DNA-Extraktion aus Magenaspirtproben mit **ELITE InGenius** und der **ELITE InGenius Software** Version 1.3 (oder spätere Versionen), das Assay-Protokoll **MDR-MTB ELITE_GA_200_100** verwenden. Dieses Protokoll verarbeitet 200 µl Probe, fügt die **CPE - Internal Control** bei 10 µl/Extraktion hinzu und eluiert die Nukleinsäuren in 100 µl.

Störende Substanzen

Verfügbare Daten zu einer Inhibition durch Arzneimittel und andere Substanzen sind im Abschnitt „Störende Substanzen“ des Kapitels „Leistungsmerkmale“ aufgeführt.

Amplifikationskontrollen

Vor der Analyse von Proben ist es unbedingt erforderlich, die Amplifikationskontrollen für die verwendete Amplifikationsreagenz-Charge zu generieren und zu genehmigen:

- als Amplifikations-Positive Control ist das Reagenz **TB Positive Control** (nicht im Lieferumfang dieses Kits enthalten) zusammen mit dem Protokoll **MDR-MTB ELITE_PC** zu verwenden,
- als Amplifikations-Negative Control (**TB Negative Control**) ist hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) zusammen mit dem Protokoll **MDR-MTB ELITE_NC** zu verwenden.

Hinweis: Das System **ELITe InGenius** benötigt für jede in seiner Datenbank gespeicherte Amplifikationsreagenzcharge genehmigte und gültige Ergebnisse aus Amplifikationskontrollen. Die genehmigten und in der Datenbank gespeicherten Ergebnisse der Amplifikationskontrolle laufen **nach 15 Tagen** ab. Am Ablaufdatum müssen die Positiv- und die Negativkontrolle zusammen mit der Amplifikationsreagenzcharge erneut verarbeitet werden. Darüber hinaus müssen die Amplifikationskontrollen erneut generiert werden, wenn:

- eine neue Charge von Amplifikationsreagenzien gestartet wird,
- die Ergebnisse von Qualitätskontrollen (siehe nächster Abschnitt) außerhalb der Spezifikation liegen,
- eine größere Wartung am **ELITe InGenius**-Gerät durchgeführt wird.

Qualitätskontrollen

Die geplante Validierung des Extraktions- und Amplifikationsverfahrens wird empfohlen. Es können getestete Proben oder zertifiziertes Referenzmaterial verwendet werden.

VERFAHREN

Das beim Gebrauch des **MDR/MTB ELITe MGB® Kit** mit dem System **ELITe InGenius** anzuwendende Verfahren besteht aus drei Schritten:

- Prüfung der Systembereitschaft,
- Einrichtung des Laufs,
- Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse.

Prüfung der Systembereitschaft

Vor Beginn des Laufs gemäß der Gerätedokumentation muss Folgendes durchgeführt werden:

- das **ELITe InGenius**-Gerät einschalten und den Anmeldemodus „CLOSED“ (geschlossen) auswählen.
- prüfen, ob die Amplifikationskontrollen (Controls, TB Positive Control, TB Negative Control) zusammen mit der zu verwendenden Amplifikationsreagenzcharge ausgeführt wurden und genehmigte und gültige Ergebnisse (Status) vorliegen. Liegen keine genehmigten oder gültigen Amplifikationskontrollergebnisse vor, sind diese wie in den folgenden Abschnitten zu generieren,
- den Typ des Laufs auswählen, dazu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche zur Einrichtung des Laufs befolgen und die von ELITechGroup S.p.A. bereitgestellten Assay Protocols verwenden. Diese IVD-Protokolle wurden speziell mit ELITe MGB® Kits, dem Gerät **ELITe InGenius** und der genannten Matrix validiert.

Die mit dem Produkt **MDR/MTB ELITe MGB® Kit** verfügbaren Assay-Protokolle sind in der nachfolgenden Tabelle beschrieben:

Assay-Protokoll für das Produkt MDR/MTB ELITe MGB® Kit zum Nachweis von Tuberkulose und zur Identifizierung der genotypischen Resistenz des MTB-Komplexes			
Name	Matrix	Verhältnis der Einheiten	Features
MDR-MTB ELITe_SP_200_100	Sputum	Positiv / negativ / Resistenz-positiv / Resistenz-negativ	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Internal Control: 10 µl Sonifikation: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
MDR-MTB ELITe_BAL_200_100	BAL/BA	Positiv / negativ / Resistenz-positiv / Resistenz-negativ	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Internal Control: 10 µl Sonifikation: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl

Assay-Protokoll für das Produkt MDR/MTB ELITe MGB® Kit zum Nachweis von Tuberkulose und zur Identifizierung der genotypischen Resistenz des MTB-Komplexes			
Name	Matrix	Verhältnis der Einheiten	Features
MDR-MTB ELITe_U_200_100	Urin	Positiv / negativ / Resistenz-positiv / Resistenz-negativ	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Internal Control: 10 µl Sonifikation: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
MDR-MTB ELITe_CL_200_100	Hohlraum flüssigkeiten	Positiv / negativ / Resistenz-positiv / Resistenz-negativ	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Internal Control: 10 µl Sonifikation: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
MDR-MTB ELITe_B_200_100	Biopsien	Positiv / negativ / Resistenz-positiv / Resistenz-negativ	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Internal Control: 10 µl Sonifikation: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
MDR-MTB ELITe_GA_200_100	Magenaspirate	Positiv / negativ / Resistenz-positiv / Resistenz-negativ	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Internal Control: 10 µl Sonifikation: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl

Hinweis: Für Assays zum Nachweis von Tuberkulose und zur Identifizierung der genotypischen Resistenz des MTB-Komplexes werden **TB1 PCR Mix** und **TB2 PCR Mix** benötigt.

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

Einrichtung des Laufs

Das Produkt **MDR/MTB ELITe MGB® Kit** kann mit dem System **ELITe InGenius** für die Durchführung der folgenden Läufe verwendet werden:

- A. Integrierter Lauf (Extraktion + PCR),
- B. Amplifikationslauf (nur PCR),
- C. Amplifikationslauf für die Positiv- und Negativkontrolle (nur PCR).

Alle für den Lauf benötigten Parameter sind in dem auf dem Gerät verfügbaren Assay Protocol enthalten und werden bei Auswahl des Assay Protocol automatisch abgerufen.

Hinweis: Das System **ELITe InGenius** kann mit dem Laborinformationssystem (LIS, Laboratory Information System) verbunden werden, über das die Arbeitslauf-Informationen gesendet werden können. Weitere Informationen finden Sie im Benutzerhandbuch des Geräts.

Die wichtigsten Schritte für die Einrichtung der drei Durchlaufarten sind nachfolgend beschrieben.

A. Integrierter Lauf

Zur Einrichtung eines integrierten Laufs mit Probenextraktion und -amplifikation führen Sie die folgenden Schritte durch, wie auf der grafischen Benutzeroberfläche angegeben:

1. Die Teströhrchen mit dem TB1 PCR Mix und dem TB2 PCR Mix auftauen. Jedes Teströhrchen reicht aus für 12 Reaktionen unter optimalen Reagenzverbrauchsbedingungen (mindestens 2 Proben pro Lauf). Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.

Hinweis: Die Teströhrchen mit dem TB1 PCR Mix und dem TB2 PCR Mix im Dunkeln auftauen, da diese Reagenzien lichtempfindlich sind.

2. Die CPE-Teströhrchen für den Lauf auftauen. Jedes Teströhrchen reicht aus für 12 Extraktionen. Vorsichtig mischen, die Teströhrchen 5 Sekunden zentrifugieren.
3. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
4. Sicherstellen, dass „Extraction Input Volume“ (Extraktionseingangsvolumen) auf 200 µl und „Extracted Elute Volume“ (extrahierte Elutionsvolumen) auf 100 µl eingestellt sind.
5. Für jede relevante Spur unter „SampleID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.
6. Das zu verwendende Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ auswählen (z. B. MDR-MTB ELITe_SP_200_100).
7. Sicherstellen, dass unter „Protocol“ (Protokoll) Folgendes angezeigt wird: „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR).
8. Die Proben-Ladepositionen in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) auswählen und „Extraction Tube“ (Extraktionsröhrchen) auswählen: Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
9. CPE und TB1 PCR Mix und den TB2 PCR Mix auf den unter „Inventory Block“ (Bestandsblock) ausgewählten Bestandsblock laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf die Schaltfläche „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
10. Die Spitzenständer in den unter „Inventory Area“ (Bestandsbereich) ausgewählten Bestandsbereich laden und kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf die Schaltfläche „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
11. Die PCR-Kassetten („PCR Cassettes“), die Extraktionskartuschen „ELITe InGenius SP 200“, alle benötigten Verbrauchsmaterialien und die zu extrahierenden Proben laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
12. Die Gerätetür schließen.
13. Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

Nach Beendigung des Vorgangs ermöglicht das System **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“ (Elutionsröhrchen) aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen, gekennzeichnet und bei -20 °C gelagert werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

Hinweis: Am Ende des Laufs müssen die PCR-Kassetten („PCR Cassettes“) mit den Reaktionsprodukten und die Verbrauchsmaterialien aus dem Gerät entfernt und ohne Kontamination der Umwelt entsorgt werden. Ein Verschütten der Reaktionsprodukte vermeiden.

Hinweis: Die PCR Mixe können für bis zu 7 Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden im gekühlten Block des Geräts verbleiben.

B. Amplifikationslauf

Zum Einrichten eines Amplifikationslaufs ab den extrahierten Nukleinsäuren die folgenden Schritte ausführen, wie auf der grafischen Benutzeroberfläche angegeben:

1. Die Teströhrchen mit dem TB1 PCR Mix und dem TB2 PCR Mix auftauen. Jedes Teströhrchen reicht aus für 12 Reaktionen unter optimalen Reagenzverbrauchsbedingungen (mindestens 2 Proben pro Lauf). Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.

Hinweis: Die Teströhrchen mit dem TB1 PCR Mix und dem TB2 PCR Mix im Dunkeln auftauen, da diese Reagenzien lichtempfindlich sind.

2. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
3. Selbst wenn keine Extraktion durchgeführt wird, sicherstellen, dass das Extraktionseingangsvolumen („Extraction Input Volume“) 200 µl und das extrahierte Eluatvolumen 100 µl beträgt.

4. Für jede relevante Spur die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.
5. Das zu verwendende Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ auswählen (z. B. MDR-MTB ELITe_SP_200_100).
6. In der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) auswählen.
7. Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr. (untere Reihe)) lautet. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
8. TB1 PCR Mix und den TB2 PCR Mix auf den unter „Inventory Block“ (Bestandsblock) ausgewählten Bestandsblock laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
9. Die Spitzenständer in den unter „Inventory Area“ (Bestandsbereich) ausgewählten Bestandsbereich laden und kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
10. Die PCR-Kassette („PCR Cassettes“) und die extrahierte Nukleinsäure-Proben gemäß den Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche laden. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
11. Die Gerätetür schließen.
12. Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

Nach Beendigung des Vorgangs ermöglicht das System **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“ (Elutionsröhrchen) aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und bei -20 °C gelagert werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

Hinweis: Am Ende des Laufs müssen die PCR-Kassetten („PCR Cassettes“) mit den Reaktionsprodukten und die Verbrauchsmaterialien aus dem Gerät entfernt und ohne Kontamination der Umwelt entsorgt werden. Ein Verschütten der Reaktionsprodukte vermeiden.

Hinweis: Die PCR Mixe können für bis zu 7 Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden im gekühlten Block des Geräts verbleiben.

C. Amplifikationslauf für Positive Control und Negative Control

Zur Einrichtung des Amplifikationslaufs für die Positive Control und Negative Control führen Sie die folgenden Schritte durch, wie auf der grafischen Benutzeroberfläche angegeben:

1. Die Teströhrchen mit dem TB1 PCR Mix und dem TB2 PCR Mix auftauen. Jedes Teströhrchen reicht aus für 12 Reaktionen unter optimalen Reagenzverbrauchsbedingungen (mindestens 2 Proben pro Lauf). Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.

Hinweis: Die Teströhrchen mit dem TB1 PCR Mix und dem TB2 PCR Mix im Dunkeln auftauen, da diese Reagenzien lichtempfindlich sind.

2. Das TB Positive Control Röhrchen für den Lauf auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 2 Läufe. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
3. Mindestens 100 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie in ein Elutionsröhrchen (im Lieferumfang des ELITe InGenius SP 200 Consumable Set enthalten) überführen.
4. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
5. Selbst wenn keine Extraktion durchgeführt wird, sicherstellen, dass das Extraktionseingangsvolumen („Extraction Input Volume“) 200 µl und das extrahierte Eluatvolumen 100 µl beträgt.
6. In der relevanten Spur das zu verwendende Assay Protocol in der Spalte „Assay“ auswählen.
7. Für die Positive Control MDR-MTB ELITe_PC in der Spalte „Assay“ auswählen und die Chargennummer und das Ablaufdatum für die TB Positive Control eintragen.
8. Für die Negative Control MDR-MTB ELITe_NC in der Spalte „Assay“ auswählen und die Chargennummer und das Ablaufdatum für das hochreine Wasser für die Molekularbiologie eintragen.
9. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.

10. TB1 PCR Mix und den TB2 PCR Mix auf den unter „Inventory Block“ (Bestandsblock) ausgewählten Bestandsblock laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
11. Die Spitzenständer in den unter „Inventory Area“ (Bestandsbereich) ausgewählten Bestandsbereich laden und kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
12. „PCR Cassettes“ (PCR-Kassetten), das Röhrchen TB Positive Control und das Röhrchen für die Negative Control gemäß den Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche laden. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
13. Die Gerätetür schließen.
14. Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

Nach Beendigung des Vorgangs ermöglicht das System **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 Positive Control aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und bei -20 °C gelagert werden. Ein Verschütten der Positive Control vermeiden. Die übrige Negative Control muss entsorgt werden.

Hinweis: Am Ende des Laufs müssen die PCR-Kassetten („PCR Cassettes“) mit den Reaktionsprodukten und Verbrauchsmaterialien aus dem Gerät entfernt und ohne Kontamination der Umwelt entsorgt werden. Ein Verschütten der Reaktionsprodukte vermeiden.

Hinweis: Die PCR Mixe können für bis zu 7 Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden im gekühlten Block des Geräts verbleiben.

Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

Am Ende des Laufs wird der Bildschirm „Results Display“ (Ergebnisanzeige) automatisch angezeigt. Auf diesem Bildschirm werden die Proben-/Kontrollergebnisse sowie die Informationen zum Lauf angezeigt. Über diesen Bildschirm kann das Ergebnis genehmigt und können die Berichte („Sample Report“ (Probenbericht) oder „Track Report“ (Spurbericht)) ausgedruckt oder gespeichert werden. Weitere Informationen finden Sie im Benutzerhandbuch des Geräts.

Hinweis: Das **ELITe InGenius** System kann mit dem Laborinformationssystem (LIS, Laboratory Information System) verbunden werden, über das die Arbeitslauf-Ergebnisse an das Rechenzentrum des Labors gesendet werden können. Weitere Informationen finden Sie im Benutzerhandbuch des Geräts.

Nachweis von Tuberkulose und Identifizierung der genotypischen Resistenz des MTB-Komplexes

Das **ELITe InGenius** System generiert die Ergebnisse mithilfe des Produkts **MDR/MTB ELITe MGB® Kit** und geht dabei folgendermaßen vor:

- A. Validierung der Ergebnisse des Amplifikationslaufs für die Positive Control und Negative Control,
- B. Validierung der Probenergebnisse,
- C. Ausgabe des Probenergebnisberichts.

A. Validierung der Ergebnisse des Amplifikationslaufs für die Positive Control und Negative Control

Die von den Zielsonden (MTB, rpoB1, rpoB2, rpoB3, rpoB4, katG und inhA) in den Amplifikationsreaktionen der Positive Control und Negative Control ausgesendeten Fluoreszenzsignale werden automatisch analysiert und von der Gerätesoftware mit den in den Assay-Protokollen „MDR-MTB ELITe_PC“ und „MDR-MTB ELITe_NC“ enthaltenen Parametern interpretiert.

Die Ergebnisse des Amplifikationslaufs für die Positive Control und Negative Control, die für die verwendete Amplifikationsreagenziencharge spezifisch sind, werden in der Datenbank („Controls“) gespeichert. Sie können von Mitarbeitern mit der Qualifikation „Administrator“ oder „Analyst“ unter Befolgung der Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche angezeigt und genehmigt werden.

Hinweis: Die Positive Control und die Negative Control werden in Verbindung mit dem TB1 PCR-Mix und dem TB2 PCR-Mix verarbeitet. Daher müssen die Kontrollergebnisse für beide PCR-Mixe genehmigt werden. Standardmäßig zeigt die grafische Benutzeroberfläche die Kontrollergebnisse für den TB1 PCR-Mix (Kontrollen) an. Durch Klicken auf das Assay-Feld wird das Assay-Fenster geöffnet und der TB2 PCR Mix kann ausgewählt werden, um die zugehörigen Kontrollergebnisse zu genehmigen.

Die für die Amplifikationsreagenziencharge spezifischen Ergebnisse der Amplifikation für die Positive Control und Negative Control laufen **nach 15 Tagen** ab.

Die Ergebnisse der Amplifikationsläufe für die Positive Control und Negative Control werden von der Gerätesoftware verwendet, um die Regelkarten („Control Charts“) einzurichten. Hierzu sind mindestens vier Ergebnisse der Positive Control und Negative Control aus vier verschiedenen Läufen erforderlich. Anschließend werden die Ergebnisse der Positive Control und der Negative Control zur Überwachung der Leistung der Amplifikationsstufen herangezogen. Weitere Informationen finden Sie im Benutzerhandbuch des Geräts.

Hinweis: Erfüllt das Ergebnis des Amplifikationslaufs für die Positive Control bzw. Negative Control nicht die Annahmekriterien, wird die Meldung „Failed“ (nicht bestanden) im Bildschirm „Controls“ angezeigt und das Ergebnis kann nicht genehmigt werden. In diesem Fall müssen die Amplifikationsreaktionen der Positive Control bzw. Negative Control wiederholt werden.

Hinweis: Wird die Positive Control bzw. Negative Control zusammen mit zu testenden Proben ausgeführt und ist ihr Ergebnis ungültig, so ist der gesamte Lauf ungültig. In diesem Fall muss die Amplifikation aller Proben ebenfalls wiederholt werden.

B. Validierung der Probenergebnisse

Die von den Zielsonden (MTB, rpoB1, rpoB2, rpoB3, rpoB4, katG und inhA) und von der Sonde der Internal Control (IC) in den Amplifikationsreaktionen der Probe ausgesendeten Fluoreszenzsignale werden automatisch analysiert und von der Gerätesoftware mit den in den Assay-Protokollen MDR-MTB ELITe_SP_200_100, MDR-MTB ELITe_BAL_200_100, MDR-MTB ELITe_U_200_100, MDR-MTB ELITe_CL_200_100, MDR-MTB ELITe_B_200_100 und MDR-MTB ELITe_GA_200_100 enthaltenen Parametern interpretiert.

Die Ergebnisse werden in den vom Gerät generierten Berichten („Result Display“ (Ergebnisanzeige)) angezeigt.

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

1) Positive Control	Status
TB Positive Control	APPROVED (Genehmigt)
2) Negative Control	Status
TB Negative Control	APPROVED (Genehmigt)

Für jede Probe wird das Assay-Ergebnis automatisch vom System interpretiert, ausgehend von den Ct-Werten (für MTB-Komplex und IC) und den Tm-Werten (für MTB- und Resistenzanalyse), wie im Algorithmus der **ELITe InGenius Software** und den Parametern des Assay-Protokolls festgelegt.

Die folgende Tabelle zeigt die möglichen Meldungen für das Ergebnis des Nachweises des MTB-Komplexes.

Ergebnis eines Lauf zur Probe	Interpretation
MTB:DNA detected Typing as follow: (MTB: DNA nachgewiesen, Typisierung wie folgt:)	Die DNA des MTB-Komplexes wurde in der Probe in ausreichender Menge für die Durchführung der Antibiotikaresistenzanalyse nachgewiesen (siehe folgende Tabelle).
MTB:DNA detected Typing not feasible (MTB: DNA nachgewiesen, Typisierung nicht möglich)	Die DNA des MTB-Komplexes wurde in der Probe nachgewiesen , jedoch in nicht ausreichender Menge für die Durchführung der Antibiotikaresistenzanalyse
MTB: DNA not detected or below the LoD (MTB: DNA nicht erkannt oder unterhalb der Nachweisgrenze)	In der Probe wurde die DNA des MTB-Komplexes nicht nachgewiesen . Die Probe ist gültig negativ oder die Zielkonzentration ist niedriger als die Nachweisgrenze (LoD) des Tests.
Invalid - Retest Sample (Ungültig - Probe erneut testen)	Assayergebnis ungültig aufgrund von Problemen bei der Internal Control (falsche Extraktion oder Verschleppung von Inhibitoren). Der Test muss wiederholt werden.
Inconclusive – Retest Sample (Uneindeutig – Probe erneut testen)	Assayergebnis unbestimmt aufgrund von Problemen beim Nachweis des MTB-Komplexes. Der Test muss wiederholt werden.

Die möglichen Ergebnismeldungen zur Analyse auf Antibiotikaresistenz der Probe sind in der nachstehenden Tabelle aufgeführt.

Ergebnis eines Lauf zur Probe	Interpretation
RIF:Resistance Negative (RIF: Resistenz negativ)	Keine Mutationen in der analysierten rpoB-Genregion. Die Probe könnte sensibel gegenüber Rifampicin sein.
RIF:Resistance Positive: Probe/s (RIF: Resistenz negativ: Sonde/n)	Vorhandene Mutationen in der analysierten rpoB-Genregion. Die Probe könnte resistent gegenüber Rifampicin sein. Die Sonden, mit denen die Mutationen nachgewiesen wurden, sind in den Ergebnissen angegeben.
INH:Resistance Negative (INH: Resistenz negativ)	Keine Mutationen in den analysierten Genregionen katG und inhA. Die Probe könnte sensibel gegenüber Isoniazid sein.
INH:Resistance Positive: Probe/s (INH: Resistenz positiv: Sonde/n)	Vorhandene Mutationen in den analysierten Genregionen katG und inhA. Die Probe könnte resistent gegenüber Isoniazid sein. Die Sonden, mit denen die Mutationen nachgewiesen wurden, sind in den Ergebnissen angegeben.
RIF:Typing Invalid - Retest Sample (RIF: Typisierung ungültig - Probe erneut testen) INH:Typing Invalid - Retest Sample (RIF: Typisierung ungültig - Probe erneut testen)	Assayergebnis ungültig aufgrund von Problemen bei der Antibiotikaresistenzanalyse. Der Test muss wiederholt werden.

Wenn die DNA des MTB-Komplexes in der Probe nachgewiesen und die Analyse auf Antibiotikaresistenz durchgeführt wird, können Ergebnismeldungen in verschiedenen Kombinationen auftreten (z. B. MTB DNA Detected. Typing as follow: RIF Resistance Negative, INH Resistance Positive: katG, inhA) MTB-DNA erkannt. Typisierung wie folgt: RIF-Resistenz negativ, INH-Resistenz positiv: katG, inhA).

Von der **ELITe InGenius Software** als „MTB DNA Detected. Typing not feasible“ (MTB-DNA nachgewiesen. Typisierung nicht möglich) ausgegebene Proben eignen sich nicht für die Analyse auf Antibiotikaresistenz. In diesem Fall wurde die MTB-DNA zwar nachgewiesen, die DNA ist jedoch nicht ausreichend (MTB Ct > 31), um auf reproduzierbare Weise korrekte Ergebnisse zu erhalten. Dies ist auf eine niedrige MTB-Konzentration in der Probe oder auf Probleme beim Amplifikations- oder Extraktionsschritt (Abbau von DNA, Verlust von DNA während der Extraktion oder Verschleppung von Inhibitoren in das Eluat) zurückzuführen.

Hinweis: Wenn eine Probe als „MTB DNA Detected. Typing not feasible“ (MTB-DNA erkannt. Typisierung nicht möglich) ausgewiesen wird, kann der Tm-Wert der Zielsonden (rpoB1, rpoB2, rpoB3, rpoB4, katG, inhA) vom Bediener überprüft werden. Wenn alle Tm-Werte innerhalb der in der nachstehenden Tabelle für Wildtyp-Gene angegebenen Grenzwerte liegen, ist die Probe „RIF Resistance Negative“ (RIF-Resistenz negativ) und „INH Resistance Negative“ (INH-Resistenz negativ).

Sonde	Grenzen des Wildtyp-TM-Werts	Ergebnis
rpoB1	66,0 ≤ Tm ≤ 80,0	RIF Resistance Negative (RIF-Resistenz negativ)
rpoB2	70,0 ≤ Tm ≤ 80,0	
rpoB3	68,0 ≤ Tm ≤ 80,0	
rpoB4	63,5 ≤ Tm ≤ 80,0	
katG	70,0 ≤ Tm ≤ 80,0	INH Resistance Negative (RIF-Resistenz negativ)
inhA	66,0 ≤ Tm ≤ 80,0	

Von der **ELITe InGenius Software** als „Invalid - Retest Sample“ (Ungültig - Probe erneut testen) ausgegebene Proben sind nicht für die Ergebnisinterpretation geeignet. In diesem Fall wurde die Internal Control DNA aufgrund von Problemen beim Amplifikations- oder Extraktionsschritt nicht effizient erkannt (Abbau von DNA, Verlust von DNA während der Extraktion oder Verschleppung von Inhibitoren im Eluat), was zu falschen Ergebnissen führen kann.

Von der **ELITe InGenius Software** als „Inconclusive - Retest Sample“ (Uneindeutig - Probe erneut testen) ausgegebene Proben sind nicht für die Ergebnisinterpretation geeignet. In diesem Fall ist beim MTB-

Komplex-DNA-Nachweis ein Fehler aufgetreten, der auf Probleme beim Extraktions- oder dem Amplifikationsschritt zurückzuführen ist (Verschleppung von Inhibitoren in das Eluat, Verwechslung von PCR-Mixen), was zu falschen Ergebnissen führen kann.

Von der **ELITe InGenius Software** als „RIF Typing Invalid - Retest Sample“ (RIF: Typisierung ungültig - Probe erneut testen) und „INH Typing Invalid - Retest Sample“ (INH: Typisierung ungültig - Probe erneut testen) ausgegebene Proben eignen sich nicht für die Antibiotikaresistenzanalyse. In diesem Fall ist während des Antibiotikaresistenznachweises ein Fehler aufgetreten, der auf Probleme beim Extraktions- oder dem Amplifikationsschritt zurückzuführen ist (Verschleppung von Inhibitoren in das Eluat, Probleme bei der PCR-Einstellung), was zu falschen Ergebnissen führen kann. Jedoch **sind die Proben positiv für die MTB-Komplex-DNA**.

Wenn das Eluatvolumen ausreicht, kann die extrahierte Probe mithilfe eines Amplifikationslaufs im Modus „PCR Only“ (nur PCR) unverdünnt oder in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie im Verhältnis 1:3 verdünnt erneut getestet werden. Ist auch das zweite Ergebnis ungültig, muss die Probe beginnend mit der Extraktion eines neuen Aliquots im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) erneut getestet werden.

Von der **ELITe InGenius Software** als „MTB DNA detected Typing as follows: RIF Resistance Positive: rpoB2, rpoB3, rpoB4, rpoB1“ (MTB-DNA nachgewiesen, Typisierung wie folgt: RIF-Resistenz positiv: rpoB2, rpoB3, rpoB4 und rpoB1) ausgegebene Proben eignen sich nicht für die Analyse der Antibiotikaresistenz, da sie Mutationen für alle rpoB-Sonden nicht korrekt erkennen. In diesem Fall wurde zwar die MTB-DNA nachgewiesen, aber die Amplifikation des rpoB-Gens wurde gehemmt, was zu falschen Ergebnissen führte. Jedoch **sind die Proben positiv für die MTB-Komplex-DNA**.

Wenn das Eluatvolumen ausreicht, kann die extrahierte Probe mithilfe eines Amplifikationslaufs im Modus „PCR Only“ (nur PCR) unverdünnt oder in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie im Verhältnis 1:10 verdünnt erneut getestet werden. Ist auch das zweite Ergebnis ungültig, muss die Probe beginnend mit der Extraktion eines neuen Aliquots im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) erneut getestet werden.

Hinweis: Wenn ein Wiederholungstest erforderlich ist, berücksichtigen Sie bitte, dass der Test sowohl mit TB1 PCR Mix als auch mit TB2 PCR Mix durchgeführt wird und das Eluatvolumen daher für zwei Reaktionen ausreichen muss (mindestens 50 µl).

Als „MTB DNA Not Detected or below the LoD“ (MTB-DNA nicht nachgewiesen oder unter Nachweisgrenze) ausgegebene Proben sind für die Analyse geeignet, es war jedoch nicht möglich, MTB-Komplex-DNA nachzuweisen. In diesem Fall kann nicht ausgeschlossen werden, dass die MTB-Komplex-DNA bei einer Konzentration unter der Nachweisgrenze des Assays vorhanden ist (siehe „Leistungsmerkmale“).

Hinweis: Bei der Interpretation der mit diesem Assay erhaltenen Ergebnisse müssen alle klinischen Daten und sonstigen Laborbefunde des Patienten berücksichtigt werden, insbesondere der phänotypischen Untersuchung der Antibiotikaempfindlichkeit.

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

C. Ausgabe des Probenergebnisberichts

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

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

Der „Track Report“ zeigt die Details eines Arbeitslaufs sortiert nach ausgewählter Spur an.

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

LEISTUNGSMERKMALE

Nachweisgrenze (LoD)

Die Nachweisgrenze (LoD) des MDR/MTB ELITe MGB® Kit wurde in Kombination mit verflüssigten, dekontaminierten und inaktivierten Sputumproben und dem ELITe InGenius System ermittelt.

Die LoD wurde berechnet, indem ein Panel von Sputumproben getestet wurde, die als MTB-negativ zertifiziert und mit *Mycobacterium tuberculosis* (MTB)-Referenzmaterial, Stamm H37Ra (ATCC), dotiert waren, das durch Echtzeit-Amplifikation quantifiziert wurde. Es wurden neun Verdünnungsstufen von MTB hergestellt, die von 320 KbE/ml bis 1 KbE/ml reichten. Jede Verdünnungsstufe wurde in 12 Wiederholungen mit dem ELITe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die LoD wurde mithilfe der Probit-Regression als die Konzentration berechnet, die mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % positiv ist. Der geschätzte LoD-Wert wurde mittels Analyse von 20 Wiederholungen von Sputumproben, die mit MTB-Referenzmaterial in der behaupteten Konzentration dotiert waren, verifiziert. Darüber hinaus wurde derselbe LoD-Wert auch für die BAL/BA-Matrix mittels Analyse von 20 Wiederholungen von BAL/BA-Proben, die mit MTB-Referenzmaterial in der behaupteten Konzentration dotiert waren, verifiziert. Die erhaltenen Ergebnisse unterstützen den behaupteten LoD-Wert.

Der LoD-Wert in Verbindung mit Hohlraumflüssigkeits-, Urin- und Biopsieproben wurde mittels Analyse von 20 Wiederholungen jeder Matrix, die mit MTB-Referenzmaterial in einer Konzentration von 20 KbE/ml dotiert waren, verifiziert. Die erhaltenen Ergebnisse unterstützen den behaupteten LoD-Wert.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Nachweisgrenze mit dem ELITe InGenius System			
Matrix	LoD (KbE/ml)	Konfidenzintervall 95 % (KbE/ml)	
		Untere Grenze	Obere Grenze
Sputum	6	4	15
BAL/BA	6	-	-
Hohlraumflüssigkeit	20	-	-
Urin	20	-	-
Biopsie	20	-	-

Nachweis der Resistenz gegenüber Rifampicin und/oder Isoniazid

Der Nachweis der Resistenz gegen Rifampicin und/oder Isoniazid unter Verwendung des MDR/MTB ELITe MGB® Kit in Verbindung mit dem ELITe InGenius System wurde durch die Analyse einiger zertifizierter Proben von Genom-DNA aus antibiotikaresistenten MTB-Komplex-Isolaten (von einem externen Labor bereitgestellt) bewertet, die durch die in der folgenden Tabelle aufgeführten Mutationen charakterisiert sind.

Mutationen in der 81-Bp-Hotspot-Region des rpoBGens (Nummerierung der <i>E. coli</i>-Codons)
Q510L, L511P, L511R, Q513L, Q513P, M515I, D516V, D516Y, D516G, Q517P, S522L, S522P, H526L, H526Y, H526D, H526N, H526R, H526C, H526P, S531L, S531W, A532V, L533P
Mutationen in der Codon-315-Region des katG-Gens
S315N, S315T
Mutationen in der Promotor-Region des inhA-Gens
-15T, -8A, -8C, -7A

Die Proben von extrahierter DNA wurden verdünnt und mit dem ELITe InGenius System im Modus „PCR Only“ (nur PCR) analysiert.

Alle getesteten Isolate waren positiv für MTB und wurden mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit korrekt als resistent gegenüber Rifampicin und/oder Isoniazid typisiert.

Nachweiseffizienz (Inklusivität)

Die Effizienz des Nachweises der Mykobakterienarten, die im *Mycobacterium tuberculosis*-Komplex des MDR/MTB ELITe MGB® Kit enthalten sind, wurde mittels *In-silico*-Analyse von in der EBI ENA-Datenbank verfügbaren Sequenzen bewertet.

Die für die Hybridisierung der Primer und Fluoreszenzsonden ausgewählten Regionen wurden anhand der Anordnung der Sequenzen der Ziele MTB (IS6110), rpoB, katG und inhA, überprüft. Die Hybridisierungsregionen zeigten die Sequenzkonservierung und das Fehlen signifikanter Mutationen bei *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. canettii*, *M. microti* und *M. caprae*.

Die Effizienz des Nachweises der Mykobakterienarten, die im *Mycobacterium tuberculosis*-Komplex enthalten sind, wurde auch durch die Analyse eines Panels zertifizierter Genom-DNA von *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. canettii*, *M. microti* und *M. caprae* überprüft.

Die Proben von extrahierter DNA wurden verdünnt und mit dem ELITe InGenius System im Modus „PCR Only“ (nur PCR) analysiert.

Alle getesteten Isolate wurden mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit positiv auf MTB getestet.

Potenziell interferierende Marker

Die potenzielle Kreuzreaktivität mit anderen Zielsequenzen des MDR MTB ELITe MGB® Kit wurde mittels *In-silico*-Analyse der in der EBI ENA-Datenbank verfügbaren Sequenzen bewertet.

Die für die Hybridisierung der Primer und Fluoreszenzsonden ausgewählten Regionen wurden im Hinblick auf die Anordnung prokaryotischer Sequenzen, einschließlich nichttuberkulöser Mykobakterien (NTM) und anderer Organismen, die in klinischen Proben vorkommen könnten, überprüft. Die Hybridisierungsregionen zeigten das Fehlen signifikanter Homologien und deuteten nicht auf potenzielle Interferenzen hin.

Das Fehlen einer Kreuzreaktivität mit NTM wurde auch durch die Analyse ein Panel von zertifizierter Genom-DNA von *M. avium*, *M. gordonae*, *M. abscessus*, *M. intracellulare*, *M. fortuitum*, *M. kansasii*, *M. xenopi* und *M. chelonae* verifiziert. Zusätzlich wurde ein Panel von zertifizierter Genom-DNA anderer Organismen, die möglicherweise in Sputumproben vorhanden sind, analysiert: *Chlamydomydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Streptococcus pneumoniae* und *Haemophilus influenzae*.

Die Proben von extrahierter DNA wurden mit dem ELITe InGenius System im Modus „PCR Only“ (nur PCR) analysiert.

Alle Isolate wurden bei der Analyse mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit negativ auf MTB getestet.

Störende Substanzen

Ein Panel potenziell interferierender Substanzen in maximalen relevanten Konzentration wurde mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit getestet. Die getesteten Substanzen waren Antibiotika (Rifampicin und Isoniazid) und Sputumbestandteile (Mucin, humanes Vollblut).

Die Substanzen wurden einzeln zu MTB-negativen Sputumproben gegeben, die mit *Mycobacterium tuberculosis*-Referenzmaterial in einer Konzentration von ca. 2500 KbE/ml hinzugefügt wurden.

Die Proben wurden in 3 Wiederholungen mit dem ELITe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Substanz	Konzentration	Korrigierte Ergebnisse
Rifampicin	25 µg/ml	3/3
Isoniazid	50 µg/ml	3/3
Schweinemucin	2 Gew.-% (20 mg/ml)	3/3
Vollblut in EDTA	5 Vol.-%	3/3

Keine der getesteten Substanzen in der maximal relevanten Konzentration zeigte eine Interferenz mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit.

Wiederholpräzision

Die Wiederholpräzision der mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit in Kombination mit dem System ELITe InGenius erhaltenen Ergebnisse wurde durch Analyse von MTB-positiven und MTB-negativen Proben verifiziert.

Eine Probe von MTB-negativem Sputum, das mit *Mycobacterium tuberculosis*-Referenzmaterial in einer Konzentration von ca. 2500 Kbe/ml positiviert wurde, und eine Probe von MTB-negativem Sputum wurden in drei Wiederholungen in zwei Läufen pro Tag mit derselben Produktcharge (Wiederholpräzision innerhalb des Laufs) analysiert. Drei verschiedene Produktchargen wurden an drei verschiedenen Tagen (chargenübergreifende Wiederholpräzision) mit ein und demselben Gerät durch ein und denselben Bediener analysiert.

Die Proben wurden mit dem ELITe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet.

Die Ct-Werte des MTB-Komplex-Targets (IS6110) und des Internal Control-Targets (IC2) sowie die Tm-Werte aller Pathogen-Targets (IS6110, rpoB, katG und inhA) wurden zur Berechnung des prozentualen Variationskoeffizienten (VK %) verwendet, um die Wiederholpräzision, verstanden als Ungenauigkeit, zu bewerten.

Im Folgenden sind die Ergebnisse zusammengefasst.

Ziel	Wiederholpräzision innerhalb des Laufs		Chargenübergreifende Wiederholpräzision	
	Mittlerer Ct-Wert	KV % Ct	Mittlerer Ct-Wert	KV % Ct
MTB	30,29	0,92	30,43	1,09
IC (Interne Kontrolle)	29,11	1,91	29,89	2,54
Ziel	Mittlere Tm	VK % Tm	Mittlere Tm	VK % Tm
MTB	68,3	0,08	68,4	0,11
rpoB1	67,0	0,12	67,0	0,20
rpoB2	71,4	0,11	71,5	0,15
rpoB3	69,9	0,37	70,0	0,26
rpoB4	66,3	0,71	66,4	0,53
katG	70,8	0,08	70,8	0,13
inhA	67,7	0,24	67,0	0,20

Die Wiederholpräzision des MDR/MTB ELITe MGB® Kit für jede Zielsequenz wies einen VK % aus, der 3 % nicht überstieg.

Vergleichspräzision

Die Vergleichspräzision der mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit in Kombination mit dem System ELITe InGenius erhaltenen Ergebnisse wurde durch Analyse von MTB-positiven und MTB-negativen Proben verifiziert.

Eine Probe von MTB-negativem Sputum, das mit *Mycobacterium tuberculosis*-Referenzmaterial in einer Konzentration von ca. 2500 Kbe/ml positiviert wurde, und eine Probe von MTB-negativem Sputum wurden in drei Wiederholungen in zwei Läufen pro Tag analysiert. Drei verschiedene Produktchargen wurden an drei verschiedenen Tagen auf drei verschiedenen Geräten durch drei verschiedene Bediener analysiert.

Die Proben wurden mit dem ELITe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet.

Die Ct-Werte der MTB-Zielsequenz (IS6110) und der Internal Control-Zielsequenz (IC2) sowie die Tm-Werte aller Pathogen-Zielsequenzen (IS6110, rpoB, katG und inhA) wurden zur Berechnung des prozentualen Variationskoeffizienten (VK %) verwendet, um die Vergleichspräzision als Ungenauigkeit zu bewerten.

Im Folgenden sind die Ergebnisse zusammengefasst.

Ziel	Vergleichspräzision	
	Mittlerer Ct-Wert	KV % Ct
MTB	30,71	1,04
IC (Interne Kontrolle)	30,88	2,39
Ziel	Mittlere Tm	VK % Tm
MTB	68,4	0,23
rpoB1	66,9	0,19
rpoB2	71,5	0,21
rpoB3	70,0	0,30
rpoB4	66,4	0,51
katG	70,9	0,16
inhA	67,2	0,61

Die Vergleichspräzision des MDR/MTB ELITe MGB® Kit für jede Zielsequenz wies einen VK % aus, der 3 % nicht überstieg.

Sputum: Diagnostische Sensitivität und Spezifität

Die diagnostische Sensitivität des Assays, d. h. die Bestätigung positiver klinischer Proben, wurde durch die Analyse 50 klinischer Proben von durch Kulturmethoden getestetem, MTB-positivem Sputum bewertet.

Die diagnostische Spezifität des Assays, d. h. die Bestätigung negativer klinischer Proben, wurde anhand von 50 klinischen Proben von durch Kulturmethoden getestetem, MTB-negativem Sputum bewertet.

Die Sputumproben wurden entnommen, vorbehandelt (siehe „Proben und Kontrollen“), in Kultur gebracht und von einem externen Labor als MTB-positiv oder MTB-negativ zertifiziert. Die Proben wurden dann inaktiviert und mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit und dem ELITe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

MDR/MTB ELITe MGB Kit		Kultur		
		Pos.	Neg.	Gesamt
	Pos.	50	1	51
	Neg.	0	47	47
	Gesamt	50	48	98

Alle MTB-positiven Proben wurden mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit positiv getestet. Bei diesem Test beträgt die diagnostische Sensitivität 100 %.

Von den MTB-negativen Proben waren zwei Proben ungültig und wurden von der Analyse ausgeschlossen. Von den 48 gültigen Proben wurden 47 mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit negativ getestet. Das abweichend positive Ergebnis wurde durch erneutes Testen der Sputumprobe als positiv bestätigt. Bei diesem Test beträgt die diagnostische Spezifität 98 %.

Darüber hinaus wurden dieselben MTB-positiven und MTB-negativen Proben auch mit einem anderen CE-IVD-gekennzeichneten molekulardiagnostischen Test und mit der AFB-Abstrichmikroskopie untersucht.

Die klinischen Proben, die mit einem anderen molekulardiagnostischen Test mit EC-IVD-Kennzeichnung analysiert wurden, ergaben 50 MTB-positive und 50 MTB-negative Ergebnisse, wie beim Test durch Kulturmethoden. Die nachstehende Tabelle fasst den Vergleich der Ergebnisse mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit zusammen.

MDR/MTB ELITe MGB Kit		MDx CE-IVD-Assay		
		Pos.	Neg.	Gesamt
	Pos.	50	1	51
	Neg.	0	47	47
	Gesamt	50	48	98

Alle MTB-positiven Proben wurden mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit positiv getestet. Bei diesem Test beträgt die diagnostische Sensitivität 100 %.

Von den MTB-negativen Proben waren zwei Proben ungültig und wurden von der Analyse ausgeschlossen. Von den 48 gültigen Proben wurden 47 mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit negativ getestet. Das abweichend positive Ergebnis wurde durch erneutes Testen der Sputumprobe als positiv bestätigt. Bei diesen Tests beträgt die diagnostische Spezifität des Assays 98 %.

Von den mittels AFB-Abstrichmikroskopie getesteten klinischen Proben waren 44 MTB-positiv und 56 MTB-negativ. Die nachstehende Tabelle fasst den Vergleich der Ergebnisse mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit zusammen.

		AFB-Abstrichmikroskopie		
		Pos.	Neg.	Gesamt
MDR/MTB ELITe MGB Kit	Pos.	44	7	51
	Neg.	0	47	47
	Gesamt	44	54	98

Alle MTB-positiven Proben wurden mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit positiv getestet.

Von den MTB-negativen Proben waren zwei Proben ungültig und wurden von der Analyse ausgeschlossen. Von den 54 gültigen Proben wurden 47 mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit negativ getestet. Sechs von 7 abweichenden Proben wurden durch zwei andere Referenzmethoden (Kulturmethode und CE-IVD-gekennzeichneter molekulardiagnostischer Assay) als positiv bestätigt. Das letzte abweichend positive Ergebnis wurde durch erneutes Testen der Sputumprobe allein mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit als positiv bestätigt.

Sputum: Bestätigung von antibiotikaresistenten MTB-positiven Proben

Die diagnostische Sensitivität des Antibiotikaresistenztests zur Bestätigung von antibiotikaresistenten MTB-positiven Proben wurde durch die Analyse der folgenden Proben bewertet:

- 20 klinische Sputumproben, die mit einem gegen Rifampicin resistenten MTB-Isolat (rpoB-Genmutation) positiviert wurden,
- 20 klinische Sputumproben, die mit einem gegen Isoniazid resistenten MTB-Isolat (katG-Genmutation) positiviert wurden,
- 20 klinische Sputumproben, die mit einem gegen Isoniazid resistenten MTB-Isolat (inhA-Genmutation) positiviert wurden.

Klinische Proben von MTB-negativem Sputum wurden bei einer Endkonzentration von ca. 5000 KbE/ml mit MTB-Isolaten positiviert, die von einem externen Labor auf Mutationen in einem der drei Zielgene unter Verwendung eines CE-IVD-gekennzeichneter molekulardiagnostischer Assays zertifiziert worden waren. Die Proben wurden mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit und dem ELITe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	MTB-positiv	RIF-Res. (rpoB)	INH-Res. (katG)	INH-Res. (inhA)	Typisierung nicht möglich
MTB-positive Proben, resistent gegenüber Rifampicin (rpoB-Mutation)	20	20	0	0	0
MTB-positive Proben, resistent gegenüber Isoniazid (katG-Mutation)	20	0	17	0	3
MTB-positive Proben, resistent gegenüber Isoniazid (inhA-Mutation)	20	0	0	18	2

Alle Proben fielen MTB-positiv aus.

Alle Proben, die mit einem gegen Rifampicin resistenten MTB-Isolat (rpoB-Genmutation) positiviert waren, wurden korrekt als möglicherweise resistent gegen Rifampicin typisiert.

Siebzehn von 20 Proben, die mit einem gegen Isoniazid resistenten MTB-Isolat (katG-Genmutation) positiviert waren, wurden korrekt als möglicherweise resistent gegen Isoniazid typisiert. 3 Proben konnten aufgrund des geringen MTB-Signals nicht typisiert werden und wurden daher von der Analyse ausgeschlossen.

Achtzehn von 20 Proben, die mit einem gegen Isoniazid resistenten MTB-Isolat (inhA-Genmutation) positiviert waren, wurden korrekt als möglicherweise resistent gegen Isoniazid typisiert. 2 Proben konnten

aufgrund des geringen MTB-Signals nicht typisiert werden und wurden daher von der Analyse ausgeschlossen.

Bei diesen Tests beträgt die diagnostische Sensitivität des Antibiotikaresistenztests 100 %.

Sputum: Bestätigung von antibiotikaempfindlichen MTB-positiven Proben

Die diagnostische Spezifität des Antibiotikaresistenztests zur Bestätigung von antibiotikaempfindlichen MTB-positiven Proben wurde durch die Analyse von 50 klinischen Sputumproben mit positivem Befund für antibiotikaempfindliches MTB bewertet.

Die Sputumproben wurden entnommen, vorbehandelt (siehe „Proben und Kontrollen“), in Kultur gebracht und in einem Antibiotikaempfindlichkeitstest von einem externen Labor als MTB-positiv und Rifampicin-sensitiv zertifiziert. Die Proben wurden dann inaktiviert und mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit und dem ELITe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	MTB-positiv	RIF-Resistenz-negativ + INH-Resistenz-negativ	Typisierung nicht möglich
MTB-positive Proben, antibiotikaempfindlich	50	47	3

Alle Proben waren MTB-positiv, und 47 von 50 wurden korrekt als möglicherweise empfindlich gegenüber Rifampicin und Isoniazid typisiert. 3 Proben konnten aufgrund des geringen MTB-Signals nicht typisiert werden und wurden daher von der Analyse ausgeschlossen.

Bei diesem Test beträgt die diagnostische Spezifität des Antibiotikaresistenztests 100 %.

BAL/BA: Diagnostische Sensitivität und Spezifität

Die diagnostische Sensitivität des Assays, d. h. die Bestätigung positiver klinischer Proben, wurde durch die Analyse 6 klinischer Proben von durch Kulturmethoden getesteter, MTB-positiver BAL/BA und 40 positivierter klinischer BAL/BA-Proben bewertet.

Die diagnostische Spezifität des Assays, d. h. die Bestätigung negativer klinischer Proben, wurde anhand von 40 klinischen Proben von durch Kulturmethoden getesteter, MTB-negativer BAL/BA bewertet.

Die BAL/BA-Proben wurden entnommen, vorbehandelt (siehe „Proben und Kontrollen“), in Kultur gebracht und von einem externen Labor als MTB-positiv oder MTB-negativ zertifiziert. Positivierte Proben wurden mit antibiotikaempfindlichen MTB-Isolaten in einer Endkonzentration von ca. 20 KbE/ml versetzt. Die Proben wurden dann inaktiviert und mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit und dem ELITe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

		Kultur		
		Pos.	Neg.	Gesamt
MDR/MTB ELITe MGB Kit	Pos.	42	1	43
	Neg.	4	39	43
	Gesamt	46	40	86

Von den MTB-positiven oder -positivierten Proben wurden 42 von 46 Proben mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit positiv getestet. Bei diesem Test beträgt die diagnostische Sensitivität 91,3 %.

Bei den MTB-negativen Proben wurden 39 von 40 Proben mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit negativ getestet. Bei diesem Test beträgt die diagnostische Spezifität 97,5 %.

BAL/BA: Bestätigung von antibiotikaresistenten MTB-positiven Proben

Die diagnostische Sensitivität des Antibiotikaresistenztests zur Bestätigung von antibiotikaresistenten MTB-positiven Proben wurde durch die Analyse der folgenden Proben bewertet:

- 2 klinische BAL/BA-Proben, durch Kulturmethoden MTB-positiv getestet und resistent gegen Rifampicin und Isoniazid
- 40 klinische BAL/BA-Proben, positiviert mit einem gegen Rifampicin resistenten MTB-Isolat (rpoB-Genmutation),
- 40 klinische BAL/BA-Proben, die mit einem gegen Isoniazid resistenten MTB-Isolat (katG-Genmutation) positiviert wurden,
- 40 klinische BAL/BA-Proben, die mit einem gegen Isoniazid resistenten MTB-Isolat (inhA-Genmutation) positiviert wurden.

Klinische Proben von MTB-negativer BAL/BA wurden bei einer Endkonzentration von ca. 5000 Kbe/ml mit MTB-Isolaten positiviert, die von einem externen Labor auf Mutationen in einem der drei Zielgene unter Verwendung eines CE-IVD-gekennzeichneten molekulardiagnostischen Assays zertifiziert worden waren. Die Proben wurden mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit und dem ELITe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	MTB-positiv	RIF-Res. (rpoB)	INH-Res. (katG)	INH-Res. (inhA)	Typisierung nicht möglich
MTB-positive Proben, resistent gegenüber Rifampicin und Isoniazid	2	0	0	0	2
MTB-positive Proben, resistent gegenüber Rifampicin (rpoB-Mutation)	40	40	0	0	0
MTB-positive Proben, resistent gegenüber Isoniazid (katG-Mutation)	40	0	40	0	0
MTB-positive Proben, resistent gegenüber Isoniazid (inhA-Mutation)	40	0	0	39	1

Alle Proben, die mit einem gegen Rifampicin resistenten MTB-Isolat (rpoB-Genmutation) positiviert waren, wurden korrekt als möglicherweise resistent gegen Rifampicin typisiert.

Alle Proben, die mit einem gegen Isoniazid resistenten MTB-Isolat (katG-Genmutation) positiviert waren, wurden korrekt als möglicherweise resistent gegen Isoniazid typisiert.

Alle Proben, die mit einem gegen Isoniazid resistenten MTB-Isolat (inhA-Genmutation) positiviert waren, wurden korrekt als möglicherweise resistent gegen Isoniazid typisiert. 1 Probe konnte aufgrund des geringen MTB-Signals nicht typisiert werden und wurde daher von der Analyse ausgeschlossen.

Bei diesen Tests beträgt die diagnostische Sensitivität des Antibiotikaresistenztests 100 %.

BAL/BA: Bestätigung der Abwesenheit von Mutationen in MTB-positiven Proben

Die diagnostische Spezifität des Antibiotikaresistenztests zur Bestätigung von antibiotikaempfindlichen MTB-positiven Proben wurde durch die Analyse von 80 klinischen BAL/BA-Proben bewertet, die mit einem MTB-Isolat, das Träger einer Mutation, aber negativ für die beiden anderen Mutationen war, positiviert waren.

Klinische Proben von MTB-negativer BAL/BA wurden bei einer Endkonzentration von ca. 5000 Kbe/ml mit MTB-Isolaten positiviert, die von einem externen Labor auf Mutationen in einem der drei Zielgene unter Verwendung eines CE-IVD-gekennzeichneten molekulardiagnostischen Assays zertifiziert worden waren. Die Proben wurden mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit und dem ELITe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	MTB-positiv	RIF-sens. (rpoB)	INH-sens. (katG)	INH-sens. (inhA)	Typisierung nicht möglich
MTB-positive Proben, resistent gegenüber Rifampicin (rpoB-Mutation)	40	0	40	40	0
MTB-positive Proben, resistent gegenüber Isoniazid (katG-Mutation)	40	40	0	40	0
MTB-positive Proben, resistent gegenüber Isoniazid (inhA-Mutation)	40	39	39	0	1

Alle Proben, die mit einem MTB-Isolat mit einer Mutation des rpoB-Gens positiviert waren, wurden korrekt als nicht mutiert für die Gene katG und inhA typisiert.

Alle Proben, die mit einem MTB-Isolat mit einer Mutation des katG-Gens positiviert waren, wurden korrekt als nicht mutiert für die Gene rpoB und inhA typisiert.

Alle Proben, die mit einem MTB-Isolat mit einer Mutation des inhA-Gens positiviert waren, wurden korrekt als nicht mutiert für die Gene rpoB und katG typisiert. 1 Probe konnte aufgrund des geringen MTB-Signals nicht typisiert werden und wurde daher von der Analyse ausgeschlossen.

Bei diesem Test beträgt die diagnostische Spezifität des Antibiotikaresistenztests 100 %.

Urin: Diagnostische Sensitivität und Spezifität

Die diagnostische Sensitivität des Assays, d. h. die Bestätigung positiver klinischer Proben, wurde durch die Analyse 12 klinischer Proben von durch Kulturmethoden getesteter, MTB-positivem Urin und 8 positivierter klinischer Urinproben bewertet.

Die diagnostische Spezifität des Assays, d. h. die Bestätigung negativer klinischer Proben, wurde anhand von 20 klinischen Proben von durch Kulturmethoden getestetem, MTB-negativem Urin bewertet.

Die Urinproben wurden entnommen, vorbehandelt (siehe „Proben und Kontrollen“), in Kultur gebracht und von einem externen Labor als MTB-positiv oder MTB-negativ zertifiziert. Positivierte Proben wurden mit antibiotikaempfindlichen MTB-Isolaten in einer Endkonzentration von ca. 20 Kbe/ml versetzt. Die Proben wurden dann inaktiviert und mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit und dem ELITe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

MDR/MTB ELITe MGB Kit	Kultur		
	Pos.	Neg.	Gesamt
	Pos.	16	0
Neg.	4	20	24
Gesamt	20	20	40

Von den MTB-positiven oder -positivierten Proben wurden 16 von 20 Proben mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit positiv getestet. Bei diesem Test beträgt die diagnostische Sensitivität 80 %.

Von den MTB-negativen Proben wurden alle mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit negativ getestet. Bei diesem Test beträgt die diagnostische Spezifität 100 %.

Urin: Bestätigung von antibiotikaresistenten MTB-positiven Proben

Die diagnostische Sensitivität des Antibiotikaresistenztests zur Bestätigung von antibiotikaresistenten MTB-positiven Proben wurde durch die Analyse der folgenden Proben bewertet:

- 20 klinische Urinproben, die mit einem gegen Rifampicin resistenten MTB-Isolat (rpoB-Genmutation) positiviert wurden,
- 20 klinische Urinproben, die mit einem gegen Isoniazid resistenten MTB-Isolat (katG-Genmutation) positiviert wurden,
- 20 klinische Urinproben, die mit einem gegen Isoniazid resistenten MTB-Isolat (inhA-Genmutation) positiviert wurden.

Klinische Proben von MTB-negativem Urin wurden bei einer Endkonzentration von ca. 5000 Kbe/ml mit MTB-Isolaten positiviert, die von einem externen Labor auf Mutationen in einem der drei Zielgene unter Verwendung eines CE-IVD-gekennzeichneten molekulardiagnostischen Assays zertifiziert worden waren. Die Proben wurden mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit und dem ELITe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	MTB-positiv	RIF-Res. (rpoB)	INH-Res. (katG)	INH-Res. (inhA)	Typisierung nicht möglich
MTB-positive Proben, resistent gegenüber Rifampicin (rpoB-Mutation)	20	20	0	0	0
MTB-positive Proben, resistent gegenüber Isoniazid (katG-Mutation)	20	0	20	0	0
MTB-positive Proben, resistent gegenüber Isoniazid (inhA-Mutation)	20	0	0	20	0

Alle Proben, die mit einem gegen Rifampicin resistenten MTB-Isolat (rpoB-Genmutation) positiviert waren, wurden korrekt als möglicherweise resistent gegen Rifampicin typisiert.

Alle Proben, die mit einem gegen Isoniazid resistenten MTB-Isolat (katG-Genmutation) positiviert waren, wurden korrekt als möglicherweise resistent gegen Isoniazid typisiert.

Alle Proben, die mit einem gegen Isoniazid resistenten MTB-Isolat (inhA-Genmutation) positiviert waren, wurden korrekt als möglicherweise resistent gegen Isoniazid typisiert.

Bei diesen Tests beträgt die diagnostische Sensitivität des Antibiotikaresistenztests 100 %.

Urin: Bestätigung der Abwesenheit von Mutationen in MTB-positiven Proben

Die diagnostische Spezifität des Antibiotikaresistenztests zur Bestätigung von antibiotikaempfindlichen MTB-positiven Proben wurde durch die Analyse von 40 klinischen Urinproben bewertet, die mit einem MTB-Isolat, das Träger einer Mutation, aber negativ für die beiden anderen Mutationen war, positiviert waren.

Klinische Proben von MTB-negativem Urin wurden bei einer Endkonzentration von ca. 5000 Kbe/ml mit MTB-Isolaten positiviert, die von einem externen Labor auf Mutationen in einem der drei Zielgene unter Verwendung eines CE-IVD-gekennzeichneten molekulardiagnostischen Assays zertifiziert worden waren. Die Proben wurden mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit und dem ELITe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	MTB-positiv	RIF-sens. (rpoB)	INH-sens. (katG)	INH-sens. (inhA)	Typisierung nicht möglich
MTB-positive Proben, resistent gegenüber Rifampicin (rpoB-Mutation)	20	0	20	20	0
MTB-positive Proben, resistent gegenüber Isoniazid (katG-Mutation)	20	20	0	20	0
MTB-positive Proben, resistent gegenüber Isoniazid (inhA-Mutation)	20	20	20	0	0

Alle Proben, die mit einem MTB-Isolat mit einer Mutation des rpoB-Gens positiviert waren, wurden korrekt als nicht mutiert für die Gene katG und inhA typisiert.

Alle Proben, die mit einem MTB-Isolat mit einer Mutation des katG-Gens positiviert waren, wurden korrekt als nicht mutiert für die Gene rpoB und inhA typisiert.

Alle Proben, die mit einem MTB-Isolat mit einer Mutation des inhA-Gens positiviert waren, wurden korrekt als nicht mutiert für die Gene rpoB und katG typisiert.

Bei diesem Test beträgt die diagnostische Spezifität des Antibiotikaresistenztests 100 %.

Biopsie: Diagnostische Sensitivität und Spezifität

Die diagnostische Sensitivität des Assays, d. h. die Bestätigung positiver klinischer Proben, wurde durch die Analyse 22 klinischer Proben von durch Kulturmethoden getesteter, MTB-positiver Biopsieprobe und 20 positiver klinischer Biopsieproben bewertet.

Die diagnostische Spezifität des Assays, d. h. die Bestätigung negativer klinischer Proben, wurde anhand von 40 klinischen Proben von durch Kulturmethoden getesteter, MTB-negativer Biopsieprobe bewertet.

Die Biopsieproben wurden entnommen, vorbehandelt (siehe „Proben und Kontrollen“), in Kultur gebracht und von einem externen Labor als MTB-positiv oder MTB-negativ zertifiziert. Positivierte Proben wurden mit antibiotikaempfindlichen MTB-Isolaten in einer Endkonzentration von ca. 20 Kbe/ml versetzt. Die Proben wurden dann inaktiviert und mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit und dem ELITe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

		Kultur		
		Pos.	Neg.	Gesamt
MDR/MTB ELITe MGB Kit	Pos.	38	0	38
	Neg.	4	40	44
	Gesamt	42	40	82

Von den MTB-positiven oder -positivierten Proben wurden 38 von 42 Proben mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit positiv getestet. Bei diesem Test beträgt die diagnostische Sensitivität 90,5 %.

Von den MTB-negativen Proben wurden alle mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit negativ getestet. Bei diesem Test beträgt die diagnostische Spezifität 100 %.

Biopsie: Bestätigung von antibiotikaresistenten MTB-positiven Proben

Die diagnostische Sensitivität des Antibiotikaresistenztests zur Bestätigung von antibiotikaresistenten MTB-positiven Proben wurde durch die Analyse der folgenden Proben bewertet:

- 40 klinische Biopsieproben, die mit einem gegen Rifampicin resistenten MTB-Isolat (rpoB-Genmutation) positiviert wurden,
- 40 klinische Biopsieproben, die mit einem gegen Isoniazid resistenten MTB-Isolat (katG-Genmutation) positiviert wurden,
- 40 klinische Biopsieproben, die mit einem gegen Isoniazid resistenten MTB-Isolat (inhA-Genmutation) positiviert wurden.

MTB-negative klinische Biopsieproben wurden bei einer Endkonzentration von ca. 5000 Kbe/ml mit MTB-Isolaten positiviert, die von einem externen Labor auf Mutationen in einem der drei Zielgene unter Verwendung eines CE-IVD-gekennzeichneten molekulardiagnostischen Assays zertifiziert worden waren. Die Proben wurden mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit und dem ELITe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	MTB-positiv	RIF-Res. (rpoB)	INH-Res. (katG)	INH-Res. (inhA)	Typisierung nicht möglich
MTB-positive Proben, resistent gegenüber Rifampicin (rpoB-Mutation)	40	40	0	0	0
MTB-positive Proben, resistent gegenüber Isoniazid (katG-Mutation)	40	0	40	0	0
MTB-positive Proben, resistent gegenüber Isoniazid (inhA-Mutation)	40	0	0	40	0

Alle Proben, die mit einem gegen Rifampicin resistenten MTB-Isolat (rpoB-Genmutation) positiviert waren, wurden korrekt als möglicherweise resistent gegen Rifampicin typisiert.

Alle Proben, die mit einem gegen Isoniazid resistenten MTB-Isolat (katG-Genmutation) positiviert waren, wurden korrekt als möglicherweise resistent gegen Isoniazid typisiert.

Alle Proben, die mit einem gegen Isoniazid resistenten MTB-Isolat (inhA-Genmutation) positiviert waren, wurden korrekt als möglicherweise resistent gegen Isoniazid typisiert.

Bei diesen Tests beträgt die diagnostische Sensitivität des Antibiotikaresistenztests 100 %.

Biopsie: Bestätigung der Abwesenheit von Mutationen in MTB-positiven Proben

Die diagnostische Spezifität des Antibiotikaresistenztests zur Bestätigung von antibiotikaempfindlichen MTB-positiven Proben wurde durch die Analyse von 80 klinischen Biopsieproben bewertet, die mit einem MTB-Isolat, das Träger einer Mutation, aber negativ für die beiden anderen Mutationen war, positiviert waren.

MTB-negative klinische Biopsieproben wurden bei einer Endkonzentration von ca. 5000 Kbe/ml mit MTB-Isolaten positiviert, die von einem externen Labor auf Mutationen in einem der drei Zielgene unter Verwendung eines CE-IVD-gekennzeichneten molekulardiagnostischen Assays zertifiziert worden waren. Die Proben wurden mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit und dem ELITe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	MTB-positiv	RIF-sens. (rpoB)	INH-sens. (katG)	INH-sens. (inhA)	Typisierung nicht möglich
MTB-positive Proben, resistent gegenüber Rifampicin (rpoB-Mutation)	40	0	40	40	0
MTB-positive Proben, resistent gegenüber Isoniazid (katG-Mutation)	40	40	0	40	0
MTB-positive Proben, resistent gegenüber Isoniazid (inhA-Mutation)	40	40	40	0	0

Alle Proben, die mit einem MTB-Isolat mit einer Mutation des rpoB-Gens positiviert waren, wurden korrekt als nicht mutiert für die Gene katG und inhA typisiert.

Alle Proben, die mit einem MTB-Isolat mit einer Mutation des katG-Gens positiviert waren, wurden korrekt als nicht mutiert für die Gene rpoB und inhA typisiert.

Alle Proben, die mit einem MTB-Isolat mit einer Mutation des inhA-Gens positiviert waren, wurden korrekt als nicht mutiert für die Gene rpoB und katG typisiert.

Bei diesem Test beträgt die diagnostische Spezifität des Antibiotikaresistenztests 100 %.

Hohlraumflüssigkeiten: Diagnostische Sensitivität und Spezifität

Die diagnostische Sensitivität des Assays, d. h. die Bestätigung positiver klinischer Proben, wurde durch die Analyse 20 klinischer durch Kulturmethoden getesteter, MTB-positiver Hohlraumflüssigkeitsproben und 20 positiver klinischer Hohlraumflüssigkeitsproben bewertet.

Die diagnostische Spezifität des Assays, d. h. die Bestätigung negativer klinischer Proben, wurde anhand von 40 klinischen Proben von durch Kulturmethoden getesteter, MTB-negativer Hohlraumflüssigkeitsprobe bewertet.

Die Hohlraumflüssigkeitsproben wurden entnommen, vorbehandelt (siehe „Proben und Kontrollen“), in Kultur gebracht und von einem externen Labor als MTB-positiv oder MTB-negativ zertifiziert. Positivierte Proben wurden mit antibiotikempfindlichen MTB-Isolaten in einer Endkonzentration von ca. 20 Kbe/ml versetzt. Die Proben wurden dann inaktiviert und mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit und dem ELITe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

		Kultur		
		Pos.	Neg.	Gesamt
MDR/MTB ELITe MGB Kit	Pos.	39	0	39
	Neg.	1	40	41
	Gesamt	40	40	80

Von den MTB-positiven oder -positivierten Proben wurden 39 von 40 Proben mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit positiv getestet. Bei diesem Test beträgt die diagnostische Sensitivität 97,5 %.

Von den MTB-negativen Proben wurden alle mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit negativ getestet. Bei diesem Test beträgt die diagnostische Spezifität 100 %.

Hohlraumflüssigkeiten: Bestätigung von antibiotikaresistenten MTB-positiven Proben

Die diagnostische Sensitivität des Antibiotikaresistenztests zur Bestätigung von antibiotikaresistenten MTB-positiven Proben wurde durch die Analyse der folgenden Proben bewertet:

- 40 klinische Hohlraumflüssigkeitsproben, die mit einem gegen Rifampicin resistenten MTB-Isolat (rpoB-Genmutation) positiviert wurden,
- 40 klinische Hohlraumflüssigkeitsproben, die mit einem gegen Isoniazid resistenten MTB-Isolat (katG-Genmutation) positiviert wurden,
- 40 klinische Hohlraumflüssigkeitsproben, die mit einem gegen Isoniazid resistenten MTB-Isolat (inhA-Genmutation) positiviert wurden.

MTB-negative klinische Hohlraumflüssigkeitsproben wurden bei einer Endkonzentration von ca. 5000 Kbe/ml mit MTB-Isolaten positiviert, die von einem externen Labor auf Mutationen in einem der drei Zielgene unter Verwendung eines CE-IVD-gekennzeichneten molekular diagnostischen Assays zertifiziert worden waren. Die Proben wurden mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit und dem ELITe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	MTB-positiv	RIF-Res. (rpoB)	INH-Res. (katG)	INH-Res. (inhA)	Typisierung nicht möglich
MTB-positiv Proben, resistent gegenüber Rifampicin (rpoB-Mutation)	40	40	0	0	0
MTB-positiv Proben, resistent gegenüber Isoniazid (katG-Mutation)	40	0	40	0	0
MTB-positiv Proben, resistent gegenüber Isoniazid (inhA-Mutation)	40	0	0	40	0

Alle Proben, die mit einem gegen Rifampicin resistenten MTB-Isolat (rpoB-Genmutation) positiviert waren, wurden korrekt als möglicherweise resistent gegen Rifampicin typisiert.

Alle Proben, die mit einem gegen Isoniazid resistenten MTB-Isolat (katG-Genmutation) positiviert waren, wurden korrekt als möglicherweise resistent gegen Isoniazid typisiert.

Alle Proben, die mit einem gegen Isoniazid resistenten MTB-Isolat (inhA-Genmutation) positiviert waren, wurden korrekt als möglicherweise resistent gegen Isoniazid typisiert.

Bei diesen Tests beträgt die diagnostische Sensitivität des Antibiotikaresistenztests 100 %.

Hohlraumflüssigkeiten: Bestätigung der Abwesenheit von Mutationen in MTB-positiven Proben

Die diagnostische Spezifität des Antibiotikaresistenztests zur Bestätigung von antibiotikempfindlichen MTB-positiven Proben wurde durch die Analyse von 80 klinischen Hohlraumflüssigkeitsproben bewertet, die mit einem MTB-Isolat, das Träger einer Mutation, aber negativ für die beiden anderen Mutationen war, positiviert waren.

MTB-negative klinische Hohlraumflüssigkeitsproben wurden bei einer Endkonzentration von ca. 5000 Kbe/ml mit MTB-Isolaten positiviert, die von einem externen Labor auf Mutationen in einem der drei Zielgene unter Verwendung eines CE-IVD-gekennzeichneten molekular diagnostischen Assays zertifiziert worden waren. Die Proben wurden mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit und dem ELITe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	MTB-positiv	RIF-sens. (rpoB)	INH-sens. (katG)	INH-sens. (inhA)	Typisierung nicht möglich
MTB-positiv Proben, resistent gegenüber Rifampicin (rpoB-Mutation)	40	0	40	40	0
MTB-positiv Proben, resistent gegenüber Isoniazid (katG-Mutation)	40	40	0	40	0
MTB-positiv Proben, resistent gegenüber Isoniazid (inhA-Mutation)	40	40	40	0	0

Alle Proben, die mit einem MTB-Isolat mit einer Mutation des rpoB-Gens positiviert waren, wurden korrekt als nicht mutiert für die Gene katG und inhA typisiert.

Alle Proben, die mit einem MTB-Isolat mit einer Mutation des katG-Gens positiviert waren, wurden korrekt als nicht mutiert für die Gene rpoB und inhA typisiert.

Alle Proben, die mit einem MTB-Isolat mit einer Mutation des inhA-Gens positiviert waren, wurden korrekt als nicht mutiert für die Gene rpoB und katG typisiert.

Bei diesem Test beträgt die diagnostische Spezifität des Antibiotikaresistenztests 100 %.

Magenaspirat: Diagnostische Sensitivität und Spezifität

Die diagnostische Sensitivität des Assays, d. h. die Bestätigung positiver klinischer Proben, wurde durch die Analyse 22 klinischer durch Kulturmethoden getesteter, MTB-positiver Magenaspiratproben bewertet.

Die diagnostische Spezifität des Assays, d. h. die Bestätigung negativer klinischer Proben, wurde anhand von 20 klinischen Proben von durch Kulturmethoden getesteter, MTB-negativem Magenaspirat bewertet.

Die Magenaspiratproben wurden entnommen, vorbehandelt (siehe „Proben und Kontrollen“), in Kultur gebracht und von einem externen Labor als MTB-positiv oder MTB-negativ zertifiziert. Die Proben wurden dann inaktiviert und mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit und dem ELITe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

		Kultur		
		Pos.	Neg.	Gesamt
MDR/MTB ELITe MGB Kit	Pos.	18	0	18
	Neg.	4	20	24
	Gesamt	22	20	42

Von den MTB-positiven oder -positivierten Proben wurden 18 von 22 Proben mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit positiv getestet. Bei diesem Test beträgt die diagnostische Sensitivität 81,8 %.

Von den MTB-negativen Proben wurden alle mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit negativ getestet. Bei diesem Test beträgt die diagnostische Spezifität 100 %.

Magenaspirat: Bestätigung von antibiotikaresistenten MTB-positiven Proben

Die diagnostische Sensitivität des Antibiotikaresistenztests zur Bestätigung von antibiotikaresistenten MTB-positiven Proben wurde durch die Analyse der folgenden Proben bewertet:

- 20 klinische Magenaspiratproben, die mit einem gegen Rifampicin resistenten MTB-Isolat (rpoB-Genmutation) positiviert wurden,
- 20 klinische Magenaspiratproben, die mit einem gegen Isoniazid resistenten MTB-Isolat (katG-Genmutation) positiviert wurden,
- 20 klinische Magenaspiratproben, die mit einem gegen Isoniazid resistenten MTB-Isolat (inhA-Genmutation) positiviert wurden.

MTB-negative klinische Magenaspiratproben wurden bei einer Endkonzentration von ca. 5000 KbE/ml mit MTB-Isolaten positiviert, die von einem externen Labor auf Mutationen in einem der drei Zielgene unter Verwendung eines CE-IVD-gekennzeichneten molekulardiagnostischen Assays zertifiziert worden waren. Die Proben wurden mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit und dem ELITe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	MTB-positiv	RIF-Res. (rpoB)	INH-Res. (katG)	INH-Res. (inhA)	Typisierung nicht möglich
MTB-positive Proben, resistent gegenüber Rifampicin (rpoB-Mutation)	20	20	0	0	0
MTB-positive Proben, resistent gegenüber Isoniazid (katG-Mutation)	20	0	20	0	0
MTB-positive Proben, resistent gegenüber Isoniazid (inhA-Mutation)	20	0	0	20	0

Alle Proben, die mit einem gegen Rifampicin resistenten MTB-Isolat (rpoB-Genmutation) positiviert waren, wurden korrekt als möglicherweise resistent gegen Rifampicin typisiert.

Alle Proben, die mit einem gegen Isoniazid resistenten MTB-Isolat (katG-Genmutation) positiviert waren, wurden korrekt als möglicherweise resistent gegen Isoniazid typisiert.

Alle Proben, die mit einem gegen Isoniazid resistenten MTB-Isolat (inhA-Genmutation) positiviert waren, wurden korrekt als möglicherweise resistent gegen Isoniazid typisiert.

Bei diesen Tests beträgt die diagnostische Sensitivität des Antibiotikaresistenztests 100 %.

Magenaspirat: Bestätigung der Abwesenheit von Mutationen in MTB-positiven Proben

Die diagnostische Spezifität des Antibiotikaresistenztests zur Bestätigung von antibiotikaempfindlichen MTB-positiven Proben wurde durch die Analyse von 40 klinischen Magenaspiratproben bewertet, die mit einem MTB-Isolat, das Träger einer Mutation, aber negativ für die beiden anderen Mutationen war, positiviert waren.

MTB-negative klinische Magenaspiratproben wurden bei einer Endkonzentration von ca. 5000 KbE/ml mit MTB-Isolaten positiviert, die von einem externen Labor auf Mutationen in einem der drei Zielgene unter Verwendung eines CE-IVD-gekennzeichneten molekulardiagnostischen Assays zertifiziert worden waren. Die Proben wurden mit dem MDR/MTB ELITe MGB® Kit und dem ELITe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	MTB-positiv	RIF-sens. (rpoB)	INH-sens. (katG)	INH-sens. (inhA)	Typisierung nicht möglich
MTB-positive Proben, resistent gegenüber Rifampicin (rpoB-Mutation)	20	0	20	20	0
MTB-positive Proben, resistent gegenüber Isoniazid (katG-Mutation)	20	20	0	20	0
MTB-positive Proben, resistent gegenüber Isoniazid (inhA-Mutation)	20	20	20	0	0

Alle Proben, die mit einem MTB-Isolat mit einer Mutation des rpoB-Gens positiviert waren, wurden korrekt als nicht mutiert für die Gene katG und inhA typisiert.

Alle Proben, die mit einem MTB-Isolat mit einer Mutation des katG-Gens positiviert waren, wurden korrekt als nicht mutiert für die Gene rpoB und inhA typisiert.

Alle Proben, die mit einem MTB-Isolat mit einer Mutation des inhA-Gens positiviert waren, wurden korrekt als nicht mutiert für die Gene rpoB und katG typisiert.

Bei diesem Test beträgt die diagnostische Spezifität des Antibiotikaresistenztests 100 %.

Hinweis: Die vollständigen Daten und Ergebnisse der Tests, die zur Bewertung der Leistungsmerkmale des Produkts mit Matrizes und Geräten durchgeführt wurden, sind in der technischen Dokumentation des „MDR/MTB ELITe MGB Kit“, FTP 120ING, aufgeführt.

QUELLENANGABEN

Thierry D. et al. (1990) *Nucleic Acids Res.* **18**: 188

Heep M. et al. (2001) *JCM* **39**: 107 – 110

Seifert M. et al. (2015) *PLOS ONE* DOI 10.1371: 1 - 13

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

Mycobacteriology laboratory manual (Global Laboratory Initiative, Erste Ausgabe, April 2014).

GRENZEN DES VERFAHRENS

Dieses Produkt nur für klinische Proben von Sputum, bronchoalveolären Lavagen (BAL), Bronchialaspiraten (BA), Urin, Hohlraumflüssigkeiten, Biopsien und Magenaspiraten verwenden, die verflüssigt, dekontaminiert und inaktiviert wurden.

Dieses Produkt nicht mit Proben verwenden, die Mucin in einer Konzentration über 2 % aufweisen: Mucin hemmt die Amplifikationsreaktion von Nukleinsäuren und kann zu ungültigen Ergebnissen führen.

Es liegen derzeit keine Daten zur Produktleistung mit den folgenden klinischen Proben vor: Liquor, nekrotisches Material, Eiter, Stuhl, Vollblut.

Die mit diesem Produkt erhaltenen Ergebnisse hängen von der einer angemessenen Identifizierung, Entnahme, Transportierung, Aufbewahrung und Verarbeitung der Proben ab. Zur Vermeidung falscher Ergebnisse ist es daher notwendig, bei diesen Schritten vorsichtig vorzugehen und die den Produkten für die Nukleinsäureextraktion beiliegenden Gebrauchsanweisungen sorgfältig zu befolgen.

Aufgrund ihrer hohen analytischen Sensitivität ist die bei diesem Produkt verwendete Methode zur Echtzeit-Amplifikation empfindlich für Kreuzkontaminationen durch die positiven Proben, die Positivkontrollen und die gleichen Amplifikationsprodukte. Kreuzkontaminationen führen zu falsch-positiven Ergebnissen. Durch das Produktformat werden Kreuzkontaminationen begrenzt. Trotzdem können Kreuzkontaminationen 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 ersten Folgen für den Anwender und andere Personen vermieden werden.

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

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

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

Ein mit diesem Produkt erhaltenes negatives Ergebnis bedeutet, dass die Ziel-DNA nicht in der aus der Probe extrahierten DNA nachzuweisen ist. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass der Titer der Ziel-DNA unter der Nachweisgrenze des Produkts (siehe „Leistungsmerkmale“) liegt. In diesem Fall kann das Ergebnis falsch-negativ sein.

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

Die mit diesem Produkt erzielten Ergebnisse über eine mögliche Resistenz des MTB gegen Rifampicin und/oder Isoniazid beschränken sich auf den Nachweis der wichtigsten Mutationen, wie im Abschnitt „Testprinzipien“ angegeben. Andere Mutationen, die von diesem Produkt nicht erkannt werden, können mit einer Resistenz gegen Rifampicin und/oder Isoniazid in Verbindung gebracht werden. Andererseits können mit diesem Produkt stille Mutationen nachgewiesen werden, die jedoch nicht mit einer Resistenz gegen Rifampicin und/oder Isoniazid verbunden sind. Zur Bestätigung der Rifampicin- und/oder Isoniazid-Resistenz von MTB ist dann eine phänotypische Untersuchung der Antibiotikaempfindlichkeit erforderlich.

Etwaige Polymorphismen in der Primer- oder Sondenbindungsregion der Ziel-DNA können den

Nachweis der Ziel-DNA beeinträchtigen.

Wie bei allen diagnostischen Produkten müssen bei der Interpretation der mit diesem Test erhaltenen Ergebnisse alle klinischen Daten und sonstigen Laborbefunde des Patienten berücksichtigt werden.

Wie bei allen diagnostischen Produkten besteht auch bei diesem Produkt ein Restrisiko von ungültigen, falsch-positiven und falsch-negativen 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.

FEHLERBEHEBUNG

Ungültige Reaktion der Positive Control	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Fehler beim Einrichten des Laufs.	Position des PCR Mix und der Positive Control kontrollieren. Volumina des PCR Mix und der Positive Control kontrollieren.
Abbau der Positive Control.	Ein neues Aliquot der Positive Control verwenden.
Abbau des PCR Mix.	Ein neues Aliquot mit PCR Mix verwenden.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Ungültige Reaktion der Negative Control	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Fehler beim Einrichten des Laufs.	Position des PCR Mix und der Negative Control kontrollieren. Volumina des PCR Mix und der Negative Control kontrollieren.
Kontamination der Negativkontrolle	Ein neues Aliquot hochreines Wasser für die Molekularbiologie verwenden.
Kontamination des PCR Mix.	Neue Aliquote der PCR Mixe verwenden.
Kontamination des Extraktionsbereichs, von Racks oder von Bestandsblocks.	Oberflächen mit wässrigen Reinigungsmitteln reinigen, Laborkittel waschen, verwendete Teströhrchen und Spitzen austauschen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Ungültige Probenreaktion Uneindeutige Ergebnisse / Typisierung nicht möglich / Typisierung ungültig	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Fehler beim Einrichten des Laufs.	Position des PCR Mix und der Probe kontrollieren. Volumina des PCR Mix und der Probe kontrollieren.
Abbau der Internal Control.	Neue Aliquote der Internal Control verwenden.
Inhibition durch die Probe störende Substanzen.	Amplifikation der eluierten Probe mit einer 1:3-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „PCR Only“-Lauf (nur PCR) wiederholen. Extraktion und Amplifikation der Probe mit einer 1:2-Verdünnung der Primärprobe in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem Lauf im Modus „Extract + PCR“-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen.
Abbau des PCR Mix.	Ein neues Aliquot mit PCR Mix verwenden.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Fehler 30103	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Zu hohe Konzentration von Ziel-DNA in der Probe.	Wenn im PCR-Diagramm eine signifikante Amplifikation zu beobachten ist: - entsprechende Spur für die Probe auswählen und Ergebnis manuell bestätigen. Wenn ein Ct-Wert benötigt wird: - Amplifikation der eluierten Probe mit einer 1:10-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „PCR Only“-Lauf (nur PCR) wiederholen oder - Extraktion mit einer 1:10-Verdünnung der Primärprobe in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „Extract + PCR“-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen.

SYMBOLE

-  Katalognummer.
-  Temperaturobergrenze.
-  Chargenbezeichnung.
-  Verwendbar bis (letzter Tag des Monats).
-  *In-vitro*-Diagnostikum
-  Erfüllt die Anforderungen der Europäischen Richtlinie 98/79/EG über *In-vitro*-Diagnostika.
-  Inhalt ausreichend für „n“ Tests.
-  Achtung, Gebrauchsanweisung beachten.
-  Inhalt.
-  Vor Sonneneinstrahlung schützen.
-  Hersteller.

**HINWEIS AN 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 Life Technologies Corporation 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, 5781 Van Allen Way, Carlsbad, CA 92008, USA. Tel.: +1(760)603-7200. Fax: +1(760)602-6500. E-Mail: outlicensing@thermofisher.com.

ELITe® MGB Nachweisreagenzien sind durch eines oder mehrere der US-Patente mit den Nummern 6,127,121, 6,485,906, 6,660,845, 6,699,975, 6,727,356, 6,790,945, 6,949,367, 6,972,328, 7,045,610, 7,319,022, 7,368,549, 7,381,818, 7,662,942, 7,671,218, 7,715,989, 7,723,038, 7,759,126, 7,767,834, 7,897,736, 8,008,522, 8,067,177, 8,163,910, 8,389,745, 8,969,003, 8,980,855, 9,056,887, 9,085,800 und 9,169,256 und der EP-Patente mit den Nummern 1068358, 1144429, 1232157, 1261616 1430147, 1781675, 1789587, 1975256 und 2714939 sowie durch anhängige Patentanmeldungen geschützt.

Diese eingeschränkte Lizenz gestattet es der natürlichen oder juristischen Person, der dieses Produkt zur Verfügung gestellt wurde, das Produkt zu verwenden und die mithilfe des Produkts generierten Daten nur für humandiagnostische Zwecke zu verwenden. Weder die ELITechGroup S.p.A. noch deren Lizenzgeber gewähren weitere, ausdrückliche oder stillschweigende Lizenzen für andere Zwecke.

MDR/MTB ELITE MGB® kit used with ELITE InGenius®

Ref: RTS120ING



This document is a simplified version of the official instruction for use. Please refer to the complete document before use: www.elitechgroup.com
This document is available only in English.

A. Intended use

The «MDR/MTB ELITE MGB® Kit» is part of a qualitative nucleic acid amplification assay to detect *Mycobacterium tuberculosis* complex (*M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. canettii*, *M. microti*, *M. caprae*) DNA and to identify the main mutations associated with resistance to Rifampicin and/or Isoniazid.

The product may be used for two different purposes:

- as an aid in the diagnosis of tuberculosis from Mycobacterium tuberculosis complex, in association with the patient's clinical data and other laboratory test results, in particular the culture methods for mycobacterium,
- as an aid in the diagnosis of tuberculosis and genotypic resistance of Mycobacterium tuberculosis complex, in association with the patient's clinical data and other laboratory test results, in particular phenotypic testing for antimicrobial susceptibility.

The assay is CE-IVD validated in combination with the instrument **ELITE InGenius®**.

B. Amplified sequence

Mix	Target	Gene	Fluorophore
TB1	MTB Complex	IS6110	FAM
	Rifampicin resistance	rpoB gene (rpoB2, rpoB3, rpoB4)	AP639; AP525; AP593
TB2	Rifampicin resistance	rpoB gene (rpoB1)	AP639
	Isoniazid resistance	katG	FAM
		inhA	AP593
TB1/TB2	Internal Control	Artificial sequence	AP680

C. Validated matrix

- › Sputum, bronchial aspirates (BA), bronchoalveolar lavages (BAL), urine, biopsies, cavity fluids and gastric aspirates previously liquefied, decontaminated and inactivated.

D. Kit content

TB1 PCR Mix	TB2 PCR Mix	
Ready-to-use PCR Master Mix 4 tubes of 280 µL 7 freeze-thaw cycles per tube	Ready-to-use PCR master Mix 4 tubes of 280 µL 7 freeze-thaw cycles per tube	
		
› 48 reactions per kit	› Storage Temperature: -20°C	› Maximum shelf-life: 24 months

E. Material required not provided in the kit

- › ELITE InGenius instrument: INT030
- › ELITE InGenius SP 200 extraction cartridges: INT032SP200
- › ELITE InGenius PCR Cassette amplification cartridges: INT035PCR
- › ELITE InGenius SP 200 Consumable Set consumables for extraction: INT032CS
- › MDR/MTB- ELITE Positive Control : CTR120ING
- › CPE- Internal Control : CTCPE
- › ELITE InGenius Waste Box: F2102-000
- › 300 µL Filter Tips Axygen: TF-350-L-R-S

F. ELITE InGenius protocol

- | | | | |
|--|--------|------------------------------|---------|
| › Sample volume | 200 µL | › Unit of qualitative result | CFU/mL |
| › Internal Control volume | 10 µL | › Frequency of controls | 15 days |
| › Total eluate volume | 100 µL | | |
| › PCR eluate input volume for each mix | 20 µL | | |
| › Q-PCR Mix volume for each mix | 20 µL | | |

G. Performance

Sample	Matrix	Limit of Detection	Diagnostic Sensitivity	Diagnostic Specificity
MTB Complex	Sputum	6 CFU/mL	100% 50/50*	98% 47/48*
Rifampicin and Isoniazid resistance	Sputum	-	100% 55/55*	100% 47/47*
MTB Complex	BAL/BA	6 CFU/mL	91.3% 42/46*	97.5% 39/40*
Rifampicin and Isoniazid resistance	BAL/BA	-	100% 119/119*	100% 119/119*
MTB Complex	Urine	20 CFU/mL	80% 16/20*	100% 20/20*
Rifampicin and Isoniazid resistance	Urine	-	100% 60/60*	100% 60/60*
MTB Complex	Biopsy	20 CFU/mL	90.5% 38/42*	100% 40/40*
Rifampicin and Isoniazid resistance	Biopsy	-	100% 120/120*	100% 120/120*
MTB Complex	Cavitary Liquid	20 CFU/mL	97.5% 39/40*	100% 40/40*
Rifampicin and Isoniazid resistance	Cavitary Liquid	-	100% 120/120*	100% 120/120*
MTB Complex	Gastric aspirates	20 CFU/mL	81.8% 18/22*	100% 20/20*
Rifampicin and Isoniazid resistance	Gastric aspirates	-	100% 60/60*	100% 60/60*

*confirmed samples/ tested samples

H. Procedures

The user is guided step-by-step by the ELITE InGenius software to prepare the run. All the steps: extraction, amplification and result interpretation are automatically performed. Three operational mode are available: complete run, or extraction only, or PCR only.

Before analysis

1. Switch on ELITE InGenius Identification with username and password Select the mode "Closed"	2. Verify controls: TB pos. and neg. controls in the "Control menu" NB: Both have been run, approved and not expired	3. Thaw TB1 and TB2 PCR Mixes and the Internal Control tubes Vortex gently Spin down 5 sec
---	--	---

Procedure 1 - Complete run: Extraction + PCR

1. Select "Perform Run" on the touch screen



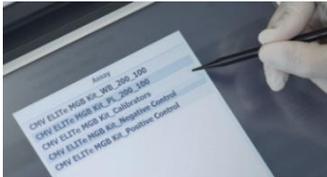
2. Verify the extraction volumes:
Input: "200 µL", eluate: "100 µL"



3. Scan the sample barcodes with hand-held barcode reader or type the sample ID



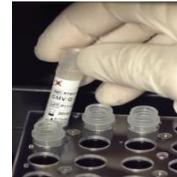
4. Select the "Assay protocol" of interest



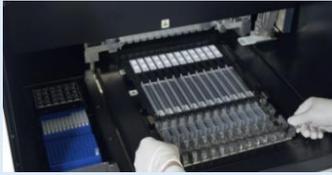
5. Select the sample position:
"Extraction tube"



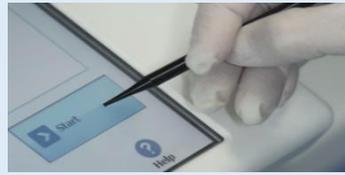
6. Load the PCR Mixes and the Internal Control in the inventory block



7. Load: PCR cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip, Extraction tube racks



8. Close the door
Start the run



9. View, approve and store the results



Procedure 2 - PCR only

- 1 to 4 : Follow the Complete Run procedure described above

5. Select the protocol "PCR only" and set the sample position "Extra tube"

6. Load the extracted nucleic acid tubes in the rack n°4

7. Load the PCR cassette rack
Load the PCR Mixes in the inventory block

8. Close the door
Start the run

9. View, approve and store the results

Procedure 3 - Extraction only

- 1 to 4 : Follow the Complete Run procedure described above

5. Select the protocol "Extraction Only" and set the sample position: Extraction tube

6. Load the Internal Control in the inventory block

7. Load: Extraction cartridge, Elution tube, Tip cassette, Extraction tube racks

8. Close the door
Start the run

9. Archive the eluate sample

**confirmed samples/ tested samples*