

Instructions for use

BCR-ABL Dx ELITe MGB® Kit

Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR



REF RTSG07ING

UDI 08033891487485

CE
0123

IVD

ÄNDERUNGSVERLAUF

Revision	Änderungsvermerk	Datum (TT.MM.JJ)
03	Aktualisierung der Abschnitte 11.10 und 11.11: Korrektur von Tippfehlern Verlängerte Haltbarkeit des Produkts nach dem Öffnen Aktualisierung des Abschnitts „Hinweis an die Benutzer“	27/08/25
02	Aktualisierung des Abschnitts „Symbole“ mit dem Symbol „Gebrauchsanweisung beachten“ Aktualisierung der Abschnitte 9.2 und 10.2: Laufdauer bei der Positive Control-Analyse Aktualisierung der Abschnitte 11.4 und 11.5: Erklärung der Menge an interferierenden Substanzen im Test Aktualisierung der Abschnitte 11.10 und 11.11: andere Erklärung für die Testergebnisse	30/01/25
01	Neuproduktentwicklung	26/07/24

HINWEIS!

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

INHALTSVERZEICHNIS

1 VERWENDUNGSZWECK.....	4
2 TESTPRINZIP	4
3 BESCHREIBUNG DES PRODUKTS	4
4 MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN.....	6
5 ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN	7
6 ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE	7
7 WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN	8
8 PROBEN UND KONTROLLEN.....	9
9 VERFAHREN BEI ELITe InGenius	13
10 VERFAHREN BEI ELITe BeGenius	22
11 LEISTUNGSMERKMALE	28
12 REFERENZEN.....	50
13 GRENZEN DES VERFAHRENS.....	50
14 FEHLERBEHEBUNG	52
15 SYMBOLE	55
16 ANWENDERHINWEISE.....	55
17 HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ.....	56
Appendix A QUICK START GUIDE.....	57

1 VERWENDUNGSZWECK

Das Produkt **BCR-ABL Dx ELITe MGB® Kit** ist ein In-vitro-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal in qualitativen Multiplex-Nukleinsäure-RT- (reverse Transkription) und Real-Time-PCR-Assays zum Nachweis der mRNA des *BCR::ABL* (BCR-ABL)-Rearrangements und zur Unterscheidung der aus klinischen Proben extrahierten Hauptvarianten, bestimmt ist.

Der Assay ist in der Lage, **p190 e1a2**, **p195 e6a2**, **p200 e8a2**, **p210 e13a2** und **e14a2** (Typisierung mittels Schmelzanalyse), **p230 e19a2** in der ersten Reaktion sowie **p190 e1a3**, **p195 e6a3**, **p200 e8a3**, **p210 e13a3** und **e14a3** (Typisierung mittels Schmelzanalyse), **p230 e19a3** in der zweiten Reaktion nachzuweisen und zu identifizieren.

Dieser Assay ist in Verbindung mit den Geräten **ELITe InGenius®** und **ELITe BeGenius®**, automatisierten und integrierten Systemen zur Extraktion, reversen Transkription, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation mit menschlichen Proben von peripheren Blutleukozyten (PBL) validiert.

Das Produkt dient als Hilfsmittel bei der Diagnose von *BCR::ABL*-positiver Leukämie bei Patienten mit Verdacht auf eine Leukämie im Zusammenhang mit einem *BCR::ABL*-Rearrangement.

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

2 TESTPRINZIP

Bei dem Assay handelt es sich um ein qualitatives Real-Time-PCR-Verfahren mit Multiplex-RT (reverse Transkription) zum Nachweis und zur Identifizierung der wichtigsten BCR-ABL-Isoformen-mRNAs in Gesamt-RNA, die aus PBL-Proben isoliert und dann in zwei Reaktionen unter Verwendung der kompletten Reaktionsgemische **BCR-ABL a2** und **BCR-ABL a3**, die Primer und Sonden mit ELITe MGB-Technologie enthalten, revers transkribiert und amplifiziert wird.

Tabelle 1

Nachgewiesene BCR-ABL-Isoformen-mRNAs		
	BCR-ABL a2 PCR Mix	BCR-ABL a3 PCR Mix
p190	e1a2	e1a3
p195	e6a2	e6a3
p200	e8a2	e8a3
p210 (Typisierung mittels Schmelzanalyse)	e13a2	e13a3
	e14a2	e14a3
p230	e19a2	e19a3

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 **BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit** umfasst die folgenden Komponenten:

- **BCR-ABL a2 PCR Mix**, ein optimiertes und stabilisiertes PCR-Gemisch, das die spezifischen Primer und Sonden enthält für:

- p190 e1a2-mRNA, nachgewiesen im Kanal **p190a2**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher® gequencht und mit einem FAM-Farbstoff markiert,
- p195 e6a2-mRNA, nachgewiesen im Kanal **p195a2**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor® 593 (AP593) markiert,
- p200 e8a2-mRNA, nachgewiesen im Kanal **p200a2**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 559 (AP559) markiert,
- p210 e13a2- und e14a2-mRNA, nachgewiesen im Kanal **p210a2**; die Sonden sind durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 639 (AP639) markiert,
- p230 e19a2-mRNA, nachgewiesen im Kanal **p230a2**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 690 (AP690) markiert,
- ABL-mRNA, als endogene Internal Control, nachgewiesen im Kanal **ICa2**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 525 (AP525) markiert,

Der **BCR-ABL a2 PCR Mix** enthält außerdem Puffer, Magnesiumchlorid, Nukleotidtriphosphate und „Hot-start“-DNA-Polymerase.

- **BCR-ABL a3 PCR Mix**, ein optimiertes und stabilisiertes PCR-Gemisch, das die spezifischen Primer und Sonden enthält für:
 - p190 e1a3-mRNA, nachgewiesen im Kanal **p190a3**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und mit einem FAM-Farbstoff markiert,
 - p195 e6a3-mRNA, nachgewiesen im Kanal **p195a3**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 593 (AP593) markiert,
 - p200 e8a3-mRNA, nachgewiesen im Kanal **p200a3**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 559 (AP559) markiert,
 - p210 e13a3- und e14a3-mRNA, nachgewiesen im Kanal **p210a3**; die Sonden sind durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 639 (AP639) markiert,
 - p230 e19a3-mRNA, nachgewiesen im Kanal **p230a3**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 690 (AP690) markiert, durch den MGB stabilisiert und mit dem EDQ gequencht,
 - ABL-mRNA, als endogene Internal Control, nachgewiesen im Kanal **ICa3**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 525 (AP525) markiert.

Der **BCR-ABL a3 PCR Mix** enthält außerdem Puffer, Magnesiumchlorid, Nukleotidtriphosphate und „Hot-start“-DNA-Polymerase.

- **RT EnzymeMix**, ein optimiertes und stabilisiertes Gemisch aus Enzymen zur reversen Transkription.

Das **BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit** enthält ausreichend Reagenzien für **48 Tests** auf dem **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius**, wobei 20 µl PCR-Gemische und 0,3 µl RT EnzymeMix pro Reaktion verwendet werden.

Der **BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit** kann auch in Verbindung mit gleichwertigen Geräten verwendet werden.

4 MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN

Tabelle 2

Komponente	Beschreibung	Menge	Gefahrenklasse
BCR-ABL a2 PCR Mix Art.-Nr. RTSG07INGA2	Gemisch aus Reagenzien für die reverse Transkription und Real-Time-PCR in Röhrchen mit WEISSEM Verschluss	2 x 600 µl	-
BCR-ABL a3 PCR Mix Art.-Nr. RTSG07INGA3	Gemisch aus Reagenzien für die reverse Transkription und Real-Time-PCR in Röhrchen mit GELBEM Verschluss	2 x 600 µl	-
RT EnzymeMix Art.-Nr. RTS003-RT	Enzyme zur reversen Transkriptase in Röhrchen mit Verschluss mit SCHWARZEM Einsatz	2 x 20 µl	-

5 **ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN**

- Laminar-Flow-Haube.
- Puderfreie Einweghandschuhe aus Nitril oder einem ähnlichen Material.
- Vortex-Mixer.
- Tischzentrifuge (~5.000 U/min).
- Tisch-Mikrozentrifuge (~13.000 U/min).
- Mikropipetten und sterile Spitzen mit Aerosolfilter oder sterile Direktverdrängerspitzen (Volumenbereich: 0,5–1000 µl).
- 50-ml-Röhrchen mit Schraubverschluss (Sarstedt, Deutschland, Art.-Nr. 62.547.254).
- 15-ml-Röhrchen mit Schraubverschluss (Sarstedt, Deutschland, Art.-Nr. 62.554.502).
- Sarstedt 2,0-ml-Röhrchen mit Schraubverschluss (Sarstedt, Art.-Nr. 72.694.005).
- Hochreines Wasser für die Molekularbiologie.

6 **ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE**

Die Reagenzien für die Extraktion der Probe, die Amplifikations-Positiv- und Negativkontrolle und die Verbrauchsmaterialien sind **nicht** in diesem Produkt enthalten.

Für die automatisierte Nukleinsäureextraktion, reverse Transkription, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation von Proben werden die folgenden Produkte benötigt:

Tabelle 3

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). BCR-ABL a2 ELITe_PC BCR-ABL a3 ELITe_PC Assay-Protokolle (Assay Protocols) mit Parametern für die Analyse der Positive Controls BCR-ABL a2 ELITe_NC BCR-ABL a3 ELITe_NC Assay-Protokolle (Assay Protocols) mit Parametern für die Analyse der Negative Controls BCR-ABL a2 ELITe_PBL_200_100 BCR-ABL a3 ELITe_PBL_200_100 Assay-Protokolle (Assay Protocols) mit Parametern für die PBL-Probenanalyse.	ELITe InGenius SP RNA (EG SpA, Art.-Nr. INT034SPRNA), ELITe InGenius DNase I (EG SpA, Art.-Nr. INT034DNASE). Alternative Caps For Extraction Tubes (EG SpA, Art.-Nr. 925-CAP) nur mit ELITe InGenius (optional). ELITe InGenius DNase tube adapter Kit (EG S.p.A. Art.-Nr. G6431-000). BCR-ABL Dx - ELITe Positive Control (EG SpA, Art.-Nr. CTRG07ING). Cell Lysis Solution (Promega, Art.-Nr. A7933 oder gleichwertiges Reagens). RNA Lysis Buffer (Promega, Art.-Nr. Z3051 oder gleichwertiges Reagens). Thioglycerol (Promega, Art.-Nr. A208B-C oder gleichwertiges Reagens). ELITe InGenius und ELITe BeGenius Verbrauchsmaterialien (siehe ELITe InGenius und ELITe BeGenius Gebrauchsanweisung)
ELITe BeGenius (EG SpA, Art.-Nr. INT040). ELITe BeGenius Software , Version 2.2.1 (oder später). BCR-ABL a2 ELITe_Be_PC BCR-ABL a3 ELITe_Be_PC Assay-Protokolle (Assay Protocols) mit Parametern für die Analyse der Positive Controls BCR-ABL a2 ELITe_Be_NC BCR-ABL a3 ELITe_Be_NC Assay-Protokolle (Assay Protocols) mit Parametern für die Analyse der Negative Controls BCR-ABL a2 ELITe_Be_PBL_200_100 BCR-ABL a3 ELITe_Be_PBL_200_100 Assay-Protokolle (Assay Protocols) mit Parametern für die PBL-Probenanalyse.	

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.

Niemals Laborkittel, Schutzhandschuhe oder Hilfsmittel aus dem für die Amplifikation / den Nachweis von Amplifikationsprodukten vorbehaltenen Bereich in den für die Extraktion/Vorbereitung der Amplifikationsreaktionen vorbehaltenen Bereich bringen.

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 und sowohl DNase- und RNase-frei als auch DNA- und RNA-frei sein.

Die Extraktionsprodukte müssen so verwendet werden, dass eine Freisetzung in die Umgebung 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 4

Komponente	Umgebungstemperatur bei Lagerung	Haltbarkeit nach Anbruch	Gefrier- und Auftauzyklen
BCR-ABL a2 PCR Mix	-20°C oder darunter (lichtgeschützt)	60 Tage	bis zu fünf
BCR-ABL a3 PCR Mix			
RT EnzymeMix	-20°C oder darunter	60 Tage	bis zu zehn Mal für bis zu zehn Minuten bei +2 bis +8 °C

8 PROBEN UND KONTROLLEN

8.1 Proben

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

Tabelle 5

Probe	Anforderungen an die Entnahme	Transport-/Lagerbedingungen
		+16 / +26 °C (Raumtemperatur)
Peripheres Blut,	das in EDTA oder Natriumcitrat entnommen wurde	innerhalb von 24 Stunden und spätestens nach 48 Stunden

HINWEIS!

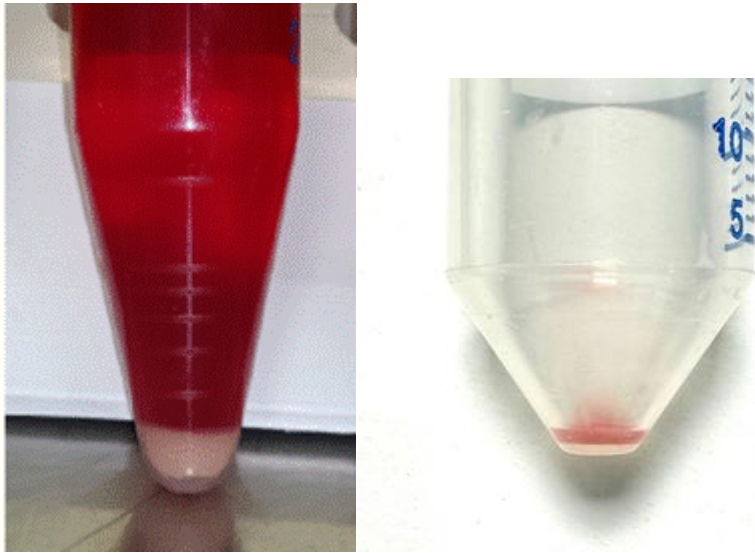
Peripheres Blut nicht einfrieren, um den Abbau von RNA zu verhindern.

Wenn Sie mit peripherem Blut beginnen, müssen Sie die Leukozyten gemäß den folgenden Angaben trennen.

Tabelle 6

	A. Vorbehandlungsverfahren für die Leukozytenisolierung mit Buffy-Coat	B. Vorbehandlungsverfahren für die Leukozytenisolierung mit direkter Lyse
1	Benötigte 15-ml- und 2-ml-Röhrchen vorbereiten und mit einem Permanentmarker beschriften.	Benötigte 50-ml- und 2-ml-Röhrchen vorbereiten und mit einem Permanentmarker beschriften.
2	Nicht anwendbar	Cell Lysis Solution (Promega, Art.-Nr. A7933) in ein 50-ml-Röhrchen dispensieren: 15 ml verwenden, wenn von 5 ml Blut ausgegangen wird bzw. 30 ml , wenn von 10 ml Blut ausgegangen wird (Verhältnis 3:1).
3	Periphere Blutproben, die in EDTA oder Natriumcitrat entnommen wurden, durch Umdrehen gründlich mischen.	
4	5–10 mL frisches peripheres Blut in das 15-ml-Röhrchen überführen.	5–10 mL frisches peripheres Blut in das 50-ml-Röhrchen überführen.
5	10 Minuten bei 3.000 RZB zentrifugieren (ohne Bremse).	Nicht anwendbar
6	5 ml Cell Lysis Solution (Promega, Art.-Nr. A7933) in ein neues 15-ml-Röhrchen dispensieren.	Nicht anwendbar
7	Mit einer 1-ml-Pipette den nach der Zentrifugation erhaltenen Buffy-Coat entfernen und in das 15-ml-Röhrchen mit der Zellyse-Lösung überführen. Die Spitze in der Lösung abwaschen, bis sie frei von Zellen ist.	Nicht anwendbar
8	10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren und mindestens 3–4 Mal durch Umdrehen mischen (nicht vortexen).	
9	10 Minuten bei 3.000 RZB zentrifugieren.	

Tabelle 6 (continued)

	A. Vorbehandlungsverfahren für die Leukozytenisolierung mit Buffy-Coat	B. Vorbehandlungsverfahren für die Leukozytenisolierung mit direkter Lyse
10	HINWEIS! Die ideale Menge an weißen Blutkörperchen ist in der folgenden Abbildung im Maßstab 1:1 dargestellt.  - Ist das Pellet gleich groß oder kleiner als das oben gezeigte, den Überstand entfernen, das Pellet in 1,5 ml Zelllyse-Lösung resuspendieren und in ein 2,0-ml-Röhrchen überführen. - Ist das Pellet größer als das oben gezeigte, den Überstand entfernen, das Pellet in 3 ml Zelllyse-Lösung resuspendieren und 1,5 ml in zwei verschiedene 2,0-ml-Röhrchen überführen.	
11	Erneut zirka 2 Minuten bei 3.000 RZB zentrifugieren.	
12	Vorsichtig den Überstand entfernen (darauf achten, dass auch über dem Pellet aus weißen Blutkörperchen befindliche Spuren von roten Blutkörperchen entfernt werden).	
13	Das Pellet durch Pipettieren vorsichtig in 200 µl Homogenisierungslösung (1 ml RNA Lysis Buffer, Promega, Art.-Nr. Z3051 + 20 µl 1-Thioglycerol, Promega, Art.-Nr. A208B-C) lysieren.	

Das PBL-Lysat kann sofort verwendet oder unter den folgenden Bedingungen aufbewahrt werden:

Tabelle 7

Probentyp	Anforderungen an den Puffer	Lagerungsbedingungen	
		-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
PBL-Lysat	Homogenisierungslösung	≤ ein Monat	≤ ein Monat

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

Tabelle 8

Assay-Protokolle für BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit				
Probe	Instrument	Name des Assay-Protokolls	Melden Sie	Eigenschaften
PBL	ELITe InGenius	BCR-ABL a2 ELITe_PBL_200_100	Positiv/negativ	Extraktion Eingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 10 µl
		BCR-ABL a3 ELITe_PBL_200_100		
	ELITe BeGenius	BCR-ABL a2 ELITe_Be_PBL_200_100		
		BCR-ABL a3 ELITe_Be_PBL_200_100		

Bei allen Protokollen müssen 200 µl **vorbehandelte Probe** verwendet werden:

- bei **ELITe InGenius** das PBL-Lysat aus dem 2,0-ml-Röhrchen in ein **Extraktionsröhrchen** überführen (Bläschenbildung beim Pipettieren vermeiden),
- bei **ELITe BeGenius** wird direkt das 2,0-ml-Röhrchen mit dem PBL-Lysat verwendet

HINWEIS!

Bevor die vorbehandelten Proben auf die Geräte geladen werden, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Bei Verwendung des **Extraction Tube** (Extraktionsröhrchen) wird empfohlen, auch den dafür vorgesehenen Verschluss zu verwenden (EG SpA, Art.-Nr. 925-CAP).

HINWEIS!

Das Pipettieren von Proben in das **Extraktionsröhrchen** kann **Kontamination verursachen**. Die geeigneten Pipetten verwenden und alle im Abschnitt „Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen“ aufgeführten Empfehlungen befolgen.

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

Daten zu störenden Substanzen sind im Abschnitt „Leistungsmerkmale“ 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 **BCR-ABL a2 Positive Control** und **BCR-ABL a3 Positive Control**, Komponenten des Produkts **BCR-ABL Dx - ELITe Positive Control** (nicht im Lieferumfang dieses Kits enthalten), mit den Assay-Protokollen **BCR-ABL a2 ELITe_PC** oder **BCR-ABL a2 ELITe_Be_PC** bzw. **BCR-ABL a3 ELITe_PC** oder **BCR-ABL a3 ELITe_Be_PC** verwenden.
- Für die Negative Control hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht im Lieferumfang dieses Kits enthalten) mit den Assay-Protokollen **BCR-ABL a2 ELITe_NC** oder **BCR-ABL a2 ELITe_Be_NC** bzw. **BCR-ABL a3 ELITe_NC** oder **BCR-ABL a3 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 durchgeführt 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 **BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit** mit dem **ELITe InGenius** anzuwendende Verfahren besteht aus drei Schritten:

Tabelle 9

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 (**BCR-ABL a2 Positive Control**, **BCR-ABL a2 Negative Control**, **BCR-ABL a3 Positive Control**, **BCR-ABL a3 Negative Control**) für die zu verwendende Charge des **PCR-Mix** (**BCR-ABL a2 PCR Mix** und **BCR-ABL a3 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 **BCR-ABL Dx ELiTe MGB Kit** kann mit **ELiTe InGenius** für die Durchführung der folgenden Läufe verwendet werden:

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

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

HINWEIS!

Bei dem Produkt **BCR-ABL Dx ELiTe MGB Kit** sollten sowohl im Setup A als auch im Setup B zwei Reaktionen für jede Probe durchgeführt werden: eine mit **BCR-ABL a2 PCR Mix** (für BCR-ABL a2-Isoformen) und die andere mit **BCR-ABL a3 PCR Mix** (für BCR-ABL a3-Isoformen). Mit **ELiTe InGenius** können maximal 6 Proben pro Lauf analysiert werden.

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 **BCR-ABL a2 PCR Mix**-Röhrchen (WEISSER Verschluss) und **BCR-ABL a3 PCR Mix**-Röhrchen (GELBER Verschluss) 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für **24 Tests** unter optimalen Bedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Dreimal durch Vortexen bei niedriger Drehzahl 10 Sekunden lang mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

HINWEIS!

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

- Die benötigten **RT EnzymeMix** Röhrchen herausnehmen. Jedes Röhrchen reicht aus für **48 Tests**. Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

HINWEIS!

Der **RT EnzymeMix** darf nicht länger als 10 Minuten Temperaturen über -20 °C ausgesetzt werden.

- Ein 2-ml-Röhrchen (Sarstedt Art.-Nr. 72.694.005, nicht im Lieferumfang des Kits enthalten) für jedes **komplette Reaktionsgemisch** zubereiten und mit einem Permanentmarker beschriften.
- Die benötigten Volumina von **BCR-ABL a2 PCR Mix**, **BCR-ABL a3 PCR Mix** und **RT EnzymeMix** für die Zubereitung der **kompletten Reaktionsgemische** auf Grundlage der Anzahl (N) an zu analysierenden Proben berechnen, wie in der nachstehenden Tabelle beschrieben.

Tabelle 10

Probenanzahl (N)	BCR-ABL a2 PCR Mix und BCR-ABL a3 PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{l}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{l}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{l}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{l}$
$N = 12$	290 μl	4,4 μl

- Die **kompletten Reaktionsgemische** zubereiten: dazu die errechneten Volumina der zwei Komponenten in das beschriftete 2-ml-Röhrchen überführen. Dreimal durch Vortexen bei niedriger Drehzahl 10 Sekunden

lang mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

HINWEIS!

Die **kompletten Reaktionsgemische** können innerhalb von 7 Stunden verwendet werden, wenn sie gekühlt aufbewahrt werden (für 2 Läufe von jeweils 3,5 Stunden). Das komplette Reaktionsgemisch **darf nicht** zur Wiederverwendung aufbewahrt werden.

HINWEIS!

Die **kompletten Reaktionsgemische** sind lichtempfindlich und dürfen daher keinem direkten Licht ausgesetzt werden.

6. Ausgehend von PBL-Lysaten (**Setup A**), für jede Probe einen integrierten Lauf (Modus „Extract + PCR“ [Extraktion + PCR]) mit **BCR-ABL a2 PCR Mix** und einen Amplifikationslauf (Modus „PCR Only“ [nur PCR]) mit **BCR-ABL a3 PCR Mix** durchführen.
7. Ausgehend von Extraktionsprodukten (**Setup B**), für jede Probe zwei Amplifikationsläufe (Modus „PCR Only“ [Nur PCR]) mit **BCR-ABL a2 PCR Mix** und **BCR-ABL a3 PCR Mix** durchführen.

HINWEIS!

Es ist ratsam, eine Vorlage auf dem Gerät zu erstellen, um die Einrichtung des Laufs zu erleichtern (siehe ELITE InGenius-Handbuch).

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	Vorbehandelte Proben identifizieren und, falls erforderlich, auf Raumtemperatur auftauen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. 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 (a2 und a3) 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	Nicht anwendbar	Nicht anwendbar	Die Negative Controls (a2 und a3) vorbereiten : dazu mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie in ein Elutionsröhrchen überführen, das im Lieferumfang des ELITE InGenius SP 200 Consumable Set enthalten ist.
3	Auf der Startseite „ Perform Run “ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „ Perform Run “ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „ Perform Run “ (Lauf durchführen) auswählen.
4	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.

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])
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“): für jede Probe a2-Assay-Protokoll und a3-Assay-Protokoll in der nächsten Spur zuweisen.	Das Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“): für jede Probe a2-Assay-Protokoll und a3-Assay-Protokoll in der nächsten Spur zuweisen.	In der Spalte „Assay“ die Assay-Protokolle auswählen (a2 und a3, siehe „Proben und Kontrollen“). Chargennummer und Ablaufdatum der Positive Control und der Negative Control (hochreines Wasser für die Molekularbiologie) eingeben.
7	Für das a2-Assay-Protokoll : sicherstellen, unter „Protocol“ (Protokoll) das Protokoll „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) angezeigt wird und unter „Sample Position“ (Probenposition) „Extraction Tube“ (Extraktionsröhrchen) auswählen.	Für das a2-Assay-Protokoll : in der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) und als Probenladeposition in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr [untere Reihe]) auswählen.	Sicherstellen, dass in der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) ausgewählt ist.
8	Für das a3-Assay-Protokoll : unter „Protocol“ das Protokoll „PCR Only“ (Nur PCR) zuweisen und unter „Sample Position“ (Probenposition) die Spur („Track“) der Probe auswählen.	Für das a3-Assay-Protokoll : in der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) und in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) die Probenladeposition als Spur („Track“) des Eluats auswählen.	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	Die kompletten Reaktionsgemische 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.	Die kompletten Reaktionsgemische 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.	Die kompletten Reaktionsgemische 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.
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-Kassette, ELITE InGenius SP RNA-Extraktionskartuschen, ELITE InGenius DNase I-Röhrchen (unverschlossen) und alle benötigten Verbrauchsmaterialien und zu extrahierenden Proben laden .	PCR-Kassette und Elutionsröhrchen mit extrahierten Proben laden .	PCR-Kassette und Röhrchen für die Positive Control und Negative Control laden .
15	Im Bildschirm „Dnase I“ „Dnase I“ als Reagenzname („Reagent Name“), Chargennummer und Ablaufdatum eingeben.	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])
16	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
17	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.
18	„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!

Die **kompletten Reaktionsgemische** können für bis zu 7 Stunden (2 Läufe von jeweils 3,5 Stunden) im gekühlten Block des Geräts verbleiben. Vorsichtig mischen und den Inhalt dann 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt. Das komplette Reaktionsgemisch darf nicht zur Wiederverwendung aufbewahrt werden.

HINWEIS!

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

HINWEIS!

BCR-ABL a2 Positive Control und **BCR-ABL a3 Positive Control** können für 4 separate Läufe von jeweils 3 Stunden verwendet werden.

HINWEIS!

Am Ende des Laufs müssen die **PCR-Kassette** 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 internen Kontrolle 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 die Laufinformationen dargestellt. 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!

Bei Verwendung von **BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit** werden für jede Probe zwei Amplifikationsläufe mit **BCR-ABL a2 PCR Mix** (für BCR-ABL a2-Isoformen) und **BCR-ABL a3 PCR Mix** (für BCR-ABL a3-Isoformen) durchgeführt. Die Ergebnisanalyse wird für beide Läufe durchgeführt.

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 **BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit** und geht dabei folgendermaßen vor:

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

9.3.1 Validierung der Ergebnisse des Amplifikationslaufs für die Positivkontrolle und Negativkontrolle

Die **ELITE InGenius Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse der Zielsequenzen der Reaktionen der Positive Control und der Negative Control mit den Parametern der Assay-Protokolle (Assay Protocols) **BCR-ABL a2 ELITE_PC**, **BCR-ABL a3 ELITE_PC**, **BCR-ABL a2 ELITE_NC** und **BCR-ABL a3 ELITE_NC**. Die sich daraus ergebenden Ct- und Tm-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 von Mitarbeitern mit der Qualifikation „Administrator“ oder „Analyst“ unter Befolgung der Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche angezeigt und genehmigt werden.

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

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

9.3.2 Validierung der Probenergebnisse

Die **ELITE InGenius Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse der Zielsequenzen (Kanäle **p190a2**, **p195a2**, **p200a2**, **p210a2**, **p230a2**) und der Internal Control (Kanal **ICa2**) mit den **BCR-ABL a2 ELITE_PBL_200_100** Assay-Protokoll-Parametern und den Zielsequenzen (Kanäle **p190a3**, **p195a3**, **p200a3**, **p210a3** und **p230a3**) und die Internal Control (Kanal **ICa3**) mit den **BCR-ABL a3 ELITE_PBL_200_100** Assay-Protokoll-Parametern.

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

Die Probenläufe können genehmigt werden, wenn die in den nachfolgenden Tabellen angegebenen Bedingungen erfüllt sind.

Tabelle 12

Assay mit BCR-ABL a2 PCR Mix	
1) Positivkontrolle	Status
BCR-ABL a2 Positive Control	APPROVED (Genehmigt)
2) Negativkontrolle	Status
BCR-ABL a2 Negative Control	APPROVED (Genehmigt)

Tabelle 13

Assay mit BCR-ABL a3 PCR Mix	
1) Positivkontrolle	Status
BCR-ABL a3 Positive Control	APPROVED (Genehmigt)
2) Negativkontrolle	Status
BCR-ABL a3 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 RNAs nachgewiesen wurden oder nicht.

Tabelle 14

Assay mit BCR-ABL a2 PCR Mix	
Ergebnis des Probenlaufs	Interpretation
p190a2:RNA Detected e1a2 (p190a2:RNA Erkannt e1a2)	In der Probe wurde p190-mRNA nachgewiesen . Die Isoform ist e1a2 .
p190a2:RNA Detected Typing not determined (p190a2:RNA Erkannt Typing not determined)	p190-mRNA wurde nachgewiesen , die Tm-Analyse war jedoch nicht möglich.
p190a2:RNA Not detected or below the LoD (p190a2:RNA nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde keine p190-mRNA nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf p190-mRNA getestet oder die p190-mRNA-Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
p200a2:RNA Detected e8a2 (p190a2:RNA Erkannt e1a2)	In der Probe wurde p200-mRNA nachgewiesen . Die Isoform ist e8a2 .
p200a2:RNA Detected Typing not determined (p190a2:RNA Erkannt Typing not determined)	p200-mRNA wurde nachgewiesen , die Tm-Analyse war jedoch nicht möglich.
p200a2:RNA Not detected or below the LoD (p190a2:RNA nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde keine p200-mRNA nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf p200-mRNA getestet oder die p190-mRNA-Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
p195a2:RNA Detected e6a2 (p190a2:RNA Erkannt e1a2)	In der Probe wurde p195-mRNA nachgewiesen . Die Isoform ist e6a2 .
p195a2:RNA Detected Typing not determined (p190a2:RNA Erkannt Typing not determined)	p195-mRNA wurde nachgewiesen , die Tm-Analyse war jedoch nicht möglich.
p195a2:RNA Not detected or below the LoD (p190a2:RNA nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde keine p195-mRNA nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf p195-mRNA getestet oder die p190-mRNA-Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.

Tabelle 14 (continued)

Assay mit BCR-ABL a2 PCR Mix	
Ergebnis des Probenlaufs	Interpretation
p210a2:RNA Detected e13a2 (p190a2:RNA Erkannt e1a2)	In der Probe wurde p210-mRNA nachgewiesen . Die Isoform ist e13a2 .
p210a2:RNA Detected e14a2 (p190a2:RNA Erkannt e1a2)	In der Probe wurde p210-mRNA nachgewiesen . Die Isoform ist e14a2 .
p210a2:RNA Detected e13a2 e14a2 (p210a2:RNA nachgewiesen e13a2 e14a2)	In der Probe wurde p210-mRNA nachgewiesen . Beide Isoformen, e13a2 und e14a2 , sind vorhanden.
p210a2:RNA Detected Typing not determined (p190a2:RNA Erkannt Typing not determined)	p210-mRNA wurde nachgewiesen , die Tm-Analyse war jedoch nicht möglich.
p210a2:RNA Not detected or below the LoD (p190a2:RNA nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde keine p210-mRNA nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf p210-mRNA getestet oder die p190-mRNA-Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
p230a2:RNA Detected e19a2 (p190a2:RNA Erkannt e1a2)	In der Probe wurde p230-mRNA nachgewiesen . Die Isoform ist e19a2 .
p230a2:RNA Detected Typing not determined (p190a2:RNA Erkannt Typing not determined)	p230-mRNA wurde nachgewiesen , die Tm-Analyse war jedoch nicht möglich.
p230a2:RNA Not detected or below the LoD (p190a2:RNA nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde keine p230-mRNA nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf p230-mRNA getestet oder die p190-mRNA-Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
Invalid - Retest Sample (Ungültig - Probe erneut testen).	Ungültiges Testergebnis aufgrund von fehlerhafter Internal Control. Der Test sollte wiederholt werden.

Tabelle 15

Assay mit BCR-ABL a3 PCR Mix	
Ergebnis des Probenlaufs	Interpretation
p190a3:RNA Detected e1a3 (p190a2:RNA Erkannt e1a2)	In der Probe wurde p190-mRNA nachgewiesen . Die Isoform ist e1a3 .
p190a3:RNA Detected Typing not determined (p190a2:RNA Erkannt Typing not determined)	p190-mRNA wurde nachgewiesen , die Tm-Analyse war jedoch nicht möglich.
p190a3:RNA Not detected or below the LoD (p190a2:RNA nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde keine p190-mRNA nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf p190-mRNA getestet oder die p190-mRNA-Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
p200a3:RNA Detected e8a3 (p190a2:RNA Erkannt e1a2)	In der Probe wurde p200-mRNA nachgewiesen . Die Isoform ist e8a3 .
p200a3:RNA Detected Typing not determined (p190a2:RNA Erkannt Typing not determined)	p200-mRNA wurde nachgewiesen die Tm-Analyse war jedoch nicht möglich.
p200a3:RNA Not detected or below the LoD (p190a2:RNA nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde keine p200-mRNA nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf p200-mRNA getestet oder die p190-mRNA-Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
p195a3:RNA Detected e6a3 (p190a2:RNA Erkannt e1a2)	In der Probe wurde p195-mRNA nachgewiesen . Die Isoform ist e6a3 .
p195a3:RNA Detected Typing not determined (p190a2:RNA Erkannt Typing not determined)	p195-mRNA wurde nachgewiesen , die Tm-Analyse war jedoch nicht möglich.

Tabelle 15 (continued)

Assay mit BCR-ABL a3 PCR Mix	
Ergebnis des Probenlaufs	Interpretation
p195a3:RNA Not detected or below the LoD (p190a2:RNA nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde keine p195-mRNA nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf p195-mRNA getestet oder die p190-mRNA-Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
p210a3:RNA Detected e13a3 (p190a2:RNA Erkannt e1a2)	In der Probe wurde p210-mRNA nachgewiesen . Die Isoform ist e13a3 .
p210a3:RNA Detected e14a3 (p190a2:RNA Erkannt e1a2)	In der Probe wurde p210-mRNA nachgewiesen . Die Isoform ist e14a3 .
p210a3:RNA Detected e13a3 e14a3 (p210a2:RNA Erkannt e13a2 e14a2)	In der Probe wurde p210-mRNA nachgewiesen . Beide Isoformen, e13a3 und e14a3 , sind vorhanden.
p210a3:RNA Detected Typing not determined (p190a2:RNA Erkannt Typing not determined)	p210-mRNA wurde nachgewiesen , die Tm-Analyse war jedoch nicht möglich.
p210a3:RNA Not detected or below the LoD (p190a2:RNA nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde keine p210-mRNA nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf p210-mRNA getestet oder die p190-mRNA-Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
p230a3:RNA Detected e19a3 (p190a2:RNA Erkannt e1a2)	In der Probe wurde p230-mRNA nachgewiesen . Die Isoform ist e19a3 .
p230a3:RNA Detected Typing not determined (p190a2:RNA Erkannt Typing not determined)	p230-mRNA wurde nachgewiesen , die Tm-Analyse war jedoch nicht möglich.
p230a3:RNA Not detected or below the LoD (p190a2:RNA nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde keine p230-mRNA nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf p230-mRNA getestet oder die p190-mRNA-Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
Invalid-Retest Sample (Ungültig - Probe erneut testen).	Ungültiges Testergebnis aufgrund von fehlerhafter Internal Control. Der Test sollte wiederholt werden.

Als „Invalid - Retest Sample“ (Ungültig - Probe erneut testen) ausgegebene Proben: In diesem Fall wurde die Internal-Control-RNA möglicherweise aufgrund von Problemen beim Probenentnahme-, Vorbehandlungs-, Extraktions-, RT- (reverse Transkription) oder PCR-Schritt nicht effizient erkannt (z. B. falsche Probenahme, Abbau oder Verlust von RNA 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 „Fehlerbehebung“).

Als „**pXXXxx: RNA Detected Typing not determined**“ (pXXXxx: RNA nachgewiesen – Typisierung nicht bestimmt) ausgegebene Proben eignen sich nicht für die Schmelzanalyse. In diesem Fall wurde ein Ct nachgewiesen, aber der Tm-Wert wurde nicht nachgewiesen oder lag außerhalb des festgelegten Bereichs, was auf Probleme bei der Probenentnahme, Vorbehandlung, Extraktion, reversen Transkription oder den PCR-Schritten zurückzuführen ist (z. B. falsche Probenahme, Abbau oder Verlust von RNA während der Extraktion oder Verschleppung von Inhibitoren im Eluat oder hoher Hintergrund), was zu falschen Ergebnissen führen kann.

Wenn ausreichend Eluatvolumen übrig bleibt, empfiehlt es sich, die Probe (unverdünnt oder verdünnt) mithilfe eines Amplifikationslaufs im Modus „PCR Only“ (Nur PCR) erneut zu testen. Ist das zweite Ergebnis identisch, sollte die Probe beginnend mit der Extraktion einer neuen Probe im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) erneut getestet werden (siehe „Fehlerbehebung“).

Als „**pXXXxx: RNA: Not detected or below the LoD**“ (pXXXxx: RNA nicht nachgewiesen oder unter der Nachweisgrenze) ausgegebene Proben sind für die Analyse geeignet, es wurde jedoch keine BCR-ABL-DNA nachgewiesen. In diesem Fall kann entweder die Probe für BCR-ABL-RNA negativ sein oder die BCR-ABL-RNA ist bei einer Konzentration unter der Nachweisgrenze des Tests vorhanden (siehe „Leistungsmerkmale“).

HINWEIS!

Bei einem positiven Test mit mehreren Isoformen den Ct-Wert die Ct-Werte der einzelnen Varianten überprüfen. Die Coexpression der zusätzlichen BCR-ABL-Isoformen sollte nur diagnostiziert werden, wenn ihre Ct-Werte mit den Haupt-Isoformen vergleichbar sind, die beim niedrigsten Ct-Wert nachgewiesen werden (siehe N. P. C. Cross et al. 2023). Andernfalls sollte nur die Haupt-Isoform mit dem niedrigsten Ct-Wert angegeben werden.

HINWEIS!

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

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

9.3.3 Ausgabe des Probenergebnisberichts

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

Der „Sample Report“ zeigt die Ergebnisdetails sortiert nach ausgewählter Probe (SID, „Sample ID“) an.

Der „Track Report“ zeigt die Ergebnisdetails nach ausgewählter Spur an.

Der „Sample Report“ und der „Track Report“ können ausgedruckt und von autorisiertem Personal unterschrieben werden.

10 VERFAHREN BEI ELITE BeGenius

Das beim Gebrauch des **BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit** mit dem **ELITE BeGenius** anzuwendende Verfahren besteht aus drei Schritten:

Tabelle 16

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 (**BCR-ABL a2 Positive Control**, **BCR-ABL a2 Negative Control**, **BCR-ABL a3 Positive Control**, **BCR-ABL a3 Negative Control**) für die zu verwendende Charge des **PCR-Mix** (**BCR-ABL a2 PCR Mix** und **BCR-ABL a3 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 **BCR-ABL Dx ELiTe MGB Kit** kann mit **ELiTe BeGenius** für die Durchführung der folgenden Läufe verwendet werden:

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

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

HINWEIS!

Mit dem Produkt **BCR-ABL Dx ELiTe MGB Kit** sollten sowohl im Setup A als auch im Setup B zwei PCR für jede Probe durchgeführt werden: eine mit **BCR-ABL a2 PCR Mix** (für BCR-ABL a2-Isoformen) und die andere mit **BCR-ABL a3 PCR Mix** (für BCR-ABL a3-Isoformen). Mit **ELiTe BeGenius** können maximal 12 Proben pro Lauf analysiert werden.

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 **BCR-ABL a2 PCR Mix**-Röhrchen (WEISSER Verschluss) und **BCR-ABL a3 PCR Mix**-Röhrchen (GELBER Verschluss) 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für **24 Tests** unter optimalen Bedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Dreimal durch Vortexen bei niedriger Drehzahl 10 Sekunden lang mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

HINWEIS!

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

- Die benötigten **RT EnzymeMix** Röhrchen herausnehmen. Jedes Röhrchen reicht aus für **48 Tests**. Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

HINWEIS!

Der **RT EnzymeMix** darf nicht länger als 10 Minuten Temperaturen über -20 °C ausgesetzt werden.

- Ein 2-ml-Röhrchen (Sarstedt Art.-Nr. 72.694.005, nicht im Lieferumfang des Kits enthalten) für jedes **komplette Reaktionsgemisch** zubereiten und mit einem Permanentmarker beschriften.
- Die benötigten Volumina von **BCR-ABL a2 PCR Mix**, **BCR-ABL a3 PCR Mix** und **RT EnzymeMix** für die Zubereitung des **kompletten Reaktionsgemischs** auf Grundlage der Anzahl (N) an zu analysierenden Proben berechnen, wie in der nachstehenden Tabelle beschrieben.

Tabelle 17

Probenanzahl (N)	BCR-ABL a2 PCR Mix und BCR-ABL a3 PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{l}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{l}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{l}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{l}$
$N = 12$	290 μl	4,4 μl
$13 \leq N \leq 18$	$(N + 3) \times 20 \mu\text{l}$	$(N + 3) \times 0,3 \mu\text{l}$
$19 \leq N \leq 23$	$(N + 4) \times 20 \mu\text{l}$	$(N + 4) \times 0,3 \mu\text{l}$
$N = 24$	580 μl	8,7 μl

5. Das **komplette Reaktionsgemisch** zubereiten: dazu die errechneten Volumina der zwei Komponenten in das beschriftete 2-ml-Röhrchen überführen. Dreimal durch Vortexen bei niedriger Drehzahl 10 Sekunden lang mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

HINWEIS!

Das **komplette Reaktionsgemisch** kann innerhalb von **7 Stunden** verwendet werden, wenn sie gekühlt aufbewahrt werden (für 2 Läufe von jeweils 3,5 Stunden) Das komplette Reaktionsgemisch **darf nicht** zur Wiederverwendung aufbewahrt werden.

HINWEIS!

Das **komplette Reaktionsgemisch** ist lichtempfindlich und darf daher keinem direkten Licht ausgesetzt werden.

6. Ausgehend von PBL-Lysaten (**Setup A**), für jede Probe einen integrierten Lauf (Modus „Extract + PCR“ [Extraktion + PCR]) unter Verwendung von **BCR-ABL a2 PCR Mix** und einen Amplifikationslauf (Modus „PCR Only“ [nur PCR]) unter Verwendung von **BCR-ABL a3 PCR Mix** durchführen.
7. Ausgehend von Extraktionsprodukten (**Setup B**), für jede Probe zwei Amplifikationsläufe (Modus „PCR Only“ [Nur PCR]) unter Verwendung von **BCR-ABL a2 PCR Mix** und **BCR-ABL a3 PCR Mix** durchführen.

HINWEIS!

Es ist ratsam, eine Vorlage auf dem Gerät zu erstellen, um die Einrichtung des Laufs zu erleichtern (siehe ELITE BeGenius-Handbuch).

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

Tabelle 18

	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	Vorbehandelte Proben identifizieren und, falls erforderlich, auf Raumtemperatur auftauen, vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Für diesen Assay müssen 200 µl Probe in das 2-ml-Sarstedt-Röhrchen 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 (a2 und a3) 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.
2	Nicht anwendbar	Nicht anwendbar	Die Negative Controls (a2 und a3) vorbereiten : dazu mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie in ein „Elution Tube“ (Elutionsröhr) überführen, das im Lieferumfang des ELITE InGenius SP 200 Consumable Set enthalten ist.
3	Auf der Startseite „ Perform Run “ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „ Perform Run “ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „ Perform Run “ (Lauf durchführen) auswählen.
4	Alle Racks aus der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.	Die „Racks“ aus „Lane 1, 2 und 3 (L1, L2 und L3) der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.	Die „Racks“ aus „Lane 1, 2 und 3 (L1, L2 und L3) der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.
5	Den Laufmodus („Run mode“) wählen: „ Extract + PCR “ (Extraktion + PCR).	Den Laufmodus („Run mode“) wählen: „ PCR Only “ (Nur PCR).	Den Laufmodus („Run mode“) wählen: „ PCR Only “ (Nur PCR).
6	Die Proben in das Probenrack („Sample Rack“) laden . Wenn als Sekundärröhrchen „2 mL Tubes“ (2-ml-Röhrchen) geladen werden, verwenden Sie die blauen Adapter für das „Sample Rack“.	Die Proben in das „Elution Rack“ (Elutionsablage) laden .	Die Röhrchen für die Positive Control und Negative Control in das „Elution Rack“ (Elutionsrack) laden .
7	Das „ Sample Rack “ in die „Cooler Unit“ einsetzen , beginnend mit „Lane 5“ (L5). 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). Für jede „Position“ die „Sample ID“ (Proben-ID), die „Sample Matrix“ (Probenmatrix), das „Extraction Kit“ (Extraktionskit) und das „Extracted eluate vol.“ (extrahierte Eluatvolumen) 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

Tabelle 18 (continued)

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])	C. Lauf für Positive und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
10	In der Spalte „Assay“ das Assay-Protokoll auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“): für jede zu extrahierende Probe die beiden Assay-Protokolle a2 („Extract + PCR“ [Extraktion + PCR]) und a3 („PCR Only“ [Nur PCR]) zuweisen.	In der Spalte „Assay“ das Assay-Protokoll auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“): für jedes Eluat die beiden Assay-Protokolle a2 und a3 zuweisen.	In der Spalte „Assay“ das Assay-Protokoll auswählen (a2 und a3, siehe „Proben und Kontrollen“).
11	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
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).	Nicht anwendbar	Nicht anwendbar
14	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Nicht anwendbar	Nicht anwendbar
15	Das komplette Reaktionsgemisch in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsrack) laden .	Das komplette Reaktionsgemisch in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsrack) laden .	Das komplette Reaktionsgemisch 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. 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. 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. 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.

Tabelle 18 (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])
22	Das „ Extraction Rack “ (Extraktionsrack) mit den „ELITE InGenius SP RNA“ Extraktionskartuschen, „ELITE InGenius DNase I“-Röhrchen (unverschlossen) und die für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden.	Nicht anwendbar	Nicht anwendbar
23	Im Bildschirm „Dnase I“ „Dnase I“ als Reagenzname („Reagent Name“), Chargennummer und Ablaufdatum eingeben.	Nicht anwendbar	Nicht anwendbar
24	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.
25	„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 aufbewahrt werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

HINWEIS!

Das **komplette Reaktionsgemisch** kann bis zu 7 Stunden (für 2 Läufe von jeweils 3,5 Stunden) im gekühlten Block des Geräts verbleiben. Vorsichtig mischen und den Inhalt dann 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt. Das komplette Reaktionsgemisch darf nicht zur Wiederverwendung aufbewahrt werden.

HINWEIS!

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

HINWEIS!

BCR-ABL a2 Positive Control und **BCR-ABL a3 Positive Control** können für 4 separate Läufe von jeweils 3 Stunden verwendet werden.

HINWEIS!

Am Ende des Laufs müssen die **PCR-Kassette** 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 die Laufinformationen dargestellt. 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!

Bei Verwendung von **BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit** werden für jede Probe zwei Amplifikationsläufe mit **BCR-ABL a2 PCR Mix** (für BCR-ABL a2-Isoformen) und **BCR-ABL a3 PCR Mix** (für BCR-ABL a3-Isoformen) durchgeführt. Die Ergebnisanalyse wird für beide Läufe durchgeführt.

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 **BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit** und geht dabei folgendermaßen vor:

1. Validierung der Ergebnisse der Positive Control und Negative Control,
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 BCR-ABL p210 e14a2 auf dem Gerät ELITE BeGenius bestimmt, indem BCR-ABL-negatives RNA-Referenzmaterial, das in niedriger Konzentration mit p210 e14a2-positivem RNA-Referenzmaterial dotiert war (Invivoscribe), getestet wurde.

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 19

„Target“ (Ziel)	LoD		Grenzen des 95%-Konfidenzintervalls	
			Untere Grenze	Obere Grenze
p210 e14a2	Verdünnung	0,0000259	0,0000148	0,0000694
	Log-Verdünnung	-4,6	-4,8	-4,2

Die p210 e14a2-mRNA in Proben, die in der LoD-Konzentration dotiert wurden, wurde dann quantifiziert und ergab 8 Kopien/Reaktion (p210% = 0,0066 %). Zur Verifizierung des berechneten LoD-Werts für die Zielsequenzen wurden negative mRNAs auf ELITE BeGenius und ELITE InGenius getestet, die aus mit p190 e1a2, p195 e6a2, p210 e13a2, p210 e14a2, p200 e8a2, p230 e19a2, p190 e1a3, p195 e6a3, p210 e13a3, p210 e14a3, p200 e8a3, p230 e19a3 Plasmid-DNAs (GenScript) in der angegebenen Konzentration dotierten PBLs-Proben extrahiert worden waren. Wenn nötig, wurde die Zielkonzentration erhöht. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 20

BCR-ABL a2 PCR Mix	
„Target“ (Ziel)	LoD (Kopien/Reaktion)
p190 e1a2	8
p195 e6a2	8
p200 e8a2	50
p210 e13a2	8
p210 e14a2	8
p230 e19a2	20
BCR-ABL a3 PCR Mix	
„Target“ (Ziel)	LoD (Kopien/Reaktion)
p190 e1a3	8
p195 e6a3	20
p200 e8a3	50
p210 e13a3	8
p210 e14a3	20
p230 e19a3	50

Die in der Tabelle angegebenen LoD-Werte wurden sowohl mit ELITE BeGenius als auch mit ELITE InGenius bestätigt.

11.2 Inklusivität: Nachweiseffizienz bei verschiedenen BCR-ABL-Isoformen

Die Inklusivität des Assays, d. h. die Nachweiseffizienz bei den Haupt-Isoformen von BCR-ABL 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 der BCR-ABL-Isoformen zu erwarten.

Die Inklusivität wurde auch durch die Analyse von BCR-ABL-negativem RNA-Referenzmaterial überprüft, das mit synthetischer RNA (GenScript) für jede Zielsequenz in niedriger Konzentration dotiert wurde. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 21

BCR-ABL a2 PCR Mix			
„Target“ (Ziel)	Isoform	Pos. / Wiederh.	Ergebnis
p190	e1a2	4/4	p190:RNA Detected e1a2 (p190a2:RNA nachgewiesen e1a2)
p195	e6a2	4/4	p195:RNA Detected e6a2 (p190a2:RNA nachgewiesen e1a2)
p200	e8a2	4/4	p200:RNA Detected e8a2 (p190a2:RNA nachgewiesen e1a2)

Tabelle 21 (continued)

p210	e13a2	4/4	p210:RNA Detected e13a2 (p190a2:RNA nachgewiesen e1a2)
	e14a2	4/4	p210:RNA Detected e14a2 (p190a2:RNA nachgewiesen e1a2)
p230	e19a2	8/8	p230:RNA Detected e19a2 (p190a2:RNA nachgewiesen e1a2)
BCR-ABL a3 PCR Mix			
„Target“ (Ziel)	Isoform	Pos. / Wiederh.	Ergebnis
p190	e1a3	4/4	p190:RNA Detected e1a3 (p190a2:RNA nachgewiesen e1a2)
p195	e6a3	4/4	p195:RNA Detected e6a3 (p190a2:RNA nachgewiesen e1a2)
p200	e8a3	4/4	p200:RNA Detected e8a3 (p190a2:RNA nachgewiesen e1a2)
p210	e13a3	4/4	p210:RNA Detected e13a3 (p190a2:RNA nachgewiesen e1a2)
	e14a3	4/4	p210:RNA Detected e14a3 (p190a2:RNA nachgewiesen e1a2)
p230	e19a3	8/8	p230:RNA Detected e19a3 (p190a2:RNA nachgewiesen e1a2)

Alle Proben wurden mit dem BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit richtig erkannt.

11.3 Interferenz unter den Zielsequenzen

Die potenzielle Interferenz zwischen den Zielsequenzen des Assays wurde durch einen Test der Co-Amplifikation in BCR-ABL-negativem RNA-Referenzmaterial bewertet, das mit Plasmid-DNAs (GenScript) der häufigeren Isoformen dotiert war.

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

Tabelle 22

BCR-ABL a2 PCR Mix	
Hauptzielsequenz bei 100.000 Kopien/Reaktion	Zweite Zielsequenz bei niedriger Konzentration
p190 e1a2	p210 e13a2, 100 Kopien/Reaktion
	p210 e14a2, 100 Kopien/Reaktion
p210 e13a2	p190 e1a2, 100 Kopien/Reaktion
	p210 e14a2, 10.000 Kopien/Reaktion
p210 e14a2	p190 e1a2, 100 Kopien/Reaktion
	p210 e13a2, 1.000 Kopien/Reaktion
BCR-ABL a3 PCR Mix	
Hauptzielsequenz bei 100.000 Kopien/Reaktion	Zweite Zielsequenz bei niedriger Konzentration

Tabelle 22 (continued)

p190 e1a3	p210 e13a3, 100 Kopien/Reaktion
	p210 e14a3, 100 Kopien/Reaktion
p210 e13a3	p190 e1a3, 100 Kopien/Reaktion
	p210 e14a3, 20.000 Kopien/Reaktion
p210 e14a3	p190 e1a3, 100 Kopien/Reaktion
	p210 e13a3, 5.000 Kopien/Reaktion

Das BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit zeigt eine minimale Interferenz im Falle der Coexpression von zwei der häufigsten BCR-ABL-Isoformen. Auf verschiedenen Kanälen kann die zweite Zielsequenz nachgewiesen werden, auch wenn sie etwa 1000-mal kleiner ist als die Hauptzielsequenz.

11.4 Potenziell interferierende Marker: Kreuzreaktivität

Die potenzielle Kreuzreaktivität mit anderen Markern, die in Vollblutproben vorkommen können, wurde für den Assay durch eine *In-silico*-Analyse bewertet. Die Analyse ergab keine signifikante Homologie mit anderen unbeabsichtigten Markern (unbeabsichtigte humane Genomordnungen, Viren, Bakterien, Protozoen und Pilze), so dass keine Kreuzreaktivität zu erwarten ist.

Das Fehlen einer Kreuzreaktivität mit potenziell interferierenden Markern wurde auch durch die Analyse eines Panels unbeabsichtigter Marker bei hohem Titer (Sigma-Aldrich, Invivoscribe, ATCC, ZeptoMetrix), die in BCR-ABL-negatives RNA-Referenzmaterial dotiert wurden, überprüft.

Die in der folgenden Tabelle aufgeführten Ergebnisse wurden sowohl mit dem BCR-ABL a2 PCR Mix als auch mit dem BCR-ABL a3 PCR Mix erzielt.

Tabelle 23

Marker	Positiv / Replikate						Ergebnis
	p190	p200	p195	p210	p230	p190	
Humane genomische DNA	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Keine Kreuzreaktivität
PML-RARα	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Keine Kreuzreaktivität
Inv(16)	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Keine Kreuzreaktivität
EBV	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Keine Kreuzreaktivität
CMV	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Keine Kreuzreaktivität
HHV-6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Keine Kreuzreaktivität
HHV-7	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Keine Kreuzreaktivität
HHV-8	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Keine Kreuzreaktivität
HIV-1	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Keine Kreuzreaktivität

Alle getesteten potenziell interferierenden Marker wiesen beim Test mit dem BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit keine Kreuzreaktivität auf.

11.5 Potenziell interferierende Marker: Inhibition

Die potenzielle Hemmung durch unbeabsichtigte Marker, die in Vollblutproben gefunden werden können, wurde für den Assay durch die Analyse eines Panels unbeabsichtigter Marker bei hohem Titer (Sigma-Aldrich, Invivoscribe, ATCC, ZeptoMetrix) bewertet, die mit Plasmid-DNAs (GenScript) aller Targets im BCR-ABL-negativen RNA-Referenzmaterial versetzt waren.

Die in der folgenden Tabelle aufgeführten Ergebnisse wurden sowohl mit dem BCR-ABL a2 PCR Mix als auch mit dem BCR-ABL a3 PCR Mix erzielt.

Tabelle 24

Marker	Positiv / Replikate						Ergebnis
	p190	p200	p195	p210 e13	p210 e14	p230	
hgDNA	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Keine Interferenz
PML-RAR α	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Keine Interferenz
Inv(16)	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Keine Interferenz
EBV	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Keine Interferenz
CMV	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Keine Interferenz
HHV-6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Keine Interferenz
HHV-7	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Keine Interferenz
HHV-8	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Keine Interferenz
HIV-1	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Keine Interferenz

Alle getesteten potenziell interferierenden Marker wiesen für die Zielamplifikation mit dem BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit keine Inhibition auf.

11.6 Potenziell interferierende Substanzen: Kreuzreaktivität

Die Kreuzreaktivität mit potenziell störenden (endogenen und exogenen) Substanzen, die in Vollblutproben vorkommen können, wurde für den Assay durch die Analyse einer Reihe von Substanzen (Sigma-Aldrich) in relevanten Konzentrationen bewertet, die in simulierten BCR-ABL-negativen Proben dotiert worden waren.

Die in der folgenden Tabelle aufgeführten Ergebnisse wurden sowohl mit dem BCR-ABL a2 PCR Mix als auch mit dem BCR-ABL a3 PCR Mix erzielt.

Tabelle 25

Substanz	Positiv / Replikate					Ergebnis
	p190	p200	p195	p210	p230	
Hämoglobin	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Keine Kreuzreaktivität
Bilirubin	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Keine Kreuzreaktivität
Triglyzeride	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Keine Kreuzreaktivität
EDTA	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Keine Kreuzreaktivität
Heparin	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Keine Kreuzreaktivität
Ganciclovir	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Keine Kreuzreaktivität
Abacavir-Sulfat	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Keine Kreuzreaktivität

Tabelle 25 (continued)

Substanz	Positiv / Replikate					Ergebnis
	p190	p200	p195	p210	p230	
Cidofovir	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Keine Kreuzreaktivität
Ribavirin	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Keine Kreuzreaktivität
Amoxicillin + Clavulanat	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Keine Kreuzreaktivität
Cefpodoxim	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Keine Kreuzreaktivität
Azithromycin	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Keine Kreuzreaktivität
Ciprofloxacin	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Keine Kreuzreaktivität

Der Test zeigte, dass bei Verwendung des BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit keine der getesteten Substanzen mit den Zielsequenzen kreuzreagiert.

11.7 Potenziell interferierende Substanzen: Inhibition

Die potenzielle Hemmung von potenziell interferierenden (endogenen und exogenen) Substanzen, die in Vollblutproben vorkommen können, wurde für den Assay durch die Analyse einer Reihe von Substanzen in relevanten Konzentrationen bewertet, die mit Plasmid-DNAs (GenScript) aller Zielsequenzen in BCR-ABL-negativen simulierten Proben dotiert worden waren.

Die in der folgenden Tabelle aufgeführten Ergebnisse wurden sowohl mit dem BCR-ABL a2 PCR Mix als auch mit dem BCR-ABL a3 PCR Mix erzielt.

Tabelle 26

Substanz	Positiv / Replikate						Ergebnis
	p190	p200	p195	p210 e13	p210 e14	p230	
Hämoglobin	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Keine Interferenz
Bilirubin	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Keine Interferenz
Triglyzeride	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Keine Interferenz
EDTA	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Keine Interferenz
Heparin	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Keine Interferenz
Ganciclovir	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Keine Interferenz
Abacavir-Sulfat	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Keine Interferenz
Cidofovir	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Keine Interferenz
Ribavirin	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Keine Interferenz
Amoxicillin + Clavulanat	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Keine Interferenz
Cefpodoxim	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Keine Interferenz
Azithromycin	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Keine Interferenz
Ciprofloxacin	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Keine Interferenz

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

11.8 Kreuzkontamination

Zur Bewertung der möglichen Kreuzkontamination für den Assay während der Analyse wurden 60 BCR-ABL-negative simulierte Proben und 60 Wiederholungen von BCR-ABL-positiven simulierten Proben, die mit p210 e14a2 synthetischer RNA (GenScript) in einer Konzentration von $\sim 1 \times 10^{10}$ Kopien/ml dotiert worden waren, in 5 Läufen getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 27

Proben	Anzahl	Positiv	Negativ	% Übereinstimmung
Positiv	60	60	0	100 %
Negativ	60	0	60	100 %

Bei diesem Test mit dem BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit wurde weder innerhalb der Läufe noch zwischen den Läufen eine Kreuzkontamination festgestellt.

11.9 Fehlerrate des Gesamtsystems

Zur Bewertung der Fehlerrate des Gesamtsystems für den Assay wurden 50 BCR-ABL-negative PBL-Proben, die mit p190 e1a2-RNA-Referenzmaterial in niedriger Konzentration dotiert waren, analysiert.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 28

Proben	Anzahl	Positiv	Negativ	Fehlerrate des Gesamtsystems
PBL in niedriger Konzentration dotiert	50	50	0	0 %

Bei diesem Test mit dem BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit wurden alle PBL-Proben als positiv bestätigt, und die Fehlerrate des Gesamtsystems lag bei 0 %.

11.10 Wiederholpräzision

Zur Bewertung der Wiederholpräzision des Assays mit ELITE BeGenius und ELITE InGenius wurde ein Panel von BCR-ABL-negativen simulierten Proben und BCR ABL-positiven simulierten Proben, die mit synthetischen BCR-ABL-RNAs (GenScript) dotiert worden waren, analysiert:

- NEG: simulierte Probe, negativ.
- GRUPPE A: simulierte Probe, positiv für p190 e1a2, p210 e14a2, p190 e1a3 und p210 e14a3.
- GRUPPE B: simulierte Probe, positiv für p195 e6a2, p210 e13a2, p195 e6a3 und p210 e13a3.
- GRUPPE C: simulierte Probe, positiv für p200 e8a2, p230 e19a2, p200 e8a3 und p230 e19a3.

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

Tabelle 29

Probe	Zielsequenz	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	Ct SD	VK % Ct	Mittlere Tm	Tm SD	VK % Tm	% Übereinstimmung
BCR-ABL a2 PCR Mix									
NEG	P190 e1a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		6	29,19	0,38	1,31	69,2	0,23	0,33	100 %
GRUPPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P195 e6a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		6	29,99	0,25	0,85	70,0	0,34	0,48	100 %
GRUPPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		6	28,73	0,46	1,58	67,5	0,42	0,63	100 %
NEG	P210 e13a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		6	32,11	0,44	1,38	56,5	0,18	0,31	100 %
GRUPPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		6	29,51	0,62	2,12	66,2	0,16	0,25	100 %
GRUPPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		6	30,57	0,70	2,29	71,3	0,50	0,70	100 %
BCR-ABL a3 PCR Mix									
NEG	P190 e1a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		6	29,83	0,14	0,46	64,0	0,08	0,12	100 %
GRUPPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %

Tabelle 29 (continued)

Probe	Zielsequenz	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	Ct SD	VK % Ct	Mittlere Tm	Tm SD	VK % Tm	% Übereinstimmung
NEG	P195 e6a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		6	29,85	0,32	1,06	67,5	0,30	0,44	100 %
GRUPPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		6	28,41	0,27	0,95	67,9	0,17	0,25	100 %
NEG	P210 e13a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		6	29,81	0,53	1,79	57,0	0,20	0,35	100 %
GRUPPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		6	29,36	0,64	2,19	65,0	0,21	0,32	100 %
GRUPPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		6	28,94	0,41	1,43	64,9	0,13	0,19	100 %

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

Tabelle 30

Probe	Zielsequenz	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	Ct SD	VK % Ct	Mittlere Tm	Tm SD	VK % Tm	% Übereinstimmung
BCR-ABL a2 PCR Mix									
NEG	P190 e1a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		6	28,30	0,37	1,31	69,8	0,08	0,12	100 %
GRUPPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %

Tabelle 30 (continued)

Probe	Zielse- quenz	An- zahl	Mittlerer Ct-Wert	Ct SD	VK % Ct	Mittlere Tm	Tm SD	VK % Tm	% Übereinstim- mung
NEG	P195 e6a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		6	29,13	0,13	0,43	70,8	0,00	0,00	100 %
GRUPPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		6	28,16	0,26	0,92	68,1	0,11	0,16	100 %
NEG	P210 e13a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		6	31,74	0,26	0,81	57,8	0,41	0,71	100 %
GRUPPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		6	29,35	0,34	1,15	67,2	0,14	0,21	100 %
GRUPPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		6	24,09	0,22	0,77	72,0	0,05	0,07	100 %
BCR-ABL a3 PCR Mix									
NEG	P190 e1a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		6	28,58	0,53	1,85	64,5	0,06	0,10	100 %
GRUPPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P195 e6a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		6	28,25	0,10	0,36	68,3	0,10	0,15	100 %
GRUPPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		6	27,07	0,23	0,86	68,3	0,16	0,24	100 %

Tabelle 30 (continued)

Probe	Zielse- quenz	An- zahl	Mittlerer Ct-Wert	Ct SD	VK % Ct	Mittlere Tm	Tm SD	VK % Tm	% Übereinstim- mung
NEG	P210 e13a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		6	29,33	0,18	0,60	57,6	0,04	0,07	100 %
GRUPPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		6	29,19	0,48	1,64	65,1	0,08	0,13	100 %
GRUPPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		6	25,97	0,27	1,04	65,4	0,05	0,08	100 %

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

Tabelle 31

Probe	Zielse- quenz	An- zahl	Mittlerer Ct-Wert	Ct SD	VK % Ct	Mittlere Tm	Tm SD	VK % Tm	% Übereinstim- mung
BCR-ABL a2 PCR Mix									
NEG	P190 e1a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		12	29,38	0,47	1,81	69,2	0,19	0,27	100 %
GRUPPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P195 e6a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		12	30,13	0,31	1,03	70,1	0,62	0,89	100 %
GRUPPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		12	28,89	0,39	1,36	67,7	0,37	0,55	100 %

Tabelle 31 (continued)

Probe	Zielse- quenz	An- zahl	Mittlerer Ct-Wert	Ct SD	VK % Ct	Mittlere Tm	Tm SD	VK % Tm	% Übereinstim- mung
NEG	P210 e13a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		12	32,23	0,37	1,16	56,9	0,63	1,10	100 %
GRUPPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		12	29,52	0,58	1,98	66,1	0,29	0,43	100 %
GRUPPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		12	30,44	0,53	1,74	71,5	0,44	0,62	100 %
BCR-ABL a3 PCR Mix									
NEG	P190 e1a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		12	29,90	0,38	1,27	64,0	0,06	0,10	100 %
GRUPPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P195 e6a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		12	29,57	0,43	1,44	67,8	0,39	0,58	100 %
GRUPPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		12	28,22	0,33	1,18	68,0	0,15	0,22	100 %
NEG	P210 e13a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		12	29,68	0,48	1,63	57,1	0,21	0,37	100 %
GRUPPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		12	29,27	0,65	2,22	65,0	0,20	0,31	100 %
GRUPPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %

Tabelle 31 (continued)

Probe	Zielse- quenz	An- zahl	Mittlerer Ct-Wert	Ct SD	VK % Ct	Mittlere Tm	Tm SD	VK % Tm	% Übereinstim- mung
NEG	P230 e19a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		12	28,53	0,55	1,92	65,0	0,15	0,23	100 %

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

Tabelle 32

Probe	Zielse- quenz	An- zahl	Mittlerer Ct-Wert	Ct SD	VK % Ct	Mittlere Tm	Tm SD	VK % Tm	% Übereinstim- mung
BCR-ABL a2 PCR Mix									
NEG	P190 e1a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		12	28,29	0,43	1,51	69,8	0,07	0,11	100 %
GRUPPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P195 e6a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		12	29,19	0,17	0,59	70,8	0,08	0,11	100 %
GRUPPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		12	27,86	0,47	1,69	68,2	0,12	0,18	100 %
NEG	P210 e13a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		12	31,78	0,25	0,78	58,5	0,11	0,19	100 %
GRUPPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		12	29,36	0,35	1,20	67,1	0,07	0,10	100 %
GRUPPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %

Tabelle 32 (continued)

Probe	Zielse- quenz	An- zahl	Mittlerer Ct-Wert	Ct SD	VK % Ct	Mittlere Tm	Tm SD	VK % Tm	% Übereinstim- mung
NEG	P230 e19a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		12	27,85	0,31	1,11	72,0	0,08	0,11	100 %
BCR-ABL a3 PCR Mix									
NEG	P190 e1a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		12	28,56	0,48	1,68	64,5	0,06	0,09	100 %
GRUPPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P195 e6a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		12	28,56	0,37	1,30	68,3	0,07	0,11	100 %
GRUPPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		12	26,78	0,36	1,34	68,3	0,14	0,21	100 %
NEG	P210 e13a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		12	29,64	0,38	1,28	57,5	0,05	0,09	100 %
GRUPPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		12	29,12	0,42	1,45	65,1	0,08	0,13	100 %
GRUPPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		12	25,85	0,26	1,02	65,4	0,06	0,10	100 %

Beim Test der Wiederholpräzision erkannte BCR-ABL Dx ELITe MGB alle Proben wie erwartet und wies eine maximale Variabilität der Ct-Zielwerte als VK % unter 5 % aus.

11.11 Vergleichspräzision

Zur Bewertung der Vergleichspräzision des Assays mit ELITE BeGenius und ELITE InGenius wurde eine Reihe von PBLs-negativen simulierten oder mit einer Reihe von synthetischen BCR-ABL-RNAs (GenScript) dotierten Proben, wie im vorherigen Test beschrieben, analysiert.

Die Ergebnisse der chargenübergreifenden Vergleichspräzision (an sechs Tagen und drei Chargen) mit ELITE BeGenius sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 33

Probe	Zielse- quenz	An- zahl	Mittlerer Ct-Wert	Ct SD	VK % Ct	Mittlere Tm	Tm SD	VK % Tm	% Übereinstim- mung
BCR-ABL a2 PCR Mix									
NEG	P190 e1a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	29,08	0,42	1,44	69,2	0,21	0,30	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P195 e6a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	29,62	0,57	1,91	69,9	0,59	0,84	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	28,77	0,49	1,69	67,6	0,28	0,42	100 %
NEG	P210 e13a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	31,99	0,49	1,52	56,7	0,44	0,78	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	29,25	0,50	1,72	66,1	0,70	1,06	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	29,67	0,76	2,55	71,4	0,36	0,51	100 %
BCR-ABL a3 PCR Mix									

Tabelle 33 (continued)

Probe	Zielse- quenz	An- zahl	Mittlerer Ct-Wert	Ct SD	VK % Ct	Mittlere Tm	Tm SD	VK % Tm	% Übereinstim- mung
NEG	P190 e1a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	29,24	0,59	2,00	63,9	0,11	0,17	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P195 e6a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	29,21	0,48	1,63	67,7	0,26	0,39	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	28,20	0,50	1,79	67,8	0,20	0,29	100 %
NEG	P210 e13a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	29,66	1,07	3,61	57,1	0,17	0,29	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	28,85	0,66	2,29	65,0	0,19	0,29	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	28,02	0,70	2,51	64,8	0,31	0,47	100 %

Die Ergebnisse der chargenübergreifenden Vergleichspräzision (an zwölf Tagen und mit drei Chargen) mit ELITe InGenius sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 34

Probe	Zielse- quenz	An- zahl	Mittlerer Ct-Wert	Ct SD	VK % Ct	Mittlere Tm	Tm SD	VK % Tm	% Übereinstim- mung
BCR-ABL a2 PCR Mix									
NEG	P190 e1a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	27,85	0,53	1,91	69,7	0,09	0,13	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P195 e6a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	28,73	0,41	1,42	70,8	0,07	0,10	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	27,58	0,49	1,77	68,2	0,12	0,18	100 %
NEG	P210 e13a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	31,36	0,37	1,18	58,2	0,38	0,65	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	28,66	0,72	2,50	67,1	0,37	0,55	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	27,28	0,53	1,94	71,9	0,08	0,12	100 %
BCR-ABL a3 PCR Mix									
NEG	P190 e1a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	27,99	0,65	2,32	64,4	0,12	0,19	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %

Tabelle 34 (continued)

Probe	Zielse- quenz	An- zahl	Mittlerer Ct-Wert	Ct SD	VK % Ct	Mittlere Tm	Tm SD	VK % Tm	% Übereinstim- mung
NEG	P195 e6a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	28,22	0,40	1,43	68,4	0,08	0,12	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	26,76	0,47	1,74	68,3	0,15	0,21	100 %
NEG	P210 e13a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	29,10	0,63	2,18	57,6	0,10	0,17	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	28,24	1,07	3,80	65,2	0,13	0,19	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	25,67	0,57	2,21	65,3	0,28	0,42	100 %

Die Ergebnisse der geräteübergreifenden Vergleichspräzision (an sechs Tagen, mit drei Chargen und drei Geräten) mit ELITE BeGenius sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 35

Probe	Zielse- quenz	An- zahl	Mittlerer Ct-Wert	Ct SD	VK % Ct	Mittlere Tm	Tm SD	VK % Tm	% Übereinstim- mung
BCR-ABL a2 PCR Mix									
NEG	P190 e1a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	29,19	0,39	1,35	69,3	0,22	0,32	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %

Tabelle 35 (continued)

Probe	Zielse- quenz	An- zahl	Mittlerer Ct-Wert	Ct SD	VK % Ct	Mittlere Tm	Tm SD	VK % Tm	% Übereinstim- mung
NEG	P195 e6a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	29,56	0,47	1,58	70,1	0,49	0,70	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	28,71	0,44	1,55	67,7	0,15	0,23	100 %
NEG	P210 e13a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	31,80	0,46	1,44	56,7	0,58	1,02	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	29,09	0,46	1,58	66,2	0,69	1,04	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	29,03	0,43	1,50	71,5	0,21	0,30	100 %
BCR-ABL a3 PCR Mix									
NEG	P190 e1a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	29,35	0,66	2,24	63,9	0,14	0,22	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P195 e6a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	29,08	0,48	1,66	67,7	0,30	0,44	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	28,10	0,36	1,29	67,7	0,21	0,31	100 %

Tabelle 35 (continued)

Probe	Zielse- quenz	An- zahl	Mittlerer Ct-Wert	Ct SD	VK % Ct	Mittlere Tm	Tm SD	VK % Tm	% Übereinstim- mung
NEG	P210 e13a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	26,69	1,05	3,54	57,1	0,20	0,36	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	28,36	1,25	4,42	64,9	0,23	0,35	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	27,65	0,60	2,18	64,8	0,31	0,48	100 %

Die Ergebnisse der geräteübergreifenden Vergleichspräzision (an zwölf Tagen, mit drei Chargen und drei Geräten) mit ELITe InGenius sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 36

Probe	Zielse- quenz	An- zahl	Mittlerer Ct-Wert	Ct SD	VK % Ct	Mittlere Tm	Tm SD	VK % Tm	% Übereinstim- mung
BCR-ABL a2 PCR Mix									
NEG	P190 e1a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	28,02	0,39	1,40	69,8	0,13	0,19	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P195 e6a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	28,85	0,50	1,75	70,8	0,28	0,39	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	27,67	0,44	1,59	68,3	0,16	0,24	100 %

Tabelle 36 (continued)

Probe	Zielse- quenz	An- zahl	Mittlerer Ct-Wert	Ct SD	VK % Ct	Mittlere Tm	Tm SD	VK % Tm	% Übereinstim- mung
NEG	P210 e13a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	31,52	0,41	1,30	58,1	0,40	0,68	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	28,71	0,29	1,01	67,1	0,11	0,17	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	27,20	0,49	1,80	72,0	0,12	0,17	100 %
BCR-ABL a3 PCR Mix									
NEG	P190 e1a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	28,24	0,28	0,98	64,4	0,16	0,24	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P195 e6a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	28,29	0,43	1,52	68,4	0,13	0,19	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	26,79	0,50	1,86	68,3	0,25	0,36	100 %
NEG	P210 e13a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	29,32	0,54	1,85	57,6	0,08	0,14	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	28,78	0,54	1,88	65,2	0,18	0,28	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %

Tabelle 36 (continued)

Probe	Zielsequenz	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	Ct SD	VK % Ct	Mittlere Tm	Tm SD	VK % Tm	% Übereinstimmung
NEG	P230 e19a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPPE C		36	25,65	0,69	2,68	65,3	0,30	0,46	100 %

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

11.12 Diagnostische Spezifität: Bestätigung negativer Proben

Zur Bewertung der diagnostischen Spezifität des Assays als Bestätigung negativer klinischer Proben wurden in Verbindung mit ELITE InGenius klinische PBLs-Proben, die für jede Zielsequenz als negativ oder vermutlich negativ bestätigt worden waren, analysiert.

Da ELITE BeGenius gleichwertige analytische Leistungen wie ELITE InGenius aufweist, ist die diagnostische Güte der auf den beiden Instrumenten 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 37

Negative PBL-Proben	Anzahl	Positiv	Negativ	Diagnostische Spezifität in %
p190	60	0	60	100 %
p195	60	0	60	100 %
p200	60	0	60	100 %
p210	60	0	60	100 %
p230	60	0	60	100 %

Alle PBL-Proben waren für die Analyse gültig und negativ.

Der Ct-Grenzwert für die IC wurde auf 31 festgelegt.

11.13 Diagnostische Sensitivität: Bestätigung positiver Proben

Zur Bewertung der diagnostischen Sensitivität des Assays als Bestätigung positiver klinischer Proben wurden in Verbindung mit ELITE InGenius klinische PBLs-Proben analysiert und für die einzelnen Zielsequenzen als positiv bestätigt oder mit Referenzmaterial dotiert.

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

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 38

Positive oder dotierte PBL-Proben		Anzahl	Positiv	Negativ	Diagnostische Sensitivität in %
p190	Positiv für e1a2	1	1	0	100 %
	Dotiert für e1a2	25	25	0	
	Dotiert für e1a3	25	25	0	
p195	Dotiert für e6a2	25	25	0	100 %
	Dotiert für e6a3	25	25	0	
p200	Positiv für e8a2	1	1	0	98 %
	Dotiert für e8a2	25	25	0	
	Dotiert für e8a3	25	24	1	
p210	Positiv für e13a2	2	2	0	100 %
	Dotiert für e13a2	25	25	0	
	Dotiert für e13a3	25	25	0	
	Positiv für e14a2	3	3	0	
	Dotiert für e14a2	25	25	0	
	Dotiert für e14a3	25	25	0	
p230	Dotiert für e19a2	25	25	0	100 %
	Dotiert für e19a3	25	25	0	

Eine für p200 e8a2 dotierte Probe ergab ein abweichend negatives Ergebnis.

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 Produktdokumentation „BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit“, FTP G07ING, aufgeführt.

12 REFERENZEN

- N. C. P. Cross et al. (2023) Leukemia 37: 2150 - 2167
M. Baccarani et al. (2019) Leukemia 33: 1173 - 1183.
J. Gabert et al. (2003) Leukemia. 17: 2318 – 2357
J. J. M. van Dongen et al. (1999) Leukemia. 13: 1901 – 1928
E. A. Lukhtanov et al. (2007) Nucleic Acids Res. 35: e30

13 GRENZEN DES VERFAHRENS

Dieses Produkt darf nur mit den folgenden klinischen Proben verwendet werden: Leukozyten aus peripheren Blutproben, die in EDTA oder Natriumcitrat entnommen wurden.

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

Dieses Produkt nicht mit Proben von peripherem Blut, die in Heparin entnommen wurden, verwenden, da Heparin die reverse Transkription und PCR-Reaktion von Nukleinsäuren hemmt und zu ungültigen Ergebnissen führen kann.

Mit diesem Produkt keine extrahierte RNA verwenden, die große Mengen an humaner genomischer DNA enthält, da diese die reverse Transkriptionsreaktion und die Amplifikation von Nukleinsäuren hemmen kann.

Die mit diesem Produkt erhaltenen Ergebnisse hängen von einer ordnungsgemäßen Identifizierung, Entnahme, Transportierung, Aufbewahrung 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, reverse Transkription, PCR und Nachweis von Nukleinsäuren geschult ist, verwendet werden.

Eine räumliche Trennung von Vorbereitung des kompletten Reaktionsgemischs und die Extraktion/Amplifikation/Detektion von Amplifikationsprodukten ist zu beachten, um falsch-positive Ergebnisse zu vermeiden.

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

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

Bei Coexpression von mehr als einer Isoform kann die Sensitivität für eine Zielsequenz durch die Amplifikation einer zweiten Zielsequenz (siehe „Leistungsmerkmale“) beeinträchtigt werden.

Bei einem positiven Test mit mehreren Isoformen den Ct-Wert die Ct-Werte der einzelnen Varianten überprüfen. Die Coexpression der zusätzlichen BCR-ABL-Isoformen sollte nur diagnostiziert werden, wenn ihre Ct-Werte mit den Haupt-Isoformen vergleichbar sind, die beim niedrigsten Ct-Wert nachgewiesen werden (siehe N. P. C. Cross et al. 2023) dotiert waren, analysiert. Andernfalls sollte nur die Haupt-Isoform mit dem niedrigsten Ct-Wert angegeben werden.

Bei einer Expression von p210 e14a2 mit niedrigem Titer wurde manchmal ein zweites unspezifisches Tm nachgewiesen, was zu einer doppelten Positivität von p210 e13a2 und p210 e14a2 führt.

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

Etwaige Polymorphismen, Insertionen oder Deletionen in der Primer- oder Sondenzielregion der Ziel-RNA können den Nachweis der Ziel-RNA 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 39

Ungültige Reaktion der Positivkontrolle	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Einstellfehler des Geräts.	Position des kompletten Reaktionsgemischs und der Positive Control kontrollieren. Volumina des kompletten Reaktionsgemischs und der Positive Control kontrollieren.
Fehler bei der Zubereitung des kompletten Reaktionsgemischs.	Volumina der bei der Zubereitung des kompletten Reaktionsgemischs verwendeten Reagenzien kontrollieren.
Abbau des kompletten Reaktionsgemischs oder seiner Komponenten.	Das komplette Reaktionsgemisch nicht für mehr als 2 aufeinander folgende Läufe verwenden (7 Stunden im gekühlten Reagenzienblock oder in der Cooler Unit). Das komplette Reaktionsgemisch nicht länger als 30 Minuten bei Raumtemperatur aufbewahren. Den RT EnzymeMix nicht länger als 10 Minuten bei Temperaturen über -20 °C aufbewahren. Das komplette Reaktionsgemisch erneut zubereiten. Ein neues Aliquot Komponenten verwenden.
Abbau der Positive Control.	Die Positive Control nicht für mehr als 4 unabhängige Arbeitsläufe verwenden (jeweils 3 Stunden im Extraktionsbereich oder in der Cooler Unit). Ein neues Aliquot der Positive Control verwenden.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Tabelle 40

Ungültige Reaktion der Negative Control	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Einstellfehler des Geräts.	Position des kompletten Reaktionsgemischs und der Negativkontrolle kontrollieren. Volumina des kompletten Reaktionsgemischs und der Negativkontrolle kontrollieren.
Kontamination der Negativkontrolle.	Die Negative Control nicht für mehr als 1 Lauf verwenden. Ein neues Aliquot hochreines Wasser für die Molekularbiologie verwenden.
Kontamination des kompletten Reaktionsgemischs oder seiner Komponenten.	Das komplette Reaktionsgemisch erneut zubereiten. Ein neues Aliquot Komponenten 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 41

Ungültige Probenreaktion	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Einstellfehler des Geräts.	Position des kompletten Reaktionsgemischs und der Probe kontrollieren. Volumina des kompletten Reaktionsgemischs und der Probe kontrollieren.
Fehler bei der Zubereitung des kompletten Reaktionsgemischs.	Volumina der bei der Zubereitung des kompletten Reaktionsgemischs verwendeten Reagenzien kontrollieren.
Abbau des kompletten Reaktionsgemischs oder seiner Komponenten.	Das komplette Reaktionsgemisch nicht für mehr als 2 aufeinander folgende Läufe verwenden (7 Stunden im Inventarbereich). Das komplette Reaktionsgemisch nicht länger als 30 Minuten bei Raumtemperatur aufbewahren. Den RT EnzymeMix nicht länger als 10 Minuten bei Temperaturen über -20 °C aufbewahren. Das komplette Reaktionsgemisch erneut zubereiten. Ein neues Aliquot Komponenten 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 in Homogenisierungslösung vorbehandelten Probe in einem „Extract + PCR“-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Tabelle 42

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 43

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 mit einer 1:2-Verdünnung der in Homogenisierungslösung vorbehandelten Probe in einem „Extract + PCR“-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen.

Tabelle 44

Fehler 20081 (Es kann sein, dass das Beschallungs-/Extraktionsröhrchen der folgenden Spur keine Flüssigkeit enthält).	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Bläschen oder hohen Viskosität der Probe.	- Die Probe im Extraktionsröhrchen für die erforderlichen Spuren prüfen. Wenn keine Probe vorhanden ist, Probe in das Extraktionsröhrchen für die erforderliche Spur laden. Wenn die Probe vorhanden ist, im Dialogfenster auf die Schaltfläche „OK“ klicken, um mit der Extraktion fortzufahren. - Wenn die Zeit ohne Aktion abgelaufen ist, wird der Lauf abgebrochen. Wenn in diesem Fall die Probe vorhanden ist und der Lauf unmittelbar nach dem Abbruch neu gestartet werden kann, kann die Probe für den neuen Lauf verwendet werden. Alternativ dazu die Extraktion mit einem neuen Aliquot der vorbehandelten Probe wiederholen.

Tabelle 45

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. Das komplette Reaktionsgemisch erneut zubereiten.

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 Herstellung 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 BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit zur Verwendung mit Plattformen der Genius-Reihe®



VORSICHT

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

Verwendungszweck

Das Produkt **BCR-ABL Dx ELITE MGB® Kit** ist ein In-vitro-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal in qualitativen Multiplex-Nukleinsäure-RT- (reverse Transkription) und Real-Time-PCR-Assays zum Nachweis der mRNA des *BCR::ABL* (BCR-ABL)-Rearrangements und zur Unterscheidung der aus klinischen Proben extrahierten Hauptvarianten, bestimmt ist.

Der Assay ist in der Lage, **p190 e1a2**, **p195 e6a2**, **p200 e8a2**, **p210 e13a2** und **e14a2** (Typisierung mittels Schmelzanalyse), **p230 e19a2** in der ersten Reaktion sowie **p190 e1a3**, **p195 e6a3**, **p200 e8a3**, **p210 e13a3** und **e14a3** (Typisierung mittels Schmelzanalyse), **p230 e19a3** in der zweiten Reaktion nachzuweisen und zu identifizieren.

Dieser Assay ist in Verbindung mit den Geräten **ELITE InGenius®** und **ELITE BeGenius®**, automatisierten und integrierten Systemen zur Extraktion, reversen Transkription, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation mit menschlichen Proben von peripheren Blutleukozyten (PBL) validiert.

Das Produkt dient als Hilfsmittel bei der Diagnose von *BCR::ABL*-positiver Leukämie bei Patienten mit Verdacht auf eine Leukämie im Zusammenhang mit einem *BCR::ABL*-Rearrangement.

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

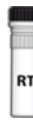
Amplifizierte Sequenz

BCR-ABL a2 PCR Mix			
Sequenz	Gen	Fluorophor	Kanal
Zielsequenz 1	p190 e1a2	FAM	p190a2
Zielsequenz 2	-P210, -e13a2, -8C, -e14a2	AP639	P210a2
Zielsequenz 3	P230 e19a2	AP690	P230a2
Zielsequenz 4	P200 e8a2	AP559	p200a2
Zielsequenz 5	p195 e6a2	AP593	p195a2
Internal Control	ABL	AP525	ICa2
BCR-ABL a3 PCR Mix			
Sequenz	Gen	Fluorophor	Kanal
Zielsequenz 1	p190 e1a3	FAM	p190a3
Zielsequenz 2	p210 e13a3 und e14a3	AP639	P210a3
Zielsequenz 3	p230 e19a3	AP690	P230a3
Zielsequenz 4	P200 e8a3	AP559	p200a3
Zielsequenz 5	p195 e6a3	AP593	p195a3
Internal Control	ABL	AP525	ICa3

Validierte Matrix

Peripheres Blut, das in EDTA oder Natriumcitrat gesammelt und vorbehandelt wurde, um periphere Blutleukozyten (PBL) zu isolieren.

Kit-Inhalt und zugehörige Produkte

BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit (RTSG07ING)			BCR-ABL Dx - ELITe Positive Control (CTRG07ING)	
 x 2	 x 2	 x 2	 x 3	 x 3
BCR-ABL a2 PCR Mix 2 Röhrchen mit 600 µl 24 Reaktionen pro Röhrchen 48 Reaktionen pro Kit 5 Einfrier- und Auftau-Zyklen pro Röhrchen	BCR-ABL a3 PCR Mix 2 Röhrchen mit 600 µl 24 Reaktionen pro Röhrchen 48 Reaktionen pro Kit 5 Einfrier- und Auftau-Zyklen pro Röhrchen	RT EnzymeMix 2 Röhrchen mit 20 µl 48 Reaktionen pro Röhrchen 96 Reaktionen pro Kit 10 Gefrier- und Auftauzyklen	BCR-ABL a2 Positive Control 3 Röhrchen mit 160 µl 4 Reaktionen pro Röhrchen 12 Reaktionen pro Kit 4 Gefrier- und Auftauzyklen	BCR-ABL a3 Positive Control 3 Röhrchen mit 160 µl 4 Reaktionen pro Röhrchen 12 Reaktionen pro Kit 4 Gefrier- und Auftauzyklen
Maximale Haltbarkeitsdauer:	18 Monate		Maximale Haltbarkeitsdauer	24 Monate
Umgebungstemperatur bei Lagerung	≤ -20°C		Umgebungstemperatur bei Lagerung	≤ -20°C

Weitere benötigte, nicht im Kit enthaltene Produkte

› ELITe InGenius-Gerät: INT030. › ELITe BeGenius-Gerät: INT040. › ELITe InGenius SP RNA INT034SPRNA. › ELITe InGenius DNase I INT034DNASE. › ELITe InGenius DNase Röhrchenadapter-Kit: G6431-000. › Alternative Caps For Extraction Tubes 925-CAP (optional)	› Cell Lysis Solution (Promega, Art.-Nr. A7933 oder gleichwertiges Reagens). › RNA Lysis Buffer (Promega, Art.-Nr. Z3051 oder gleichwertiges Reagens). › Thioglycerol (Promega, Art.-Nr. A208B-C oder gleichwertiges Reagens). › ELITe InGenius und ELITe BeGenius Verbrauchsmaterialien (siehe ELITe InGenius und ELITe BeGenius Gebrauchsanweisung)
---	--

Protokoll für ELITe InGenius und ELITe BeGenius

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

Leistungsdaten für ELITE InGenius und ELITE BeGenius

Matrix	Zielsequenz		Nachweisgrenze	Sensitivität	Spezifität
Peripheres Blut, das in EDTA oder Natriumcitrat entnommen wurde	p190	e1a2	8 Kopien/Reaktion	100 % (26/26)	100 % (60/60)
		e1a3	8 Kopien/Reaktion	100 % (25/25)	100 % (60/60)
	p195	e6a2	8 Kopien/Reaktion	100 % (25/25)	100 % (60/60)
		e6a3	20 Kopien/Reaktion	100 % (25/25)	100 % (60/60)
	p200	e8a2	50 Kopien/Reaktion	100 % (26/26)	100 % (60/60)
		e8a3	50 Kopien/Reaktion	98 % (24/25)	100 % (60/60)
	p210	e13a2	8 Kopien/Reaktion	100 % (27/27)	100 % (60/60)
		e13a3	8 Kopien/Reaktion	100 % (25/25)	100 % (60/60)
		e14a2	8 Kopien/Reaktion	100 % (28/28)	100 % (60/60)
		e14a3	20 Kopien/Reaktion	100 % (25/25)	100 % (60/60)
	p230	e19a2	20 Kopien/Reaktion	100 % (25/25)	100 % (60/60)
		e19a3	50 Kopien/Reaktion	100 % (25/25)	100 % (60/60)

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 gelagert wurden, bestimmt.

Probentyp	Transport-/Lagerbedingungen
	+16 / +26 °C (Raumtemperatur)
Peripheres Blut, das in EDTA oder Natriumcitrat entnommen wurde	innerhalb von 24 Stunden und spätestens nach 48 Stunden
Hinweis: Die Proben müssen vorbehandelt wurde, um periphere Blutleukozyten (PBL) zu isolieren., bevor sie gemäß dem in der kompletten Gebrauchsanweisung beschriebenen Verfahren verwendet werden.	

Verfahren bei ELITE InGenius

Der Benutzer wird von der ELITE InGenius-Software zur Vorbereitung des Laufs Schritt für Schritt durch die grafische Benutzeroberfläche geführt. Alle Schritte: Extraktion, reverse Transkription, 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).

HINWEIS!

Bei dem Produkt BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit sollten zwei Reaktionen für jede Probe durchgeführt werden: eine mit BCR-ABL a2 PCR Mix (für BCR-ABL a2-Isoformen) und die andere mit BCR-ABL a3 PCR Mix (für BCR-ABL a3-Isoformen).

Vor der Analyse

1. ELITE InGenius einschalten. Mit dem Benutzernamen und Passwort anmelden. Den Modus „ CLOSED “ (Geschlossen) wählen.	2. Kontrollen überprüfen: BCR-ABL a2 Positive Control / BCR-ABL a3 Positive Control und BCR-ABL a2 Negative Control / BCR-ABL a3 Negative Control im Menü „Controls“ (Kontrollen). Hinweis: Alle müssen ausgeführt und genehmigt worden sein und dürfen nicht abgelaufen sein.	3. BCR-ABL a2 PCR Mix / BCR-ABL a3 PCR Mix Röhrchen auftauen. Vorsichtig vortexen. 5 Sek. herunterzentrifugieren.												
4. Das komplette Reaktionsgemisch zubereiten <table border="1" data-bbox="151 981 1038 1249"> <thead> <tr> <th>Probenanzahl (N)</th><th>BCR-ABL a2 PCR Mix und BCR-ABL a3 PCR Mix</th><th>RT EnzymeMix</th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td>$1 \leq N \leq 5$</td><td>$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$</td><td>$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$</td></tr> <tr> <td>$6 \leq N \leq 11$</td><td>$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$</td><td>$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$</td></tr> <tr> <td>$N = 12$</td><td>290 μL</td><td>4,4 μL</td></tr> </tbody> </table>			Probenanzahl (N)	BCR-ABL a2 PCR Mix und BCR-ABL a3 PCR Mix	RT EnzymeMix	$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$	$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$	$N = 12$	290 μL	4,4 μL
Probenanzahl (N)	BCR-ABL a2 PCR Mix und BCR-ABL a3 PCR Mix	RT EnzymeMix												
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$												
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$												
$N = 12$	290 μL	4,4 μL												
5. Vorsichtig vortexen 5 Sek. herunterzentrifugieren. Das komplette Reaktionsgemisch auf Eis. Keinem direkten Licht aussetzen.														

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: „100 μL “.	3. Die Proben-Barcodes mit dem tragbaren Barcodeleser scannen oder die Proben-ID eingeben.
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: BCR-ABL a2 ELITE_PBL_200_100 und BCR-ABL a3 ELITE_PBL_200_100	5. Für das a2-Assay-Protokoll: das Protokoll „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) und unter „Sample Position“ (Probenposition) „Extraction Tube“ (Extraktionsröhrchen) auswählen. Für das a3-Assay-Protokoll: das Protokoll „PCR Only“ (Nur PCR) zuweisen und unter „Sample Position“ (Probenposition) die Spur („Track“) der Probe auswählen.	6. Das komplette Reaktionsgemisch in den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden
7. Folgendes laden: PCR-Kassette, SP RNA Extraktionskartusche, DNase I-Röhrchen, 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: „100 µL“.	3. Die Proben-Barcodes mit dem tragbaren Barcodeleser scannen oder die Proben-ID eingeben.
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: BCR-ABL a2 ELITE_PBL_200_100 und BCR-ABL a3 ELITE_PBL_200_100 oder BCR-ABL a2 ELITE_PC oder BCR-ABL a3 ELITE_PC oder BCR-ABL a2 ELITE_NC oder BCR-ABL a3 ELITE_NC	5. Die Methode „PCR Only“ (Nur PCR) auswählen. Für Kontrollen und das Assay-Protokoll a2 die Probenposition „Elution Tube“ (Elutionsröhr) auswählen. Für das Assay-Protokoll a3 als Probenposition die Spur („Track“) des Eluates auswählen.	6. Das komplette Reaktionsgemisch in den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden
7. PCR-Kassettenrack und Elution tube (Elutionsröhrchen)-Rack mit der extrahierten Nukleinsäure.	8. Tür schließen. Analyselauf starten.	9. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern.

Verfahren bei ELITE BeGenius

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

HINWEIS!

Bei dem Produkt BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit sollten zwei Reaktionen für jede Probe durchgeführt werden: eine mit BCR-ABL a2 PCR Mix (für BCR-ABL a2-Isoformen) und die andere mit BCR-ABL a3 PCR Mix (für BCR-ABL a3-Isoformen).

Vor der Analyse

1. ELITE BeGenius einschalten. Mit dem Benutzernamen und Passwort anmelden. Den Modus „CLOSED“ (Geschlossen) wählen.	2. Kontrollen überprüfen: BCR-ABL a2 Positive Control / BCR-ABL a3 Positive Control und BCR-ABL a2 Negative Control / BCR-ABL a3 Negative Control im Menü „Controls“ (Kontrollen). Hinweis: Alle müssen ausgeführt und genehmigt worden sein und dürfen nicht abgelaufen sein.	3. BCR-ABL a2 PCR Mix / BCR-ABL a3 PCR Mix Röhrchen auftauen. Vorsichtig vortexen. 5 Sek. herunterzentrifugieren.
--	---	--

4. Das komplette Reaktionsgemisch zubereiten			5. Vorsichtig vortexen. 5 Sek. herunterzentrifugieren. Das komplette Reaktionsgemisch auf Eis Keinem direkten Licht aussetzen.
Probenanzahl (N)	BCR-ABL a2 PCR Mix und BCR-ABL a3 PCR Mix	RT EnzymeMix	
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{l}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{l}$	
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{l}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{l}$	
$N = 12$	290 μl	4,4 μl	
$13 \leq N \leq 18$	$(N + 3) \times 20 \mu\text{l}$	$(N + 3) \times 0,3 \mu\text{l}$	
$19 \leq N \leq 23$	$(N + 4) \times 20 \mu\text{l}$	$(N + 4) \times 0,3 \mu\text{l}$	
$N = 24$	580 μl	8,7 μl	

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 Proben in die Cooler Unit einsetzen. Die Proben-Barcodes oder die Proben-ID eingeben	3. Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingangsvolumen: „200 μL “, Elutionsvolumen: „100 μL “
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: BCR-ABL a2 ELITE_PBL_200_100 und BCR-ABL a3 ELITE_PBL_200_100	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. Das komplette Reaktionsgemisch in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsrack) laden und in die Cooler Unit einsetzen.
7. Das „PCR Rack“ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) und das „Extraction Rack“ (Extraktionsrack) mit den „ELITE InGenius SP RNA“ Extraktionskartuschen, „ELITE InGenius DNase I“-Röhrchen 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: „100 µL“.
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: BCR-ABL a2 ELITE_PBL_200_100 und BCR-ABL a3 ELITE_PBL_200_100 oder BCR-ABL a2 ELITE_PC oder BCR-ABL a3 ELITE_PC oder BCR-ABL a2 ELITE_NC oder BCR-ABL a3 ELITE_NC	5. Das komplette Reaktionsgemisch in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsrack) 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