

Instructions for use

CRE ELITe MGB® Kit

Reagenzien für die DNA-Real-Time-PCR



REF RTS200ING

UDI 08033891486



ÄNDERUNGSVERLAUF

Rev.	Änderungsvermerk	Datum (TT.MM.JJ)
05	Erweiterte Verwendung des Produkts in Verbindung mit dem Gerät „ELiTe BeGenius®“ (REF INT040). Aktualisierung des Abschnitts „Sonstige benötigte Produkte“ Aktualisierung des Abschnitts „Hinweis an den Käufer: eingeschränkte Lizenz“ Aktualisierung des Abschnitts „Symbole“ mit dem Symbol „Gebrauchsanweisung beachten“ Neue grafische und inhaltliche Gestaltung der Gebrauchsanweisung.	24/11/25
04	Änderung der für den Nachweis von OXA-48-ähnlichen Genen verwendeten Sonde	14/11/18
03	Formale Korrekturen im Abschnitt „Proben und Kontrollen“	30/07/18
02	Erweiterte Verwendung des Produkts mit der Matrix Blutkulturen in Verbindung mit dem Gerät ELiTe InGenius	22/12/17
00-01	Neuproduktentwicklung und nachfolgende Änderungen	-

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.....	5
5 ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN	5
6 ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE	5
7 WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN	6
8 PROBEN UND KONTROLLEN.....	7
9 VERFAHREN BEI ELITe InGenius	9
10 VERFAHREN BEI ELITe BeGenius	15
11 LEISTUNGSMERKMALE	19
12 REFERENZEN	28
13 GRENZEN DES VERFAHRENS	28
14 FEHLERBEHEBUNG	29
15 SYMBOLE	31
16 HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ.....	32
Appendix A QUICK START GUIDE.....	33

1 VERWENDUNGSZWECK

Das Produkt **CRE ELITE MGB® Kit** ist ein In-vitro-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal in qualitativen Nukleinsäure-Real-Time-PCR-Assays zum Nachweis der DNA von Carbapenem-Resistenzgenen* (KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48-like) von *Enterobacteriaceae* 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 Rektalabstrich- und Blutkulturproben, validiert.

Das Produkt ist, in Kombination mit den klinischen Daten und weiteren Laborbefunden des Patienten, als Hilfsmittel bei der Diagnose und dem Screening einer *Enterobacteriaceae*-Infektion, die positiv auf Carbapenem-Resistenzgene ist, bestimmt.

Das Produkt ist außerdem kompatibel zur Charakterisierung von *Enterobacteriaceae*, die positiv für Carbapenem-Resistenzgene in DNA-Proben sind, die aus Kulturisolat extrahiert wurden.

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

* Die vollständige Liste der von diesem Produkt nachweisbaren Genvarianten ist dem entsprechenden Kapitel zu entnehmen. [11 LEISTUNGSMERKMALE page 19](#)

2 TESTPRINZIP

Der Assay ist eine qualitative Real-Time-PCR für den Nachweis der DNA der Carbapenem-Resistenzgene **KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48-like** von *Enterobacteriaceae*, die aus Proben isoliert und mit dem Testreagenz CRE PCR Mix, das Primer und ELITE MGB Kit-Technologie-Sonden enthält, amplifiziert wurde.

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

Bei den ELITE MGB Kit-Sonden werden die Fluorophore im spiralförmig gefalteten, einzelsträngigen Zustand der Sonde gequencht. Die Fluorophore sind in der Sonden/Amplicon-Duplex aktiv, da der Quencher räumlich von dem Fluorophor getrennt ist.

HINWEIS!

Das Fluorophor wird während der PCR nicht abgespalten und kann für die Dissoziationsanalyse und die Berechnung der Schmelztemperatur verwendet werden.

3 BESCHREIBUNG DES PRODUKTS

Das **CRE ELITE MGB Kit** enthält das Assay-Reagenz **CRE PCR Mix**, ein optimierter und stabilisierter PCR Mix, der die spezifischen Primer und Sonden enthält für:

- die **KPC**-Genfamilie, nachgewiesen im Kanal **KPC**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher® gequencht und mit einem FAM-Farbstoff markiert,
- die **NDM**-Genfamilie, nachgewiesen im Kanal **NDM VIM IMP**; die Sonden sind durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher® gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 593 (AP593) markiert,
- die **VIM**-Genfamilie, nachgewiesen im Kanal **NDM VIM IMP**; die Sonden sind durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher® gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 593 (AP593) markiert,
- die **IMP**-Genfamilie, nachgewiesen im Kanal **NDM VIM IMP**; die Sonden sind durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher® gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 593 (AP593) markiert,
- die **OXA-48-like**-Genfamilie, nachgewiesen in Kanal **OXA**; die Sonden sind durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher® gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 639 (AP639) 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 525 (AP525) markiert.

Der **CRE PCR Mix** enthält Puffer, Magnesiumchlorid, Nukleotidtriphosphate, die Stabilisatoren und das Enzym Taq DNA-Polymerase mit thermischer Aktivierung (Warmstart).

HINWEIS!

Die drei Gene der Metallo-Beta-Laktamase-Familie, NDM, VIM und IMP, werden durch verschiedene Sonden mit demselben Fluoreszenzfarbstoff und danach durch denselben NDM-VIM-IMP-Kanal nachgewiesen und können nicht unterschieden werden.

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

4 MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN

Tabelle 1

Komponente	Beschreibung	Menge	Gefahrenklasse
CRE PCR Mix Art.-Nr. RTS200ING	Gemisch aus Reagenzien für Real-Time-PCR- 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).
- 50-ml-Röhrchen mit Schraubverschluss (Sarstedt, Deutschland, Art.-Nr. 62.547.254).
- 15-ml-Röhrchen mit Schraubverschluss (Sarstedt, Deutschland, Art.-Nr. 62.554.502).
- Sarstedt 2,0-ml-Röhrchen mit Schraubverschluss (Sarstedt, Art.-Nr. 72.694.005).
- Hochreines Wasser für die Molekularbiologie.

6 ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE

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

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

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) CRE ELiTe_PC , Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Positive Control-Analyse. CRE ELiTe_NC , Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Negative Control-Analyse. CRE ELiTe_RcS_200_100 , Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Analyse von Nasenabstrichproben CRE ELiTe_BC_200_100 , Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Analyse von Blutkulturproben	CRE – ELiTe Positive Control (EG SpA, Art.-Nr. CTR200ING) ELiTe InGenius SP200 (EG SpA, Art.-Nr. INT032SP200) ELiTe InGenius und ELiTe BeGenius Verbrauchsmaterialien (siehe ELiTe InGenius und ELiTe BeGenius Gebrauchsanweisung) CPE – Internal Control (EG SpA, Art.-Nr. CTRCPE) eNAT™ kit (Copan, Art.-Nr. 608CS01R), FecalSwab™ (COPAN Italia S.p.A., Art.-Nr. 470CE),
ELiTe BeGenius (EG SpA, Art.-Nr. INT040) ELiTe BeGenius Software Version 2.3.0. (oder später) CRE ELiTe_Be_PC , Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Positive Control-Analyse CRE ELiTe_Be_NC , Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Negative Control-Analyse CRE ELiTe_Be_RcS_200_100 , Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Analyse von Nasenabstrichproben CRE ELiTe_Be_BC_200_100 , Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Analyse von Blutkulturproben	

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 Proben müssen für diese Analyseart geeignet und, falls möglich, dafür vorgesehen sein. Die Proben müssen unter einer Sicherheitswerkbank verarbeitet werden. Die zur Verarbeitung der Proben verwendeten Pipetten dürfen ausschließlich für diesen Zweck verwendet werden. Die Pipetten müssen entweder Direktverdrängungspipetten sein oder zusammen mit Aerosol-Filterspitzen verwendet werden. Die verwendeten Spitzen müssen steril, frei von DNasen und RNasen sowie frei von DNA und RNA 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)
CRE PCR Mix	-20°C oder darunter (lichtgeschützt)	einen Monat	bis zu vier	bis zu vier separate* Läufe von jeweils drei Stunden

* mit zwischenzeitlichem Gefrierzyklus

8 PROBEN UND KONTROLLEN

8.1 Proben und Assay-Protokolle

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

Tabelle 4

Probe	Anforderungen an die Entnahme	Transport-/Lagerbedingungen			
		+16 / +26 °C (Raumtemperatur)	+2 – +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Blutkultur	—	≤ 24 Stunden	—	—	—
Rektalabstrich	entnommen mit eNAT™ kit	—	≤ 1 Monat	≤ 6 Monate	lange Zeiträume
Rektalabstrich	entnommen in FecalSwab™ Kit	—	≤ 3 Tage	—	—

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

Vor der Analyse des in FecalSwab™ entnommenen Rektalabstrichs müssen 0,5 ml Probe in FecalSwab™ Medium in ein frisches eNAT™ Röhrchen mit 2,0 ml Medium überführt und durch Vortexen gemischt werden. Nach Zugabe von 0,5 ml Probe in FecalSwab™ Medium kann das eNAT™ Röhrchen als Primärröhrchen direkt in das System geladen werden. Die in eNAT™ Medium verdünnten Proben können unter den in oben stehender Tabelle aufgeführten Bedingungen aufbewahrt werden.

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.

Dieses Produkt ist für die Verwendung mit Kulturisolaten und ELiTe InGenius kompatibel: Vor der Analyse mit diesem Produkt die Probe in einem frischen eNAT™ Röhrchen mit 2,0 ml Medium verdünnen. Hierzu mit einer Impfhöse ein Aliquot der isolierten Kolonie entnehmen, vortexen und 0,2 ml der verdünnten Probe in das Extraktionsröhrchen überführen. Wenn die Nukleinsäureextraktion aus Kulturisolaten mit dem ELiTe InGenius durchgeführt wird, das Extraktionsprotokoll **CRE ELiTe_BC_200_100** verwenden.

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 dem ELiTe MGB Kit und **ELiTe InGenius** bzw. **ELiTe BeGenius** mit den angegebenen Matrices validiert.

Tabelle 5 Assay-Protokolle (Assay Protocol) für CRE ELiTe MGB Kit

Assay-Protokolle (Assay Protocol) für CRE ELiTe MGB Kit				
Probe	Instrument	Name des Assay-Protokolls	Melden Sie	Eigenschaften
Rektalabstrich	ELiTe InGenius	CRE ELiTe_RcS_200_100	Positiv/negativ	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Verdünnungsfaktor: 1 PCR Mix-Volumen: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
	ELiTe BeGenius	CRE ELiTe_Be_RcS_200_100	Positiv/negativ	
Blutkultur	ELiTe InGenius	CRE ELiTe_BC_200_100	Positiv/negativ	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Verdünnungsfaktor: 1 PCR Mix-Volumen: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
	ELiTe BeGenius	CRE ELiTe_Be_BC_200_100	Positiv/negativ	

HINWEIS!

Das Pipettieren in das **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“ sind „Potenziell interferierende Substanzen“ aufgeführt.

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

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 **CRE - ELiTe Positive Control** (nicht in diesem Kit enthalten) mit den Assay-Protokollen **CRE ELiTe_PC** oder **CRE ELiTe_Be_PC** verwenden.
- Für die Negative Control hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) mit den Assay-Protokollen (Assay Protocols) **CRE ELiTe_NC** oder **CRE 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 VERFAHREN BEI ELiTe InGenius

Das beim Gebrauch des **CRE 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) Lauf für die Positive Control und Negative Control (PCR Only [nur PCR])

Tabelle 6 (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

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 **CRE 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. Falls erforderlich, 200 µl Probe in ein zuvor etikettiertes Extraction Tube (Extraktionsröhrchen) überführen.	Elutionsröhrchen mit den extrahierten Nukleinsäuren auf Raumtemperatur auftauen . Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.	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) oder „Primary Tube“ (Primärröhrchen) in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) auswählen.	Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr [untere Reihe]) lautet.	Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr [untere Reihe]) lautet.
9	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
10	CPE und PCR Mix gemäß der „Load List“ (Liste Laden) auf den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.	PCR Mix gemäß der „Load List“ (Ladeliste) auf den „Inventory Block“ (Bestandsblock) laden und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.	PCR Mix gemäß der „Load List“ (Ladeliste) auf den „Inventory Block“ (Bestandsblock) laden und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.
11	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.

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])
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 4 separate Läufe von jeweils 3 Stunden im gekühlten Block aufbewahrt werden; vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

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 **CRE 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.

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

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

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

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

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

9.5 Validierung der Probenergebnisse

Die **ELiTe InGenius Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse für die Zielsequenz (Kanäle **KPC**, **NDM**, **VIM**, **IMP** und **OXA**) und die Internal Control (Kanal **IC**) mit den Assay-Protokoll-Parametern **CRE ELiTe_RcS_200_100** und **CRE ELiTe_BC_200_100**.

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

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

Tabelle 8

1) Positive Control	„Status“
CRE Positive Control	APPROVED (Genehmigt)
2) Negative Control	„Status“
CRE – Negative Control	APPROVED (Genehmigt)

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

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

Tabelle 9

Ergebnis des Probenlaufs	Interpretation
KPC:DNA detected (KPC:DNA erkannt)	In der Probe wurde DNA des KPC-Gens nachgewiesen .
NDM VIM IMP:DNA detected (NDM VIM IMP:DNA erkannt)	In der Probe wurde DNA des NDM-, VIM- oder IMP-Gens nachgewiesen .
OXA:DNA detected (OXA:DNA erkannt)	In der Probe wurde DNA des OXA-Gens nachgewiesen .
KPC:DNA Not detected or below the LoD (KPC:DNA nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde keine DNA des KPC-Gens nachgewiesen . Die Probe wurde gültig negativ auf dieses Gen getestet oder dessen Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
NDM VIM IMP:DNA Not detected or below the LoD (NDM VIM IMP:DNA nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde keine DNA des NDM-, VIM- und IMP-Gens nachgewiesen . Die Probe wurde negativ gültig auf diese Gene getestet oder ihre Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
OXA:DNA Not detected or below the LoD (OXA:DNA nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde keine DNA des OXA-Gens nachgewiesen . Die Probe wurde gültig negativ auf dieses Gen getestet oder dessen Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
Invalid-Retest Sample (Ungültig - Probe erneut testen).	Ungültiges Testergebnis aufgrund von fehlerhafter interner Kontrolle (falsche Extraktion oder Verschleppung des Inhibitors). Der Test sollte wiederholt werden.

Als „Invalid-Retest Sample“ (Ungültig – Probe erneut testen) ausgegebene Proben: In diesem Fall wurde die Internal Control-DNA möglicherweise aufgrund von Problemen beim Probenentnahme-, Extraktions- oder PCR-Schritt nicht effizient erkannt (z. B. falsche Probenahme, Abbau oder Verlust von DNA während der Extraktion oder Inhibitoren im Eluat), was zu falschen Ergebnissen führen kann. Wenn ausreichend Eluatvolumen übrig bleibt, kann das Eluat 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 „xxx:DNA Not detected or below the LoD“ (xxx:DNA nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze) ausgegebene Proben sind für die Analyse geeignet, es war jedoch nicht möglich, die Ziel-DNA nachzuweisen. In diesem Fall kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Ziel-DNA bei einer Konzentration unter der Nachweisgrenze des Assays vorhanden ist (siehe [11 LEISTUNGSMERKMALE page 19](#)).

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.

9.6 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 **CRE 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 **CRE ELITE MGB Kit** kann auf **ELITE BeGenius** für die folgenden Läufe verwendet werden:

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

C. Positive Control und Negative Control-Lauf (PCR Only [nur PCR])

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

HINWEIS!

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

Vor dem Einrichten eines Laufs:

Die benötigten PCR Mix-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 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. Falls erforderlich, 200 µl Probe in ein zuvor etikettiertes 2-ml-Sarstedt-Röhrchen überführen.	Falls erforderlich, die Elutionsröhrchen mit den extrahierten Nukleinsäuren auf Raumtemperatur auftauen . Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.	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 .

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])
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
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 .

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])
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** (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 4 separate Läufe von jeweils 3 Stunden im gekühlten Block aufbewahrt werden; vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

10.3 SCHRITT 3 - Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

ELiTe 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 **CRE 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

Da **ELiTe BeGenius** nachweislich gleichwertige analytische Leistungen wie **ELiTe InGenius** aufweist, gelten die in den folgenden Abschnitten aufgeführten Ergebnisse gleichermaßen auf **ELiTe BeGenius** anwendbar.

11.1 Analytische Sensitivität: Nachweisgrenze

Die analytische Sensitivität als Nachweisgrenze (LoD, Limit of Detection) des Assays wurde auf **ELiTe InGenius** durch Testen von 6 CRE-Stämmen, jeweils einem der Gentypen KPC, IMP, VIM, NDM, OXA-48 und OXA-181, in Verbindung mit Rektalabstrichproben ermittelt.

Die LoD für jeden der CRE-Stämme wurde mittels Probit-Regressionsanalyse der Daten als die Konzentration geschätzt, bei der eine 95%ige Wahrscheinlichkeit eines positiven Ergebnisses vorliegt.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 12 Nachweisgrenze (KbE/ml) bei Rektalabstrichproben und ELITE InGenius

Zielsequenz	Bakterielles Isolat	LoD (KbE/ml)	95%-Konfidenzintervall (KbE/ml)	
			Untergrenze	Obergrenze
KPC	<i>C. freundii</i> , UCLA 14-13-A2	99	69	217
NDM	<i>E. coli</i> , ATCC BAA-2469	144	110	228
VIM	<i>K. pneumoniae</i> , NCTC 13439	399	338	579
IMP	<i>E. coli</i> , NCTC 13476	273	234	351
OXA-48	<i>E. coli</i> , ATCC BAA-2523	300	241	456
OXA-181	<i>K. pneumoniae</i> , JMI 18	179	139	287

Zur Bestätigung des berechneten LoD-Werts wurden auf dem Gerät ELITE InGenius Rektalabstrichproben, die mit Referenzmaterial der einzelnen Zielgene in der angegebenen Konzentration dotiert waren, getestet.

Die erhaltenen Ergebnisse bestätigten die behauptete Konzentration für alle Zielgene des CRE ELITE MGB Kits mit Rektalabstrichproben auf ELITE InGenius.

11.2 Nachweiseffizienz (Inklusivität)

Die Nachweiseffizienz bei verschiedenen Varianten von Carbapenem-Resistenzgenen wurde mittels *In-silico*-Vergleich der Sonden- und Primersequenzen des Assays mit den in der NCBI Nukleotid-Datenbank verfügbaren Sequenzen bewertet.

Die Analyse ergab bei den in der folgenden Tabelle aufgeführten Varianten eine hohe Sequenzerhaltung und ein Nichtvorhandensein signifikanter Mutationen.

Tabelle 13

analysiert	Varianten, die voraussichtlich vom Produkt CRE ELITE MGB® Kit erkannt werden
KPC	KPC-01, KPC-02, KPC-03, KPC-04, KPC-05, KPC-06, KPC-07, KPC-08, KPC-09, KPC-10, KPC-11, KPC-12, KPC-13, KPC-14, KPC-15, KPC-16, KPC-17, KPC-18, KPC-19, KPC-21, KPC-22, KPC-25, KPC-33, KPC-47e, KPC-56a, KPC-63d, KPC-272, KPC-484, KPC-629, KPC-727, KPC-860.
NDM	NDM-01, NDM-02, NDM-03, NDM-04, NDM-05, NDM-06, NDM-07, NDM-08, NDM-09, NDM-10, NDM-12, NDM-13, NDM-15, NDM-16, NDM-17, NDM-32, NDM-40, NDM-221, NDM-255, NDM-264, NDM-265
VIM	VIM-01, VIM-02, VIM-03, VIM-04, VIM-05, VIM-06, VIM-07, VIM-08, VIM-09, VIM-10, VIM-11, VIM-12, VIM-13, VIM-14, VIM-15, VIM-16, VIM-17, VIM-18, VIM-19, VIM-20, VIM-23, VIM-24, VIM-25, VIM-26, VIM-27, VIM-28, VIM-31, VIM-33, VIM-34, VIM-35, VIM-36, VIM-37, VIM-38, VIM-39, VIM-40, VIM-42, VIM-43, VIM-44, VIM-45, VIM-46, VIM-47, VIM-49, VIM-50, VIM-51
IMP	IMP-01, IMP-02, IMP-03, IMP-04, IMP-05, IMP-06, IMP-07, IMP-08, IMP-09, IMP-10, IMP-11, IMP-13, IMP-14, IMP-15, IMP-16, IMP-18, IMP-19, IMP-20, IMP-21, IMP-22, IMP-24, IMP-25, IMP-26, IMP-28, IMP-29, IMP-32, IMP-33, IMP-34, IMP-37, IMP-38, IMP-40, IMP-41, IMP-42, IMP-45, IMP-48, IMP-49, IMP-51, IMP-54, IMP-56, IMP-58
OXA	OXA-48, OXA-162, OXA-163, OXA-181, OXA-199, OXA-204, OXA-232, OXA-244, OXA-245, OXA-370, OXA-405, OXA-416, OXA-439, OXA-484

Die Nachweiseffizienz bei verschiedenen Varianten von Carbapenem-Resistenzgenen wurde außerdem für einen Satz von 18 gut charakterisierten CRE-Isolaten überprüft. Es wurden künstlich hergestellte Proben zubereitet, indem die Testisolate in einer negativen Rekalmatrix in Konzentrationen nahe der LoD dotiert wurden. Es wurden jeweils zwei bis drei Isolate von KPC-, NDM-, VIM-, IMP-, OXA-48-ähnlichen Gentypen getestet.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 14 Nachweiseffizienz (Inklusivität) des Produkts CRE ELITE MGB Kit

Organismus	Isolat	CRE-Marker	Konzentration (KbE/ml)	Ergebnis
<i>K. pneumoniae</i>	CDC-ARIB-0034	IMP	798	Inbegriffen
<i>P. aeruginosa</i>	CDC-ARIB-0103	IMP-1	762	Inbegriffen
<i>P. aeruginosa</i>	CDC-ARIB-0092	IMP-14	762	Inbegriffen
<i>K. pneumoniae</i>	NCTC 13438	KPC	297	Inbegriffen
<i>K. pneumoniae</i>	BAA-1898	KPC-2	297	Inbegriffen
<i>K. pneumoniae</i>	BAA-1904	KPC-3	347	Inbegriffen
<i>K. pneumoniae</i>	BAA-2146	NDM1	294	Inbegriffen
<i>E. coli</i>	CDC-ARIB-0150	NDM-5	294	Inbegriffen
<i>E. coli</i>	CDC-ARIB-0137	NDM-6	294	Inbegriffen
<i>K. pneumoniae</i>	ST-14 (alias R20)	OXA-181	537	Inbegriffen
<i>K. pneumoniae</i>	CDC-ARIB-0140	OXA-181	537	Inbegriffen
<i>K. pneumoniae</i>	CDC-ARIB-0066	OXA-232	900	Inbegriffen
<i>K. pneumoniae</i>	CDC-ARIB-0075	OXA-232	900	Inbegriffen
<i>K. pneumoniae</i>	BAA-2524	OXA-48	900	Inbegriffen
<i>K. pneumoniae</i>	CDC-ARIB-0160	OXA-48	900	Inbegriffen
<i>K. pneumoniae</i>	NCTC 13440	VIM-1	843	Inbegriffen
<i>P. aeruginosa</i>	NCTC 13437	VIM-10	843	Inbegriffen
<i>P. aeruginosa</i>	CDC-ARIB-0054	VIM-4	843	Inbegriffen

Alle getesteten CRE-Isolate wurden mit dem CRE ELITE MGB Kit in Konzentrationen von etwa 300–900 KbE/ml nachgewiesen und als inbegriffen befunden.

Die Nachweiseffizienz bei verschiedenen Varianten von Carbapenem-Resistenzgenen wurde außerdem für einen Satz von 114 charakterisierten CRE-Kulturisolaten überprüft. Jede Probe wurde im eNAT™ Kit verdünnt und dann mit dem CRE ELITE MGB Kit und ELITE InGenius im Modus „Extraction + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet. Die Kulturisolate waren repräsentativ für die verschiedenen Gattungen von Enterobacteriaceae (z. B. *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. cloacae*, *C. koseri*).

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 15 Nachweiseffizienz (Inklusivität) des Produkts CRE ELITE MGB Kit

Proben	Anzahl	Positiv	Negativ	Ungültig
KPC-positive Kulturisolate	22	22	0	0
Für OXA-48-ähnliche Gene positive Kulturisolate	35	35	0	0
NDM-positive Kulturisolate	23	23	0	0
IMP-positive Kulturisolate	11	11	0	0

Tabelle 15 Nachweiseffizienz (Inklusivität) des Produkts CRE ELITE MGB Kit (continued)

Proben	Anzahl	Positiv	Negativ	Ungültig
VIM-positive Kulturoisolate 17 17 0 0	17	17	0	0
Für OXA-48-ähnliche Gene und NDM positive Kulturoisolate	6	6	0	0

Alle getesteten CRE-Isolate wurden mit dem CRE ELITE MGB Kit nachgewiesen und als inbegriffen befunden.

11.3 Potenziell interferierende Marker

Die potenzielle Kreuzreaktivität des Assays mit anderen unbeabsichtigten Targets wurde zunächst durch *In-silico*-Analyse der in der NCBI Nukleotiddatenbank verfügbaren Sequenzen bewertet.

Ein Abgleich der Primer- und Sondensequenzen mit den in der Datenbank verfügbaren Sequenzen, einschließlich der Organismen, von denen man annehmen kann, dass sie in klinischen Proben vorkommen, wie z. B. die übliche Flora rektaler opportunistischer Organismen, Viren, Zellen, Darmparasiten und eng verwandte, Beta-Laktamase produzierende Organismen, ergab, dass es keine signifikanten Homologien gibt und keine potenziellen Interferenzen auftreten.

Das Nichtvorhandensein einer Kreuzreaktivität mit anderen eng verwandten Organismen (verwandte Resistenz) wurde auch durch die Untersuchung von Proben der in der nachstehenden Tabelle aufgeführten Isolate in einer Konzentration von 10^6 KbE/ml in Dreifachbestimmung überprüft.

Tabelle 16 Potenziell interferierende Marker des Produkts CRE ELITE MGB Kit

Organismus	Isolat	Antibiotikaresistenz-Marker	Konzentration (KbE/ml)	Ergebnis
K. pneumoniae	700603	SHV	10^6	Keine Kreuzreaktivität
E. coli	BAA-202	SHV	10^6	Keine Kreuzreaktivität
E. coli	BAA-201	TEM	10^6	Keine Kreuzreaktivität
S. marcescens	14-13-A11	SME	10^6	Keine Kreuzreaktivität
S. marcescens	14-13-A12	SME	10^6	Keine Kreuzreaktivität
A. baumannii	13301	OXA-23	10^6	Keine Kreuzreaktivität
A. baumannii	13302	OXA-25	10^6	Keine Kreuzreaktivität
A. baumannii	13303	OXA-26	10^6	Keine Kreuzreaktivität
A. baumannii	13304	OXA-27	10^6	Keine Kreuzreaktivität
A. baumannii	13305	OXA-58	10^6	Keine Kreuzreaktivität
A. baumannii	13420	OXA-51-ähnlicher SE-Klon	10^6	Keine Kreuzreaktivität
K. pneumoniae	DICON-185	CTX-M-1	10^6	Keine Kreuzreaktivität
E. coli	DICON-003	CTX-M-1	10^6	Keine Kreuzreaktivität
E. coli	DICON-178	CTX-M-9	10^6	Keine Kreuzreaktivität
K. pneumoniae	DICON-005	CTX-M-9	10^6	Keine Kreuzreaktivität
E. cloacae	NCTC 13464	CTX-M-9	10^6	Keine Kreuzreaktivität
E. coli	13353	CTX-M-15	10^6	Keine Kreuzreaktivität
K. pneumoniae	CDC-ARIB-0044	CTX-M-15	10^6	Keine Kreuzreaktivität

Im Test mit dem CRE ELITE MGB Kit waren bei 3 von 3 Replikaten alle Isolate außer *K. pneumoniae* DICON185 negativ. Das *K. pneumoniae* DICON185-Isolat hatte in einem von 3 Replikaten ein positives Signal. Beim erneuten Test mit 5 Replikaten fiel das Isolat in 5 von 5 Fällen negativ aus und wurde als nicht kreuzreaktiv eingestuft.

11.4 Störende Substanzen

Potenziell störende Substanzen in ihren höchsten klinisch relevanten Konzentrationen wurden in einer Konzentration von etwa 3 x LoD einzeln in eine negative Rektalmatrix mit CRE-Isolaten dotiert. Die getesteten Substanzen waren: Einläufe (Vaselineöl), spermizides Gleitmittel (Nonoxynol-9), Antidurchfallmedikamente (Bismutsubsalicylat), Laxanzien (Sennoside), Antibiotika (Vancomycin), Antazida (Alginsäure/Aluminiumhydroxid/Magnesiumtrisilikat, Calciumcarbonat, Cimetidin, Omeprazol), Stuhlbestandteile (Palmitinsäure, Stearinsäure, Mucin, humane genomische DNA, humane Leukozyten, humanes Vollblut). Jeweils ein Isolat der Gentypen KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48 und OXA-181 wurde in Dreifachbestimmung mit dem CRE ELITE MGB Kit und ELITE InGenius getestet.

Bei keiner der getesteten Substanzen wurde eine Interferenz mit dem CRE ELITE MGB® Kit festgestellt.

Die mögliche Interferenz während der Amplifikationsreaktion von 2-Propanol, das bei der Extraktion verwendet wird, wurde durch Testen von extrahierter DNA aus negativer Rektalmatrix, die die CRE-Isolate in einer Konzentration von etwa 400 KbE/ml enthielt, bewertet. Jeweils ein Isolat der Gentypen KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48 und OXA-181 wurde in Dreifachbestimmung mit dem CRE ELITE MGB Kit und ELITE InGenius getestet.

Der Test zeigte, dass das CRE ELITE MGB Kit bis zu einer 2-Propanol-Konzentration von 10 % keine falsch negativen Ergebnisse liefert.

11.5 Nichtvorhandensein von Kreuzkontamination

Das Nichtvorhandensein einer Kreuzkontamination von positiven zu negativen Proben oder einer Verschleppung von einem Lauf in einen anderen wurde anhand von 3 integrierten Läufen (DNA-Extraktion aus dem Primärröhrchen gefolgt von PCR), in denen 6 hoch KPC-positive Proben mit 10⁶ KbE/ mL in eNAT-Medium abwechselnd mit 6 negativen Proben von eNAT-Medium untersucht wurden, überprüft.

Bei der Untersuchung von 18 positiven und 18 negativen Proben in einer Schachbrettanordnung mit dem ELITE InGenius™-System wurde keine Kreuzkontamination oder Verschleppung zwischen den Tracks (Spuren) festgestellt.

11.6 Fehlerrate des Gesamtsystems

Die Rate der Fehler des Gesamtsystems, die zu falsch-negativen Ergebnissen führten, wurde durch die Analyse von 50 mit IMP dotierten Proben, die aus Isolaten in negativer Rektalmatrix hergestellt wurden, überprüft und lag bei 0 %.

Die 50 Proben der negativen Rektalmatrix wurden mit einem IMP-Isolat in einer Endkonzentration von etwa 400 KbE/ml dotiert. Jede Probe der Reihe wurde mithilfe des gesamten Analyseverfahrens, beginnend mit dem Primärröhrchen, mit dem ELITE InGenius™ System getestet.

Alle mit dem CRE ELITE MGB Kit getesteten Proben waren positiv.

11.7 Wiederholpräzision

Die Wiederholpräzision des Assays wurde auf **ELITE InGenius** durch die Analyse eines Panels von Rektalabstrichproben, einschließlich einer negativen Probe und drei positiver Proben (Stämme mit KPC + NDM + OXA, VIM und IMP CRE) in niedriger und moderater Konzentration getestet.

Die Ergebnisse zur Wiederholpräzision mit ELITE InGenius sind nachfolgend zusammengefasst.

Tabelle 17 Wiederholpräzision mit ELITE InGenius

Zielsequenz	Probentyp	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %
KPC	Niedrig positiv	34,82	0,48	1,4 %
	Moderat positiv	33,84	0,49	1,4 %
NDM	Niedrig positiv	36,87	0,51	1,4 %
	Moderat positiv	35,21	0,24	0,7 %
OXA	Niedrig positiv	34,80	0,32	0,9 %
	Moderat positiv	33,17	0,32	1,0 %
VIM	Niedrig positiv	35,26	0,19	0,5 %
	Moderat positiv	33,47	0,20	0,6 %
IMP	Niedrig positiv	35,72	0,73	2,0 %
	Moderat positiv	33,90	0,43	1,3 %
IC	-	29,56	0,43	1,5 %
	-	29,81	0,61	2,0 %

Die Wiederholpräzision des Assays wurde mit **ELITE BeGenius** durch die Analyse eines Panels von Rektalabstrichproben, einschließlich einer negativen Probe und vier positiver Proben, die in niedriger Konzentration mit Referenzmaterialien der einzelnen Stämme dotiert waren, bestätigt.

Ein Beispiel für Ergebnisse zur Wiederholpräzision mit ELITE BeGenius ist in den nachfolgenden Tabellen dargestellt.

Tabelle 18 Wiederholpräzision innerhalb des Laufs mit ELITE BeGenius

Probe	A-n-zahl	NDM VIM IMP			KPC			OXA			% Übereinstimmung
		Mittlerer Ct-Wert	SD Ct	VK %	Mittlerer Ct-Wert	SD Ct	VK %	Mittlerer Ct-Wert	SD Ct	VK %	
Negativ	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100 %
NDM + OXA-48	6	33,85	0,15	0,44	-	-	-	33,33	0,45	1,35	100 %
VIM + KPC	6	30,91	0,21	0,67	30,02	0,31	1,03	-	-	-	100 %
IMP + OXA-181	6	32,38	0,23	0,72	-	-	-	34,45	0,24	0,70	100 %

Tabelle 19 Laufübergreifende Wiederholpräzision mit ELITE BeGenius

Probe	Anzahl	NDM VIM IMP			KPC			OXA			% Übereinstimmung
		Mittlerer Ct-Wert	SD Ct	VK %	Mittlerer Ct-Wert	SD Ct	VK %	Mittlerer Ct-Wert	SD Ct	VK %	
Negativ	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100 %
NDM + OXA-48	12	34,01	0,31	0,92	-	-	-	33,33	0,38	1,13	100 %
VIM + KPC	12	31,06	0,48	1,53	30,52	0,60	1,96	-	-	-	100 %
IMP + OXA-181	12	32,94	0,68	2,05	-	-	-	34,52	0,44	1,28	100 %

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

11.8 Vergleichspräzision

Die Vergleichspräzision des Assays wurde auf **ELITE InGenius** durch die Analyse eines Panels von Rektalabstrichproben, einschließlich einer negativen Probe und drei positiver Proben (Stämme mit KPC + NDM + OXA, VIM und IMP CRE) in niedriger und moderater Konzentration getestet.

Die Ergebnisse zur Vergleichspräzision mit ELITE InGenius sind nachfolgend zusammengefasst.

Tabelle 20 Vergleichspräzision mit ELITE InGenius

Zielsequenz	Probentyp	Mittlerer Ct-Wert	Gerät zu Gerät		Charge zu Charge	
			SD	VK %	SD	VK %
KPC	Niedrig positiv	35,00	0,289	0,83 %	0,214	0,61 %
	Moderat positiv	34,53	0,428	1,24 %	0,312	0,90 %
NDM	Niedrig positiv	36,44	0,223	0,61 %	0,000	0,00 %
	Moderat positiv	35,32	0,317	0,90 %	0,000	0,00 %
OXA	Niedrig positiv	33,65	0,140	0,42 %	0,089	0,26 %
	Moderat positiv	33,16	0,169	0,51 %	0,207	0,62 %
VIM	Niedrig positiv	36,02	0,444	1,23 %	0,489	1,36 %
	Moderat positiv	34,50	0,289	0,84 %	0,412	1,19 %
IMP	Niedrig positiv	37,18	0,291	0,78 %	0,549	1,48 %
	Moderat positiv	35,21	0,575	1,63 %	0,783	2,22 %
IC	-	29,17	0,397	1,36 %	0,911	3,12 %

Die Vergleichspräzision des Assays wurde mit **ELITE BeGenius** durch die Analyse eines Panels von Rektalabstrichproben, einschließlich einer negativen Probe und vier positiver Proben, die in niedriger Konzentration mit Referenzmaterialien der einzelnen Stämme dotiert waren, bestätigt.

Ein Beispiel für Ergebnisse zur Vergleichspräzision mit ELITE BeGenius ist in den nachfolgenden Tabellen dargestellt.

Tabelle 21 Chargenübergreifende Vergleichspräzision mit ELITE BeGenius

Probe	Anzahl	NDM VIM IMP			KPC			OXA			% Übereinstimmung
		Mittlerer Ct-Wert	SD Ct	VK %	Mittlerer Ct-Wert	SD Ct	VK %	Mittlerer Ct-Wert	SD Ct	VK %	
Negativ	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100 %
NDM + OXA-48	12	34,10	0,30	0,89	-	-	-	33,34	0,40	1,20	100 %
VIM + KPC	12	31,14	0,31	1,00	30,10	0,24	0,80	-	-	-	100 %
IMP + OXA-181	12	32,69	0,43	1,31	-	-	-	34,35	0,25	0,74	100 %

Tabelle 22 Geräteübergreifende Vergleichspräzision mit ELITE BeGenius

Probe	Anzahl	NDM VIM IMP			KPC			OXA			% Übereinstimmung
		Mittlerer Ct-Wert	SD Ct	VK %	Mittlerer Ct-Wert	SD Ct	VK %	Mittlerer Ct-Wert	SD Ct	VK %	
Negativ	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100 %
NDM + OXA-48	12	34,23	0,31	0,91	-	-	-	33,49	0,48	1,43	100 %
VIM + KPC	12	31,24	0,21	0,68	30,13	0,25	0,83	-	-	-	100 %
IMP + OXA-181	12	34,12	1,28	3,74	-	-	-	34,89	1,18	3,37	100 %

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

11.9 Diagnostische Spezifität: Bestätigung negativer Proben

Die diagnostische Spezifität des Assays als die Bestätigung negativer klinischer Proben wurde durch Analyse einiger CRE-negativer Rektalabstrich- und Blutkulturproben 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 23 Diagnostische Spezifität

Proben	Anzahl	positiv	negativ	Diagnostische Spezifität in %
CRE-negativer Rektalabstrich	52	0	52	100 %
CRE-negative Blutkultur	45	2	43	95,5 %

Der Ct-Grenzwert für die IC wurde beim Test mit ELITE InGenius bzw. ELITE BeGenius für Rektalabstrich- und Blutkulturproben auf 34 festgelegt.

11.10 Diagnostische Sensitivität: Bestätigung negativer Proben

Die diagnostische Sensitivität des Assays als die Bestätigung positiver klinischer Proben wurde mittels Analyse von Rektalabstrich- und Blutkulturproben bewertet, die CRE-positiv oder mit CRE-Isolaten dotiert waren.

DaELITE BeGeniusgleichwertige analytische Leistungen wieELITE InGeniusaufweist, ist die diagnostische Güte der auf den beiden Geräten durchgeführten Tests ebenfalls als gleichwertig anzusehen. Daher gilt die mitELITE InGeniuserhaltene diagnostische Sensitivität des Assays auch fürELITE BeGenius.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 24 Diagnostische Sensitivität

Proben	Anzahl	positiv	negativ	Diagnostische Sensitivität in %
KPC-positiver Rektalabstrich	25	25	0	100 %
VIM-positiver Rektalabstrich	4	4	0	
OXA-48-positiver Rektalabstrich	1	1	0	
KPC-dotierter Rektalabstrich (Isolat 207-1 KPC-3)	12	12	0	
KPC-dotierter Rektalabstrich (Isolat B1 KPC-2)	12	11	1	
NDM-dotierter Rektalabstrich (NDM-1)	12	12	0	
NDM-dotierter Rektalabstrich (NDM-5)	12	12	0	
VIM-dotierter Rektalabstrich (VIM-1)	12	12	0	
VIM-dotierter Rektalabstrich (VIM-4)	12	12	0	
IMP-dotierter Rektalabstrich (Isolat <i>K. pneumoniae</i> AR-Bank 0034)	12	12	0	
IMP-dotierter Rektalabstrich (Isolat <i>E. coli</i> NCTC 13476)	12	12	0	
Mit OXA-48-ähnlichem Gen dotierter Rektalabstrich (Isolat OXA-48)	12	12	0	
OXA-48-dotierter Rektalabstrich (Isolat OXA-232)	12	12	0	
KPC-positive Blutkultur	16	16	0	
OXA-48-positive Blutkultur	5	5	0	
NDM-positive Blutkultur	4	4	0	
IMP-positive Blutkultur	2	2	0	
VIM-positive Blutkultur	2	2	0	
OXA-48-dotierte Blutkultur	5	5	0	
NDM-dotierte Blutkultur	5	5	0	
VIM-dotierte Blutkultur	5	5	0	
IMP-dotierte Blutkultur	5	5	0	

HINWEIS!

Die vollständigen Daten und Ergebnisse der Tests, die zur Bewertung der Leistungsmerkmale des Produkts mit Matrices und dem Gerät durchgeführt wurden, sind im Abschnitt 7 der technischen Dokumentation „CRE ELITE MGB® Kit“, FTP RTS200ING, aufgeführt.

12 REFERENZEN

L. S. Tzouvelekis et al. (2012) *Clin. Microbiol. Rev.* 25(4): 682 - 707.

13 GRENZEN DES VERFAHRENS

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

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

Verwenden Sie mit diesem Produkt keine Proben mit zu viel Fäkalmatrix: Proben mit einer starken Trübung hemmen die Nukleinsäure-Amplifikationsreaktion und können zu ungünstigen Ergebnissen führen.

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

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

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

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

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

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

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

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

Ein mit diesem Produkt erhaltenes negatives Ergebnis bedeutet, 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“, Seite 15). In diesem Fall kann das Ergebnis falsch-negativ sein.

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

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

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

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

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

14 FEHLERBEHEBUNG

Tabelle 25

Ungültige 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 4 unabhängige Läufe verwenden (jeweils 3 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 26

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 Bestandsmanagers oder der Cooler Unit.	Oberflächen mit wässrigen Reinigungsmitteln reinigen, Laborkittel waschen, verwendete Röhrchen und Spitzen austauschen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Tabelle 27

Ungültige Probenreaktion	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Einstellfehler des Geräts.	Position von PCR Mix, Internal Control und Probe kontrollieren. Volumina von PCR Mix, Internal Control und Probe kontrollieren.
Abbau des PCR Mix.	Den PCR Mix nicht für mehr als 4 unabhängige Läufe verwenden (jeweils 3 Stunden im Inventory Area (Inventarbereich) 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.	Die Amplifikation der eluierten Probe unverdünnt oder mit einer 1:2-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „PCR Only“-Lauf (nur PCR) wiederholen. Extraktion mit einer 1:2-Verdünnung der Probe in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „Extract + PCR“-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Tabelle 28

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 29

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 Europäischen Richtlinie 98/79/EG über *In-vitro*-Diagnostika.



Unique Device Identification, eindeutige Gerätekennung



Ausreichend für „N“ Tests



Gebrauchsanweisung beachten.



Inhalt.



Vor Sonneneinstrahlung schützen.



Hersteller.

16 HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ

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

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

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

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

MGB®, Eclipse Dark Quencher®, AquaPhluor®, ELiTe MGB®, das ELiTe MGB®-Gerätelogo, ELiTe InGenius® und ELiTe BeGenius® sind eingetragene Marken der ELiTechGroup in der Europäischen Union.
eSwab® ist eine eingetragene Marke von COPAN Italia S.p.A.

Appendix A CRE 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 **CRE ELITE MGB® Kit** ist ein In-vitro-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal in qualitativen Nukleinsäure-Real-Time-PCR-Assays zum Nachweis der DNA von Carbapenem-Resistenzgenen* (KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48-like) von *Enterobacteriaceae* 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 Rektalabstrich- und Blutkulturproben, validiert.

Das Produkt ist, in Kombination mit den klinischen Daten und weiteren Laborbefunden des Patienten, als Hilfsmittel bei der Diagnose und dem Screening einer *Enterobacteriaceae*-Infektion, die positiv auf Carbapenem-Resistenzgene ist, bestimmt.

Das Produkt ist außerdem kompatibel zur Charakterisierung von *Enterobacteriaceae*, die positiv für Carbapenem-Resistenzgene in DNA-Proben sind, die aus Kulturisolat extrahiert wurden.

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

* Die vollständige Liste der von diesem Produkt nachweisbaren Genvarianten ist dem entsprechenden Kapitel zu entnehmen. [11 LEISTUNGSMERKMALE page 19](#)

Amplifizierte Sequenz

Sequenz	Gen	Fluorophor	Kanal
Zielsequenz 1	KPC-Genfamilie	FAM	KPC
Zielsequenz 2	NDM-, VIM-, IMP-Genfamilie	AP593	NDM VIM IMP
Zielsequenz 3	OXA-48-like-Genfamilie	AP639	OXA
Internal Control	künstliche Sequenz IC2	AP525	IC

Validierte Matrix

› Rektalabstrich
› Blutkultur

Kit-Inhalt und zugehörige Produkte

CRE ELITE MGB Kit (RTS200ING)		CRE- ELITE Positive Control (CTR200ING)	
 X 8		 X 3	
CRE PCR Mix 8 Röhrchen mit 280 µl 12 Reaktionen pro Röhrchen 96 Reaktionen pro Kit 4 Einfrier- und Auftau-Zyklen pro Röhrchen		CRE Positive Control 3 Röhrchen mit 160 µl 4 Reaktionen pro Röhrchen 12 Reaktionen pro Kit 4 Gefrier- und Auftauzyklen	
Maximale Haltbarkeitsdauer:	24 Monate	Maximale Haltbarkeitsdauer:	24 Monate
Umgebungstemperatur bei Lagerung	≤ -20°C	Umgebungstemperatur bei Lagerung	≤ -20°C

Weitere benötigte, nicht im Kit enthaltene Produkte

› ELITE InGenius-Gerät: INT030. › ELITE BeGenius-Gerät: INT040. › ELITE InGenius SP 200: INT032SP200. › ELITE InGenius und ELITE BeGenius Verbrauchsmaterialien (siehe ELITE InGenius und ELITE BeGenius Gebrauchsanweisung)	› CPE - Internal Control: CTRCPE › eNAT™ Kit (Copan, Art.-Nr. 606CS01R), › FecalSwab™ (Copan, Art.-Nr. 470CE)
---	---

ELITE InGenius- und ELITE BeGenius-Protokoll

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

Leistungsdaten für ELITE InGenius und ELITE BeGenius

Matrix	Zielsequenz	Nachweisgrenze	Sensitivität	Spezifität
Rektalabstrich	KPC	99 KbE/ml	100 %	100 %
	NDM	144 KbE/ml		
	VIM	399 KbE/ml		
	IMP	273 KbE/ml		
	OXA-48	300 KbE/ml		
	OXA-181	179 KbE/ml		
Blutkultur	KPC	-	100 %	95,5 %
	NDM	-		
	VIM	-		
	IMP	-		
	OXA-48	-		
	OXA-181	-		

- = nicht anwendbar

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	Anforderungen an die Entnahme	Transport-/Lagerbedingungen			
		+16 bis +26 °C (Raumtemperatur)	+2 / +8 °C	- 20 ± 10 °C	- 70 ± 15 °C
Blutkultur	-	≤ 24 Stunden	-	-	-
Rektalabstrich	entnommen in eNAT™ Kit	-	≤ 1 Monat	≤ 6 Monate	lange Zeiträume
Rektalabstrich	entnommen in FecalSwab™ Kit	-	≤ 3 Tage	-	-

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

Vor der Analyse des Rektalabstrichs müssen 0,5 ml Probe in FecalSwab™ Medium in ein frisches eNAT™ Röhrchen mit 2,0 ml Medium überführt und durch Vortexen gemischt werden. Nach Zugabe von 0,5 ml Probe in FecalSwab™ Medium kann das eNAT™ Röhrchen als Primärröhrchen direkt in das System geladen werden. Die in eNAT™ Medium verdünnten Proben können unter den in oben stehender Tabelle aufgeführten Bedingungen aufbewahrt werden.

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: CRE ELiTe RcS_200_100 oder CRE ELiTe_BC_200_100	5. Die Methode „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) und die „Sample Position“ (Probenposition) auswählen: Extraction Tube (Extraktionsröhrchen)	6. Den PCR Mix und die Internal-Control in den Inventory Block (Bestandsmanager) laden
7. PCR Cassetten, ELiTe InGenius SP 200 Extraktionskartuschen und alle benötigten Verbrauchsmaterialien und zu extrahierenden Proben 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 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: CRE ELiTe RcS_200_100 oder CREn ELiTe_BC_200_100 oder CRE ELiTe_PC oder CRE 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-Kassette, Extraktionskartusche, Elution tube (Elutionsröhrchen), Spitzenkassette, Extraction Tube (Extraktionsröhrchen)-Rack	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: CRE ELiTe_Be_RcS_200_100 oder CRE ELiTe_Be_BC_200_100 <u>Hinweis:</u> 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 das „Extraction Rack“ (Extraktionsrack) mit den „ELiTe InGenius SP 200“ Extraktionskartuschen und die für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden	8. Tür schließen. Analyselauf starten	9. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern

HINWEIS!

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

Verfahren 2: „PCR Only“ (Nur PCR) (z. B. Eluate, 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 <u>Kontrollen</u> : 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 <u>Eluaten</u> : 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: CRE ELiTe_Be_RcS_200_100 oder CRE ELiTe_Be_BC_200_100 oder CRE ELiTe_Be_PC oder CRE 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“ beladen
7. Tür schließen. Analyselauf starten	8. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern	



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