

Instructions for use

MTB EXTRA ELITe MGB® Kit

Reagenzien für die DNA-Real-Time-PCR



REF RTS121ING

UDI 08033891487263



ÄNDERUNGSVERLAUF

Rev.	Änderungsvermerk	Datum (TT.MM.JJ)
03	Weitere Tests mit negativen Sputumproben.	02/09/25
02	Erweiterte Verwendung auf dem automatisierten und integrierten Gerät ELITe BeGenius mit bronchoalveolären Lavage- / Bronchialaspiratproben, Urin, Hohlraumflüssigkeiten, Biopsien und Magenaspirat-Matrizes. Neue grafische und inhaltliche Gestaltung der Gebrauchsanweisung.	29/11/24
01	Erweiterte Verwendung auf dem automatisierten und integrierten Gerät ELITe BeGenius und Sputum-Matrix.	22/02/24
00	Neuproduktentwicklung	—

HINWEIS!

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

INHALTSVERZEICHNIS

1 VERWENDUNGSZWECK.....	4
2 TESTPRINZIP	4
3 BESCHREIBUNG DES PRODUKTS	4
4 MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN.....	4
5 ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN	5
6 ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE	5
7 WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN	6
8 PROBEN UND KONTROLLEN.....	8
9 ELITe InGenius VERFAHREN	11
10 VERFAHREN BEI ELITe BeGenius	16
11 LEISTUNGSMERKMALE	21
12 REFERENZEN	26
13 GRENZEN DES VERFAHRENS.....	26
14 FEHLERBEHEBUNG	28
15 SYMBOLE	31
16 ANWENDERHINWEISE.....	31
17 HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ.....	31
Appendix A QUICK START GUIDE.....	33

1 VERWENDUNGSZWECK

Das Produkt **MTB EXTRA ELITE MGB® Kit** ist ein *In-vitro*-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal als qualitativer Nukleinsäure-Real-Time-PCR-Assay zum Nachweis der DNA des *Mycobacterium tuberculosis* (MTB)-Komplexes (*M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. canettii*, *M. microti*, *M. caprae*) bestimmt ist.

Der Assay ist in Verbindung mit den Geräten **ELITE InGenius®** und **ELITE BeGenius®**, automatisierten und integrierten System zur Extraktion, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation mit humanen Sputumproben, Bronchialaspiraten (BA), bronchoalveolären Lavagen (BAL), Urin, Hohlraumflüssigkeiten, Biopsien und Magenaspalten, die zuvor verflüssigt, dekontaminiert und inaktiviert wurden, validiert.

Das Produkt ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Diagnose von Infektionen durch den *Mycobacterium tuberculosis*-Komplex, in Kombination mit allen relevanten klinischen Beobachtungen und Laborbefunden, insbesondere den Kulturmethoden für *Mycobacterium*, bestimmt.

2 TESTPRINZIP

Der Assay ist eine qualitative Real-Time-PCR für den Nachweis des *Mycobacterium tuberculosis* (MTB)-Komplexes, der aus Proben isoliert und mit dem Testreagenz **MTB EXTRA PCR Mix**, das Primer und ELITE MGB-Technologie-Sonden enthält, amplifiziert wurde.

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

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

3 BESCHREIBUNG DES PRODUKTS

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

- die wiederholte Sequenz des **IS6110 MTB-Komplexes**, nachgewiesen in Kanal **MTB**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher® gequencht und mit einem FAM-Farbstoff markiert.
- die Internal Control (**IC**), die für die künstliche Sequenz **IC2**, spezifisch ist, nachgewiesen in Kanal **IC**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor® 680 (AP680) markiert.

Der **MTB-EXTRA PCR Mix** enthält außerdem Puffer, Magnesiumchlorid, Nukleotidtriphosphate, die Stabilisatoren und „Hot-start“-DNA-Polymerase.

Das Produkt **MTB EXTRA ELITE MGB Kit** enthält ausreichend Reagenzien für **96 Tests** auf dem **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius**, wobei 20 µl pro Reaktion verwendet werden.

Das **MTB EXTRA ELITE MGB Kit** kann auch in Verbindung mit gleichwertigen Geräten verwendet werden.

4 MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN

Tabelle 1

Komponente	Beschreibung	Menge	Gefahrenklasse
MTB EXTRA PCR Mix Art.-Nr. RTS121ING	Gemisch aus Reagenzien für die Real-Time-PCR in Röhrchen ROTEM Verschluss	8 x 280 µl	-

5 ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN

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

6 ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE

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

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

Tabelle 2

Geräte und Software	Produkte und Reagenzien
<p>ELITe InGenius (ELITeGroup S.p.A., EG SpA, Art.-Nr. INT030).</p> <p>ELITe InGenius Software Version 1.3.0.19 (oder später).</p> <p>MTB EXTRA ELITe_PC, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Positive Control-Analyse.</p> <p>MTB EXTRA ELITe_NC, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Negative Control-Analyse.</p> <p>MTB EXTRA ELITe_SP_200_100, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Sputumproben-Analyse.</p> <p>MTB EXTRA ELITe_BAL_200_100, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Probenanalyse von bronchoalveolären Lavagen (BAL) und Bronchialaspiraten (BA).</p> <p>MTB EXTRA ELITe_U_200_100, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Urinproben-Analyse.</p> <p>MTB EXTRA ELITe_CL_200_100, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Analyse von Hohlraumflüssigkeitsproben.</p> <p>MTB EXTRA ELITe_B_200_100, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Biopsieproben-Analyse.</p> <p>MTB EXTRA ELITe_GA_200_100, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Magenaspiziatproben-Analyse.</p>	
<p>ELITe BeGenius (EG SpA, Art.-Nr. INT040).</p> <p>ELITe BeGenius Software Version 2.3.0 (oder später).</p> <p>MTB EXTRA ELITe_Be_PC, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Positive Control-Analyse.</p> <p>MTB EXTRA ELITe_Be_NC, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Negative Control-Analyse.</p> <p>MTB EXTRA ELITe_Be_SP_200_100, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Sputumproben-Analyse.</p> <p>MTB EXTRA ELITe_Be_BAL_200_100, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Probenanalyse von bronchoalveolären Lavagen (BAL) und Bronchialaspiraten (BA).</p> <p>MTB EXTRA ELITe_Be_U_200_100, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Urinproben-Analyse.</p> <p>MTB EXTRA ELITe_Be_CL_200_100, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Analyse von Hohlraumflüssigkeitsproben.</p> <p>MTB EXTRA ELITe_Be_B_200_100, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Biopsieproben-Analyse.</p> <p>MTB EXTRA ELITe_Be_GA_200_100, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Magenaspiziatproben-Analyse.</p>	<p>MDR/MTB - ELITe Positive Control (EG SpA, CTR120ING).</p> <p>ELITe InGenius SP200 (EG SpA, Art.-Nr. INT032SP200).</p> <p>ELITe InGenius und ELITe BeGenius Verbrauchsmaterialien (siehe ELITe InGenius und ELITe BeGenius Gebrauchsanweisung)</p>

7 **WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN**

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

7.1 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 und ELITe BeGenius inaktiviert werden.

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

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

Geeignete Schutzkleidung und Schutzhandschuhe sowie Augen-/Gesichtsschutz tragen.

Lösungen niemals mit dem Mund pipettieren.

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

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

Restliche Reagenzien und Abfälle gemäß den geltenden Vorschriften entsorgen.

Vor der Durchführung des Assays alle bereitgestellten Anweisungen aufmerksam lesen.

Bei der Durchführung des Tests die bereitgestellten Produktanweisungen befolgen.

Das Produkt nicht nach dem angegebenen Ablaufdatum verwenden.

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

Keine Reagenzien aus unterschiedlichen Chargen verwenden.

Keine Reagenzien anderer Hersteller verwenden.

7.2 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen für die Molekularbiologie

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

Es werden Laborkittel, Handschuhe und Werkzeuge benötigt, die speziell für den jeweiligen Arbeitslauf vorgesehen sind. Die Bereiche für molekularbiologische Tests und für Tests von mikrobiologischen Kulturen müssen räumlich getrennt sein. Flüssiges oder festes Kulturmedium niemals in dem für Extraktions-/Amplifikationsreaktionen vorbehaltenen Bereich handhaben.

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

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

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

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

7.3 Komponentenspezifische Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Tabelle 3

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

* mit zwischenzeitlichem Gefrierzyklus

8 PROBEN UND KONTROLLEN

8.1 Proben

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

Tabelle 4

Probe	Anforderungen an die Entnahme	Transport-/Lagerbedingungen			
		+16 / +26 °C (Raumtemperatur)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Sputum	mit einer N-Acetyl-L-Cystein-Lösung verflüssigt und mit Natronlauge dekontaminiert ⁽²⁾ , dann 30 Minuten bei 95 °C inaktiviert	≤ 1 Stunde ⁽¹⁾	≤ 2 Tage ⁽²⁾	≤ 1 Monat ⁽⁵⁾	≥ 1 Monat
Bronchoalveoläre Lavage (BAL) und Bronchialaspirate (BA)	mit einer N-Acetyl-L-Cystein-Lösung verflüssigt und mit Natronlauge dekontaminiert ⁽²⁾ , dann 30 Minuten bei 95 °C inaktiviert	≤ 1 Stunde ⁽¹⁾	≤ 2 Tage ⁽²⁾	≤ 1 Monat ⁽⁵⁾	≥ 1 Monat
Urin	konzentriert und mit Natronlauge dekontaminiert ⁽²⁾ , dann 30 Minuten bei 95 °C inaktiviert	≤ 1 Stunde ⁽¹⁾	≤ 2 Tage ⁽²⁾	≤ 1 Monat ⁽⁵⁾	≥ 1 Monat
Hohlraumflüssigkeit	konzentriert und mit Natronlauge dekontaminiert ⁽²⁾ , dann 30 Minuten bei 95 °C inaktiviert	≤ 1 Stunde ⁽³⁾	≤ 2 Tage ⁽²⁾	≤ 1 Monat ⁽⁵⁾	≥ 1 Monat

Tabelle 4 (continued)

Probe	Anforderungen an die Entnahme	Transport-/Lagerbedingungen			
		+16 / +26 °C (Raumtemperatur)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Biopsie	zerlegt und mit Natronlauge dekontaminiert ⁽²⁾ , dann 30 Minuten bei 95 °C inaktiviert	≤ 1 Stunde ⁽³⁾	≤ 7 Tage ⁽⁴⁾	≤ 1 Monat ⁽³⁾	≥ 1 Monat
Magenaspirat	mit einer N-Acetyl-L-Cystein-Lösung verflüssigt und mit Natronlauge dekontaminiert ⁽²⁾ , dann 30 Minuten bei 95 °C inaktiviert	≤ 1 Stunde ⁽¹⁾	≤ 2 Tage ⁽²⁾	≤ 7 Tage ⁽⁴⁾	≥ 1 Monat

1) (CLSI MP48 2nd Edition, „Laboratory Detection and Identification of Mycobacteria“)

2) (Mycobacteriology Laboratory Manual, Global Laboratory Initiative).

3) (Probenanforderungen von KPNW)

4) (Mayo Clinic Laboratories)

5) (ARUP Laboratories)

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

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

Tabelle 5 Assay-Protokolle (Assay Protocol) für MTB EXTRA ELITe MGB Kit

Probe	Gerät	Name des Assay-Protokolls	Bericht	Eigenschaften
Sputum	ELITe InGenius	MTB EXTRA ELITe_SP_200_100	Positiv /negativ	Extraktion Eingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
	ELITe BeGenius	MTB EXTRA ELITe_Be_SP_200_100		
Bronchoalveoläre Lavage (BAL) und Bronchialaspirate (BA)	ELITe InGenius	MTB EXTRA ELITe_BAL_200_100	Positiv /negativ	Extraktion Eingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
	ELITe BeGenius	MTB EXTRA ELITe_Be_BAL_200_100		

Tabelle 5 Assay-Protokolle (Assay Protocol) für MTB EXTRA ELITe MGB Kit (continued)

Urin	ELITe InGenius	MTB EXTRA ELITe_U_200_100	Positiv /negativ	Extraktion Eingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
	ELITe BeGenius	MTB EXTRA ELITe_Be_U_200_100		
Hohlraumflüssigkeit	ELITe InGenius	MTB EXTRA ELITe_CF_200_100	Positiv /negativ	Extraktion Eingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
	ELITe BeGenius	MTB EXTRA ELITe_Be_CF_200_100		
Biopsie	ELITe InGenius	MTB EXTRA ELITe_B_200_100	Positiv /negativ	Extraktion Eingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
	ELITe BeGenius	MTB EXTRA ELITe_Be_B_200_100		
Magenaspirat	ELITe InGenius	MTB EXTRA ELITe_GA_200_100	Positiv /negativ	Extraktion Eingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
	ELITe BeGenius	MTB EXTRA ELITe_Be_GA_200_100		

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

HINWEIS!

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

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

Daten zu störenden Substanzen sind unter „11.4 Störende Substanzen page 22“ im **11 LEISTUNGSMERKMALE page 21** aufgeführt.

8.2 PCR-Kontrollen

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

- Für die Positive Control das Produkt **MDR/MTB- ELITe Positive Control** (nicht in diesem Kit enthalten) mit den Assay-Protokollen **MTB EXTRA ELITe_PC** oder **MTB EXTRA ELITe_Be_PC** verwenden.
- Für die Negative Control hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) mit den Assay-Protokollen (Assay Protocols) **MTB EXTRA ELITe_NC** oder **MTB EXTRA ELITe_Be_NC** verwenden.

HINWEIS!

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

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

8.3 Qualitätskontrollen

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

9 ELITe InGenius VERFAHREN

Das beim Gebrauch des **MTB EXTRA ELITe MGB Kit** mit dem **ELITe InGenius** anzuwendende Verfahren besteht aus drei Schritten:

Tabelle 6

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

9.1 SCHRITT 1 - Prüfung der Systembereitschaft

Vor Beginn des Laufs:

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

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

9.2 SCHRITT 2 - Einrichtung des Laufs

Das **MTB EXTRA ELITe MGB Kit** kann auf **ELITe InGenius** für die folgenden Läufe verwendet werden:

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

- B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR]),
 C. Lauf für die Positive Control und Negative Control (PCR Only [nur PCR]).

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

HINWEIS!

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

Vor dem Einrichten eines Laufs:

Die benötigten PCR Mix-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für **12 Tests** unter optimalen Bedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

HINWEIS!

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

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

Tabelle 7

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])	C. Lauf für Positive und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
1	Proben identifizieren und, falls erforderlich, auf Raumtemperatur auftauen. Für diesen Assay müssen 200 µl Probe in ein zuvor etikettiertes Extraktionsröhrchen überführt werden.	Elutionsröhrchen mit den extrahierten Nukleinsäuren auf Raumtemperatur auftauen . Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.	Positive Control-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen . Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Jedes Röhrchen reicht aus für 4 Reaktionen.
2	Die benötigten CPE-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen . Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Extraktionen.	Nicht anwendbar	Die Negative Control vorbereiten: dazu mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie in ein „Elution Tube“ (Elutionsröhr.) überführen, das im Lieferumfang des ELITe InGenius SP 200 Consumable Set enthalten ist.
3	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
4	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.
5	Für jede Probe eine Spur zuweisen und unter „SampleID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.	Für jede Probe eine Spur zuweisen und unter „SampleID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.	Nicht anwendbar

Tabelle 7 (continued)

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

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

9.3 SCHRITT 3 - Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

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

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

HINWEIS!

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

ELITe InGenius generiert Ergebnisse mithilfe des **MTB EXTRA ELITe MGB Kit** und geht dabei folgendermaßen vor:

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

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

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

Die für die PCR-Reagenziencharge spezifischen Ergebnisse der Positive Control und Negative Control 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.

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

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

9.3.2 Validierung der Probenergebnisse

Die **ELITe InGenius Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse für die Zielsequenzen (Kanal **MTB**) und die Internal Control (Kanal **IC**) mit den Assay-Protokoll-Parametern **MTB EXTRA ELITe_SP_200_100**, **MTB EXTRA ELITe_BAL_200_100**, **MTB EXTRA ELITe_U_200_100**, **MTB EXTRA ELITe_CL_200_100**, **MTB EXTRA ELITe_B_200_100** und **MTB EXTRA ELITe GA_200_100**.

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

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

Tabelle 8

1) Positive Control	„Status“
MTB EXTRA Positive Control	APPROVED (Genehmigt)
2) Negative Control	„Status“
MTB EXTRA Negative Control	APPROVED (Genehmigt)

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

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

Tabelle 9

Ergebnis des Probenlaufs	Interpretation
MTB: DNA Detected (MTB: DNA Erkannt)	In der Probe wurde die DNA des MTB-Komplexes nachgewiesen .
MTB: DNA not detected or below the LoD. (MTB: DNA Nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze.)	In der Probe wurde die DNA des MTB-Komplexes nicht nachgewiesen . Die Probe ist gültig negativ oder die Zielkonzentration liegt unterhalb der Nachweisgrenze des Tests.
Invalid-Retest Sample (Ungültig - Probe erneut testen).	Ungültiges Testergebnis durch fehlerhafte Internal Control (z. B. aufgrund von falscher Extraktion, Verschleppung von Inhibitoren). Der Test sollte wiederholt werden.

Als „Invalid-Retest Sample“ (Ungültig - Probe erneut testen) ausgegebene Proben. In diesem Fall wurde die Internal-Control-DNA möglicherweise aufgrund von Problemen beim Probenentnahme-, Vorbehandlungs-, Extraktions- oder PCR-Schritt nicht effizient erkannt (z. B. falsche Probenahme, Abbau oder Verlust von DNA während der Extraktion oder Inhibitoren im Eluat), was zu falschen Ergebnissen führen kann. Wenn ausreichend Eluatvolumen übrig bleibt, kann das Eluat (verdünnt oder unverdünnt) mithilfe eines Amplifikationslaufs im Modus „PCR Only“ (nur PCR) erneut getestet werden. Ist das zweite Ergebnis ungültig, muss die Probe beginnend mit der Extraktion einer neuen Probe im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) erneut getestet werden (siehe „14 FEHLERBEHEBUNG page 28“).

Als „MTB: DNA not detected or below the LoD“ (MTB: DNA Nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze.) ausgegebene Proben sind für die Analyse geeignet, es wurde jedoch keine DNA des MTB-Komplexes nachgewiesen. In diesem Fall kann entweder die Probe für die DNA des MTB-Komplexes negativ sein oder die DNA des Zielgens ist bei einer Konzentration unter der Nachweisgrenze des Assays vorhanden (siehe „11 LEISTUNGSMERKMALE page 21“).

HINWEIS!

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

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

9.3.3 Ausgabe des Probenergebnisberichts

- Die Probenergebnisse werden in der Datenbank gespeichert, und Berichte können als „Sample Report“ (Probenbericht) und „Track Report“ (Spurbericht) exportiert werden.
- Der „Sample Report“ zeigt die Ergebnisdetails sortiert nach ausgewählter Probe (SID, „Sample ID“) an.
- Der „Track Report“ zeigt die Ergebnisdetails nach ausgewählter Spur an.
- Der „Sample Report“ und der „Track Report“ können ausgedruckt und von autorisiertem Personal unterschrieben werden.

10 VERFAHREN BEI ELITe BeGenius

Das beim Gebrauch des **MTB EXTRA ELITe MGB Kit** mit dem **ELITe BeGenius** anzuwendende Verfahren besteht aus drei Schritten:

Tabelle 10

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

10.1 SCHRITT 1 - Prüfung der Systembereitschaft

Vor Beginn des Laufs:

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

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

10.2 SCHRITT 2 - Einrichtung des Laufs

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

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

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

HINWEIS!

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

Vor dem Einrichten eines Laufs:

Die benötigten PCR Mix-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Tests unter optimalen Bedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

HINWEIS!

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

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

Tabelle 11

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])	C. Lauf für Positive und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
1	<p>Proben identifizieren und, falls erforderlich, auf Raumtemperatur auftauen.</p> <p>Für diesen Test müssen 200 µl Probe in ein zuvor etikettiertes 2-ml-Sarstedt-Röhrchen überführt werden.</p>	<p>Falls erforderlich, die Elutionsröhren mit den extrahierten Nukleinsäuren auf Raumtemperatur auftauen.</p> <p>Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.</p>	<p>Positive Control-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen.</p> <p>Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.</p> <p>Jedes Röhrchen reicht aus für 4 Reaktionen.</p>
2	<p>Die benötigten CPE-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen.</p> <p>Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.</p> <p>Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Extraktionen.</p>	<p>Nicht anwendbar</p>	<p>Die Negative Control vorbereiten: dazu mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie in ein „Elution Tube“ (Elutionsröhre) überführen, das im Lieferumfang des ELITe InGenius SP 200 Consumable Set enthalten ist.</p>

Tabelle 11 (continued)

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

Tabelle 11 (continued)

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])	C. Lauf für Positive und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
13	Das „Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ einsetzen, beginnend mit „Lane 3“ (L3). Bei Verarbeitung von mehr als 12 Proben das Verfahren wiederholen und dabei „Lane 2“ (L2) verwenden.	Nicht anwendbar	Nicht anwendbar
14	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Nicht anwendbar	Nicht anwendbar
15	CPE und PCR Mix in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsrack) laden.	Den PCR Mix in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsrack) laden .	Den PCR Mix in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsrack) laden .
16	Das „Reagent/Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ in „Lane 2“ (L2), falls verfügbar, oder in „Lane 1“ (L1) einsetzen. Falls erforderlich, für jedes PCR Mix-Reagenz und/oder CPE unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.	Das „Reagent/Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ in „Lane 2“ (L2), falls verfügbar, oder in „Lane 1“ (L1) einsetzen. Falls erforderlich, für jedes PCR Mix-Reagenz unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.	Das „Reagent/Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ in „Lane 2“ (L2), falls verfügbar, oder in „Lane 1“ (L1) einsetzen. Falls erforderlich, für jedes PCR Mix-Reagenz unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.
17	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
18	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.
19	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
20	Das „PCR Rack“ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) laden.	Das „PCR Rack“ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) laden.	Das „PCR Rack“ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) laden.
21	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
22	Das „Extraction Rack“ (Extraktionsrack) mit den „ELITe InGenius SP 200“ Extraktionskartuschen und die für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden.	Nicht anwendbar	Nicht anwendbar
23	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.
24	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

10.3 SCHRITT 3 - Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

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

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

HINWEIS!

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

ELITe BeGenius generiert die Ergebnisse mithilfe des **MTB EXTRA ELITe MGB Kit** und geht dabei folgendermaßen vor:

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

HINWEIS!

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

11 LEISTUNGSMERKMALE

HINWEIS!

Die mit ELITe InGenius vorgenommenen Untersuchungen der Leistungsmerkmale wurden mithilfe der Komponente „TB1 PCR Mix“ des **MDR/MTB ELITe MGB Kit** von EG SpA (Art.-Nr. RTS120ING) durchgeführt, die die gleiche Formulierung wie die Komponente **MTB EXTRA PCR Mix** des **MTB EXTRA ELITe MGB Kit** von EG SpA (Art.-Nr. RTS121ING) besitzt. Die **MTB EXTRA PCR** wurde für die mit ELITe BeGenius durchgeführten Untersuchungen verwendet; auf beiden Geräten wurden dieselben Proben und das gleiche Temperaturprofil verwendet.

11.1 Nachweisgrenze (LoD)

Die Nachweisgrenze (LoD) des Assays wurde mit Sputumproben auf ELITe InGenius mittels Verdünnung von *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), Stamm H37Ra-Referenzmaterial (ATCC, Art.-Nr. 25177) bestimmt.

Es wurde eine Probit-Regressionsanalyse der Ergebnisse durchgeführt und die Nachweisgrenze als die Konzentration definiert, bei der eine 95 %-ige Wahrscheinlichkeit eines positiven Ergebnisses vorliegt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 12 Nachweisgrenze (KbE/ml) bei Sputumproben und ELITe InGenius

Matrix	LoD (KbE/ml)	Grenzen des 95%-Konfidenzintervalls	
		Untere Grenze	Obere Grenze
Sputum	6	4	15

Der berechnete LoD-Wert wurde durch Testen von 20 Replikaten von Sputum- und BAL/BA-Proben, die mit MTB-Referenzmaterial in der behaupteten Konzentration (6 kbE/ml) dotiert waren, auf ELITe InGenius und ELITe BeGenius verifiziert.

Die Nachweisgrenze (LoD) des Assays in Verbindung mit Hohlraumflüssigkeit, Urin und Biopsie wurde auf den Geräten ELITe InGenius und ELITe BeGenius durch Testen von 20 Replikaten von Matrixproben, die mit zertifiziertem MTB-Referenzmaterial in einer Konzentration von 20 KbE/ml dotiert waren, verifiziert.

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

Tabelle 13 Nachweisgrenze mit ELITe InGenius und ELITe BeGenius

Probe	Titer
Sputum	6 KbE/ml
BAL/BA	6 KbE/ml
Urin	20 KbE/ml
Hohlraumflüssigkeit	20 KbE/ml
Biopsie	20 KbE/ml
Magenaspirat	20 KbE/ml

11.2 Inklusivität: Nachweiseffizienz

Die Inklusivität des Assays als die Nachweiseffizienz der Mykobakterienarten, die im *Mycobacterium tuberculosis*-Komplex des Produkts enthalten sind, wurde mittels *In-silico*-Analyse von in der Nukleotid-Datenbank verfügbaren Sequenzen bewertet.

Die Analyse zeigte eine Sequenzerhaltung und ein Nichtvorhandensein signifikanter Mutationen in der verfügbaren MTB-Sequenz. Daher wird ein effizienter Nachweis für die verschiedenen Stämme und/oder Isolate erwartet.

Die Inklusivität wurde auch durch Analyse zertifizierter genomicscher DNA aus klinischen Proben (von einem externen Labor bereitgestellt) und Plasmid-DNAs verifiziert.

Alle Proben wurden mit dem Produkt auf ELITe InGenius korrekt als positiv auf MTB getestet.

11.3 Potenziell interferierende Marker

Die potenzielle Kreuzreaktivität mit anderen ungewollten Organismen des Assays wurde durch die *In-silico*-Analyse von in der EBI ENA Nukleotid-Datenbank vorhandenen Sequenzen bewertet.

Die für die Hybridisierung der Primer und Fluoreszenzsonden ausgewählten Regionen wurden im Hinblick auf die Anordnung der Sequenzen, nichttuberkulöser Mykobakterien (NTM) und anderer Organismen, die in klinischen Proben vorkommen könnten, überprüft. Die Hybridisierungsregionen wiesen keine signifikanten Homologien und keine potenziellen Interferenzen auf.

Das Fehlen einer Kreuzreaktivität mit NTM wurde auch durch Testen eines Panels von zertifizierter Genom-DNA von *M. avium*, *M. gordonaee*, *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: *Chlamydophila pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Streptococcus pneumoniae* und *Haemophilus influenzae*.

Alle potenziell kreuzreaktiven Organismen wurden mit dem MTB EXTRA ELITe MGB Kit negativ auf MTB getestet.

11.4 Störende Substanzen

Die Kreuzreaktivität mit potenziell störenden Substanzen, die in Proben vorkommen können, wurde für den Assay durch die Analyse einer Reihe von Substanzen in relevanten Konzentrationen bewertet. Die getesteten Substanzen waren Antibiotika (Rifampicin und Isoniazid) und Sputumbestandteile (Mucin, humanes Vollblut).

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 14

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

Der Test zeigte, dass die getesteten Substanzen bei Verwendung des MTB EXTRA ELITe MGB Kit den Nachweis der Zielsequenzen nicht hemmen.

11.5 Wiederholpräzision

Zur Bewertung der Wiederholpräzision des Assays mit ELITe InGenius und ELITe BeGenius wurde ein Panel von Sputumproben, die negativ oder mit *Mycobacterium tuberculosis*-Referenzmaterial (ATCC, Art.-Nr.

25177) dotiert waren, analysiert.

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

Tabelle 15 Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs bei ELITe InGenius

Probe	Anzahl	MTB			% Übereinstimmung
		Mittelwert	SD	VK %	
Negativ	8	-	-	-	100 %
3 x LoD	8	36,55	0,62	1,71	100 %
10 x LoD	8	35,86	0,65	1,81	100 %

Tabelle 16 Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs bei ELITe BeGenius

Probe	Anzahl	MTB			% Übereinstimmung
		Mittelwert	SD	VK %	
Negativ	8	-	-	-	100 %
3 x LoD	8	37,53	0,65	1,74	100 %
10 x LoD	8	36,54	0,60	1,65	100 %

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

Tabelle 17 Laufübergreifende Wiederholpräzision bei ELITe InGenius

Probe	Anzahl	MTB			% Übereinstimmung
		Mittelwert	SD	VK %	
Negativ	16	-	-	-	100 %
3 x LoD	16	36,55	0,69	1,89	100 %
10 x LoD	16	35,79	0,59	1,64	100 %

Tabelle 18 Laufübergreifende Wiederholpräzision bei ELITe BeGenius

Probe	Anzahl	MTB			% Übereinstimmung
		Mittelwert	SD	VK %	
Negativ	16	-	-	-	100 %
3 x LoD	16	37,49	0,60	1,59	100 %
10 x LoD	16	36,61	0,69	1,87	100 %

Beim Test der Wiederholpräzision erkannte der MTB EXTRA ELITe MGB Kit alle Proben wie erwartet und wies eine maximale Variabilität des Ct-Zielwerts als VK% unter 5 % aus.

11.6 Vergleichspräzision

Zur Bewertung der Vergleichspräzision des Assays mit ELITe InGenius und ELITe BeGenius wurde ein Panel von Sputumproben, die negativ oder mit *Mycobacterium tuberculosis*-Referenzmaterial (ATCC, Art.-Nr. 25177) dotiert waren, analysiert.

Die Ergebnisse der chargeübergreifenden Vergleichspräzision (zwei Chargen) sind in den nachfolgenden Tabellen aufgeführt.

Tabelle 19 Chargenübergreifende Vergleichspräzision bei ELITe InGenius

Probe	Anzahl	MTB			% Übereinstimmung
		Mittelwert	SD	VK %	
Negativ	8	-	-	-	100 %
3 x LoD	8	36,68	0,71	1,94	100 %
10 x LoD	8	35,70	0,79	2,21	100 %

Tabelle 20 Chargenübergreifende Vergleichspräzision bei ELITe BeGenius

Probe	Anzahl	MTB			% Übereinstimmung
		Mittelwert	SD	VK %	
Negativ	8	-	-	-	100 %
3 x LoD	8	37,93	0,71	1,88	100 %
10 x LoD	8	36,56	0,55	1,50	100 %

Die Ergebnisse der geräteübergreifenden Vergleichspräzision (an zwei Tagen, mit zwei Chargen und zwei Geräten) sind in den nachfolgenden Tabellen aufgeführt.

Tabelle 21 Geräteübergreifende Vergleichspräzision bei ELITe InGenius

Probe	Anzahl	MTB			% Übereinstimmung
		Mittelwert	SD	VK %	
Negativ	8	-	-	-	100 %
3 x LoD	8	36,50	0,63	1,71	100 %
10 x LoD	8	35,91	0,57	1,58	100 %

Tabelle 22 Geräteübergreifende Vergleichspräzision bei ELITe BeGenius

Probe	Anzahl	MTB			% Übereinstimmung
		Mittelwert	SD	VK %	
Negativ	8	-	-	-	100 %
3 x LoD	8	37,52	0,39	1,05	100 %
10 x LoD	8	36,71	0,43	1,17	100 %

Beim Test der Vergleichspräzision erkannte der MTB EXTRA ELITe MGB Kit alle Proben wie erwartet und wies eine maximale Variabilität des Ct-Zielwerts als VK% unter 5 % aus.

11.7 Diagnostische Spezifität: Bestätigung negativer Proben

Die diagnostische Spezifität des Assays als die Bestätigung negativer klinischer Proben wurde mit ELITe InGenius durch Analyse von mittels Kulturmethoden getesteten, MTB-negativen klinischen Proben analysiert.

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

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 23 Diagnostische Spezifität

Probe	Anzahl	Positiv	Negativ	Diagnostische Spezifität in %
Sputum	52	1	51	98,1 %
BAL/BA	40	1	39	97,5 %
Urin	20	0	20	100 %
Hohlraumflüssigkeit	40	0	40	100 %
Biopsie	40	0	40	100 %
Magenaspirat	20	0	20	100 %

Außerdem wurden bei den Sputumproben die MTB-negativen Proben mit einem anderen CE/IVD-gekennzeichneten molekulardiagnostischen Assay und mittels AFB-Abstrichmikroskopie getestet. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle angegeben.

Tabelle 24 Diagnostische Spezifität von Sputumproben im Vergleich zu anderen Assays

Probe	Anzahl	Positiv	Negativ	Diagnostische Spezifität in %
Mit CE/IVD-gekennzeichnetem molekulardiagnostischem Assay getestetes Sputum	52	1	51	98,1 %
Mittels AFB-Abstrichmikroskopie getestetes Sputum	58	7	51	89,47 %

Die IC Ct-Grenzwerte für jede Matrix in Kombination mit ELITe InGenius und ELITe BeGenius sind in den folgenden Abschnitten angegeben.

Tabelle 25 IC Ct-Grenzwerte

Probe	IC Ct-Grenzwerte	
	ELITe InGenius	ELITe BeGenius
Sputum	34	35
BAL/BA	35	35
Urin	35	35
Hohlraumflüssigkeit	34	34
Biopsie	34	35
Magenaspirat	34	34

11.8 Diagnostische Sensitivität: Bestätigung positiver Proben

Zur Bewertung der diagnostischen Sensitivität des Assays als Bestätigung positiver klinischer Proben wurden in Verbindung mit ELITe InGenius klinische Proben analysiert, die durch Kulturmethoden getestet oder mit MTB-Referenzmaterial dotiert und als positiv bestätigt waren.

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

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 26 Diagnostische Sensitivität

Probe	Anzahl	Positiv	Negativ	Diagnostische Sensitivität in %
Sputum	50	50	0	100 %
BAL/BA	46	42	4	91,3 %
Urin	20	16	4	80 %
Hohlraumflüssigkeit	40	39	1	97,5 %
Biopsie	42	38	4	90,5 %
Magenaspirat	22	18	4	81,8 %

Außerdem wurden bei den Sputumproben die MTB-positiven Proben mit einem anderen CE/IVD-gekennzeichneten molekulardiagnostischen Assay und mittels AFB-Abstrichmikroskopie getestet. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle angegeben.

Tabelle 27 Diagnostische Sensitivität von Sputumproben im Vergleich zu anderen Assays

Probe	Anzahl	Positiv	Negativ	Diagnostische Sensitivität in %
Mit CE/IVD-gekennzeichnetem molekulardiagnostischem Assay getestetes Sputum	50	50	0	100 %
Mittels AFB-Abstrichmikroskopie getestetes Sputum	44	44	0	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 Produktdokumentation „MTB EXTRA ELITe MGB Kit“, FTP 121ING, aufgeführt.

12 REFERENZEN

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

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

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

K. Linnet et al. (2004) Clin. Chem. 50: 732 - 740.

13 GRENZEN DES VERFAHRENS

Dieses Produkt nur für die folgenden klinischen Proben verwenden: Sputum, bronchoalveolare Lavagen (BAL), Bronchialaspirate (BA), Urin, Hohlraumflüssigkeiten, Biopsien und Magenaspire, 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 aktuell 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 ordnungsgemäßen Durchführung von Identifizierung, Entnahme, Transport, Lagerung und Verarbeitung der Proben ab. Zur Vermeidung falscher Ergebnisse ist es daher notwendig, bei diesen Schritten sorgfältig vorzugehen und die dem Produkt beiliegende Gebrauchsanweisung sorgfältig zu befolgen.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

14 FEHLERBEHEBUNG

Tabelle 28

Ungültige Positive Control-Reaktion	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Einstellfehler des Geräts.	Position von PCR Mix und Positive Control kontrollieren. Volumina von PCR Mix und Positive Control kontrollieren.
Abbau des PCR Mix.	Den PCR Mix nicht für mehr als 7 unabhängige Läufe verwenden (jeweils 3 Stunden im gekühlten Reagenzienblock oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix nicht für mehr als 3 aufeinander folgende Läufe verwenden (7 Stunden im gekühlten Reagenzienblock oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix nicht länger als 30 Minuten bei Raumtemperatur aufbewahren. Ein neues Aliquot des PCR Mix verwenden.
Abbau des Positive Control.	Die Positive Control nicht für mehr als 4 unabhängige Läufe verwenden (jeweils 3 Stunden im Extraktionsbereich oder in der Cooler Unit). Ein neues Aliquot des Positive Control verwenden.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Tabelle 29

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

Tabelle 30

Ungültige Probenreaktion	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Einstellfehler des Geräts.	Position von PCR Mix, Internal Control und Probe kontrollieren. Volumina von PCR Mix, Internal Control und Probe kontrollieren.
Abbau des PCR Mix.	Den PCR Mix nicht für mehr als 7 unabhängige Läufe verwenden (jeweils 3 Stunden im gekühlten Reagenzienblock oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix nicht für mehr als 3 aufeinander folgende Läufe verwenden (7 Stunden im gekühlten Reagenzienblock oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix nicht länger als 30 Minuten bei Raumtemperatur aufbewahren. Ein neues Aliquot des PCR Mix verwenden.
Abbau der Vorlage für die Internal Control.	Ein neues Aliquot der Internal Control verwenden.
Inhibition durch Störsubstanzen in der Probe.	Amplifikation der eluierten Probe mit einer 1:2-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „PCR Only“-Lauf (nur PCR) wiederholen. Extraktion mit einer 1:2-Verdünnung der Probe in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „Extract + PCR“-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Tabelle 31

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

Tabelle 32

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

Tabelle 33

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

15 SYMBOLE

REF

Katalognummer.



Temperaturobergrenze.

LOT

Chargenbezeichnung.



Verfallsdatum (letzter Tag des Monats).

IVD

In-vitro-Diagnostikum.



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

UDI

Unique Device Identification, eindeutige Gerätekennung



Ausreichend für „N“ Tests



Gebrauchsanweisung beachten.

CONT

Inhalt.



Vor Sonneneinstrahlung schützen.



Hersteller.

16 ANWENDERHINWEISE

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

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

17 HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ

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

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

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

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

MGB®, Eclipse Dark Quencher®, AquaPhluor®, ELITe MGB®, das ELITe MGB®-GeräteLogo, ELITe InGenius® und ELITe BeGenius® sind eingetragene Marken der ELITeTechGroup in der Europäischen Union.

Appendix A MTB EXTRA ELITe MGB Kit zur Verwendung mit Plattformen der Genius-Reihe®



VORSICHT

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

Verwendungszweck

Das Produkt **MTB EXTRA ELITe MGB® Kit** ist ein *In-vitro*-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal als qualitativer Nukleinsäure-Real-Time-PCR-Assay zum Nachweis der DNA des *Mycobacterium tuberculosis* (MTB)-Komplexes (*M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. canetti*, *M. microti*, *M. caprae*) bestimmt ist.

Der Assay ist in Verbindung mit den Geräten **ELITe InGenius®** und **ELITe BeGenius®**, automatisierten und integrierten System zur Extraktion, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation mit humanen Sputumproben, Bronchialaspiraten (BA), bronchoalveolären Lavagen (BAL), Urin, Hohlraumflüssigkeiten, Biopsien und Magenaspizaten, die zuvor verflüssigt, dekontaminiert und inaktiviert wurden, validiert.

Das Produkt ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Diagnose von Infektionen durch den *Mycobacterium tuberculosis*-Komplex, in Kombination mit allen relevanten klinischen Beobachtungen und Laborbefunden, insbesondere den Kulturmethoden für *Mycobacterium*, bestimmt.

Amplifizierte Sequenz

Zielgen für qualitative Anwendung	Gen	Fluorophor	Kanal
› Zielgen	› IS6110	› FAM	MTB
› Internal Control	› Künstliche IC2-Sequenz	› AP680	IC

Validierte Matrix

<ul style="list-style-type: none"> Sputum Bronchialaspirate (BA) / bronchoalveoläre Lavagen (BAL) Urin Hohlraumflüssigkeiten Biopsien Magenaspizate 	zuvor verflüssigt, dekontaminiert und inaktiviert
---	---

Kit-Inhalt und zugehörige Produkte

MTB EXTRA ELITe MGB Kit (RTS121ING)	MDR/MTB - ELITe Positive Control (CTR120ING)
 X 8	 X 3
MTB EXTRA PCR Mix 8 Röhrchen mit 280 µl 12 Reaktionen pro Röhrchen 96 Reaktionen pro Kit 7 Einfrier- und Auftau-Zyklen pro Röhrchen	TB Positive Control 3 Röhrchen mit 160 µl 2 Reaktionen pro Röhrchen 6 Reaktionen pro Kit 2 Gefrier- und Auftauzyklen
Maximale Haltbarkeitsdauer:	24 Monate
Umgebungstemperatur bei Lagerung	≤ -20°C
	Maximale Haltbarkeitsdauer 24 Monate
	Umgebungstemperatur bei Lagerung ≤ -20°C

Weitere benötigte, nicht im Kit enthaltene Produkte

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

ELITe InGenius- und ELITe BeGenius-Protokoll

> Probenvolumen > CPE-Volumen > Gesamtes Elutionsvolumen	200 µl 10 µl 100 µl	> PCR-Eingangsvolumen für die Elution > Volumen Q-PCR-Mix > Häufigkeit der Kontrollen > Häufigkeit der Kalibrierung	20 µl 20 µl 15 Tage 30 Tage
--	---------------------------	--	--------------------------------------

Leistungsdaten für ELITe InGenius und ELITe BeGenius

Matrix	Nachweisgrenze	Diagnostische Sensitivität	Diagnostische Spezifität
Sputum	6 KbE/ml	100 % 50/50*	98 % 47/48*
BAL/BA	6 KbE/ml	91,3 % 42/46*	97,5 % 39/40*
Urin	20 KbE/ml	80 % 16/20*	100 % 20/20*
Hohlraumflüssigkeit	20 KbE/ml	97,5 % 39/40*	100 % 40/40*

Matrix	Nachweisgrenze	Diagnostische Sensitivität	Diagnostische Spezifität
Biopsie	20 KbE/ml	90,5 % 38/42	100 % 40/40*
Magenaspirat	20 KbE/ml	81,8 % 18/22*	100 % 20/20*

* bestätigte Proben / getestete Proben

Probenvorbereitung

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

Tabelle 34

Probe	Anforderungen an die Entnahme	Transport-/Lagerbedingungen			
		+16 / +26 °C (Raumtemperatur)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Sputum	mit einer N-Acetyl-L-Cystein-Lösung verflüssigt und mit Natronlauge dekontaminiert ⁽²⁾ , dann 30 Minuten bei 95 °C inaktiviert	≤ 1 Stunde ⁽¹⁾	≤ 2 Tage ⁽²⁾	≤ 1 Monat ⁽⁵⁾	≥ 1 Monat
Bronchoalveoläre Lavage (BAL) und Bronchialaspirate (BA)	mit einer N-Acetyl-L-Cystein-Lösung verflüssigt und mit Natronlauge dekontaminiert ⁽²⁾ , dann 30 Minuten bei 95 °C inaktiviert	≤ 1 Stunde ⁽¹⁾	≤ 2 Tage ⁽²⁾	≤ 1 Monat ⁽⁵⁾	≥ 1 Monat
Urin	konzentriert und mit Natronlauge dekontaminiert ⁽²⁾ , dann 30 Minuten bei 95 °C inaktiviert	≤ 1 Stunde ⁽¹⁾	≤ 2 Tage ⁽²⁾	≤ 1 Monat ⁽⁵⁾	≥ 1 Monat
Hohlraumflüssigkeit	konzentriert und mit Natronlauge dekontaminiert ⁽²⁾ , dann 30 Minuten bei 95 °C inaktiviert	≤ 1 Stunde ⁽³⁾	≤ 2 Tage ⁽²⁾	≤ 1 Monat ⁽⁵⁾	≥ 1 Monat
Biopsie	zerlegt und mit Natronlauge dekontaminiert ⁽²⁾ , dann 30 Minuten bei 95 °C inaktiviert	≤ 1 Stunde ⁽³⁾	≤ 7 Tage ⁽⁴⁾	≤ 1 Monat ⁽³⁾	≥ 1 Monat
Magenaspirat	mit einer N-Acetyl-L-Cystein-Lösung verflüssigt und mit Natronlauge dekontaminiert ⁽²⁾ , dann 30 Minuten bei 95 °C inaktiviert	≤ 1 Stunde ⁽¹⁾	≤ 2 Tage ⁽²⁾	≤ 7 Tage ⁽⁴⁾	≥ 1 Monat

- 1) (CLSI MP48 2nd Edition, „Laboratory Detection and Identification of Mycobacteria“)
- 2) (Mycobacteriology Laboratory Manual, Global Laboratory Initiative).
- 3) (Probenanforderungen von KPNW)
- 4) (Mayo Clinic Laboratories)
- 5) (ARUP Laboratories)

ELITe InGenius-Verfahren

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

Vor der Analyse

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

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

1. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen	2. Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingang: „200 µL“, Elutionsvolumen: „100 µL“	3. Die Proben-Barcodes mit dem tragbaren Barcodeleser scannen oder die Proben-ID eingeben
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: MTB EXTRA ELITe_SP_200_100 MTB EXTRA ELITe_BAL_200_100 MTB EXTRA ELITe_U_200_100 MTB EXTRA ELITe_CL_200_100 MTB EXTRA ELITe_B_200_100 MTB EXTRA ELITe_GA_200_100	5. Die Methode „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) und die „Sample Position“ (Probenposition) auswählen: Extraction Tube (Extraktionsröhrchen)	6. Den PCR Mix und die Internal-Control in den Inventory Block (Bestandsmanager) laden
7. Folgendes laden: PCR Cassette, Extraktionskartusche, Elution tube (Elutionsröhrchen), Spitzenkassette, Extraction Tube (Extraktionsröhrchen)-Rack	8. Tür schließen. Analyselauf starten	9. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern

HINWEIS!

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

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

1. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen	2. Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingang: „200 µL“, Elutionsvolumen: „100 µL“	3. Die Proben-Barcodes mit dem tragbaren Barcodeleser scannen oder die Proben-ID eingeben
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: MTB EXTRA ELITe_PC oder MTB EXTRA ELITe_NC oder MTB EXTRA ELITe_SP_200_100 MTB EXTRA ELITe_BAL_200_100 MTB EXTRA ELITe_U_200_100 MTB EXTRA ELITe_CL_200_100 MTB EXTRA ELITe_B_200_100 MTB EXTRA ELITe_GA_200_100	5. Die Methode „PCR Only“ (Nur PCR) und die „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube“ (Elutionsröhrchen) auswählen	6. Den PCR Mix in den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden
7. Folgendes laden: PCR Cassette-Rack und Elution tube (Elutionsröhrchen)-Rack mit der extrahierten Nukleinsäure	8. Tür schließen. Analyselauf starten	9. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern

ELITe BeGenius-Verfahren

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

Vor der Analyse

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

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

1. Auf dem Touchscreen „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen und anschließend auf den Laufmodus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) klicken.	2. Das Sample Rack (Probenständer) mit den barcodierten Proben in die Cooler Unit einsetzen. Der Barcode-Scan ist bereits aktiv	3. Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingang: „200 µL“, Elutionsvolumen: „100 µL“
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: MTB EXTRA ELITE_Be_SP_200_100 MTB EXTRA ELITE_Be_BAL_200_100 MTB EXTRA ELITE_Be_U_200_100 MTB EXTRA ELITE_Be_CL_200_100 MTB EXTRA ELITE_Be_B_200_100 MTB EXTRA ELITE_Be_GA_200_100 Hinweis: Bei Durchführung einer zweiten Extraktion die Schritte 2 bis 4 wiederholen	5. Die Etiketten ausdrucken, um die leeren Elution Tubes (Elutionsröhrenchen) mit einem Barcode zu versehen. Die Röhrchen in das Elution Rack (Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen	6. Den PCR Mix und die Internal Control in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen
7. Das „PCR Rack“ mit der „PCR Cassette“ und den „Extraction Basket“ (Korb) mit den „ELITE InGenius SP 200“ Extraktionskartuschen und die für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden	8. Tür schließen. Analyselauf starten	9. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern

HINWEIS!

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

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

1. Auf dem Touchscreen „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen und anschließend auf den Run mode „PCR Only“ (Nur PCR) klicken	2. Die barcodierten Röhrchen mit der extrahierten Nukleinsäure oder den Kontrollen in das Elution Rack (Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen	3. Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingang: „200 µL“, Elutionsvolumen: „100 µL“
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: MTB EXTRA ELITE_Be_PC oder MTB EXTRA ELITE_Be_NC oder: MTB EXTRA ELITE_Be_SP_200_100 MTB EXTRA ELITE_Be_BAL_200_100 MTB EXTRA ELITE_Be_U_200_100 MTB EXTRA ELITE_Be_CL_200_100 MTB EXTRA ELITE_Be_B_200_100 MTB EXTRA ELITE_Be_GA_200_100	5. Den PCR-Mix in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen	6. „PCR Rack“ mit „PCR Cassette“ laden
7. Tür schließen. Analyselauf starten	8. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern	

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

