

Instructions for use

Bordetella ELITe MGB® Kit

Reagenzien für die DNA-Real-Time-PCR



REF RTS140ING

UDI 08033891486785

CE
0123

IVD

ÄNDERUNGSVERLAUF

Rev.	Änderungsvermerk	Datum (TT.MM.JJ)
06-R	Aktualisierung der Verpackung des PCR Mix-Röhrchens (Abschnitt „Mit dem Produkt bereitgestellte Materialien“) Aktualisierung des Abschnitts „Sonstige benötigte Produkte“ Aktualisierung des Abschnitts „Hinweis an die Benutzer“	08/09/25
05-R	Aktualisierung des Abschnitts „Symbole“ mit dem Symbol „Gebrauchsanweisung beachten“ Aktualisierung des Abschnitts „Hinweis an den Käufer: eingeschränkte Lizenz“	24/03/25
04-R	Erweiterte Verwendung auf dem automatisierten und integrierten Gerät ELiTe BeGenius mit Nasopharyngeal-aspirat-Matrizes. Neue grafische und inhaltliche Gestaltung der Gebrauchsanweisung.	31/10/24
03-R	Aktualisierung nach Revision von RB	12/06/23
02-R	Aktualisierung zur Einhaltung der Anforderungen der IVD-Verordnung (EU) 2017/746 über In-vitro-Diagnostika.	19/01/23
00-02	Neuproduktentwicklung und nachfolgende Änderungen	—

HINWEIS!

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

<u>PRODUKTTREF.</u>	<u>Chargennummer</u>	<u>Verfallsdatum</u>
RTS140ING	U0224-095	28/02/26
RTS140ING	U0524-028	28/02/26
RTS140ING	U0824-001	31/07/26

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

INHALTSVERZEICHNIS

1 VERWENDUNGSZWECK.....	4
2 TESTPRINZIP	4
3 BESCHREIBUNG DES PRODUKTS	4
4 MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN.....	5
5 ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN	5
6 ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE	5
7 WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN	6
8 PROBEN UND KONTROLLEN.....	7
9 ELITE InGenius VERFAHREN.....	9
10 VERFAHREN BEI ELITE BeGenius	14
11 LEISTUNGSMERKMALE	19
12 REFERENZEN	28
13 GRENZEN DES VERFAHRENS.....	28
14 FEHLERBEHEBUNG	29
15 SYMBOLE	31
16 ANWENDERHINWEISE.....	32
17 HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ.....	32
Appendix A QUICK START GUIDE.....	33

1 VERWENDUNGSZWECK

Das Produkt **Bordetella ELiTe MGB® Kit** ist ein *In-vitro*-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal in qualitativen Multiplex-Nukleinsäure-Real-Time-PCR-Assays zum Nachweis und zur Identifizierung der genomischen DNA von ***Bordetella pertussis* (BP)**, ***Bordetella parapertussis* (BPP)** und ***Bordetella holmesii* (BH)**, die aus klinischen Proben extrahiert wurde, bestimmt ist.

Dieser Assay ist in Verbindung mit den Geräten **ELiTe InGenius®** und **ELiTe BeGenius®**, automatisierten und integrierten Systemen zur Extraktion, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation mit humanen Proben von Nasopharyngeal-aspirat validiert.

Das Produkt ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Diagnose von *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* und *Bordetella holmesii* bei Patienten mit Verdacht auf eine Bordetella-Infektion bestimmt.

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

2 TESTPRINZIP

Der Assay ist eine qualitative Real-Time-PCR für den Nachweis von *Bordetella pertussis*-, *Bordetella parapertussis*- und *Bordetella holmesii*-DNA, die aus Proben isoliert und anschließend in einer Real-Time-PCR mit dem Testreagenz **BORD 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** ELiTe InGenius und **ELiTe BeGenius** überwachen den Fluoreszenzanstieg und berechnen den Schwellenwertzyklus (Ct).

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 **Bordetella ELiTe MGB Kit** enthält das Assay-Reagenz **BORD PCR Mix**, ein optimiertes und stabilisiertes PCR-Gemisch, das die spezifischen Primer und Sonden enthält für:

- die wiederholte **IS481**-Sequenz von *B. pertussis* und *B. holmesii*, nachgewiesen in Kanal **IS481**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit einem nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht und mit einem FAM-Farbstoff markiert,
- den Promoter des **ptxA**-Gens von *B. pertussis*, nachgewiesen im Kanal **BP**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit einem nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht und mit dem Farbstoff AquaPhluor® 639 (AP639) markiert,
- das **recA**-Gen von *B. holmesii*, nachgewiesen im Kanal **BH**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit einem nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 690 (AP690) markiert,
- die wiederholte **IS1001**-Sequenz von *B. parapertussis*, nachgewiesen in Kanal **BPP**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit einem nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 593 (AP593) 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 einem nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 525 (AP525) markiert.

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

Das Produkt **Bordetella ELiTe MGB Kit** enthält ausreichend Reagenzien für **96 Tests** auf dem **ELiTe InGenius** und **ELiTe BeGenius(12 Tests pro Röhrchen)**, wobei 20 µl pro Reaktion verwendet werden.

Das **Bordetella ELiTe MGB Kit** kann auch in Verbindung mit gleichwertigen Geräten verwendet werden.

4 MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN

Tabelle 1

Komponente	Beschreibung	Menge	Gefahrenklasse
BORD PCR Mix Art.-Nr. RTS140ING	Gemisch aus Reagenzien für die Real-Time-PCR in Röhrchen mit NATURFARBENEM 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, Art.-Nr. 72.694.005).
- sterile 0,5-ml-Röhrchen mit Schraubverschluss (Sarstedt, Art.-Nr. 72.730.005)
- Hochreines Wasser für die Molekularbiologie.

6 ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE

Die Reagenzien für die Extraktion der 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
ELiTe InGenius (ELiTechGroup S.p.A., EG SpA, Art.-Nr. INT030). ELiTe InGenius Software Version 1.3.0.19 (oder später). BORD ELiTe_PC , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Positive Control-Analyse. BORD ELiTe_NC , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Negative Control-Analyse. BORD ELiTe_NPA_200_100 , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Analyse von Nasopharyngeal-aspirat-Proben.	Bordetella - ELiTe Positive Control (EG SpA, Art.-Nr. CTR140ING). CPE - Internal Control (EG SpA, Art.-Nr. CTRCPE). ELiTe InGenius SP200 (EG SpA., Art.-Nr. INT032SP200) ELiTe InGenius und ELiTe BeGenius Verbrauchsmaterialien (siehe ELiTe InGenius und ELiTe BeGenius Gebrauchsanweisung)
ELiTe BeGenius (EG SpA, Art.-Nr. INT040). ELiTe BeGenius Software Version 2.3.0 (oder später). BORD ELiTe_Be_PC , Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Positive Control-Analyse. BORD ELiTe_Be_NC , Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Negative Control-Analyse. BORD ELiTe_Be_NPA_200_100 , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Analyse von Nasopharyngeal-aspirat-Proben.	

7 WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

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

7.1 Allgemeine Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

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

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

Geeignete Schutzkleidung und Schutzhandschuhe sowie Augen-/Gesichtsschutz tragen.

Lösungen niemals mit dem Mund pipettieren.

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

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

Restliche Reagenzien und Abfälle gemäß den geltenden Vorschriften entsorgen.

Vor der Durchführung des Assays alle bereitgestellten Anweisungen aufmerksam lesen.

Bei der Durchführung des Tests die bereitgestellten Produktanweisungen befolgen.

Das Produkt nicht nach dem angegebenen Ablaufdatum verwenden.

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

Keine Reagenzien aus unterschiedlichen Chargen verwenden.

Keine Reagenzien anderer Hersteller verwenden.

7.2 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen für die Molekularbiologie

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

Es werden Laborkittel, Handschuhe und Werkzeuge benötigt, die speziell für den jeweiligen Arbeitslauf vorgesehen sind. Die 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	Umgebungs- temperatur bei Lagerung	Haltbarkeit nach Anbruch	Gefrier- und Auftauzyklen	On-Board-Stabilität (ELITe InGenius und ELITe BeGenius)
BORD PCR Mix	-20°C oder darunter (licht- geschützt)	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 (Raumtempera- tur)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Nasopharyngeal aspirat	-	≤ 2 Tage	≤ 7 Tage	≤ 1 Monat	> 1 Monat

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

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

Tabelle 5 Assay-Protokolle für Bordetella ELiTe MGB Kit

Probe	Gerät	Name des Assay-Protokolls	Bericht	Eigenschaften
Nasopharyngeal-aspirat	ELiTe InGenius	BORD ELiTe_NPA_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	BORD ELiTe_Be_NPA_200_100		

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

HINWEIS!

Das Pipettieren in das **Extraction Tube** (Extraktionsröhrchen) oder das **2-ml-Sarstedt-Röhrchen** kann **Kontamination verursachen**. Die geeigneten Pipetten verwenden und alle im Abschnitt 7 WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN page 6 aufgeführten Empfehlungen befolgen.

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

Daten zu störenden Substanzen sind im Abschnitt „[11 LEISTUNGSMERKMALE page 19](#)“ unter „Potenziell interferierende Substanzen“ 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 **Bordetella - ELiTe Positive Control** (nicht in diesem Kit enthalten) mit den Assay-Protokollen **BORD ELiTe_PC** oder **BORD ELiTe_Be_PC** verwenden.
- Für die Negative Control hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) mit den Assay-Protokollen (Assay Protocols) **BORD ELiTe_NC** oder **BORD 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 **Bordetella ELITE MGB Kit** mit dem **ELITE InGenius** anzuwendende Verfahren besteht aus drei Schritten:

Tabelle 6

SCHRITT 1	Prüfung der Systembereitschaft	
SCHRITT 2	Einrichtung des Laufs	A) Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])
		B) Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])
		C) 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 **Bordetella ELITE MGB Kit** kann auf **ELITE InGenius** für die folgenden Läufe verwendet werden:

- Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR]),
- Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR]),
- 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
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“ (Extraktionsröhrchen) in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) auswählen.	Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr [untere Reihe]) lautet.	Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr [untere Reihe]) lautet.
9	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.

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])
10	CPE und PCR Mix gemäß der „Load List“ (Liste Laden) auf den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.	PCR Mix gemäß der „Load List“ (Ladeliste) auf den „Inventory Block“ (Bestandsblock) laden und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.	PCR Mix gemäß der „Load List“ (Ladeliste) auf den „Inventory Block“ (Bestandsblock) laden und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.
11	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
12	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.
13	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
14	PCR Cassette, ELiTe InGenius SP 200 Extraktionskartuschen und alle benötigten Verbrauchsmaterialien und zu extrahierenden Proben laden .	PCR Cassette und Elution Tube (Elutionsröhrchen) mit extrahierten Proben laden .	PCR Cassette, Positive Control- und Negative Control-Röhrchen laden .
15	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
16	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.
17	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.

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

HINWEIS!

Am Ende des Laufs muss die übrige extrahierte Probe im **Elution Tube** (Elutionsröhr.) aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen, gekennzeichnet und maximal einen Monat bei -20 ± 10 °C 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 **Bordetella 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 Positivkontrolle und Negativkontrolle

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

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

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

Die 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) im Bildschirm „Controls“ angezeigt. In diesem Fall können die Ergebnisse nicht genehmigt werden und die Läufe der Positive Control oder Negative Control müssen wiederholt werden.

HINWEIS!

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

9.3.2 Validierung der Probenergebnisse

Die **ELiTe InGenius Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse für die Zielsequenzen (Kanäle **IS481**, **BP**, **BH** und **BPP**) und die Internal Control (Kanal **IC**) mit den Assay-Protokoll-Parametern **BORD ELiTe_NPA_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“
BORD Positive Control	APPROVED (Genehmigt)
2) Negative Control	„Status“
BORD 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
IS481: DNA Detected (MTB: DNA Erkannt)	In der Probe wurde DNA von <i>B. pertussis</i> oder <i>B. holmesii</i> (IS481) nachgewiesen . Hinweis: Wenn IS481 DNA nachgewiesen wird, könnte <i>B. pertussis</i> (BP) oder <i>B. holmesii</i> (BH) DNA ebenfalls typisiert werden.
IS481: Nachweis von DNA anderer verwandter Arten.	In der Probe wurde IS481-ähnliche DNA eines unbeabsichtigten Organismus nachgewiesen .
IS481: DNA Nicht nachgewiesen oder unter Nachweisgrenze.	In der Probe wurde keine DNA von <i>B. pertussis</i> und <i>B. holmesii</i> (IS481) nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf diese Pathogene getestet oder ihre Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
BP: typing positive. (BP: Typisierung positiv.)	In der Probe wurde DNA von <i>B. pertussis</i> nachgewiesen . Hinweis: Wenn das BP-Ziel nachgewiesen wird, muss das IS481-Ziel ebenfalls nachgewiesen werden.
BP: typing not feasible. (BP: Typisierung nicht machbar.)	In der Probe wurde diese <i>B. pertussis</i>-spezifische Ziel-DNA nicht nachgewiesen . Bitte überprüfen Sie auch die Ergebnisse der IS481-Ziel-DNA.
BH: typing positive. (BP: Typisierung positiv.)	In der Probe wurde <i>B. holmesii</i>-DNA nachgewiesen . Hinweis: Wenn das BH-Ziel nachgewiesen wird, muss das IS481-Ziel ebenfalls nachgewiesen werden.
BH: typing not feasible. (BH: Typisierung nicht machbar.)	In der Probe wurde diese <i>B. holmesii</i>-spezifische Ziel-DNA nicht nachgewiesen . Bitte überprüfen Sie auch die Ergebnisse der IS481-Ziel-DNA.
BPP: DNA Detected (MTB: DNA Erkannt)	In der Probe wurde DNA von <i>B. paraptussis</i> nachgewiesen .
BPP: DNA Nicht nachgewiesen oder unter Nachweisgrenze.	In der Probe wurde keine DNA von <i>B. paraptussis</i> nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf dieses Pathogen getestet oder seine Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
Invalid - Retest Sample (Ungültig - Probe erneut testen).	Ungültiges Testergebnis durch fehlerhafte Internal Control (z. B. aufgrund von falscher Extraktion, Verschleppung von Inhibitoren). Der Test sollte wiederholt werden.

Als „Invalid-Retest Sample“ (Ungültig - Probe erneut testen) ausgegebene Proben. In diesem Fall wurde die Internal-Control-DNA möglicherweise aufgrund von Problemen beim Probenentnahme-, Extraktions- oder PCR-Schritt nicht effizient erkannt (z. B. falsche Probenahme, Vorbehandlung, 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 29“).

Als „IS481: DNA Not Detected or below the LoD“ (IS481-DNA nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze) oder „BPP: DNA Not Detected or below the LoD“ (BPP-DNA nicht erkannt oder unterhalb der Nachweisgrenze) ausgegebene Proben sind für die Analyse geeignet, es wurde jedoch keine DNA der Zielgene nachgewiesen. In diesem Fall kann entweder die Probe für die DNA der Zielgene negativ sein oder die DNA der Zielgene ist bei einer Konzentration unter der Nachweisgrenze des Assays vorhanden (siehe „11 LEISTUNGSMERKMALE page 19“).

Als „IS481: Mit „Nachweis von DNA anderer verwandter Arten“ ausgegebene Proben sind für die Analyse geeignet und die IS481-ähnliche DNA eines unbeabsichtigten Organismus wurde in der Probe nachgewiesen. In diesem Fall wird die Probe für IS481 als „positiv“ ausgegeben, es wurde jedoch keine *B. holmesii*-spezifische Ziel-DNA (BH) oder *B. pertussis*-spezifische Ziel-DNA (BP) in der Probe nachgewiesen.

Wenn DNA der IS481-Gensequenz mit hoher Kopienzahl nachgewiesen wird, kann es sein, dass in schwach positiven Proben die *B. pertussis*-spezifische Ziel-DNA (BP) oder die *B. holmesii*-spezifische Ziel-DNA (BH) aufgrund der unterschiedlichen Kopienzahl der spezifischen Zielgene nicht nachgewiesen wird (z. B. liegen der Promotor des ptxA-Gens und das recA-Gen in BP bzw. BH in einfacher Kopie vor). Die Probe ist jedoch positiv für *B. pertussis* oder für *B. holmesii*, eine Identifizierung ist allerdings nicht möglich.

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 **Bordetella 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])

Tabelle 10 (continued)

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 **Bordetella 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“ (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 11

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])	C. Lauf für Positive und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
1	Proben identifizieren und, falls erforderlich, auf Raumtemperatur auftauen. Für diesen Test müssen 200 µl Probe in ein zuvor etikettiertes 2-ml-Sarstedt-Röhrchen überführt werden.	Falls erforderlich, die Elutionsröhrchen mit den extrahierten Nukleinsäuren auf Raumtemperatur auftauen . Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.	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	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“).

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])
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
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

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])
23	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.
24	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.

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

HINWEIS!

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

11.1 Erfassungsgrenze (LoB)

Die Erfassungsgrenze (LoB, Limit of Blank) des Assays wurde für das Gerät ELiTe InGenius durch Testen von Nasopharyngealaspirat (NPA)-Proben bestimmt.

Die LoB wurde durch Testen von 60 klinischen NPA-Proben für das IS481-Target (*B. pertussis* und *B. holmesii*) und für IS1001 (*B. parapertussis*) verifiziert. Aufgrund der hohen analytischen Sensitivität wurde die LoB durch Anwendung eines Ct-Cut-off-Wertes von 40 für das IS481-Target (*B. pertussis* und *B. holmesii*) und für das BPP-Target (IS1001, *B. parapertussis*) definiert, um 95 % der negativen Ergebnisse zu erhalten.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 12 Erfassungsgrenze

<i>B. pertussis</i> / <i>B. holmesii</i> (IS481-Target)				
Matrix	Anzahl	Positiv	Negativ	% Negativität
Negative Nasopharyngealaspirate	60	3	57	95
<i>B. parapertussis</i> (BPP-Target)				
Matrix	Anzahl	Positiv	Negativ	% Negativität
Negative Nasopharyngealaspirate	60	1	59	98

Die Proben, die in Verbindung mit dem Bordetella ELiTe MGB Kit und dem Gerät ELiTe InGenius ein positives Ergebnis lieferten, wiesen hohe Ct-Werte (zwischen 37 und 40) auf und lagen somit in einer sehr niedrigen Konzentration vor.

Der Ct-Grenzwert wurde mit ELiTe BeGenius bestätigt.

11.2 Nachweisgrenze (LoD)

Die Nachweisgrenze (LoD) des Assays für das Gerät ELiTe InGenius wurde durch Testen von mit Referenzmaterial von *B. pertussis*, *B. parapertussis* und *B. holmesii* (DMSZ, Deutschland) dotierten NPA-Proben bestimmt.

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

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 13 Nachweisgrenze

Zielsequenz	LoD (KbE/ml)	Grenzen des 95%-Konfidenzintervalls	
		Untere Grenze	Obere Grenze
<i>B. pertussis</i> (IS481-Target)	12	7	58
<i>B. parapertussis</i> (IS1001-Target)	11	6	19
<i>B. holmesii</i> (IS481-Target)	12	5	34

Zur Verifizierung des berechneten LoD-Werts wurden auf ELITE BeGenius und ELITE InGenius mit *B. pertussis*-, *B. parapertussis*- und *B. holmesii*-Referenzmaterialien in der behaupteten Konzentration dotierte NPA-Proben getestet.

Die erhaltenen Ergebnisse bestätigten die behauptete Konzentration für alle Zielsequenzen des Bordetella ELITE MGB Kits auf ELITE BeGenius und ELITE InGenius.

11.3 Inklusivität: Nachweiseffizienz bei verschiedenen Stämmen oder Isolaten

Die Inklusivität des Assays, d. h. die Nachweiseffizienz bei verschiedenen Stämmen oder Isolaten von *B. pertussis*, *B. parapertussis* und *B. holmesii* wurde mittels *In-silico*-Analyse bewertet.

Die Analyse zeigte eine Sequenzerhaltung und ein Nichtvorhandensein signifikanter Mutationen. Daher wird ein effizienter Nachweis für die verschiedenen Stämme oder Isolate erwartet.

Die Inklusivität wurde auch durch die Analyse von *B. pertussis*-, *B. parapertussis*- und *B. holmesii*-Referenzmaterialien (Vircell, DSMZ und ATCC) verifiziert.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 14 Referenzmaterial genomische DNA

Organismus	Stamm	Zielsequenz	Pos. / Wiederh.	Ergebnis
<i>B. pertussis</i>	F-Stamm	IS481	3/3	IS481 erkannt
		BP	3/3	BP typing positive. (BP-Typisierung positiv)
<i>B. parapertussis</i>	CDC F5101	BPP	3/3	BPP nachgewiesen
<i>B. holmesii</i>	klinisches Isolat	IS481	3/3	IS481 erkannt
		BH	3/3	BH typing positive. (BP-Typisierung positiv)
<i>B. pertussis</i>	Tohama I	IS481	3/3	IS481 erkannt
		BP	3/3	BP typing positive. (BP-Typisierung positiv)
<i>B. parapertussis</i>	12822	BPP	3/3	BPP nachgewiesen

Tabelle 15 Referenzmaterial Bakterienkulturen

Organismus	Stamm	Zielsequenz	Pos. / Wiederh.	Ergebnis
<i>B. pertussis</i>	klinisches Isolat	IS481	3/3	IS481 erkannt
		BP	2/3	BP typing positive. (BP-Typisierung positiv)
<i>B. parapertussis</i>	klinisches Isolat	BPP	3/3	BPP nachgewiesen

Tabelle 15 Referenzmaterial Bakterienkulturen (continued)

Organismus	Stamm	Zielsequenz	Pos. / Wiederh.	Ergebnis
<i>B. holmesii</i>	klinisches Isolat	IS481	3/3	IS481 erkannt
		BH	3/3	BH typing positive. (BP-Typisierung positiv)

Alle getesteten Proben wurden mit dem Bordetella ELITE MGB Kit positiv auf das richtige Pathogen getestet.

11.4 Potenziell interferierende Organismen: Kreuzreaktivität

Die potenzielle Kreuzreaktivität mit unbeabsichtigten Organismen, die in klinischen Proben vorkommen können, wurde für den Assay durch eine *In-silico*-Analyse bewertet.

Die Analyse ergab für die Zielsequenzen keine signifikante Homologie mit dem Großteil der unbeabsichtigten Organismen (Viren, Bakterien, Protozoen und Pilze), wodurch keine Kreuzreaktivität zu erwarten ist. Allerdings wurden bei einigen Stämmen von *B. hinzii*, *B. bronchialis* und *B. bronchiseptica* für den IS481-Nachweis, bei einigen Stämmen von *B. petrii* für den recA-Nachweis und bei *Achromobacter denitrificans* für den IS1001-Nachweis signifikante Homologien und potenzielle Interferenzen beobachtet.

Die Kreuzreaktivität mit potenziell interferierenden Organismen wurde auch durch die Analyse eines Panels unbeabsichtigter Organismen (ATCC und DSMZ) überprüft.

Genomische DNA-Proben wurden in Dreifachbestimmung für jeden potenziell interferierenden Marker mit dem Gerät ELITE InGenius im Modus „PCR Only“ (nur PCR) analysiert.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 16 Potenziell interferierende Organismen: Kreuzreaktivität

Probe	Positiv / Replikate					Ergebnis
	IS481	BP (ptx)	BH (recA)	IS1001	IC	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Keine Kreuzreaktivität
<i>Candida albicans</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Keine Kreuzreaktivität
<i>Staphylococcus aureus</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Keine Kreuzreaktivität
<i>Escherichia coli</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Keine Kreuzreaktivität
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Keine Kreuzreaktivität
<i>Haemophilus influenzae</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Keine Kreuzreaktivität
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Keine Kreuzreaktivität
<i>Legionella pneumophila</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Keine Kreuzreaktivität
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Keine Kreuzreaktivität
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Keine Kreuzreaktivität
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Keine Kreuzreaktivität
CMV	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Keine Kreuzreaktivität
Enterovirus	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Keine Kreuzreaktivität
ADV	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Keine Kreuzreaktivität
FluA	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Keine Kreuzreaktivität

Tabelle 16 Potenziell interferierende Organismen: Kreuzreaktivität (continued)

Probe	Positiv / Replikate					Ergebnis
	IS481	BP (ptx)	BH (recA)	IS1001	IC	
FluB	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Keine Kreuzreaktivität
RSV	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Keine Kreuzreaktivität
<i>Bordetella petrii</i> (DSM 12804)	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Keine Kreuzreaktivität*
<i>Bordetella petrii</i> (REF504)	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Keine Kreuzreaktivität**
<i>Bordetella petrii</i> (REF505)	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Keine Kreuzreaktivität*
<i>Bordetella petrii</i> (BORD1836)	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Keine Kreuzreaktivität**
<i>Bordetella petrii</i> (BUR-15-132)	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Keine Kreuzreaktivität**
<i>Bordetella petrii</i> (BUR-19-174)	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Keine Kreuzreaktivität**

Die wichtigsten der getesteten potenziell interferierenden Organismen wiesen für die Zielsequenzen beim Test mit dem Bordetella ELITe MGB Kit keine Kreuzreaktivität auf.

Laut Sequenzanalyse waren einige Stämme von *Bordetella petrii* (*) positiv für die BH-Zielsequenz. Aufgrund der unterschiedlichen Schmelztemperaturen (T_m) zwischen dem recA-Protein von *B. holmesii* und dem recA-Protein anderer *Bordetella*-Spezies gibt das Assay-Protokoll „Typing not feasible“ (Typisierung nicht machbar) aus.

Darüber hinaus haben andere Stämme von *B. petrii* (**) eine IS481-ähnliche Sequenz und reagieren positiv auf die IS481-Zielsequenz. Aufgrund der unterschiedlichen T_m zwischen IS481 von *B. pertussis* und *B. holmesii* und der IS481-ähnlichen Sequenz anderer *Bordetella*-Spezies gibt das Assay-Protokoll „other related species“ (andere verwandte Spezies) aus.

11.5 Potenziell interferierende Organismen: Inhibition

Die potenzielle Inhibition unbeabsichtigter Organismen, die in klinischen Proben vorkommen können, wurde für den Assay durch die Analyse eines Panels unbeabsichtigter Organismen (ATCC und DSMZ), die mit *B. pertussis*- (ATCC) oder *B. paraptussis*- (ATCC) oder *B. holmesii*- (DSMZ) Referenzmaterialien dotiert waren, bewertet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 17 Potenziell interferierende Organismen: Inhibition

Probe	Positiv / Replikate					Ergebnis
	IS481	BP (ptx)	BH (recA)	IS1001	IC	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Inhibition
<i>Candida albicans</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Inhibition
<i>Staphylococcus aureus</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Inhibition
<i>Escherichia coli</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Inhibition
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Inhibition
<i>Haemophilus influenzae</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Inhibition
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Inhibition
<i>Legionella pneumophila</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Inhibition

Tabelle 17 Potenziell interferierende Organismen: Inhibition (continued)

Probe	Positiv / Replikate					Ergebnis
	IS481	BP (ptx)	BH (recA)	IS1001	IC	
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Inhibition
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Inhibition
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Inhibition
CMV	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Inhibition
Enterovirus	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Inhibition
ADV	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Inhibition
FluA	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Inhibition
FluB	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Inhibition
RSV	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Inhibition
<i>Bordetella petrii</i> (DSM 12804)	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Inhibition
<i>Bordetella petrii</i> (REF504)	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Inhibition
<i>Bordetella petrii</i> (REF505)	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Inhibition
<i>Bordetella petrii</i> (BORD1836)	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Inhibition
<i>Bordetella petrii</i> (BUR-15-132)	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Inhibition
<i>Bordetella petrii</i> (BUR-19-174)	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Inhibition

Bei allen getesteten potenziell interferierenden Organismen wurde im Test mit dem Bordetella ELITe MGB Kit keine Inhibition der Zielamplifikation nachgewiesen.

11.6 Interferenz unter den Zielsequenzen

Die potenzielle Interferenz unter den Zielsequenzen des Assays wurde durch einen Test der Co-Amplifikation von Referenzmaterialien von *B. pertussis*, *B. parapertussis* und *B. holmesii* bewertet.

Für jede Zielsequenz ist die bei allen Replikaten nachweisbare niedrigere Konzentration in der folgenden Tabelle angegeben.

Tabelle 18 Interferenz unter den Zielsequenzen

Getestete Zielsequenz (niedrige Kopienzahl)	Interferierende Zielsequenz bei ~10 ⁵ Kopien/Reaktion		
	<i>B. pertussis</i>	<i>B. parapertussis</i>	<i>B. holmesii</i>
IS481 (<i>B. pertussis</i>)	-	10 Kopien/Reaktion	-
BPP (<i>B. parapertussis</i>)	10 Kopien/Reaktion	-	100 Kopien/Reaktion
IS481 (<i>B. holmesii</i>)	-	10 Kopien/Reaktion	-

Tabelle 19 Interferenz unter den Zielsequenzen: Typisierung

Getestete Zielsequenz (niedrige Kopienzahl)	Interferierende Zielsequenz bei ~10 ⁵ Kopien/Reaktion		
	<i>B. pertussis</i>	<i>B. parapertussis</i>	<i>B. holmesii</i>
ptxA (<i>B. pertussis</i>)	-	100 Kopien/Reaktion	2 x 10 ³ K./Reaktion
recA (<i>B. holmesii</i>)	10 ³ K./Reaktion	10 Kopien/Reaktion	-

Der Bordetella ELITE MGB Kit zeigt keine signifikante Interferenz unter den Zielsequenzen.

11.7 Potenziell interferierende Substanzen: Inhibition

Die potenzielle Inhibition interferierender Substanzen (endogen und exogen), die in klinischen Proben vorkommen können, wurde für den Assay durch die Analyse eines Panels von Substanzen in relevanten Konzentrationen in mit den Zielorganismen dotierten Nasopharyngeal-aspirat-Proben bewertet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 20

Probe	Pos. / Wiederh.				Ergebnis
	<i>B. pertussis</i>	<i>B. parapertussis</i>	<i>B. holmesii</i>	IC	
Mucin	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Interferenz
Vollblut	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Interferenz
Azithromycin	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Interferenz
Beclometason	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Interferenz
Ebastin	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Interferenz
Ambroxol	3/3	3/3	3/3	3/3	Keine Interferenz

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

11.8 Wiederholpräzision

Zur Bewertung der Wiederholpräzision des Assays auf ELITE InGenius und ELITE BeGenius wurde ein Panel von Nasopharyngeal-aspirat-Proben, die negativ oder in einer Konzentration von 3 x LoD mit Referenzmaterialien von *B. pertussis* (DSMZ), *B. parapertussis* (DSMZ) oder *B. holmesii* (DSMZ) dotiert waren, analysiert.

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

Tabelle 21 Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs bei ELITE InGenius

Probe	Anzahl	IS481 / BPP-Target			% Übereinstimmung
		Mittelwert	SD	VK %	
Negativ	8	-	-	-	100 %
<i>B. pertussis</i> (IS481)	8	36,82	0,53	1,45	100 %
<i>B. parapertussis</i> (BPP)	8	36,17	0,54	1,48	100 %
<i>B. holmesii</i> (IS481)	8	35,67	0,32	0,91	100 %

Tabelle 22 Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs bei ELITE BeGenius

Probe	Anzahl	IS481 / BPP-Target			% Übereinstimmung
		Mittelwert	SD	VK %	
Negativ	8	-	-	-	100 %
<i>B. pertussis</i> (IS481)	8	36,51	0,40	1,11	100 %
<i>B. parapertussis</i> (BPP)	8	36,20	0,36	0,98	100 %
<i>B. holmesii</i> (IS481)	8	35,54	0,37	1,05	100 %

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

Tabelle 23 Laufübergreifende Wiederholpräzision bei ELITE InGenius (Tag 1 + Tag 2)

Probe	Anzahl	IS481 / BPP-Target			% Übereinstimmung
		Mittelwert	SD	VK %	
Negativ	16	-	-	-	100 %
<i>B. pertussis</i> (IS481)	16	36,69	0,52	1,42	100 %
<i>B. parapertussis</i> (BPP)	16	36,25	0,50	1,39	100 %
<i>B. holmesii</i> (IS481)	16	35,47	0,33	0,92	100 %

Tabelle 24 Laufübergreifende Wiederholpräzision bei ELITE BeGenius (Tag 1 + Tag 2)

Probe	Anzahl	IS481 / BPP-Target			% Übereinstimmung
		Mittelwert	SD	VK %	
Negativ	16	-	-	-	100 %
<i>B. pertussis</i> (IS481)	16	36,59	0,38	1,04	100 %
<i>B. parapertussis</i> (BPP)	16	36,22	0,44	1,21	100 %
<i>B. holmesii</i> (IS481)	16	35,38	0,33	0,92	100 %

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

11.9 Vergleichspräzision

Zur Bewertung der Vergleichspräzision des Assays auf ELITE InGenius und ELITE BeGenius wurde ein Panel von Nasopharyngeal-aspirat-Proben, die negativ oder in einer Konzentration von 3 x LoD mit Referenzmaterial von *B. pertussis* (DSMZ), *B. parapertussis* (DSMZ) und *B. holmesii* (DSMZ) dotiert waren, analysiert.

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

Tabelle 25 Chargenübergreifende Vergleichspräzision bei ELiTe InGenius

Probe		IS481 / BPP-Target			% Übereinstimmung
	Anzahl	Mittelwert	SD	VK %	
Negativ	8	-	-	-	100 %
B. pertussis (IS481)	8	36,87	0,32	0,88	100 %
B. parapertussis (BPP)	8	35,97	0,53	1,47	100 %
B. holmesii (IS481)	8	35,46	0,61	1,72	100 %

Tabelle 26 Chargenübergreifende Vergleichspräzision bei ELiTe BeGenius

Probe		IS481 / BPP-Target			% Übereinstimmung
	Anzahl	Mittelwert	SD	VK %	
Negativ	8	-	-	-	100 %
B. pertussis (IS481)	8	37,20	0,49	1,31	100 %
B. parapertussis (BPP)	8	36,19	0,53	1,45	100 %
B. holmesii (IS481)	8	35,59	0,39	1,08	100 %

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

Tabelle 27 Geräteübergreifende Vergleichspräzision bei ELiTe InGenius

Probe		IS481 / BPP-Target			% Übereinstimmung
	Anzahl	Mittelwert	SD	VK %	
Negativ	8	-	-	-	100 %
B. pertussis (IS481)	8	36,73	0,28	0,76	100 %
B. parapertussis (BPP)	8	35,80	0,53	1,47	100 %
B. holmesii (IS481)	8	35,15	0,39	1,12	100 %

Tabelle 28 Geräteübergreifende Vergleichspräzision bei ELiTe BeGenius

Probe		IS481 / BPP-Target			% Übereinstimmung
	Anzahl	Mittelwert	SD	VK %	
Negativ	8	-	-	-	100 %
B. pertussis (IS481)	8	37,12	0,45	1,22	100 %
B. parapertussis (BPP)	8	36,10	0,62	1,71	100 %
B. holmesii (IS481)	8	35,40	0,45	1,26	100 %

Beim Test der Vergleichspräzision erkannte das Produkt Bordetella ELiTe MGB Kit alle Proben wie erwartet und wies eine maximale Variabilität des Ct-Zielwerts als VK% unter 5 % aus.

11.10 Diagnostische Spezifität (negative prozentuale Übereinstimmung): Bestätigung negativer Proben

Die diagnostische Spezifität des Assays zur Bestätigung negativer klinischer Proben wurde mit ELiTe InGenius durch die Analyse klinischer Nasopharyngeal-aspirat-Proben, die mit einer Kulturmethode und einem handelsüblichen CE-IVD-Assay im externen Labor als negativ für *B. pertussis*, *B. parapertussis* und *B. holmesii* zertifiziert wurden, bewertet.

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

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 29 Diagnostische Spezifität

Negatives Nasopharyngeal-aspirat	Anzahl	Positiv	Negativ	Diagnostische Spezifität in %
<i>B. pertussis</i> / <i>B. holmesii</i> (IS481)	59	0	59	100 %
<i>B. parapertussis</i>	83	1	82	98,8 %

Der Ct-Grenzwert für die IC wurde auf 30 festgelegt.

11.11 Diagnostische Sensitivität (positive prozentuale Übereinstimmung): Bestätigung positiver Proben

Zur Bewertung der diagnostischen Sensitivität des Assays als Bestätigung positiver klinischer Proben wurden in Verbindung mit ELiTe InGenius klinische Nasopharyngeal-aspirat-Proben analysiert, die für jedes Target als positiv bestätigt oder mit Referenzmaterial (DSMZ und BCCM) dotiert waren.

Die positiven Proben und die zum Dotieren verwendeten negativen Proben wurden mit einer Kulturmethode und/oder handelsüblichen CE-IVD-Assays zertifiziert. Zur Abdeckung eines breiten Ct-Bereichs wurden künstlich hergestellte Proben in verschiedenen Konzentrationen auf *B. parapertussis* und *B. holmesii* dotiert.

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 30 Diagnostische Sensitivität

Positives/dotiertes Nasopharyngeal-aspirat	Anzahl	Positiv	Negativ	Diagnostische Spezifität in %
Positiv für <i>B. pertussis</i>	58	57	1	98,3 %
Dotiert für <i>B. parapertussis</i>	58	58	0	100 %
Dotiert für <i>B. holmesii</i>	54	54	0	100 %
Positiv für <i>B. holmesii</i>	1	1	0	

HINWEIS!

Die vollständigen Daten und Ergebnisse der Tests, die zur Bewertung der Leistungsmerkmale des Produkts mit Matrices und dem Gerät durchgeführt wurden, sind in der technischen Dokumentation „Bordetella ELiTe MGB® Kit“, FTP 140ING, aufgeführt.

12 REFERENZEN

U. Reischl et al. (2001) J Clin Microbiol. 39: 1963–1966.

N. K. Fry et al. (2009) J Med Microbiol. 58: 1023-9.

A. Van der Zee (1993) J Bacteriol. 175: 141-7.

J. L. Guthrie et al. (2010) J Clin Microbiol. 48: 1435-7

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

<https://www.mayocliniclabs.com/> – BPRPV

<https://www.questdiagnostics.com/healthcare-professionals/test-directory>

Laboratory Manual for the diagnosis of Whooping Cough caused by *Bordetella pertussis*/

Bordetella parapertussis Update 2014 – ISBN WHO_IVB_14.03_eng

13 GRENZEN DES VERFAHRENS

Dieses Produkt darf nur mit den folgenden klinischen Proben verwendet werden: Nasopharyngeal-aspirat.

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

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 Instrumente erforderlich, um falsch-positive Ergebnisse zu vermeiden.

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

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

Ein mit diesem Produkt erhaltenes negatives Ergebnis zeigt, dass die Ziel-DNA nicht in der DNA, die aus der Probe extrahiert wurde, nachgewiesen wurde. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass die Erregerlast unter der Nachweisgrenze des Produkts liegt (siehe [11 LEISTUNGSMERKMALE page 19](#)). In diesem Fall kann das Ergebnis falsch-negativ sein.

Bei Koinfektionen kann die Sensitivität für eine Zielsequenz durch die Amplifikation einer zweiten Zielsequenz beeinträchtigt werden (siehe [11 LEISTUNGSMERKMALE page 19](#)).

In manchen Fällen können *B. bronchiseptica*, *B. hinzii* und *B. bronchialis* die wiederholte IS481-Sequenz enthalten und daher positive Ergebnisse für dieses Target generieren.

In manchen Fällen können *B. bronchiseptica* und *Achromobacter denitrificans* die wiederholten IS1001-Sequenzen enthalten und daher positive Ergebnisse für das BPP-Target generieren.

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 31

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 32

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.

Tabelle 32 (continued)

Ungültige Reaktion der Negativkontrolle	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Kontamination des Extraktionsbereichs, der Racks, des Bestandsmanagers oder der Cooler Unit.	Oberflächen mit wässrigen Reinigungsmitteln reinigen, Laborkittel waschen, verwendete Röhrchen und Spitzen austauschen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Tabelle 33

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 Inventory Area (Inventarbereich) oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix nicht für mehr als 3 aufeinander folgende Läufe verwenden (7 Stunden im gekühlten Reagenzienblock oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix nicht länger als 30 Minuten bei Raumtemperatur aufbewahren. Ein neues Aliquot PCR Mix vorbereiten.
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 34

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 35

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

15 SYMBOLE



Katalognummer.



Temperaturobergrenze.



Chargenbezeichnung.



Verfallsdatum (letzter Tag des Monats).



In-vitro-Diagnostikum.



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



Unique Device Identification, eindeutige Gerätekennung



Ausreichend für „N“ Tests



Gebrauchsanweisung beachten.



Inhalt.



Vor Sonneneinstrahlung schützen.



Hersteller.

16 ANWENDERHINWEISE

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

17 HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ

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

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

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

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

Appendix A Bordetella 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 **Bordetella ELITE MGB® Kit** ist ein *In-vitro*-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal in qualitativen Multiplex-Nukleinsäure-Real-Time-PCR-Assays zum Nachweis und zur Identifizierung der genomischen DNA von ***Bordetella pertussis* (BP)**, ***Bordetella parapertussis* (BPP)** und ***Bordetella holmesii* (BH)**, die aus klinischen Proben extrahiert wurde, bestimmt ist.

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

Das Produkt ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Diagnose von *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* und *Bordetella holmesii* bei Patienten mit Verdacht auf eine Bordetella-Infektion bestimmt.

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

Amplifizierte Sequenz

Zielgen für qualitative Anwendung	Gen	Fluorophor
<i>B. pertussis</i> und <i>B. holmesii</i>	IS481	FAM (Kanal 1)
<i>B. pertussis</i>	Promoter des ptxA-Gens	AP639 (Kanal 5)
<i>B. holmesii</i>	recA	AP690 (Kanal 6)
<i>B. parapertussis</i>	IS1001	AP593 (Kanal 4)
Internal Control	IC2	AP525 (Kanal 2)

Validierte Matrix

- Nasopharyngealaspirat

Kit-Inhalt und zugehörige Produkte

Bordetella ELITE MGB Kit (RTS140ING)	Bordetella - ELITE Positive Control (CTR140ING)
 X 8	 X 3
BORD PCR Mix 8 Röhrchen mit 280 µl 12 Reaktionen pro Röhrchen 96 Reaktionen pro Kit 7 Einfrier- und Auftau-Zyklen pro Röhrchen	BORD Positive Control 3 Röhrchen mit 160 µl 4 Reaktionen pro Röhrchen 12 Reaktionen pro Kit 4 Gefrier- und Auftauzyklen

Bordetella ELITE MGB Kit (RTS140ING)		Bordetella - ELITE Positive Control (CTR140ING)	
Maximale Haltbarkeitsdauer:	24 Monate	Maximale Haltbarkeitsdauer	24 Monate
Umgebungstemperatur bei Lagerung	≤ -20°C	Umgebungstemperatur bei Lagerung	≤ -20°C

Weitere benötigte, nicht im Kit enthaltene Produkte

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

ELITE InGenius- und ELITE BeGenius-Protokoll

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

Leistungsdaten für ELITE InGenius und ELITE BeGenius

Zielsequenz	Nachweisgrenze	Sensitivität	Spezifität
B. pertussis	12 KbE/ml	98,3 % 57/58*	100 % 59/59*
B. holmesii	12 KbE/ml	100 % 55/55*	100 % 59/59*
B. parapertussis	11 KbE/ml	100 % 58/58*	98,8 % 82/83*

* 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:

Probentyp	Transport-/Lagerbedingungen			
	+16 / +26 °C (Raumtemperatur)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Nasopharyngealaspirat	≤ 2 Tage	≤ 7 Tage	≤ 1 Monat	> 1 Monat

ELiTe InGenius-Verfahren

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

Vor der Analyse

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

Verfahren 1 – Vollständiger Lauf: „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: BORD ELiTe_NPA_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: BORD ELiTe_NPA_200_100 oder BORD ELiTe_PC oder BORD ELiTe_NC	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 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. 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: BORD ELiTe_Be_NPA_200_100 Hinweis: Bei Durchführung einer zweiten Extraktion die Schritte 2 bis 4 wiederholen	5. Die Etiketten ausdrucken, um die leeren Elution Tubes (Elutionsröhrchen) mit einem Barcode zu versehen. Die Röhrchen in das Elution Rack (Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen	6. Den PCR Mix und die Internal Control in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen
7. Das „PCR Rack“ mit der „PCR Cassette“ und den „Extraction Basket“ (Korb) mit den „ELiTe InGenius SP 200“ Extraktionskartuschen und die für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden	8. Tür schließen. Analyselauf starten	9. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern

HINWEIS!

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

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

1. Auf dem Touchscreen „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen und anschließend auf den Run mode „PCR Only“ (Nur PCR) klicken	2. Die barcodierten Röhrchen mit der extrahierten Nukleinsäure oder den Kontrollen in das Elution Rack (Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen	3. Bei Kontrollen: Für jede „Position“ unter „Reagent name“ den Reagenznamen, unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben. Bei Eluaten: Für jede „Position“ die Proben-ID („Sample ID“), die Probenmatrix („Sample Matrix“), das Extraktionskit („Extraction Kit“) und das extrahierte Eluatvolumen („Extracted eluate vol.“) eingeben.
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: BORD ELiTe_Be_NPA_200_100 oder BORD ELiTe_Be_PC oder BORD ELiTe_Be_NC	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