

Instructions for use

Coagulation ELITe MGB® Kit

Reagenzien für die DNA-Real-Time-PCR



REF RTSD00ING

UDI 08033891486204

CE
0123

IVD

ÄNDERUNGSVERLAUF

Rev.	Änderungsvermerk	Datum (TT.MM.JJ)
08-R	Änderung bei Produkt RTSD00ING für den Nachweis der Analyten FII, FV, und MTHFR im Singleplex-Verfahren sowie von FII-FV im Duplex-Verfahren. Haltbarkeit nach Anbruch auf 60 Tage verlängert. Neue grafische und inhaltliche Gestaltung der Gebrauchsanweisung.	27/08/25
07-R	Aktualisierung zur Einhaltung der Anforderungen der IVD-Verordnung (EU) 2017/746 über In-vitro-Diagnostika. Zusammensetzung und LEISTUNGSMERKMALE des Produkts bleiben unverändert.	20/08/24
05	Erweiterte Verwendung mit dem Gerät ELiTe BeGenius. Beschreibung des IC-Grenzwerts, der bereits im Assay-Protokoll des Produkts übernommen wurde (Abschnitt „Diagnostische Übereinstimmung: Bestätigung des zertifizierten Proben-Genotyps“)	30/03/23
04	Aktualisierung des IC CT-Werts und des Tm-Bereichs von Faktor II und Faktor V	24/05/22
03	Angabe gelockerter Bedingungen für die Lagerung von Proben in Übereinstimmung mit der vorhandene Literatur und ohne Beeinträchtigung der Sicherheit und Leistung des Produkts.	09/03/22
00-02	Neuproduktentwicklung und nachfolgende Änderungen	—

HINWEIS!

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

<u>PRODUKTREF.</u>	<u>Chargennummer</u>	<u>Verfallsdatum</u>
RTSD00ING	U1123-091	31/08/2025

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.....	8
9 VERFAHREN BEI ELITe InGenius	10
10 VERFAHREN BEI ELITe BeGenius	16
11 LEISTUNGSMERKMALE	20
12 REFERENZEN.....	28
13 GRENZEN DES VERFAHRENS.....	28
14 FEHLERBEHEBUNG	29
15 SYMBOLE	31
16 ANWENDERHINWEISE.....	32
17 HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ.....	32
Appendix A QUICK START GUIDE.....	33

1 VERWENDUNGSZWECK

Das Produkt **Coagulation ELiTe MGB® Kit** ist ein In-vitro-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal bestimmt ist. Es dient als qualitativer Nukleinsäure-Real-Time-PCR-Assay zur allelischen Diskriminierung an den folgenden drei Loci:

- Gerinnungsfaktor-V-Gen, Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP) G1691A (Leiden),
- Gerinnungsfaktor-II-Gen, SNP G20210A,
- 5,10-Methylenetetrahydrofolat-Reduktase (MTHFR)-Gen, SNP C677T.

im Singleplex-, Duplex- (FII und FV) oder Triplex-Verfahren (FII, FV und MTHFR) in humanen genomischen DNA-Proben, die aus klinischen Proben extrahiert wurden.

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 in EDTA entnommenen Vollblutproben, validiert.

Das Produkt ist als Hilfsmittel zur Beurteilung des Risikos einer tiefen Venenthrombose bei Patienten mit Verdacht auf Gerinnungsstörungen und dem Risiko einer tiefen Venenthrombose bestimmt.

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

2 TESTPRINZIP

Bei dem Assay handelt es sich um eine qualitative Real-Time-PCR zur allelischen Diskriminierung von Gerinnungsfaktor-V-Gen, Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP) G1691A (Leiden), Gerinnungsfaktor-II-Gen, SNP G20210A und 5,10-Methylenetetrahydrofolat-Reduktase (MTHFR)-Gen, SNP C677T, in DNA, die aus Proben isoliert und mit dem Testreagenz **52M PCR Mix**, das Primer und Sonden mit ELiTe MGB-Technologie enthält, amplifiziert wurde.

Die ELiTe MGB-Sonden werden aktiviert, wenn sie mit den jeweiligen PCR-Produkten hybridisieren. **ELiTe InGenius** ELiTe InGenius und **ELiTe BeGenius** überwachen den Fluoreszenzanstieg und berechnen den Schwellenwertzyklus (Ct). Am Ende des Amplifikationszyklus kann mittels Analyse der Schmelzkurve die Schmelztemperatur der Sonden ermittelt und das Vorliegen von Wildtyp- und/oder mutierten Allelen nachgewiesen werden.

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 **Coagulation ELiTe MGB Kit** enthält das Assay-Reagenz **52M PCR Mix**, ein optimiertes und stabilisiertes PCR-Gemisch, das die spezifischen Primer und Sonden enthält für:

- das Gerinnungsfaktor-V-Gen, SNP G1691A (Leiden)-Region, nachgewiesen in Kanal **FV**; die Sonde ist durch den MGB® stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher® gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor® 639 (AP639) markiert,
- das Gerinnungsfaktor-II-Gen, SNP G20210A-Region, nachgewiesen im Kanal **FII**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und mit einem FAM-Farbstoff markiert,
- das MTHFR-Gen, SNP C677T-Region, nachgewiesen im Kanal **MTHFR**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor® 593 (AP593) markiert,
- die Internal Control (**IC**), basierend auf der humanen **beta-Globin**-Gensequenz, 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 **52M PCR Mix** enthält außerdem Puffer, Magnesiumchlorid, Nukleotidtriphosphate und „Hot-start“-DNA-Polymerase.

Das **Coagulation 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.

4 MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN

Tabelle 1

Komponente	Beschreibung	Menge	Gefahrenklasse
52M PCR Mix Art.-Nr. RTSD00ING	Gemisch aus Reagenzien für die Real-Time-PCR in Röhrchen mit NATURFARBENEM Verschluss	8 x 280 µl	-

5 ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN

- Laminar-Flow-Haube.
- Puderfreie Einweghandschuhe aus Nitril oder einem ähnlichen Material.
- Vortex-Mixer.
- Tischzentrifuge (~5.000 U/min).
- Tisch-Mikrozentrifuge (~13.000 U/min).
- Mikropipetten und sterile Spitzen mit Aerosolfilter oder sterile Direktverdrängerspitzen (Volumenbereich: 0,5–1000 µl).
- sterile 2,0-ml-Röhrchen mit Schraubverschluss (Sarstedt, Art.-Nr. 72.694.005).
- sterile 0,5-ml-Röhrchen mit Schraubverschluss (Sarstedt, Art.-Nr. 72.730.005)
- Hochreines Wasser für die Molekularbiologie.

6 ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE

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

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

Tabelle 2

Geräte und Software	Produkte und Reagenzien
ELiTe InGenius (ELiTechGroup S.p.A., EG SpA, Art.-Nr. INT030) ELiTe InGenius Software Version 1.3.0.19 (oder später) 52M ELiTe_PC , Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Positive Control-Analyse 52M ELiTe_NC , Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Negative Control-Analyse 52M ELiTe_WB_200_200 , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Vollblutproben-Analyse 52M ELiTe_FII_WB_200_200 , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Vollblutproben-Analyse 52M ELiTe_FV_WB_200_200 , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Vollblutproben-Analyse 52M ELiTe_MTHFR_WB_200_200 , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Vollblutproben-Analyse 52M ELiTe_FVFII_WB_200_200 , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Vollblutproben-Analyse	Coagulation - ELiTe Positive Control (EG SpA, Art.-Nr. CTRD00ING) ELiTe InGenius SP200 (EG SpA., Art.-Nr. INT032SP200) ELiTe InGenius and ELiTe BeGenius Verbrauchsmaterialien (siehe ELiTe InGenius und ELiTe BeGenius Gebrauchsanweisung)
ELiTe BeGenius (EG SpA, Art.-Nr. INT040) ELiTe BeGenius Software Version 2.2.1 (oder später) 52M ELiTe_Be_PC , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Positive Control-Analyse 52M ELiTe_Be_NC , Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Negative Control-Analyse 52M ELiTe_Be_WB_200_200 , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Vollblutproben-Analyse 52M ELiTe_FII_Be_WB_200_200 , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Vollblutproben-Analyse 52M ELiTe_FV_Be_WB_200_200 , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Vollblutproben-Analyse 52M ELiTe_MTHFR_Be_WB_200_200 , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Vollblutproben-Analyse 52M ELiTe_FVFII_Be_WB_200_200 , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Vollblutproben-Analyse	

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

Die Reagenzien müssen unter einer Sicherheitswerkbank gehandhabt werden. Die Pipetten, die für die Handhabung der Reagenzien verwendet werden, dürfen nur für diesen Zweck verwendet werden. Die Pipetten müssen entweder Direktverdrängungspipetten sein oder zusammen mit Aerosolfilterspitzen verwendet werden. Die verwendeten Spitzen müssen steril, frei von DNasen und RNasen sowie frei von DNA und RNA sein.

Die Extraktionsprodukte müssen so verwendet werden, dass eine Freisetzung in die Umgebung minimiert wird, um die Möglichkeit einer Kontamination zu vermeiden.

Die PCR Cassette muss vorsichtig behandelt werden und darf niemals geöffnet werden, um die Diffusion von PCR-Produkten in die Umgebung und die Kontamination der Proben und Reagenzien zu vermeiden.

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)
52M PCR Mix	-20°C oder darunter (lichtgeschützt)	60 Tage	bis zu sieben	bis zu sieben separate* Läufe von je etwa drei Stunden oder bis zu 7 aufeinanderfolgende Stunden (2 Läufe von je etwa 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 / +26 °C (Raumtemperatur)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Vollblut	EDTA	≤ 3 d	≤ 7 d	≤ 30 d	≤ 1 Jahr

EDTA, Ethylendiamintetraessigsäure; d: Tage.

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

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

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

Probe	Instrument	Name des Assay-Protokolls	Melden Sie	Eigenschaften
Vollblut in EDTA	ELiTe InGenius	52M ELiTe_WB_200_200 52M ELiTe_FII_WB_200_200 52M ELiTe_FV_WB_200_200 52M ELiTe_MTHFR_WB_200_200 52M ELiTe_FVFII_WB_200_200	Wildtyp/ heterozy- got/ homozygot	Extraktion Eingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 200 µl Interne Kontrolle: KEINE Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
	ELiTe BeGenius	52M ELiTe_Be_WB_200_200 52M ELiTe_FII_Be_WB_200_200 52M ELiTe_FV_Be_WB_200_200 52M ELiTe_MTHFR_Be_WB_200_200 52M ELiTe_FVFII_Be_WB_200_200	Wildtyp/ heterozy- got/ homozygot	Extraktion Eingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 200 µl Internal Control: KEINE Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl

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) oder 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 20“ sind „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 **Coagulation - ELiTe Positive Control** (nicht in diesem Kit enthalten) mit den Assay-Protokollen **52M ELiTe_PC** oder **52M ELiTe_Be_PC** verwenden.
- Für die Negative Control hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) mit den Assay-Protokollen **52M ELiTe_NC** oder **52M 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 **Coagulation 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 **Coagulation 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	<p>Proben identifizieren und, falls erforderlich, auf Raumtemperatur auftauen.</p> <p>Falls erforderlich, 200 µl Probe in ein zuvor etikettiertes Extraction Tube (Extraktionsröhrchen) überführen.</p>	<p>Elutionsröhrchen mit den extrahierten Nukleinsäuren auf Raumtemperatur auftauen.</p> <p>Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.</p>	<p>Positive Control-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen.</p> <p>Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. (Jedes Röhrchen reicht aus für 4 Reaktionen.)</p> <p>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.</p>
2	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
3	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 200 µl beträgt.	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 200 µl beträgt.	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 200 µl beträgt.
4	Für jede Probe eine Spur zuweisen und unter „SampleID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.	Für jede Probe eine Spur zuweisen und unter „SampleID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.	Nicht anwendbar

Tabelle 7 (continued)

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])	C. Lauf für Positive und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
5	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.
6	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.
7	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.
8	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
9	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.	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.
10	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
11	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.
12	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
13	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 .
14	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
15	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.
16	„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 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 **Coagulation ELiTe MGB Kit** und geht dabei folgendermaßen vor:

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

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

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

Die für die PCR-Reagenziencharge spezifischen Ergebnisse der Positive Control und Negative Control werden in der Datenbank („Controls“) gespeichert. Sie können von Mitarbeitern mit der Qualifikation „Administrator“ oder „Analyst“ unter Befolgung der Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche angezeigt und genehmigt werden.

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

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

9.3.2 Validierung der Probenergebnisse

Die **ELiTe InGenius Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse für die Zielsequenzen (Kanäle **FV**, **FII**, **MTHFR**) und die Internal Control (Kanal IC) mit den Assay-Protokoll-Parametern **52M ELiTe_WB_200_200**, **52M ELiTe_FII_WB_200_200**, **52M ELiTe_FV_WB_200_200**, **52M ELiTe_MTHFR_WB_200_200** oder **52M ELiTe_FVFII_WB_200_200**.

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“
52M Positive Control	APPROVED (Genehmigt)
2) Negative Control	„Status“
52M Negative Control	APPROVED (Genehmigt)

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

Für jede Probe meldet das System eine Kombination aus den folgenden Meldungen, die angeben, ob die Zielallele basierend auf dem ausgewählten Assay-Protokoll (Singleplex, Duplex oder Triplex) unterschieden werden.

Tabelle 9

Ergebnis des Probenlaufs	Interpretation
FV: Wildtype for Factor V (FV: Wildtyp für Faktor V)	Probe hat einen Wildtyp -Genotyp für Faktor V SNP G1691A-Locus.
FV: Heterozygous for Factor V Leiden (FV: Heterozygot für Faktor V Leiden)	Probe hat einen mutierten (Leiden) heterozygoten Genotyp für Faktor V SNP G1691A-Locus.
FV: Homozygous for Factor V Leiden (FV: Homozygot für Faktor V Leiden)	Probe hat einen mutierten (Leiden) homozygoten Genotyp für Faktor V SNP G1691A-Locus.
FII: Wildtype for Factor II (FII: Wildtyp für Faktor II)	Probe hat einen Wildtyp -Genotyp für Faktor II SNP G20210A-Locus.
FII: Heterozygous for Factor II 20210A (FII: Heterozygot für Faktor II 20210A)	Probe hat einen mutierten (20210A) heterozygoten Genotyp für Faktor II SNP G20210A-Locus.

Tabelle 9 (continued)

Ergebnis des Probenlaufs	Interpretation
FII: Homozygous for Factor II 20210A (FII: Homozygot für Faktor II 20210A)	Probe hat einen mutierten (20210A) homozygoten Genotyp für Faktor II SNP G20210A-Locus.
MTHFR: Wildtype for MTHFR (MTHFR: Wildtyp für MTHFR)	Probe hat einen Wildtyp -Genotyp für MTHFR SNP C677T-Locus.
MTHFR: Heterozygous for MTHFR 677T (MTHFR: Heterozygot für MTHFR 677T)	Probe hat einen mutierten (677T) heterozygoten Genotyp für MTHFR SNP C677T-Locus.
MTHFR: Homozygous for MTHFR 677T (MTHFR: Homozygot für MTHFR 677T)	Probe hat einen mutierten (677T) homozygoten Genotyp für MTHFR SNP C677T-Locus.
IC (Interne Kontrolle): Valid Sample (IC: Gültige Probe)	Probe hat einen Ct-Wert der IC von weniger als 26,5 und ist gültig
Inconclusive - Retest Sample (Uneindeutig - Probe erneut testen)	Uneindeutiges Testergebnis aufgrund eines Problems mit der Probe.
Invalid-Retest Sample (Ungültig – Probe erneut testen)	Ungültiges Testergebnis durch fehlerhafte Internal Control (z. B. aufgrund von falscher Extraktion, Verschleppung von Inhibitoren). Der Test sollte wiederholt werden.

As „Inconclusive – Retest Sample“ (Uneindeutig – Probe erneut testen) ausgegebene Proben sind nicht für die Ergebnisinterpretation geeignet, weshalb es nicht möglich ist, die Schmelztemperaturen (T_m) von Wildtyp und mutierten Allelen zu ermitteln. In diesem Fall wurde die Dissoziationskurvenanalyse aufgrund von Problemen mit der Probe (Verschleppung von Inhibitoren im Eluat oder Vorliegen anderer interferierender SNPs) nicht effizient ausgeführt, was zu falschen Ergebnissen führen kann.

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 (verdünnt oder unverdünnt) mithilfe eines Amplifikationslaufs im Modus „PCR Only“ (nur PCR) erneut getestet werden. Ist das zweite Ergebnis ungültig, muss die Probe beginnend mit der Extraktion einer neuen Probe im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) erneut getestet werden (siehe [14 FEHLERBEHEBUNG page 29](#)).

HINWEIS!

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

HINWEIS!

Kontrollieren Sie bei der Bestätigung der Assay-Ergebnisse immer das Ergebnis des Geräts, indem Sie die Schmelzkurvendiagramme im Arbeitslaufbericht überprüfen. Die Schmelztemperaturen (T_m) von Wildtyp- und/oder mutierten Allelen der einzelnen Gene in der Analyse müssen mit den in den Schmelzkurvendiagrammen angezeigten Peaks übereinstimmen.

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

9.3.3 Ausgabe des Probenergebnisberichts

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

- Der „Sample Report“ zeigt die Ergebnisdetails sortiert nach ausgewählter Probe (SID, „Sample ID“) an.
- Der „Track Report“ zeigt die Ergebnisdetails nach ausgewählter Spur an.
- Der „Sample Report“ und der „Track Report“ können ausgedruckt und von autorisiertem Personal unterschrieben werden.

10 VERFAHREN BEI ELiTe BeGenius

Das beim Gebrauch des **Coagulation 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 **Coagulation ELiTe MGB Kit** kann auf **ELiTe BeGenius** für die folgenden Läufe verwendet werden:

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

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

HINWEIS!

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

Vor dem Einrichten eines Laufs:

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

HINWEIS!

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

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

Tabelle 11

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])	C. Lauf für Positive und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
1	Proben identifizieren und, falls erforderlich, auf Raumtemperatur auftauen. Falls erforderlich, 200 µl Probe in ein zuvor etikettiertes 2-ml-Sarstedt-Röhrchen überführen.	Elution Tubes (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 . Jedes Röhrchen reicht aus für 4 Reaktionen. Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. 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.
2	Auf der Startseite „ Perform Run “ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „ Perform Run “ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „ Perform Run “ (Lauf durchführen) auswählen.
3	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.
4	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).
5	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 .
6	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.“) und die Internal Control 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.
7	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.

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])
8	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 200 µl beträgt.	Nicht anwendbar	Nicht anwendbar
9	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“).
10	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
	<div style="background-color: #0056b3; color: white; text-align: center; padding: 5px;">HINWEIS!</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px;">Bei Verarbeitung von mehr als 12 Proben das Verfahren ab Punkt 6 wiederholen.</div>		Nicht anwendbar
11	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
12	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
13	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Nicht anwendbar	Nicht anwendbar
14	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 .
15	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.	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.
16	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
17	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.
18	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.

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])
19	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.
20	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
21	Das „Extraction Rack“ (Extraktionsrack) mit den „ELITe InGenius SP 200“ Extraktionskartuschen und die für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden.	Nicht anwendbar	Nicht anwendbar
22	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.
23	„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 (für 2 Läufe von jeweils 3 Stunden sowie die zum Starten eines dritten Laufs nötige Zeit) im gekühlten Block aufbewahrt werden; vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

10.3 SCHRITT 3 - Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

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

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

HINWEIS!

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

ELITE BeGenius generiert die Ergebnisse mithilfe des **Coagulation 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

Analytische Sensitivität

Die analytische Sensitivität des Coagulation ELITE MGB Kits wurde auf dem ELITE InGenius (Modus „PCR Only“ (nur PCR)) definiert und auf dem ELITE BeGenius (Modus „PCR Only“ (nur PCR)) verifiziert. Hierzu wurden in 4 Wiederholungen bei ca. 70 ng pro Reaktion drei Proben (Wildtyp, heterozygot und homozygot) getestet, die mit Reihen humaner genomischer DNA dotiert waren, welche für Faktor V und Faktor II (WHO Reference Reagent Factor V Leiden, Human gDNA, 1st International Genetic International Panel, NIBSC, UK, code 04/224 und WHO Reference Reagent Prothrombin Mutation G20210A, Human gDNA, 1st International Genetic International Panel, NIBSC, UK, code 05/130) zertifiziert waren.

Anhand der analytischen Sensitivität dieses Assays kann das Vorhandensein von zirka 20.000 Molekülen von Ziel-DNA (entspricht den Genomen von ~10.000 Zellen oder ~70 ng humaner genomischer DNA) in 20 µl extrahierter DNA in Reaktion identifiziert werden.

Nachweiseffizienz (Inklusivität)

Die Inklusivität des Assays, d. h. die Nachweiseffizienz bei Faktor-V-, Faktor-II- und MTHFR-Genen wurde mittels In-silico-Analyse bewertet. Die Analyse zeigte ein hohes Maß an Sequenzerhaltung und ein Nichtvorhandensein signifikanter Mutationen. Daher sind eine effiziente Amplifikation und ein effizienter Nachweis zu erwarten.

Die Fluoreszenzmarker ermöglicht den Nachweis der in den folgenden Tabellen aufgeführten Faktor-V-, Faktor-II- und MTHFR-Gene. Die Grenzen der zugehörigen Tm-Intervalle für ELITE InGenius und ELITE BeGenius wurden durch die Analyse von in den Verifizierungs- und Validierungsstudien erhaltenen Daten berechnet. Die verwendeten Tm-Bereiche werden in der folgenden Tabelle angezeigt.

Tabelle 12

Gen	Detektiertes Allel	Tm-Bereich	
		ELITE InGenius	ELITE BeGenius
Faktor V	Allel 1691G (Wildtyp)	53,0 °C – 57,0 °C	52,5 °C – 56,5 °C
	Allel 1691A (mutiert, Leiden)	61,0 °C – 65,0 °C	59,5 °C – 63,5 °C
Faktor II	Allel 20210G (Wildtyp)	56,0 °C – 61,0 °C	55,0 °C – 60,0 °C
	Allel 20210A (mutiert)	64,0 °C – 69,0 °C	63,0 °C – 68,0 °C

Tabelle 12 (continued)

Gen	Detektiertes Allel	Tm-Bereich	
		ELiTe InGenius	ELiTe BeGenius
MTHFR	Allel MTHFR 677C (Wildtyp)	55,0 °C – 59,0 °C	54,0 °C – 58,0 °C
	Allel MTHFR 677T (mutiert)	64,0 °C – 68,0 °C	63,0 °C – 67,0 °C

Analytische Spezifität

Die analytische Spezifität dieses Assays als die Fähigkeit, das bei SNP C20209T mutierte Gen nicht als bei SNP G20210A mutierten Faktor II zu identifizieren, wurde mithilfe einer Plasmid-DNA verifiziert, die das Faktor-II-Amplicon mit Wildtyp-Nukleotid (G) an Position 20210 und das mutierte Nukleotid (T) an Position 20209 enthielt.

Außerdem wurde die analytische Spezifität für die folgenden seltenen, in der Fachliteratur beschriebenen SNPs verifiziert. Diese seltenen SNPs liegen in der Nähe der untersuchten SNPs:

Tabelle 13

Gen	analysierter, seltener SNP
Faktor V	G1689A, C1690T, A1692C, A1696G
Faktor II	A20207C, A20218G, T20219A, C20221T
MTHFR	C678A, G679A, C684G

Die analytische Spezifität wurde mithilfe von Plasmid-DNAs verifiziert, welche die amplifizierte Region des Faktor-V-, Faktor-II- und MTHFR-Gens mit Wildtyp-Nukleotid an den untersuchten SNPs und dem mutierten Nukleotid an den seltenen, analysierten SNPs enthielten.

Simulierte Proben, die zirka 80.000 Kopien Plasmid-DNA enthielten, wurden in 6 Wiederholungen (und 24 Wiederholungen bei SNP C20209T) auf ELiTe InGenius getestet. Alle Wiederholungen waren „Inconclusive“ (Uneindeutig) oder korrekt bestimmt. Keine für die analysierten SNPs mutierte Probe wurde als heterozygot oder homozygot für die untersuchten SNPs ausgewiesen.

Seltene SNPs, die in die Hybridisierungsregion fallen, können sich störend auf die Detektion des untersuchten SNP auswirken und „falsch homozygot mutiert“ ergeben, wenn sie mit der Mutation des untersuchten SNP am anderen Allel auftreten.

Potenziell interferierende Organismen: Kreuzreaktivität

Die potenzielle Kreuzreaktivität mit anderen unbeabsichtigten Organismen, die in klinischen Vollblutproben vorkommen können, wurde durch die *In-silico*-Analyse der in Nukleotid-Datenbanken vorhandenen Sequenzen bewertet. Die Analyse ergab die Abwesenheit signifikanter Homologien. Daher ist keine Kreuzreaktivität mit potenziell interferierenden Organismen zu erwarten.

Potenziell interferierende Organismen: Inhibition

Die potenzielle Inhibition durch andere unbeabsichtigte Organismen, die in klinischen Vollblutproben vorkommen können, wurde durch die *In-silico*-Analyse der in Nukleotid-Datenbanken vorhandenen Sequenzen bewertet.

Die Analyse ergab die Abwesenheit signifikanter Homologien. Daher ist keine Inhibition durch potenziell interferierende Organismen zu erwarten.

Störende Substanzen

Die Wirkung potenziell störender Substanzen wurde durch Analyse einer in EDTA entnommenen Vollblutprobe bewertet, die heterozygot für die drei untersuchten Gene war und mit den folgenden potenziell störenden Substanzen in relevanten Konzentrationen dotiert war.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 14

Probe	Genotyp FV het / FII het / MTHFR het	Ergebnis
„Control“ (Kontrolle)	3/3	Keine Interferenz
Cyclosporin A	3/3	Keine Interferenz
Ganciclovir	3/3	Keine Interferenz
Heparin	3/3	Keine Interferenz
EDTA	3/3	Keine Interferenz
Ibuprofen	3/3	Keine Interferenz
Triglyzeride	3/3	Keine Interferenz
Ampicillin	3/3	Keine Interferenz
Bilirubin	3/3	Keine Interferenz

Wiederholpräzision

Die Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs und die laufübergreifende Wiederholpräzision der mit den Geräten ELITE InGenius und ELITE BeGenius erhaltenen Ergebnisse wurde durch Analyse einer Reihe von in EDTA entnommenen Vollblutproben einschließlich einer Probe mit heterozygotem Genotyp für jede Zielsequenz (FII SNP G1691A heterozygot (Leiden), FV SNP G20210A und MTHFR SNP C677T) getestet.

Ein Beispiel für die Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs mit ELITE InGenius ist in den nachstehenden Tabellen aufgeführt.

Tabelle 15 Wiederholpräzision innerhalb des Laufs auf ELITE InGenius

Panel-Probe	Zielsequenz	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	KV % Ct
Heterozygot FII SNP G1691A	IC	8	22,07	0,41
Heterozygot FV SNP G20210A		8	22,91	0,76
Heterozygot MTHFR SNP C677T		8	22,02	1,22

Tabelle 16 Wiederholpräzision innerhalb des Laufs auf ELITE InGenius

Panel-Probe	Allel	Anzahl	Mittlere Tm	KV % Ct
Heterozygot FII SNP G1691A	Faktor II Wildtyp	8	58,19	0,207
	Faktor II mutiert	8	65,66	0,051
Heterozygot FV SNP G20210A	Faktor V Wildtyp	8	55,18	0,048
	Faktor V mutiert	8	62,31	0,120
Heterozygot MTHFR SNP C677T	MTHFR Wildtyp	8	56,73	0,183
	MTHFR mutiert	8	65,90	0,169

Ein Beispiel für die laufübergreifende Wiederholpräzision mit ELiTe InGenius ist in den nachstehenden Tabellen aufgeführt.

Tabelle 17 Laufübergreifende Wiederholpräzision auf ELiTe InGenius

Panel-Probe	Zielsequenz	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	KV % Ct
Heterozygot FII SNP G1691A	IC	16	22,12	1,12
Heterozygot FV SNP G20210A		16	22,91	0,75
Heterozygot MTHFR SNP C677T		16	22,10	1,36

Tabelle 18 Laufübergreifende Wiederholpräzision auf ELiTe InGenius

Panel-Probe	Allel	Anzahl	Mittlere Tm	KV % Ct
Heterozygot FII SNP G1691A	Faktor II Wildtyp	16	58,18	0,182
	Faktor II mutiert	16	65,78	0,258
Heterozygot FV SNP G20210A	Faktor V Wildtyp	16	55,18	0,064
	Faktor V mutiert	16	62,31	0,116
Heterozygot MTHFR SNP C677T	MTHFR Wildtyp	16	56,73	0,211
	MTHFR mutiert	16	65,96	0,257

Ein Beispiel für die Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs mit ELiTe BeGenius ist in den nachstehenden Tabellen aufgeführt.

Tabelle 19 Wiederholpräzision innerhalb des Laufs auf ELiTe BeGenius

Panel-Probe	Zielsequenz	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	KV % Ct
Heterozygot FII SNP G1691A	IC	8	22,35	1,90
Heterozygot FV SNP G20210A		8	22,95	2,20
Heterozygot MTHFR SNP C677T		8	22,40	1,28

Tabelle 20 Wiederholpräzision innerhalb des Laufs auf ELiTe BeGenius

Panel-Probe	Allel	Anzahl	Mittlere Tm	KV % Ct
Heterozygot FII SNP G1691A	Faktor II Wildtyp	8	57,64	0,392
	Faktor II mutiert	8	65,21	0,150
Heterozygot FV SNP G20210A	Faktor V Wildtyp	8	54,84	0,120
	Faktor V mutiert	8	61,56	0,242
Heterozygot MTHFR SNP C677T	MTHFR Wildtyp	8	56,29	0,174
	MTHFR mutiert	8	65,30	0,116

Ein Beispiel für die laufübergreifende Wiederholpräzision mit ELiTe BeGenius ist in den nachstehenden Tabellen aufgeführt.

Tabelle 21 Laufübergreifende Wiederholpräzision auf ELiTe BeGenius

Panel-Probe	Zielsequenz	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	KV % Ct
Heterozygot FII SNP G1691A	IC	16	22,26	1,58
Heterozygot FV SNP G20210A		16	23,10	2,02
Heterozygot MTHFR SNP C677T		16	22,45	1,75

Tabelle 22 Laufübergreifende Wiederholpräzision auf ELiTe BeGenius

Panel-Probe	Allel	Anzahl	Mittlere Tm	KV % Ct
Heterozygot FII SNP G1691A	Faktor II Wildtyp	16	57,71	0,494
	Faktor II mutiert	16	65,24	0,119
Heterozygot FV SNP G20210A	Faktor V Wildtyp	16	54,82	0,131
	Faktor V mutiert	16	61,60	0,218
Heterozygot MTHFR SNP C677T	MTHFR Wildtyp	16	56,29	0,273
	MTHFR mutiert	16	65,28	0,099

Die Wiederholpräzision in Kombination mit ELiTe InGenius und ELiTe BeGenius des Coagulation ELiTe MGB Kit wies eine maximale Variabilität der IC-Ct-Werte und der Tm-Zielwerte als VK% unter 5 % aus.

Vergleichspräzision

Die Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs und die laufübergreifende Wiederholpräzision der mit ELiTe InGenius und ELiTe BeGenius erhaltenen Ergebnisse wurde durch Analyse einer Reihe von in EDTA entnommenen Vollblutproben einschließlich einer Probe mit heterozygotem Genotyp für jede Zielsequenz (FII SNP G1691A heterozygot (Leiden), FV SNP G20210A und MTHFR SNP C677T) getestet.

Die chargenübergreifende und die geräteübergreifende Wiederholpräzision der mit dem Coagulation ELiTe MGB Kit in Kombination mit den Geräten ELiTe InGenius und ELiTe BeGenius erhaltenen Ergebnisse wurde durch Analyse einer Reihe von in EDTA entnommenen Vollblutproben einschließlich einer Probe mit heterozygotem Genotyp für jede Zielsequenz (FII SNP G1691A heterozygot (Leiden), FV SNP G20210A und MTHFR SNP C677T) getestet.

Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen zusammengefasst.

Tabelle 23 Chargenübergreifende Vergleichspräzision auf ELiTe InGenius

Panel-Probe	Zielsequenz	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	KV % Ct
Heterozygot FII SNP G1691A	IC	16	22,28	1,28
Heterozygot FV SNP G20210A		16	22,46	2,58
Heterozygot MTHFR SNP C677T		16	23,14	1,47

Tabelle 24 Chargenübergreifende Vergleichspräzision auf ELITE InGenius

Panel-Probe	Allel	Anzahl	Mittlere Tm	KV % Ct
Heterozygot FII SNP G1691A	Faktor II Wildtyp	16	58,1	0,23
	Faktor II mutiert	16	65,7	0,12
Heterozygot FV SNP G20210A	Faktor V Wildtyp	16	55,1	0,10
	Faktor V mutiert	16	62,3	0,13
Heterozygot MTHFR SNP C677T	MTHFR Wildtyp	16	56,6	0,32
	MTHFR mutiert	16	65,8	0,22

Tabelle 25 Geräteübergreifende Vergleichspräzision auf ELITE InGenius

Panel-Probe	Zielsequenz	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	KV % Ct
Heterozygot FII SNP G1691A	IC	16	22,38	1,53
Heterozygot FV SNP G20210A		16	22,45	2,34
Heterozygot MTHFR SNP C677T		16	23,13	1,27

Tabelle 26 Geräteübergreifende Vergleichspräzision auf ELITE InGenius

Panel-Probe	Allel	Anzahl	Mittlere Tm	KV % Ct
Heterozygot FII SNP G1691A	Faktor II Wildtyp	16	58,1	0,27
	Faktor II mutiert	16	65,6	0,12
Heterozygot FV SNP G20210A	Faktor V Wildtyp	16	55,1	0,21
	Faktor V mutiert	16	62,2	0,16
Heterozygot MTHFR SNP C677T	MTHFR Wildtyp	16	56,6	0,35
	MTHFR mutiert	16	65,7	0,28

Tabelle 27 Chargenübergreifende Vergleichspräzision auf ELITE BeGenius

Panel-Probe	Zielsequenz	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	KV % Ct
Heterozygot FII SNP G1691A	IC	16	22,42	1,72
Heterozygot FV SNP G20210A		16	22,60	1,99
Heterozygot MTHFR SNP C677T		16	22,80	2,20

Tabelle 28 Chargenübergreifende Vergleichspräzision auf ELITE BeGenius

Panel-Probe	Allel	Anzahl	Mittlere Tm	KV % Ct
Heterozygot FII SNP G1691A	Faktor II Wildtyp	16	57,6	0,29
	Faktor II mutiert	16	65,2	0,11
Heterozygot FV SNP G20210A	Faktor V Wildtyp	16	54,8	0,11
	Faktor V mutiert	16	61,5	0,24
Heterozygot MTHFR SNP C677T	MTHFR Wildtyp	16	56,2	0,27
	MTHFR mutiert	16	65,2	0,28

Tabelle 29 Geräteübergreifende Vergleichspräzision auf ELITE BeGenius

Panel-Probe	Zielsequenz	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	KV % Ct
Heterozygot FII SNP G1691A	IC	16	22,51	1,60
Heterozygot FV SNP G20210A		16	22,63	1,68
Heterozygot MTHFR SNP C677T		16	23,15	1,83

Tabelle 30 Geräteübergreifende Vergleichspräzision auf ELITE BeGenius

Panel-Probe	Allel	Anzahl	Mittlere Tm	KV % Ct
Heterozygot FII SNP G1691A	Faktor II Wildtyp	16	57,7	0,45
	Faktor II mutiert	16	65,2	0,13
Heterozygot FV SNP G20210A	Faktor V Wildtyp	16	54,8	0,16
	Faktor V mutiert	16	61,6	0,23
Heterozygot MTHFR SNP C677T	MTHFR Wildtyp	16	56,2	0,30
	MTHFR mutiert	16	65,3	0,17

Die Vergleichspräzision in Kombination mit ELITE InGenius und ELITE BeGenius des Coagulation ELITE MGB Kit wies eine maximale Variabilität der IC-Ct-Werte und der Tm-Zielwerte als VK% unter 5 % aus.

Robustheit: Test auf Kreuzkontamination

Das Nichtvorhandensein von Kreuzkontamination wurde durch Analyse von 6 Wiederholungen von Vollblutproben im Wechsel mit 6 Wiederholungen von hochreinem Wasser für die Molekularbiologie mit dem Produkt Coagulation ELITE MGB Kit auf ELITE InGenius verifiziert.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 31

Proben	Anzahl	Genotyp			IC
		FII het	MTHFR wt	FV wt	Ct < 26,5
In EDTA entnommenes Vollblut	30	30–30	30–30	30–30	30–30
Hochreines Wasser für die Molekularbiologie	30	n. z.	n. z.	n. z.	0–30

Bei dem Test wurden alle untersuchten Wasserproben als „Invalid“ (Ungültig) ausgewiesen, was die Abwesenheit von Kreuzkontamination belegt.

Diagnostische Übereinstimmung: Bestätigung des zertifizierten Proben-Genotyps

Die diagnostische Übereinstimmung dieses Tests als die Fähigkeit, den Genotyp der zertifizierten Probe korrekt zu identifizieren, wurde durch Analyse in Kombination mit ELITe InGenius bewertet.

Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen zusammengefasst.

Tabelle 32

Proben-Genotyp: Faktor V G1691A	Anzahl	WT	Het.	Hom.	Diagnostische Übereinstimmung	Gesamte Diagnostische Übereinstimmung
Wildtyp	108	108	0	0	100 %	100 %
Heterozygot	57	0	57	0	100 %	
Homozygot mutiert	53	0	0	53	100 %	

Bei der allelischen Diskriminierung des Faktor V SNP G1691A-Locus hat der Assay für alle getesteten Proben übereinstimmende Ergebnisse ausgegeben. Die gesamte diagnostische Übereinstimmung für den Faktor V SNP G1691A-Locus betrug bei diesem Test 100 %.

Tabelle 33

Proben-Genotyp: Faktor II G20210A	Anzahl	WT	Het.	Hom.	Diagnostische Übereinstimmung	Gesamte Diagnostische Übereinstimmung
Wildtyp	160	160	0	0	100 %	100 %
Heterozygot	59	0	59	0	100 %	
Homozygot mutiert (simuliert)	56	0	0	56	100 %	

Bei der allelischen Diskriminierung des Faktor II SNP G20210A-Locus hat der Assay für alle getesteten Proben übereinstimmende Ergebnisse ausgegeben. Die gesamte diagnostische Übereinstimmung für den Faktor II G20210A-Locus betrug bei diesem Test 100 %.

Tabelle 34

Proben-Genotyp: MTHFR C677T	An-za-hl	WT	Het.	Hom.	Diagnostische Übereinstimmung	Gesamte Diagnostische Übereinstimmung
Wildtyp	63	63	0	0	100 %	100 %
Heterozygot	136	0	136	0	100 %	
Homozygot mutiert	19	0	0	19	100 %	
Homozygot mutiert (simuliert)	36	0	0	36		

Bei der allelischen Diskriminierung des MTHFR SNP C677T-Locus hat der Assay für alle getesteten Proben übereinstimmende Ergebnisse ausgegeben. Die gesamte diagnostische Übereinstimmung für den MTHFR C677T-Locus betrug bei diesem Test 100 %.

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 Güte des Assays auch für ELITE BeGenius.

Der Ct-Grenzwert für die Internal Control (IC Ct) wurde für ELITE InGenius und ELITE BeGenius auf 26,5 festgelegt.

HINWEIS!

Die vollständigen Daten und Ergebnisse der Tests, die zur Bewertung der Leistungsmerkmale des Produkts mit Matrices und Geräten durchgeführt wurden, sind in der technischen Dokumentation von „Coagulation ELITE MGB Kit“, FTP RTSD00ING, aufgeführt.

12 REFERENZEN

Voorberg, J. et al. (1994) *The Lancet* 343: 1535 - 1536.

Baker, R. et al. (1994) *The Lancet* 344: 1162.

Poort, S. R. et al. (1996) *Blood* 88: 3698 - 3703.

Kluijtmans L. A. et al. (1996) *Am J Hum Genet* 58: 35 - 41.

Cattaneo M. et al. (1997) *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 17: 1662-1666

13 GRENZEN DES VERFAHRENS

Dieses Produkt darf nur mit klinischen, in EDTA entnommenen Vollblutproben verwendet werden.

Es liegen keine Daten zur Produktleistung mit DNA vor, die aus den folgenden klinischen Proben extrahiert wurde: Speichel.

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 klinische Proben, Positive Controls und PCR-Produkte. Kreuzkontaminationen führen zu fehlerhaften Nachweisen des Zielallels. 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 Instrumenten erforderlich, um Ergebnisse mit fehlerhaften Nachweisen des Zielallels 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 Ergebnis ohne den Nachweis des Zielallels zeigt, dass die Ziel-DNA nicht in der DNA, die aus der Probe extrahiert wurde, nachgewiesen wurde. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass die Erregerlast unter der Nachweisgrenze des Produkts liegt (siehe [11 LEISTUNGSMERKMALE page 20](#)). In diesem Fall kann das Ergebnis uneindeutig sein.

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

Ein mit diesem Produkt erhaltenes ungültiges oder uneindeutiges Ergebnis bedeutet, dass es nicht möglich war, die genomische DNA der Probe oder die Dissoziationstemperaturen von Allelen effizient nachzuweisen. In diesem Fall muss die Analyse der Probe wiederholt werden, was zu einer Verzögerung der Testergebnisse führen kann.

Etwaige Polymorphismen in der Primer- oder Sondenbindungsregion der Ziel-DNA können den Nachweis der Ziel-DNA beeinträchtigen und zu falschen Ergebnissen führen.

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

Wie bei allen diagnostischen Produkten besteht auch bei diesem Produkt ein Restrisiko von ungültigen 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 35

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 36

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 37

Ungültige oder uneindeutige Probenreaktion	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Einstellfehler des Geräts.	Position von PCR Mix und Probe kontrollieren. Volumina von PCR Mix und Probe kontrollieren.
Abbau des PCR Mix.	Den PCR Mix nicht für mehr als 7 unabhängige Läufe verwenden (jeweils 3 Stunden im Inventory Area (Inventarbereich) oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix nicht für mehr als 3 aufeinander folgende Läufe verwenden (7 Stunden im gekühlten Reagenzienblock oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix nicht länger als 30 Minuten bei Raumtemperatur aufbewahren. Ein neues Aliquot des PCR Mix 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 38

Anomale Dissoziationskurve	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Fehlen eines definierten Peaks. Definierter Peak, T _m -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 39

Fehler bei der Berechnung des Ct-Werts	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Zu hohe Konzentration von Ziel-DNA in der Probe oder Probe mit anomalem Fluoreszenzsignal.	<p>Wenn im PCR-Diagramm eine signifikante Amplifikation zu beobachten ist, entsprechende Spur für die Probe auswählen und Ergebnis manuell als positiv bestätigen.</p> <p>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.</p> <p>Wenn ein Ct-Wert benötigt wird:</p> <ul style="list-style-type: none"> - 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 40

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

15 SYMBOLE



Katalognummer.



Temperaturobergrenze.



Chargenbezeichnung.



Verfallsdatum (letzter Tag des Monats).



In-vitro-Diagnostikum.



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



Unique Device Identification, eindeutige Gerätekennung



Ausreichend für „N“ Tests



Gebrauchsanweisung beachten.



Inhalt.



Vor Sonneneinstrahlung schützen.



Hersteller.

16 ANWENDERHINWEISE

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

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, 7381818, 7541454, 7671218, 7723038, 7767834, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529 und der EP-Patente mit den Nummern 1781675, 1789587, 2689031, 2714939, 2736916, 2997161 sowie durch anhängige Patentanmeldungen geschützt.

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

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

Appendix A Coagulation 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 **Coagulation ELITe MGB® Kit** ist ein In-vitro-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal bestimmt ist. Es dient als qualitativer Nukleinsäure-Real-Time-PCR-Assay zur allelischen Diskriminierung an den folgenden drei Loci:

- Gerinnungsfaktor-V-Gen, Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP) G1691A (Leiden),
- Gerinnungsfaktor-II-Gen, SNP G20210A,
- 5,10-Methylenetetrahydrofolat-Reduktase (MTHFR)-Gen, SNP C677T.

im Singleplex-, Duplex- (FII und FV) oder Triplex-Verfahren (FII, FV und MTHFR) in humanen genomischen DNA-Proben, die aus klinischen Proben extrahiert wurden.

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 in EDTA entnommenen Vollblutproben, validiert.

Das Produkt ist als Hilfsmittel zur Beurteilung des Risikos einer tiefen Venenthrombose bei Patienten mit Verdacht auf Gerinnungsstörungen und dem Risiko einer tiefen Venenthrombose bestimmt.

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



Amplifizierte Sequenz

Sequenz	Gen	Fluorophor	Kanal
Zielsequenz 1	Faktor V, SNP G1691A (Leiden)	AP639	FV
Zielsequenz 2	Faktor II SNP G20210A	FAM	FII
Zielsequenz 3	MTHFR, SNP C677T	AP593	MTHFR
Internal Control	Humanes beta-Globin-Gen	AP525	IC

Validierte Matrix

- In EDTA entnommenes Vollblut

Kit-Inhalt und zugehörige Produkte

Coagulation ELiTe MGB Kit (RTSD00ING)		Coagulation - ELiTe Positive Control (CTRD00ING)	
 X 8		 X 3	
52M PCRMix 8 Röhrchen mit 280 µl 12 Reaktionen pro Röhrchen 96 Reaktionen pro Kit 7 Einfrier- und Auftau-Zyklen pro Röhrchen		52M Positive Control 3 Röhrchen mit 160 µl 4 Reaktionen pro Röhrchen 12 Reaktionen pro Kit 4 Einfrier- und Auftau-Zyklen pro Röhrchen	
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

<ul style="list-style-type: none"> ELiTe InGenius-Gerät: INT030. ELiTe BeGenius-Gerät: INT040. ELiTe InGenius SP 200: INT032SP200. 	<ul style="list-style-type: none"> ELiTe InGenius and ELiTe BeGenius Verbrauchsmaterialien (siehe ELiTe InGenius und ELiTe BeGenius Gebrauchsanweisung)
---	--

ELiTe InGenius- und ELiTe BeGenius-Protokoll

<ul style="list-style-type: none"> Probenvolumen Gesamtes Elutionsvolumen 	200 µl 200 µl	<ul style="list-style-type: none"> PCR-Eingangsvolumen für die Elution Volumen PCR-Mix Häufigkeit der Kontrollen 	20 µl 20 µl 15 Tage
---	------------------	---	---------------------------

Leistungsdaten für ELiTe InGenius und ELiTe BeGenius

Proben-Genotyp: Faktor V G1691A	Analytische Sensitivität	Diagnostische Übereinstimmung
Wildtyp	70 ng DNA/Reaktion	100 %
Heterozygot	70 ng DNA/Reaktion	100 %
Homozygot mutiert	70 ng DNA/Reaktion	100 %

Proben-Genotyp: Faktor II G20210A	Analytische Sensitivität	Diagnostische Übereinstimmung
Wildtyp	70 ng DNA/Reaktion	100 %
Heterozygot	70 ng DNA/Reaktion	100 %
Homozygot mutiert	70 ng DNA/Reaktion	100 %

Proben-Genotyp: MTHFR C677T	Analytische Sensitivität	Diagnostische Übereinstimmung
Wildtyp	70 ng DNA/Reaktion	100 %
Heterozygot	70 ng DNA/Reaktion	100 %
Homozygot mutiert	70 ng DNA/Reaktion	100 %

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 41

Probe	Anforderungen an die Entnahme	Transport-/Lagerbedingungen			
		+16 / +26 °C (Raumtemperatur)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Vollblut	EDTA	≤ 3 d	≤ 7 d	≤ 30 d	≤ 1 Jahr

EDTA, Ethylendiamintetraessigsäure; d: Tage.

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. Die PCR Mix -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: Eingangsvolumen: „200 µL“, Elutionsvolumen: „200 µL“	3. Die Proben-Barcodes mit dem tragbaren Barcodeleser scannen oder die Proben-ID eingeben
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: 52M ELiTe_WB_200_200 52M ELiTe_FII_WB_200_200 52M ELiTe_FV_WB_200_200 52M ELiTe_MTHFR_WB_200_200 52M ELiTe_FVFII_WB_200_200	5. Die Methode „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) und die „Sample Position“ (Probenposition) auswählen: Extraction Tube (Extraktionsröhrchen)	6. Den PCR Mix und die Internal-Control in den Inventory Block (Bestandsmanager) laden
7. Folgendes laden: PCR Cassette, Extraktionskartusche, Elution tube (Elutionsröhrchen), Spitzenkassette, Extraction Tube (Extraktionsröhrchen)-Rack	8. Tür schließen. Analyselauf starten	9. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern

HINWEIS!

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

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

1. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen	2. Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingangsvolumen: „200 µL“, Elutionsvolumen: „200 µL“	3. Die Proben-Barcodes mit dem tragbaren Barcodeleser scannen oder die Proben-ID eingeben
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: 52M ELiTe_PC oder 52M ELiTe_NC oder 52M ELiTe_WB_200_200 52M ELiTe_FII_WB_200_200 52M ELiTe_FV_WB_200_200 52M ELiTe_MTHFR_WB_200_200 52M ELiTe_FVFII_WB_200_200	5. Die Methode „PCR Only“ (Nur PCR) und die „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube“ (Elutionsröhrchen) auswählen	6. PCR Mix in den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden
7. Folgendes laden: PCR-Kassettenrack und Elution tube (Elutionsröhrchen)-Racks mit der extrahierten Nukleinsäure	8. Tür schließen. Analyselauf starten	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). <u>Hinweis:</u> Beide müssen ausgeführt und genehmigt worden sein und dürfen nicht abgelaufen sein.	3. Die PCR Mix -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: Eingangsvolumen: „200 µL“, Elutionsvolumen: „200 µL“
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: 52M ELiTe_Be_WB_200_200 52M ELiTe_FII_Be_WB_200_200 52M ELiTe_FV_Be_WB_200_200 52M ELiTe_MTHFR_Be_WB_200_200 52M ELiTe_FVFI_Be_WB_200_200 Hinweis: Bei Durchführung einer zweiten Extraktion die Schritte 2 bis 4 wiederholen	5. Die Etiketten ausdrucken, um die leeren Elution Tubes (Elutionsröhrchen) mit einem Barcode zu versehen. Die Röhrchen in das Elution Rack (Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen	6. Den PCR Mix und die Internal Control in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen
7. Das „PCR Rack“ mit der „PCR Cassette“ und den „Extraction Basket“ (Korb) mit den „ELiTe InGenius SP 200“ Extraktionskartuschen und die für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden	8. Tür schließen. Analyselauf starten	9. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern

HINWEIS!

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

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

1. Auf dem Touchscreen „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen und anschließend auf den Run mode „PCR Only“ (Nur PCR) klicken	2. Die barcodierten Röhrchen mit der extrahierten Nukleinsäure oder den Kontrollen in das Elution Rack (Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen	3. Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingangsvolumen: „200 µL“, Elutionsvolumen: „200 µL“
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: 52M ELiTe_Be_PC oder 52M ELiTe_Be_NC oder 52M ELiTe_Be_WB_200_200 52M ELiTe_FII_Be_WB_200_200 52M ELiTe_FV_Be_WB_200_200 52M ELiTe_MTHFR_Be_WB_200_200 52M ELiTe_FVFI_Be_WB_200_200	5. Den PCR-Mix in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen	6. „PCR Rack“ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) laden
7. Tür schließen. Analyselauf starten	8. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern	

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

