Instructions for use

Macrolide-R/MG ELITe MGB® Kit

Reagenzien für die DNA-Real-Time-PCR

ELITechGroup
A BRUKER COMPANY

REF RTS401ING-48

UDI 08033891486686

CE 0123

IVD

ÄNDERUNGSVERLAUF

Rev.	Änderungsvermerk	Datum (TT.MM.JJ)
06–R	Aktualisierung der Abschnitte „Validierung der Probenergebnisse“ und „Grenzen des Verfahrens“	23/09/26
05–R	Dieses Produkt erfüllt die Anforderungen der IVD-Verordnung (EU) 2017/746 über In-vitro-Diagnostika. Erweiterung der Verwendung des Produkts in Verbindung mit den Geräten ELITe InGenius® und ELITe BeGenius®, mit zervikovaginalen Abstrichen als Matrix. Änderung der Abkürzung MG in MYG Änderung des Namens der Komponente durch Entfernen von -48 Ersetzung von 2-ml-Röhrchen 953-217 und weißer Verschluss 953-223 durch 2-ml-Röhrchen 953-065 in Bezug auf Röhrchen der PCR Mix-Komponente Aktualisierung des Abschnitts „Quellenangaben“ Aktualisierung der Verpackung des PCR Mix-Röhrchens (Abschnitt „Mit dem Produkt bereitgestellte Materialien“) Aktualisierung des Abschnitts „Benötigte Materialien (nicht im Lieferumfang enthalten)“ Aktualisierung des Abschnitts „Sonstige benötigte Produkte“ Aktualisierung des Abschnitts „Hinweis an die Benutzer“ Aktualisierung des Abschnitts „Hinweis an den Käufer: eingeschränkte Lizenz“ Aktualisierung des Abschnitts „Symbole“ mit dem Symbol „Gebrauchsanweisung beachten“	27/11/25
04	Hinzufügung von UDI-Informationen Produktbeschreibung: Korrektur von Tippfehlern bezüglich der Ausrichtung zwischen Zielsequenzen und Farbstoffen	23/04/24
00–03	Neuproduktentwicklung und nachfolgende Änderungen	-

HINWEIS!

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

PRODUKTREF.	Chargennummer	Verfallsdatum
RTS401ING	U0925-055	31/07/2027

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 VERFAHREN BEI ELITe InGenius 9
10 VERFAHREN BEI ELITe BeGenius 15
11 LEISTUNGSMERKMALE 19
12 REFERENZEN 27
13 GRENZEN DES VERFAHRENS 27
14 FEHLERBEHEBUNG 28
15 SYMBOLE 30
16 ANWENDERHINWEISE 31
17 HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ 31
Appendix A QUICK START GUIDE 32

1 VERWENDUNGSZWECK

Das Produkt **Macrolide-R/MG 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 aus klinischen Proben extrahiertem ***Mycoplasma genitalium*** **(MYG)** und zur Identifizierung der wichtigsten Mutationen im Zusammenhang mit Makrolid-Resistenz 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 ohne Konservierungsmittel entnommenem Morgenurin und zervikovaginalem Abstrich, validiert.

Das Produkt ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Diagnose von *Mycoplasma-genitalium*-Infektionen bei Patienten mit Verdacht auf eine *Mycoplasma-genitalium*-Infektion bestimmt.

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

2 TESTPRINZIP

Der Assay ist eine qualitative Echtzeit-PCR für den Nachweis der DNA von Mycoplasma genitalium und der wichtigsten Mutationen im Zusammenhang mit Makrolid-Resistenz, die aus Proben isoliert und mit dem Testreagenz R/MG PCR Mix, das Primer und ELITe MGB-Technologie-Sonden enthält, amplifiziert wurde.

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

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

Es ist zu beachten, dass das Fluorophor während der PCR nicht abgespalten wird und für die Dissoziationsanalyse und die Berechnung der Schmelztemperatur verwendet werden kann.

3 BESCHREIBUNG DES PRODUKTS

Das **Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit** enthält das Assay-Reagenz **R/MG PCR Mix**, ein optimiertes und stabilisiertes PCR-Gemisch, das die spezifischen Primer und Sonden enthält für:

- 23S rRNA-Gen von M. genitalium, nachgewiesen im Kanal **MYG**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher® gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor® 525 (AP525) markiert,

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

Der **R/MG PCR Mix** enthält außerdem Puffer, Magnesiumchlorid, Nukleotidtriphosphate und „Hot-start"-DNA-Polymerase.

Das **Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit** enthält ausreichend Reagenzien für **48 Tests** auf dem **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius (12 Tests pro Röhrchen)**, wobei 20 µl pro Reaktion verwendet werden.

Das **Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit** kann auch in Verbindung mit gleichwertigen Geräten verwendet werden.

4 MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN

Tabelle 1

Komponente	Beschreibung	Menge	Gefahrenklasse
R/MG PCR Mix **Art.-Nr. RTS401ING-48**	Gemisch aus Reagenzien für Real-Time-PCR-Röhrchen mit NATURFARBENEM Verschluss	**4 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 1.4.0 (oder später). **R_MG ELITe_PC**, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Positive Control-Analyse. **R_MG ELITe_NC**, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Negative Control-Analyse. **R_MG ELITe_U_200_100,** Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Analyse von Morgenurinproben. **R_MG ELITe_CS_200_100,** Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Analyse von zervikovaginalen Abstrichproben.	**Macrolide-R/MG - ELITe Positive Control** (EG SpA, Art-Nr. CTR401ING). **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) **eSWAB ®** (COPAN Italia S.p.A., Art.-Nr. 480CE) oder eine entsprechende Vorrichtung, für zervikovaginale Abstrichproben
ELITe BeGenius (EG SpA, Art.-Nr. INT040). **ELITe BeGenius Software**, Version 2.3.0 (oder später). **R_MG ELITe _Be_PC**, Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Positive Control-Analyse. **R_MG ELITe _Be_NC**, Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Negative Control-Analyse. **R_MG ELITe_Be_U_200_100,** Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Analyse von Morgenurinproben. **R_MG ELITe_Be_CS_200_100,** Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Analyse von zervikovaginalen Abstrichproben.	

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.

- Nur die mit dem Produkt mitgelieferten bzw. vom Hersteller empfohlenen Reagenzien verwenden.
- 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 geeignet und möglichst für diese Art der Analyse dediziert 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 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, frei von DNasen und RNasen sowie frei von DNA und RNA 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)
R/MG PCR Mix	-20°C oder darunter (lichtgeschützt)	einen Monat	bis zu sieben	bis zu sieben separate* Läufe von je drei Stunden oder bis zu 7 aufeinanderfolgende Stunden (2 Läufe von je 3 Stunden und die Zeit, die für den Beginn eines dritten Laufs benötigt wird)

* mit zwischenzeitlichem Gefrierzyklus

8 PROBEN UND KONTROLLEN

8.1 Proben 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 bis +26 °C (Raumtemperatur)*	**+2 – +8 °C**	**-20 ± 10 °C**	**-70 ± 15 °C**
Morgenurin	ohne Konservierungsmittel entnommen	≤ 1 Tag	≤ 2 Tage	≤ 1 Monat	≤ 1 Monat
Zervikovaginale Abstriche	eSwab® (COPAN) oder ein entsprechendes Reagenz (optional)	≤ 2 Tage	≤ 2 Tage	≤ 1 Monat	≤ 1 Monat

Das Morgenurin kann im „Ist-Zustand“ oder in 10-facher Konzentration durch 10-minütige Zentrifugation bei einer RZB von ~1.000 verwendet werden.

Auch wenn eine länger Aufbewahrung bei -70 °C möglich ist, wie in der wissenschaftlichen Literatur ausführlich berichtet, sollte eine derartige Anwendung intern von den Endbenutzern des Produkts beurteilt 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.

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

Tabelle 5 Assay-Protokolle (Assay Protocol) für Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit

Probe	Gerät	Name des Assay-Protokolls	Bericht	Eigenschaften
Ohne Konservierungsmittel entnommener Morgenurin	**ELITe InGenius**	**R_MG ELITe _U_200_100**	Positiv/ negativ	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 PCR Mix-Volumen: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
	ELITe BeGenius	**R_MG ELITe _Be_U_200_100**		
Zervikovaginale Abstriche	**ELITe InGenius**	**R_MG ELITe_CS_200_100**		
	ELITe BeGenius	**R_MG ELITe_Be_CS_200_100**		

HINWEIS!

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

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

Falls erforderlich, müssen 200 µl Probe in ein Extraction Tube (Extraktionsröhrchen) (bei ELITe InGenius) bzw. 200 µl Probe in 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 **Macrolide-R/MG - ELITe Positive Control** (nicht in diesem Kit enthalten) mit den Assay-Protokollen **R_MG ELITe_PC** oder **R_MG ELITe_Be_PC** verwenden.
- Für die Negative Control hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) mit den Assay-Protokollen (Assay Protocols) **R_MG ELITe_NC** oder **R_MG 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,
- es werden größere Wartungs- oder Instandhaltungsarbeiten an **ELITe InGenius** oder **ELITe BeGenius** durchgeführt.

8.3 Qualitätskontrollen

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

9 VERFAHREN BEI ELITe InGenius

Das beim Gebrauch des **Macrolide-R/MG 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])
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 **Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit** kann auf **ELITe InGenius** für die folgenden Läufe verwendet werden:

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

B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR]),

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

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

HINWEIS!

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

Vor dem Einrichten eines Laufs:

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

HINWEIS!

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

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

Tabelle 7

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

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])
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.
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.

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])
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 **Macrolide-R/MG 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 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 sich daraus ergebenden Ct-Werte werden zur Überprüfung des Systems (Reagenziencharge und Gerät) verwendet.

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.

9.5 Validierung der Probenergebnisse

Die **ELITe InGenius Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse für die Zielsequenz (Kanal **MYG**) und die Internal Control (Kanal **IC**) mit den Assay-Protokoll-Parametern **R_MG ELITe_U_200_100** und **R_MG ELITe_CS_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“**
R/MG Positive Control	APPROVED (Genehmigt)
2) Negative Control	**„Status“**
R/MG 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
MYG:DNA Detected Macrolide Resistance Positive (MYG:DNA Erkannt, Makrolidresistenz Positiv)	In der Probe wurde die **DNA von *Mycoplasma genitalium* nachgewiesen**. In der getesteten Genregion wurde eine Mutation nachgewiesen. Die Probe könnte **resistent gegenüber Makrolid** sein.
MYG:DNA Detected Macrolide Resistance Negative (MYG:DNA Erkannt, Makrolidresistenz Negativ)	In der Probe wurde die **DNA von *Mycoplasma genitalium* nachgewiesen**. In der getesteten Genregion wurde keine Mutation nachgewiesen. Die Probe könnte **sensibel gegenüber Makrolid** sein.
MYG:DNA Detected - Typing not feasible-Retest Sample (MYG:DNA Erkannt – Typisierung nicht möglich-Probe erneut testen)	***Mycoplasma-genitalium*-DNA** wurde in der Probe **nachgewiesen**. Sie reicht jedoch für die Analyse der Makrolid-Resistenz nicht aus. Der Test sollte wiederholt werden.
MYG:DNA Detected Typing not determined (MYG:DNA Erkannt, Typisierung nicht bestimmt)	***Mycoplasma-genitalium*-DNA** wurde in der Probe zwar **nachgewiesen**, die Analyse der Makrolid-Resistenz war jedoch nicht möglich.
MYG:DNA Detected Macrolide Resistance Positive Macrolide Resistance Negative (MYG:DNA Erkannt, Makrolidresistenz Positiv, Makrolidresistenz Negativ)	In der Probe wurde die **DNA von *Mycoplasma genitalium* nachgewiesen**. Beide Zielsequenzen im Zusammenhang mit Makrolid-Resistenz und -Sensitivität wurden in der Probe nachgewiesen. Die Probe könnte **resistent gegenüber Makrolid** sein. Mögliches Vorliegen von Koinfektionen zwischen *Mycoplasma-genitalium*-Stämmen mit und ohne Mutationen, die mit einer Resistenz gegen Makrolide assoziiert sind.
MYG: DNA Not detected or below the LoD (MYG:DNA Nicht Erkannt oder Menge unter Nachweisgrenze)	**In der Probe wurde keine *Mycoplasma-genitalium*-DNA nachgewiesen**. Die Probe ist **gültig** negativ oder die Zielkonzentration liegt unterhalb der Nachweisgrenze des Tests.
Invalid-Retest Sample (Ungültig – Probe erneut testen)	**Ungültiges Testergebnis** durch fehlerhafte interne Kontrolle (falsche Extraktion, Verschleppung von Inhibitoren). Der Test sollte wiederholt werden.

Als „MYG:DNA detected - Typing not feasible-Retest Sample“ (MYG:DNA Erkannt – Typisierung nicht möglich – Probe erneut testen) ausgegebene Proben eignen sich nicht für die Analyse auf Makrolid-Resistenz. In diesem Fall wurde die *Mycoplasma-genitalium*-DNA zwar nachgewiesen, die DNA ist jedoch nicht ausreichend, um auf reproduzierbare Weise korrekte Ergebnisse zur Makrolid-Resistenz zu erhalten. Dies ist auf eine niedrige *Mycoplasma-genitalium*-Konzentration in der Probe oder auf Probleme beim Amplifikations- oder Extraktionsschritt (Abbau von DNA, Verlust von DNA während der Extraktion oder Verschleppung von Inhibitoren in das Eluat) zurückzuführen. In diesem Fall muss der Test wiederholt werden.

HINWEIS!

Wenn eine Probe als „MYG:DNA Detected - Typing not feasible-Retest Sample“ (MYG:DNA erkannt – Typisierung nicht möglich – Probe erneut testen) ausgewiesen wird, kann das Ergebnis nicht genehmigt werden, der Tm-Wert kann jedoch vom Bediener überprüft werden. Wenn der Tm-Wert unter 63,0 °C liegt (Wildtyp-Tm unterer Grenzwert), lautet das Ergebnis der Probe „MYG:DNA detected. Macrolide Resistance Positive“ (MYG: DNA erkannt. Makrolidresistenz Positiv).

Proben, die ohne Angaben zum Status der Makrolid-Resistenz als „MYG:DNA detected. Typing not determined“ (MYG: DNA Erkannt. Typisierung nicht bestimmt) ausgegeben werden, sind für die Genotypisierung nicht geeignet. In diesem Fall wurde die Ziel-DNA in der Probe nachgewiesen; es war jedoch nicht möglich, einen Tm-Wert zu berechnen bzw. der berechnete Tm-Wert lag außerhalb der Tm-Intervalle für die Typisierung. In letzterem Fall könnte es sich um andere Mutationen als die vorgesehenen handeln, um nicht ordnungsgemäß entnommene Proben oder um Probleme bei der Extraktion (Verschleppung von Inhibitoren in das Eluat).

Als „MYG: DNA Not detected or below the LoD“ (MYG: DNA Nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze) ausgegebene Proben sind für die Analyse geeignet, es war jedoch nicht möglich, *Mycoplasma-genitalium*-DNA nachzuweisen. In diesem Fall kann nicht ausgeschlossen werden, dass MYG-DNA bei einer Konzentration unter der Nachweisgrenze des Assays vorhanden ist (siehe „11 LEISTUNGSMERKMALE page 19“).

Als „Invalid-Retest Sample“ (Ungültig – Probe erneut testen) ausgegebene Proben: In diesem Fall wurde die Internal-Control-DNA möglicherweise aufgrund von Problemen beim Extraktions- oder PCR-Schritt nicht effizient erkannt (z. B. 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 28“).

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 **Macrolide-R/MG 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 **Macrolide-R/MG 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. 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.

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

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])
14	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Nicht anwendbar	Nicht anwendbar
15	**CPE und PCR Mix** in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsrack) laden.	Den PCR Mix in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsrack) **laden**.	Den PCR Mix in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsrack) **laden**.
16	Das „Reagent/Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ in „Lane 2“ (L2), falls verfügbar, oder in „Lane 1“ (L1) einsetzen. Falls erforderlich, für jedes PCR Mix-Reagenz und/oder CPE unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.	Das „Reagent/Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ in „Lane 2“ (L2), falls verfügbar, oder in „Lane 1“ (L1) einsetzen. Falls erforderlich, für jedes PCR Mix-Reagenz unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.	Das „Reagent/Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ in „Lane 2“ (L2), falls verfügbar, oder in „Lane 1“ (L1) einsetzen. Falls erforderlich, für jedes PCR Mix-Reagenz unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.
17	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
18	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.
19	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
20	Das „**PCR Rack**“ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) laden.	Das „**PCR Rack**“ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) laden.	Das „**PCR Rack**“ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) laden.
21	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
22	Das „Extraction Rack“ (Extraktionsrack) mit den „ELITe InGenius SP 200“ Extraktionskartuschen und die für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden.	Nicht anwendbar	Nicht anwendbar
23	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.
24	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.

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

HINWEIS!

Am Ende des Laufs muss die übrige extrahierte Probe im **Elution Tube** (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 derPositive Controlvermeiden. 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 **Macrolide-R/MG 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 Nachweisgrenze (LoD)

Die Nachweisgrenze (LoD) des Assays wurde für das Gerät **ELITe InGenius** durch Testen von Morgenurinproben ohne Konservierungsmittel, die mit Referenzmaterial von *Mycoplasma genitalium* (Qnostics, UK, Art.-Nr. MG1803023B) dotiert waren, ermittelt.

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 12 Nachweisgrenze (Organismen/ml) bei Morgenurinproben und ELITe InGenius System

LoD (Organismen/mL)	Grenzen des 95%-Konfidenzintervalls	
	Untergrenze	Obergrenze
247	155	634

Der berechnete LoD-Wert wurde überprüft, indem auf **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius** Morgenurinproben und konzentrierte Urin- und zervikovaginale Abstrichproben, die mit Referenzmaterial von Mycoplasma genitalium (DSMZ, DSM 19775) dotiert waren, in der behaupteten Konzentration getestet wurden.

Die erhaltenen Ergebnisse bestätigten die behaupteten Konzentrationen für die beiden Zielgene des Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit mit den beiden Matrizes auf ELITe BeGenius und ELITe InGenius.

11.2 Nachweis von Makrolid-Resistenz

Zur Bewertung des Nachweises von Makrolid-Resistenz für den Assay wurden zertifizierte Proben (von einem externen Labor bereitgestellt) und Plasmid-DNAs mit der amplifizierten Region des 23S rRNA-Gens mit den wichtigsten, in der nachfolgenden Tabelle aufgeführten Mutationen im Zusammenhang mit Antibiotikaresistenz, auf ELITe InGenius getestet:

Tabelle 13

Mutation
A2058G
A2058C
A2058T
A2059G
A2059C
A2062G
A2062T

HINWEIS!

Der Assay erkennt auch andere Mutationen in derselben Region des 23S rRNA-Gens, wie z. B. A2062C. Diese Mutation scheint jedoch nicht mit Makrolid-Resistenz im Zusammenhang zu stehen.

Die Testergebnisse sind im folgenden Abschnitt über die Nachweiseffizienz aufgeführt. Alle getesteten Isolate und Plasmid-DNAs wurden Mycoplasma genitalium-positiv getestet und mit dem Produkt „Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit“ korrekt als möglicherweise resistent gegen Makrolid typisiert.

11.3 Inklusivität: Nachweiseffizienz

Die Inklusivität des Assays, d. h. die Effizienz des Nachweises von *Mycoplasma genitalium*, einschließlich der Azithromycin-resistenten Varianten, wurde mittels *In-silico*-Analyse bewertet.

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

Die Inklusivität wurde auch durch Analyse zertifizierter genomischer DNA aus klinischen Proben (von einem externen Labor bereitgestellt) und Plasmid-DNAs einschließlich Mutationen im Zusammenhang mit Azithromycin-Resistenz verifiziert.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 14

Probe	Pos. / Wiederh.	Mut. / Wiederh.
M. genitalium wt	3/3 der Kommission festgestellt, dass es keine Stoffe mit endokrin wirkenden Eigenschaften aufweist.	0/3
pMG A2058G	3/3	3/3
pMG A2058C	3/3	3/3
pMG A2058T	3/3	3/3
pMG A2059G	3/3	3/3
pMG A2059C	3/3	3/3
pMG A2062G	12/12	12/12
pMG A2062T	12/12	12/12
MG 410 (A2058G)	1/1	1/1
MG 426 (A2058G)	1/1	1/1
MG 539 (A2059G)	1/1	1/1
MG 540 (A2058G)	1/1	1/1

11.4 Potenziell interferierender Organismus

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

Die Analyse auf *Mycoplasma genitalium* ergab keine signifikante Homologie mit anderen unbeabsichtigten Organismen (Viren und Bakterien), weshalb keine potenzielle Interferenz zu erwarten ist.

Das Fehlen einer Kreuzreaktivität mit potenziell interferierenden Organismen wurde auch durch die Analyse eines Panels unbeabsichtigter Organismen (ATCC und Vircell Microbiologist) überprüft.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 15 Potenzielle Kreuzreaktivität

Organismus	Stamm	Ergebnis
Chlamydia trachomatis	LGV II	Keine Kreuzreaktivität
Neisseria gonorrhoeae	DSM 9188	Keine Kreuzreaktivität
Trichomonas vaginalis	Klinisches Isolat	Keine Kreuzreaktivität
Mycoplasma hominis	PG21	Keine Kreuzreaktivität
Ureaplasma urealyticum	NCTC10177	Keine Kreuzreaktivität
Escherichia coli	CFT073	Keine Kreuzreaktivität
Ureaplasma parvum	NCTC 11736	Keine Kreuzreaktivität
Treponema pallidum	Nichols	Keine Kreuzreaktivität
Gardnerella vaginalis	594	Keine Kreuzreaktivität
Mobiluncus mulieris	BV 64-5	Keine Kreuzreaktivität

Tabelle 15 Potenzielle Kreuzreaktivität (continued)

Organismus	Stamm	Ergebnis
Bacteroides fragilis	NCTC 9343	Keine Kreuzreaktivität
Peptostreptococcus anaerobius	MSHD	Keine Kreuzreaktivität
Candida albicans	3147	Keine Kreuzreaktivität
Lactobacillus acidophilus	Pak	Keine Kreuzreaktivität
HSV1	McIntyre	Keine Kreuzreaktivität
HSV2	G	Keine Kreuzreaktivität

Alle getesteten potenziell interferierenden Organismen wiesen für die Zielamplifikation mit dem Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit keine Kreuzreaktivität auf.

Die potenzielle Inhibition unbeabsichtigter Organismen, die in klinischen Proben vorkommen können, wurde für den Assay durch die Analyse eines Panels unbeabsichtigter Organismen (Vircell Microbiologist), die in niedriger Konzentration mit der genomischen DNA von *Mycoplasma genitalium* dotiert waren, bewertet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 16 Potenzielle Interferenz

Organismus	Stamm	Ergebnis
Chlamydia trachomatis	LGV II	Keine Interferenz
Neisseria gonorrhoeae	DSM 9188	Keine Interferenz
Trichomonas vaginalis	Klinisches Isolat	Keine Interferenz
Mycoplasma hominis	PG21	Keine Interferenz
Ureaplasma urealyticum	NCTC10177	Keine Interferenz
Escherichia coli	CFT073	Keine Interferenz
Ureaplasma parvum	NCTC 11736	Keine Interferenz
Treponema pallidum	Nichols	Keine Interferenz
Gardnerella vaginalis	594	Keine Interferenz
Mobiluncus mulieris	BV 64-5	Keine Interferenz
Bacteroides fragilis	NCTC 9343	Keine Interferenz
Peptostreptococcus anaerobius	MSHD	Keine Interferenz
Candida albicans	3147	Keine Interferenz
Lactobacillus acidophilus	Pak	Keine Interferenz
HSV1	McIntyre	Keine Interferenz
HSV2	G	Keine Interferenz

Alle getesteten potenziell interferierenden Organismen wiesen für die Zielamplifikation mit dem Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit keine Inhibition auf.

11.5 Störende Substanzen

Die Inhibition durch potenziell störende (endogenen und exogenen) Substanzen, die in klinischen Proben vorkommen können, wurde für den Assay durch die Analyse einer Reihe von Substanzen in relevanten Konzentrationen bewertet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 17 VK % Ct (Ref. + Test)

Substanz	Pos. % Übereinstimmung	Ergebnis
Vollblut	100 %	Keine Interferenz
Sperma	100 %	Keine Interferenz
Mucin	100 %	Keine Interferenz
Azithromycin	100 %	Keine Interferenz
Alkalischer Urin	100 %	Keine Interferenz
Saurer Urin	100 %	Keine Interferenz
Virostatikum	100 %	Keine Interferenz
Antibiotikum	100 %	Keine Interferenz
Antimykotikum	100 %	Keine Interferenz
Gleitmittel	100 %	Keine Interferenz
Spermizid	100 %	Keine Interferenz

Der Test zeigte, dass bei Verwendung des Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit keine der getesteten Substanzen mit den Zielsequenzen kreuzreagiert.

11.6 Wiederholpräzision

Zur Bewertung der Wiederholpräzision des Assays mit ELITe BeGenius und ELITe InGenius wurde ein Panel von Morgenurinproben, die negativ oder mit *Mycoplasma genitalium* (DSMZ, DSM 19775) dotiert waren, analysiert.

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

Tabelle 18 Wiederholpräzision innerhalb des Laufs mit ELITe BeGenius

Probe	Pos. / Neg.	Mycoplasma genitalium			% Übereinstimmung
		Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	
Negativ	0/8	n. z.	n. z.	n. z.	100 %
3 x LoD	8/8	34,59	0,69	1,98	100 %
10 x LoD	8/8	32,51	0,41	1,25	100 %

Tabelle 19 Wiederholpräzision innerhalb des Laufs mit ELITe InGenius

Probe	Pos. / Neg.	Mycoplasma genitalium			% Übereinstimmung
		Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	
Negativ	0/8	n. z.	n. z.	n. z.	100 %
3 x LoD	8/8	35,97	0,64	1,77	100 %
10 x LoD	8/8	32,66	0,30	0,93	100 %

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

Tabelle 20 Laufübergreifende Wiederholpräzision mit ELITe BeGenius

Probe	Pos. / Neg.	Mycoplasma genitalium			% Übereinstimmung
		Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	
Negativ	0/16	n. z.	n. z.	n. z.	100 %
3 x LoD	16/16	35,18	0,98	2,78	100 %
10 x LoD	16/16	32,79	0,45	1,37	100 %

Tabelle 21 Laufübergreifende Wiederholpräzision mit ELITe InGenius

Probe	Pos. / Neg.	Mycoplasma genitalium			% Übereinstimmung
		Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	
Negativ	0/16	n. z.	n. z.	n. z.	100 %
3 x LoD	16/16	36,13	0,80	2,21	100 %
10 x LoD	16/16	32,91	0,57	1,73	100 %

Beim Test der Wiederholpräzision erkannte das Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit alle Proben wie erwartet und wies eine Variabilität der Ct-Zielwerte als Variationskoeffizient VK% unter 5 % aus.

11.7 Vergleichspräzision

Zur Bewertung der Vergleichspräzision des Assays mit ELITe BeGenius und ELITe InGenius wurde ein Panel von Morgenurinproben, die negativ oder mit *Mycoplasma genitalium* (DSMZ, DSM 19775) dotiert waren, analysiert.

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

Tabelle 22 Chargenübergreifende Vergleichspräzision mit ELITe BeGenius

Probe	Pos. / Wiederh.	Mycoplasma genitalium			% Übereinstimmung
		Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	
Negativ	0/8	-	-	-	100 %
3 x LoD	8/8	35,75	0,27	0,75	100 %
10 x LoD	8/8	33,16	0,74	2,23	100 %

Tabelle 23 Chargenübergreifende Vergleichspräzision mit ELITe InGenius

Probe	Pos. / Wiederh.	Mycoplasma genitalium			% Übereinstimmung
		Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	
Negativ	0/8	-	-	-	100 %
3 x LoD	8/8	35,79	0,83	2,31	100 %
10 x LoD	8/8	33,65	0,44	1,29	100 %

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

Tabelle 24 Geräteübergreifende Vergleichspräzision mit ELITe BeGenius

Probe	Pos. / Wiederh.	Mycoplasma genitalium			% Übereinstimmung
		Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	
Negativ	0/16	-	-	-	100 %
3 x LoD	16/16	35,59	0,79	2,22	100 %
10 x LoD	16/16	33,19	0,46	1,39	100 %

Tabelle 25 Geräteübergreifende Vergleichspräzision mit ELITe InGenius

Probe	Pos. / Wiederh.	Mycoplasma genitalium			% Übereinstimmung
		Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	
Negativ	0/16	-	-	-	100 %
3 x LoD	16/16	35,67	0,05	1,94	100 %
10 x LoD	16/16	33,25	0,23	0,69	100 %

Beim Test der Vergleichspräzision erkannte das Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit alle Proben wie erwartet und wies eine Variabilität der Ct-Zielwerte als Variationskoeffizient VK% unter 5 % aus.

11.8 Diagnostische Sensitivität: Bestätigung positiver Proben

Die diagnostische Sensitivität des Assays für die Bestätigung *Mycoplasma-genitalium* (MYG)-positiver klinischer Proben wurde mit **ELITe InGenius** bestimmt, indem klinische Proben von ohne Konservierungsmittel entnommenem, konzentriertem Morgenurin und zervikovaginale Abstriche analysiert und als positiv bestätigt oder mit Referenzmaterial dotiert wurden.

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

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 26

Proben	Anzahl	positiv	negativ	Diagnostische Sensitivität in %
MYG-positiver Morgenurin	66	65	1	98,5 %
MYG-positiver konzentrierter Morgenurin	53	53	0	100 %

Tabelle 26 (continued)

Proben	Anzahl	positiv	negativ	Diagnostische Sensitivität in %
MYG-positive zervikovaginale Abstriche	29	29	0	100 %
Mit MYG dotierte zervikovaginale Abstriche	60	60	0	

Zur Identifizierung der Makrolidresistenz wurden die mit dem Assay mittels Tm-Analyse („Macrolide Resistance Negative“ (WT) oder „Macrolide Resistance Positive (MUT)) erhaltenen Ergebnisse mit den Ergebnissen verglichen, die mit den Referenzmethoden erhalten worden waren. Die für die verschiedenen Matrizes erhaltenen Ergebnisse sind nachfolgend aufgeführt.

Tabelle 27

Proben	Referenzmethoden	WT	MUT	WT & MUT	Typisierung **Übereinstimmung**
Morgenurin **Urin**	WT	13	1	0	**98,4 %**
	MUT	0	47	0	
	WT & MUT	0	0	1	
Konzentrierter Morgenurin **Urin**	WT	9	1	0	**98,1 %**
	MUT	0	42	0	
	WT & MUT	0	0	1	
Zervikovaginale **abstrich**	WT	49	0	0	**100 %**
	MUT	0	37	0	
	WT & MUT	0	0	0	

11.9 Diagnostische Spezifität: Bestätigung negativer Proben

Die diagnostische Spezifität des Assays für die Bestätigung *Mycoplasma-genitalium* (MYG)-negativer klinischer Proben wurde mit **ELITe InGenius** bestimmt, indem klinische Proben von ohne Konservierungsmittel entnommenem, konzentriertem Morgenurin und zervikovaginale Abstriche analysiert und als negativ bestätigt wurden.

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 28

Proben	Anzahl	positiv	negativ	Diagnostische Spezifität in %
MYG-negativer Morgenurin	55	0	55	100 %
MYG-negativer konzentrierter Morgenurin	54	0	54	100 %
MYG-negative zervikovaginale Abstriche	104	0	104	100 %

Der Ct-Grenzwert für die IC wurde auf 32 für alle Matrizes festgelegt.

HINWEIS!

Die vollständigen Daten und Ergebnisse der Tests, die zur Bewertung der Leistungsmerkmale des Produkts mit Matrizes und Geräten durchgeführt wurden, sind in der technischen Dokumentation „Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit Kit“, FTP401ING, aufgeführt.

12 REFERENZEN

Twin J. et al. (2012) PLoS ONE Vol. 7, Ausgabe 4

Nijhuis R.H.T. et al J. Antimicrob. Chemother.(2015), 70: 2515-2518

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

G. L. Murray et al. (2019) J. Appl. Microbiol. 127(4):1219-1223

A. Guschin et al. (2015) BMC Infect Dis. 15:40.

R. Palich et al. (2021) Sex. Transm. Dis. 48(11):e163-e164.

13 GRENZEN DES VERFAHRENS

Dieses Produkt darf nur mit den folgenden klinischen Proben verwendet werden: Morgenurin und zervikovaginaler Abstrich.

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 Kontaminationen durch positive klinische Proben, Positivkontrollen und PCR-Produkte. Kreuzkontamination führt zu falsch-positiven Ergebnissen. Das Produktformat ist so gestaltet, dass Kreuzkontamination begrenzt wird. Trotzdem kann Kreuzkontamination nur durch Beachtung der guten Laborpraxis und der vorliegenden Gebrauchsanweisung vermieden werden.

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

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

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

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

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

Ein mit diesem Produkt erhaltenes negatives Ergebnis deutet darauf hin, 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 11 LEISTUNGSMERKMALE page 19). In diesem Fall kann das Ergebnis falsch-negativ sein.

Mit diesem Produkt erhaltene Ergebnisse können manchmal aufgrund von Ausfällen der Internal Control ungültig sein. In diesem Fall ist die Probe beginnend mit der Amplifikation oder Extraktion erneut zu testen, was zu einer Verzögerung der endgültigen Testergebnisse führen kann (siehe 14 FEHLERBEHEBUNG page 28)..

Die mit diesem Produkt erzielten Ergebnisse über eine mögliche Resistenz des *Mycoplasma genitalium* gegen Makrolide beschränken sich auf den Nachweis der wichtigsten Mutationen, wie im Abschnitt „Leistungsmerkmale“ angegeben. Andere Mutationen, die von diesem Produkt nicht erkannt werden, können mit einer Resistenz gegen Makrolide in Verbindung gebracht werden. Andererseits können mit diesem Produkt stille Mutationen nachgewiesen werden, die jedoch nicht mit einer Resistenz gegen Makrolide verbunden sind. Daher ist zur Bestätigung der Empfindlichkeit oder Resistenz gegen Makrolide eine phänotypische Untersuchung der Antibiotikaempfindlichkeit erforderlich.

Dieses Produkt kann mögliche Koinfektionen oder Kokolonisierungen von *Mycoplasma-genitalium*-Stämmen mit und ohne Mutationen, die mit einer Resistenz gegen Makrolide assoziiert sind, identifizieren. Bei unausgeglichenen Koinfektionen oder Kokolonisierungen können die mit diesem Produkt erzielten Testergebnisse die vorherrschende Population jedoch möglicherweise nur dann identifizieren, wenn diese eindeutig überwiegt.

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 29

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 30

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

Tabelle 31

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

Tabelle 32

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

Tabelle 33

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 34

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

REF	Katalognummer.
	Temperaturobergrenze.
LOT	Chargenbezeichnung.
	Verfallsdatum (letzter Tag des Monats).
IVD	*In-vitro*-Diagnostikum.
CE 0123	Erfüllt die Anforderungen der Verordnung (EU) 2017/746 über *In-vitro*-Diagnostika (IVDR). Zertifizierung ausgestellt von der TÜV SÜD Product Service GmbH, Deutschland.

UDI	Unique Device Identification, eindeutige Gerätekennung
	Ausreichend für „N" Tests
	Gebrauchsanweisung beachten.
CONT	Inhalt.
	Vor Sonneneinstrahlung schützen.
	Hersteller.

16 ANWENDERHINWEISE

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

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

17 HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ

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

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

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

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

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

Appendix A Macrolide-R/MG 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 **Macrolide-R/MG 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 aus klinischen Proben extrahiertem ***Mycoplasma genitalium*** **(MYG)** und zur Identifizierung der wichtigsten Mutationen im Zusammenhang mit Makrolid-Resistenz 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 ohne Konservierungsmittel entnommenem Morgenurin und zervikovaginalem Abstrich, validiert.

Das Produkt ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Diagnose von *Mycoplasma-genitalium*-Infektionen bei Patienten mit Verdacht auf eine *Mycoplasma-genitalium*-Infektion bestimmt.

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

Amplifizierte Sequenz

Tabelle 35

Sequenz	Gen	Fluorophor	Kanal
Zielsequenz 1	23S rRNA	AP525	MYG
Internal Control	IC2	AP680	IC

Validierte Matrix

Tabelle 36

› ohne Konservierungsmittel entnommener Morgenurin
› zervikovaginaler Abstrich

Kit-Inhalt und zugehörige Produkte

Tabelle 37

Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit (RTS401ING-48)	Macrolide-R/MG – ELITe Positive Control (CTR401ING)
 X 4	 X 3
R/MG PCR Mix 4 Röhrchen mit 280 µl 12 Reaktionen pro Röhrchen 48 Reaktionen pro Kit 7 Einfrier- und Auftau-Zyklen pro Röhrchen	**R/MG Positive Control** 3 Röhrchen mit 160 µl 4 Reaktionen pro Röhrchen 12 Reaktionen pro Kit 4 Gefrier- und Auftauzyklen

Tabelle 37 (continued)

Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit (RTS401ING-48)		Macrolide-R/MG – ELITe Positive Control (CTR401ING)	
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

Tabelle 38

› ELITe InGenius-Gerät: INT030. › ELITe BeGenius-Gerät: INT040. › ELITe InGenius SP 200: INT032SP200.	› CPE - Internal Control: CTRCPE. **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius** Verbrauchsmaterialien (siehe ELITe InGenius und ELITe BeGenius Gebrauchsanweisung) **eSWAB ®** (COPAN Italia S.p.A., Art.-Nr. 480CE) oder eine entsprechende Vorrichtung, für zervikovaginale Abstrichproben

ELITe InGenius- und ELITe BeGenius-Protokoll

› Probenvolumen › CPE-Volumen › Gesamtes Elutionsvolumen	200 µl (InGenius und BeGenius) oder 1000 µl (nur InGenius) 10 µl 100 µl	› PCR-Eingangsvolumen für die Elution › Volumen Q-PCR-Mix › Häufigkeit der Kontrollen	20 µl 20 µl 15 Tage

Leistungsdaten für ELITe InGenius und ELITe BeGenius

Tabelle 39

Matrix	Zielsequenz	Nachweisgrenze	Sensitivität	Spezifität
Morgenurin	MYG	**247 Organismen/ml**	98,5% **(65/66)**	100% **(55/55)**
Konzentrierter Morgenurin	MYG	**247 Organismen/ml**	100% **(53/53)**	100% **(54/54)**
zervikovaginaler Abstrich	MYG	**247 Organismen/ml**	100% **(89/89)**	100% **(104/104)**

Probenvorbereitung

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

Tabelle 40

Probentyp	Anforderungen an die Entnahme	Transport-/Lagerbedingungen			
		+16 / +26 °C (Raumtemperatur)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Morgenurin	ohne Konservierungsmittel entnommen	≤ 1 Tag	≤ 2 Tage	≤ 1 Monat	≤ 1 Monat
Zervikovaginale Abstriche	eSwab® (COPAN) oder entsprechende Vorrichtung, für zervikovaginale Abstrichproben	≤ 2 Tage	≤ 2 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

Tabelle 41

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

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

Tabelle 42

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: R_MG ELITe_U_200_100 oder R_MG ELITe_CS_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)

Tabelle 43

1. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen	**2.** Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingangsvolumen: „200 µL“, Elutionsvolumen: „100 µL“	**3.** Die Proben-Barcodes mit dem tragbaren Barcodeleser scannen oder die Proben-ID eingeben
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: R_MG ELITe_U_200_100 oder R_MG ELITe_CS_200_100 oder R_MG ELITe_PC oder R_MG 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

Tabelle 44

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

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

Tabelle 45

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: Eingangsvolumen: „200 µL“, Elutionsvolumen: „100 µL“
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: R_MG ELITe_Be_U_200_100 oder R_MG ELITe_Be_CS_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 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)

Tabelle 46

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: R_MG ELITe_Be_U_200_100 oder R_MG ELITe_Be_CS_200_100 oder R_MG ELITe_Be_PC oder R_MG 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
E-Mail: emd.support@elitechgroup.com
Website: www.elitechgroup.com