



ELITechGroup S.p.A.  
C.so Svizzera, 185  
10149 Torino ITALY

Offices: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76 11  
E. mail: [emd.support@elitechgroup.com](mailto:emd.support@elitechgroup.com)  
WEB site: [www.elitechgroup.com](http://www.elitechgroup.com)

## NOTICE of CHANGE dated 14/11/18

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

### «CRE ELITe MGB<sup>®</sup> Kit» Ref. RTS200ING

This new revision of the Instruction for Use (IFU) contains the following changes:

- *Change of the probe used for OXA-48-like genes detection..*

### PLEASE NOTE



LA REVISIONE DI QUESTO IFU E' COMPATIBILE ANCHE CON LA VERSIONE PRECEDENTE DEL KIT



THE REVIEW OF THIS IFU IS ALSO COMPATIBLE WITH THE PREVIOUS VERSION OF THE KIT



CET IFU MIS A JOUR ANNULE ET REMPLACE ET EST PARFAITEMENT COMPATIBLE AVEC LA VERSION PRECEDENTE DU KIT



LA REVISIÓN DE ESTE IFU ES COMPATIBLE TAMBIÉN CON LA VERSIÓN ANTERIOR DEL KIT



A REVISÃO DO ESTE IFU ÉTAMBÉM COMPATÍVEL COM A VERSÃO ANTERIOR DO KIT



DIE REVIEW VON DIESER IFU IST KOMPATIBLE MIT DER VORIGE VERSION VON DEM TEST-KIT



**CRE ELITE MGB® Kit**  
Reagenz für die DNA-Amplifikation in Echtzeit

REF RTS200ING

**TESTPRINZIPIEN**

Der Assay besteht aus einer Multiplex-Echtzeit-Amplifikationsreaktion, die mit **ELITE InGenius®**, einem automatisierten und integrierten System zur Extraktion, zur Amplifikation, zum Nachweis sowie zur Ergebnisinterpretation, durchgeführt wird.

Ausgehend von aus den einzelnen zu testenden Proben extrahierter DNA werden fünf verschiedene Amplifikationsreaktionen vom **CRE PCR Mix** in der PCR Cassette durchgeführt, um die folgenden Gene, die eine Resistenz gegenüber Carbapenem-Antibiotika verleihen, zu amplifizieren:

- Gene der KPC-Familie, nachgewiesen durch die spezifische Sonde KPC (Kanal 1),
- Gene der NDM-Familie, nachgewiesen durch die spezifische Sonde NDM (Kanal 4),
- Gene der VIM-Familie, nachgewiesen durch die spezifische Sonde VIM (Kanal 4),
- Gene der IMP-Familie, nachgewiesen durch die spezifische Sonde IMP (Kanal 4),
- Gene der Familie der OXA-48-ähnlichen Gene, nachgewiesen durch die spezifische Sonde OXA (Kanal 5).

Außerdem wird auch die interne Extraktions- und Inhibitionskontrolle in der Kartusche amplifiziert. Die Internal Control basiert auf einer künstlichen Sequenz (IC2), die durch eine spezifische Sonde IC (Kanal 2) nachgewiesen wird.

Die Sonden mit TaqMan™ MGB-Technologie werden aktiviert, wenn sie mit dem spezifischen Produkt der Amplifikationsreaktion hybridisieren, und sie werden vom Taq-DNA-Polymerase-Enzym hydrolysiert. Die Fluoreszenzemission erhöht sich mit Zunahme des spezifischen Produkts der Amplifikationsreaktion und wird vom Gerät gemessen und aufgezeichnet. Durch die Verarbeitung der Daten lässt sich jegliche DNA der Carbapenem-Resistenzgene in der Ausgangsprobe nachweisen.

Der Assay wurde mit **ELITE InGenius** validiert.

**BESCHREIBUNG DES PRODUKTS**

Das Produkt „**CRE ELITE MGB® Kit**“ enthält den CRE PCR Mix, ein **gebrauchsfertiges** Komplettgemisch für die Echtzeit-Amplifikation, das in **acht Teströhrchen aliquotiert** wird. Jedes Röhrchen enthält **280 µl** Lösung, die bei Verwendung mit dem **ELITE InGenius** System für **12 Tests** unter optimalen Reagenzverbrauchsbedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf) ausreicht.

Der CRE PCR Mix enthält die spezifischen Primer und Sonde für:

- die spezifischen Primer und die Sonde für die **KPC**-Genfamilie. Die Sonde KPC (Kanal 1) ist mit FAM-Fluorophor markiert, durch die MGB®-Gruppe stabilisiert und durch einen nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht,
- die spezifischen Primer und die Sonde für die **NDM**-Genfamilie. Die Sonde NDM (Kanal 4) ist mit AP593-Fluorophor markiert, durch die MGB®-Gruppe stabilisiert und durch einen nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht,
- die spezifischen Primer und die Sonde für die **VIM**-Genfamilie. Die Sonde VIM (Kanal 4) ist mit AP593-Fluorophor markiert, durch die MGB®-Gruppe stabilisiert und durch einen nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht,
- die spezifischen Primer und die Sonde für die **IMP**-Genfamilie. Die Sonde IMP (Kanal 4) ist mit AP593-Fluorophor markiert, durch die MGB®-Gruppe stabilisiert und durch einen nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht,
- die spezifischen Primer und die Sonde für die Familie der **OXA-48-ähnlichen** Gene. Die Sonde OXA (Kanal 5) ist mit AP693-Fluorophor markiert, durch die MGB®-Gruppe stabilisiert und durch einen nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht,
- die spezifischen Primer und die Sonde für die synthetische Sequenz **IC2** der Internal Control. Die Sonde IC (Kanal 2) ist mit AP525-Fluorophor markiert, durch die MGB®-Gruppe stabilisiert und durch einen nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht,

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

**CRE ELITE MGB® Kit**  
Reagenz für die DNA-Amplifikation in Echtzeit

REF RTS200ING



**INHALTSVERZEICHNIS**

VERWENDUNGSZWECK	Seite 1
TESTPRINZIPIEN	Seite 2
BESCHREIBUNG DES PRODUKTS	Seite 2
MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN	Seite 3
ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTER MATERIALIEN	Seite 3
ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE	Seite 3
WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN	Seite 4
PROBEN UND KONTROLLEN	Seite 5
VERFAHREN	Seite 6
LEISTUNGSMERKMALE	Seite 12
QUELLENANGABEN	Seite 18
GRENZEN DES VERFAHRENS	Seite 19
FEHLERBEHEBUNG	Seite 20
SYMBOLE	Seite 22
HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ	Seite 23

**VERWENDUNGSZWECK**

Das Produkt „**CRE ELITE MGB® Kit**“ ist Teil eines qualitativen Nukleinsäure-Amplifikationstests zum Nachweis der DNA der Carbapenem-Resistenzgene **KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48-ähnlich\*** von *Enterobacteriaceae* in DNA-Proben, die aus Rektalabstrichen und Blutkulturen extrahiert wurden.

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

Für die Charakterisierung von Carbapenem-Resistenzgen-positiven *Enterobacteriaceae* ist das Produkt außerdem mit DNA-Proben, die aus Kulturisolat extrahiert wurden, kompatibel.

\* Die vollständige Liste der von diesem Produkt nachweisbaren Genvarianten ist dem Kapitel „Leistungsmerkmale“ zu entnehmen.

**CRE ELITe MGB® Kit**  
Reagenz für die DNA-Amplifikation in  
Echtzeit

REF RTS200ING

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

Das Produkt reicht aus für **96 Tests mit ELITe InGenius** einschließlich Kontrollen.

**MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE  
MATERIALIEN**

Komponente	Beschreibung	Menge	Gefahrenklasse
CRE PCR Mix	Komplettes Reaktionsgemisch	8 x 280 µl	-

**ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTER MATERIALIEN**

- Sicherheitswerkbank.
- Puderfreie Einweghandschuhe aus Nitril oder einem ähnlichen Material.
- Vortex-Mixer.
- Tisch-Mikrozentrifuge (12.000–14.000 U/min).
- Mikropipetten und sterile Spitzen mit Aerosolfilter oder sterile Direktverdrängerspitzen (0,5–10 µl, 2–20 µl, 5–50 µl, 50–200 µl, 200–1000 µl).
- Hochreines Wasser für die Molekularbiologie.

**ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE**

Die Reagenzien für die Extraktion von DNA aus den zu analysierenden Proben, die interne Extraktions- und Inhibitionskontrolle, die Amplifikations-Positive-Control und die Verbrauchsmaterialien sind **nicht** in diesem Produkt enthalten.

Für die automatische DNA-Extraktion, Echtzeit-Amplifikation und Ergebnisinterpretation der zu analysierenden Proben werden das Gerät **«ELITe InGenius»** (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT030) und die folgenden spezifischen Assay Protocols (Assay-Protokolle) (ELITechGroup S.p.A) benötigt:

- Parameter für die Amplifikation der Positive Control „**CRE ELITe\_PC**“,
- Parameter für die Amplifikation der Negative Control „**CRE ELITe\_NC**“,
- Parameter für zu analysierende Proben „**CRE ELITe\_RcS\_200\_100**“ und „**CRE ELITe\_BC\_200\_100**“.

Bei dem Gerät „**ELITe InGenius**“ werden die folgenden generischen Produkte benötigt:

- Extraktionskartuschen „**ELITe InGenius® SP 200**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT032SP200),
- Verbrauchsmaterialien für die Extraktion und Amplifikation „**ELITe InGenius® SP 200 Consumable Set**“ (ELITechGroup S.p.A, Art.-Nr. INT032CS),
- Amplifikationskartuschen „**ELITe InGenius® PCR Cassette**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT035PCR),
- Spitzen „**300 µL Universal Fit Filter Tips**“ (Axygen BioScience Inc., CA, USA, Art.-Nr. TF-350-L-R-S),
- Abfallboxen „**ELITe InGenius® Waste Box**“ (ELITechGroup S.p.A, Art.-Nr. F2102-000).

Als Vorlage für die Internal Control der Extraktion und Inhibition wird das generische Produkt „**CPE - Internal Control**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. CTRCPE) benötigt. Dabei handelt es sich um eine stabilisierte Lösung, die zwei Plasmid-DNAs und die genomische RNA des MS2-Phagen enthält.

Als Vorlage für die Amplifikations-Positive-Control wird das spezifische Produkt „**CRE - ELITe Positive Control**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. CTR200ING), benötigt. Dabei handelt es sich um eine stabilisierte Lösung mit Plasmid-DNAs.

**CRE ELITe MGB® Kit**  
Reagenz für die DNA-Amplifikation in  
Echtzeit

REF RTS200ING

Als Entnahmevorrichtung für Rektalabstrichproben werden die folgenden generischen Produkte empfohlen:

- eNAT™ Kit (COPAN Italia S.p.A., Art.-Nr. 606CS01R), Abstrich und Fläschchen mit 2 ml Medium,
- FecalSwab™ (COPAN Italia S.p.A., Art.-Nr. 470CE), Abstrich und Fläschchen mit 2 ml Medium.

**WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN**

Dieses Produkt ist ausschließlich für die *In-vitro*-Anwendung bestimmt.

**Allgemeine Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen**

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

Alle zur Durchführung des Tests verwendeten Reagenzien und Materialien sind so zu handhaben und zu entsorgen, als wären sie potenziell 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.

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 Durchführung des Tests alle dem Produkt beiliegenden Anweisungen aufmerksam lesen.

Während der Durchführung des Assays alle mit dem Produkt bereitgestellten Anweisungen befolgen. Das Produkt nicht nach dem angegebenen Ablaufdatum verwenden.

Nur die mit dem Produkt mitgelieferten bzw. vom Hersteller empfohlenen Reagenzien verwenden.

Keine Reagenzien aus unterschiedlichen Chargen verwenden.

Keine Reagenzien anderer Hersteller verwenden.

**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 die Zersetzung der in den Proben enthaltenen Nukleinsäuren oder die Kontamination der Proben durch Amplifikationsprodukte.

Für die Einrichtung des Arbeitslaufs werden dafür vorgesehene Laborkittel, Schutzhandschuhe und Hilfsmittel benötigt.

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, frei von DNasen und RNasen sowie frei von DNA und RNA sein.

Die PCR Cassettes müssen so gehandhabt werden, dass die Diffusion von Amplifikationsprodukten in die Umgebung so weit wie möglich reduziert wird, um eine Kontamination der Proben und Reagenzien zu vermeiden.

**Komponentenspezifische Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen**

Der **CRE PCR Mix** muss bei -20 °C dunkel aufbewahrt werden.

Der **CRE PCR Mix** darf maximal **vier Mal** eingefroren und wieder aufgetaut werden; weitere Gefrier- und Auftauzyklen können zu einem Verlust der Produktleistung führen.

**PROBEN UND KONTROLLEN**

**Proben**

Dieses Produkt darf ausschließlich mit den folgenden klinischen Proben verwendet werden:

**In eNAT™ Kit entnommene Rektalabstriche**

Es wird empfohlen, die Rektalabstriche für die DNA-Extraktion in eNAT™ Kit zu entnehmen und gemäß den Laborrichtlinien zu identifizieren. Außerdem dürfen sie maximal 4 Wochen bei +2 bis +8 °C transportiert und aufbewahrt werden; anderenfalls müssen sie tiefgefroren bei -20 °C für maximal sechs Monate oder bei -70 °C für längere Zeit aufbewahrt werden. Vor der Analyse mit diesem Produkt müssen 0,2 ml Probe in eNAT™ Medium in das im „ELITe InGenius® SP 200 Consumable Set“ enthaltene Ultraschallröhrchen überführt werden.

**In FecalSwab™ Kit entnommene Rektalabstriche**

Es wird empfohlen, Rektalabstriche für die DNA-Extraktion in FecalSwab™ zu entnehmen und gemäß den Laborrichtlinien zu identifizieren. Sie dürfen maximal drei Tage bei +2 bis +8 °C transportiert und aufbewahrt werden. Vor der Analyse mit diesem Produkt müssen 0,5 ml Probe in FecalSwab™ Medium in ein frisches eNAT™ Röhrchen mit 2,0 ml Medium überführt und durch Vortexen gemischt werden. Die in eNAT™ Medium verdünnten Proben dürfen maximal 4 Wochen bei +2 bis +8 °C bzw. tiefgefroren bei -20 °C für maximal sechs Monate oder bei -70 °C für längere Zeit aufbewahrt werden. Nach Zugabe von 0,5 ml Probe in FecalSwab™ Medium kann das eNAT™ Röhrchen als Primärröhrchen direkt in das System geladen werden.

**Hinweis:** Wird die DNA-Extraktion aus Rektalabstrichen mit dem **ELITe InGenius** und der **ELITe InGenius® Software**, Version 1.2 (oder entsprechende spätere Versionen) durchgeführt, ist das Assay Protocol (Assay-Protokoll) **CRE ELITe RcS\_200\_100** zu verwenden. Dieses Protokoll verarbeitet 200 µl Probe, fügt die **CPE Internal Control** bei 10 µl/Extraktion hinzu und eluiert die Nucleinsäuren in 100 µl.

**Blutkultur**

Die Blutkulturproben müssen gemäß den Laborrichtlinien identifiziert werden. Die Proben dürfen maximal 24 Stunden bei Raumtemperatur transportiert und aufbewahrt werden.

Vor der Analyse mit diesem Produkt die Probe im Verhältnis 1:1000 in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie (mindestens 10 µl Probe in 10 µl hochreinem Wasser) auflösen, durch Vortexen mischen und 0,2 ml der verdünnten Proben in ein Ultraschallröhrchen (im „ELITe InGenius® SP 200 Consumable Set“ enthalten) überführen.

**Hinweis:** Wird die Nucleinsäureextraktion aus Blutkultur mit dem **ELITe InGenius** und der **ELITe InGenius® Software**, Version 1.2 (oder entsprechende spätere Versionen) durchgeführt, ist das Extraktionsprotokoll **CRE ELITe BC\_200\_100** zu verwenden. Dieses Protokoll verarbeitet 200 µl Probe, fügt den **CPE** bei 10 µl / Extraktion hinzu und eluiert die Nucleinsäuren in 100 µl.

Dieses Produkt wurde für die Verwendung mit den folgenden klinischen Proben kompatibel:

**Kulturisolate**

Vor der Analyse mit diesem Produkt die Probe in einem frischen eNAT™ Röhrchen mit 2,0 ml Medium verdünnen. Hierzu mit einer Impföse ein Aliquot der isolierten Kolonie entnehmen, vortexen und 0,2 ml der verdünnten Probe in das mit dem „ELITe InGenius SP 200 Consumable Set“ mitgelieferte Ultraschallröhrchen überführen.

**Hinweis:** Wird die Nucleinsäureextraktion aus Kulturisolaten mit dem **ELITe InGenius** und der **ELITe InGenius® Software**, Version 1.2 (oder entsprechende spätere Versionen) durchgeführt, sind die Extraktionsprotokolle **CRE ELITe BC\_200\_100** zu verwenden. Dieses Protokoll verarbeitet 200 µl Probe, fügt den **CPE** bei 10 µl / Extraktion hinzu und eluiert die Nucleinsäuren in 100 µl.

**Störende Substanzen**

Verfügbare Daten zu einer Inhibition durch Arzneimittel und andere Substanzen sind im Abschnitt „Störende Substanzen“ des Kapitels „Leistungsmerkmale“ aufgeführt.

**Hinweis:** Ein hoher Gehalt an mit dem Rektalabstrich entnommener Fäkalmatrix (Probe mit starker Trübung) kann den Assay hemmen.

**Amplifikationskontrollen**

Vor der Analyse von Proben ist es unbedingt erforderlich, die Amplifikationskontrollen für die verwendete Amplifikationsreagenz-Charge zu generieren und zu genehmigen:

- als Amplifikations-Positive Control ist das Produkt **CRE - ELITe Positive Control** (nicht im Lieferumfang dieses Kits enthalten) zusammen mit dem Assay Protocol (Assay-Protokoll) **CRE ELITe\_PC** zu verwenden,
- als Amplifikations-Negative Control ist hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) zusammen mit dem Assay Protocol (Assay-Protokoll) **CRE ELITe\_NC** zu verwenden.

**Hinweis:** Das System **ELITe InGenius** benötigt für jede in seiner Datenbank gespeicherte Amplifikationsreagenzcharge genehmigte und gültige Ergebnisse aus Amplifikationskontrollen. Die genehmigten und in der Datenbank gespeicherten Ergebnisse der Amplifikationskontrolle laufen **nach 15 Tagen** ab. Am Ablaufdatum müssen die Positive Control und Negative Control zusammen mit der verwendeten Amplifikationsreagenzcharge erneut verarbeitet werden.

Darüber hinaus müssen die Amplifikationskontrollen erneut generiert werden, wenn:

- eine neue Charge von Amplifikationsreagenzien gestartet wird,
- die Ergebnisse der Qualitätskontrollanalyse (siehe nächster Abschnitt) außerhalb der Spezifikation liegen,
- eine größere Wartung am **ELITe InGenius**-Gerät durchgeführt wird.

**Qualitätskontrollen**

Es wird empfohlen, das gesamte Analyseverfahren, die Extraktion und Amplifikation, durch Testen als Prozesskontrollen, d. h. einer negativ getesteten und einer positiv getesteten Probe bzw. eines kalibrierten Referenzmaterials, zu validieren.

**VERFAHREN**

Das beim Gebrauch des **CRE ELITe MGB® Kit** mit dem **ELITe InGenius** System anzuwendende Verfahren besteht aus drei Schritten:

- Prüfung der Systembereitschaft,
- Einrichtung des Laufs,
- Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse.

**Prüfung der Systembereitschaft**

Vor Beginn des Laufs gemäß der Gerätedokumentation muss Folgendes durchgeführt werden:

- **ELITe InGenius** einschalten und den Anmeldemodus „**CLOSED**“ (geschlossen) auswählen.
- prüfen, ob die Amplifikationskontrollen (Controls, CRE Positive Control, CRE Negative Control) zusammen mit der zu verwendenden Amplifikationsreagenzcharge ausgeführt und genehmigt wurden und noch nicht abgelaufen sind (Status). Liegen keine genehmigten oder gültigen Amplifikationskontrollen vor, sind diese wie in den folgenden Abschnitten beschrieben auszuführen.
- den Typ des Laufs auswählen, dazu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche zur Einrichtung des Laufs befolgen und die von ELITechGroup S.p.A. bereitgestellten Assay Protocols (Assay-Protokolle) verwenden. Diese IVD-Protokolle wurden speziell mit **ELITe MGB® Kits**, dem Gerät **ELITe InGenius** und der genannten Matrix validiert.

Das für das Testen von Proben mit dem Produkt **CRE ELITe MGB® Kit** verfügbare Assay Protocol (Assay-Protokoll) ist in der nachfolgenden Tabelle beschrieben.

<b>Assay Protocol (Assay-Protokoll) für CRE ELITe MGB® Kit</b>			
<b>Name</b>	<b>Matrix</b>	<b>Melden Sie</b>	<b>Eigenschaften</b>
<b>CRE ELITe RcS_200_100</b>	Rektalabstrich	Positiv/negativ	Extraktion Eingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl

Assay Protocol (Assay-Protokoll) für CRE ELITE MGB® Kit			
Name	Matrix	Melden Sie	Eigenschaften
CRE ELITE_BC_200_100	Blutkultur	Positiv/negativ	Extraktion Eingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl

Falls das betreffende Assay Protocol (Assay-Protokoll) nicht im System geladen ist, wenden Sie sich an Ihren ELITechGroup Kundendienstvertreter vor Ort.

#### Einrichtung des Laufs

Das Produkt **CRE ELITE MGB® Kit** kann mit dem System **ELITE InGenius** für die Durchführung der folgenden Läufe verwendet werden:

- A. Integrierter Lauf (Extraktion + PCR),
- B. Amplifikationslauf (nur PCR),
- C. Amplifikationslauf für die Positive Control und Negative Control (nur PCR).

Alle für den Lauf benötigten Parameter sind in dem auf dem Gerät verfügbaren Assay Protocol (Assay-Protokoll) enthalten und werden bei Auswahl des Assay-Protokolls automatisch abgerufen.

**Hinweis:** Das ELITE InGenius System kann mit dem Laborinformationssystem (LIS, Laboratory Information System) verbunden werden, über das die Arbeitslauf-Informationen geladen werden können. Weitere Informationen finden Sie im Benutzerhandbuch des Geräts.

Die wichtigsten Schritte für die Einrichtung der drei Durchlaufstypen sind nachfolgend beschrieben.

#### A. Integrierter Lauf

Zur Einrichtung eines integrierten Laufs mit Probenextraktion und -amplifikation führen Sie die folgenden Schritte durch, wie auf der grafischen Benutzeroberfläche angegeben:

1. Die CRE PCR Mix-Röhrchen für den Lauf auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Reaktionen unter optimalen Reagenzverbrauchsbedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.

**Hinweis:** CRE PCR Mix im Dunkeln auftauen, da dieses Reagenz lichtempfindlich ist.

2. Die CPE-Röhrchen für den Lauf auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Extraktionen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
3. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
4. Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.
5. Für jede relevante Spur unter „SampleID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.
6. Das zu verwendende Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ auswählen (d. h. CRE ELITE\_RcS\_200\_100).
7. Sicherstellen, dass das „Protocol“ (Protokoll) angezeigt wird: „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR).
8. Die Proben-Ladepositionen in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) auswählen:
  - wird ein Primärröhrchen verwendet, „Primary Tube“ (Primärröhrchen) auswählen.
  - wird ein Sekundärröhrchen verwendet, „Sonication Tube“ (Ultraschallröhrchen) auswählen.
 Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
9. CPE und CRE PCR Mix auf den unter „Inventory Block“ (Bestandsmanager) ausgewählten Bestandsblock laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf die Schaltfläche „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.

10. Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) ausgewählten Inventarbereich laden und kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf die Schaltfläche „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
11. Die PCR Cassettes, die Extraktionskartuschen „ELITE InGenius SP 200“, alle benötigten Verbrauchsmaterialien und die zu extrahierenden Proben laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
12. Schließen Sie die Gerätetür.
13. Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

Nach Beendigung des Vorgangs ermöglicht das System **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“ (Elutionsröhrchen) aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen, gekennzeichnet und bei -20 °C gelagert werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

**Hinweis:** Am Ende des Laufs müssen die PCR Cassettes mit den Reaktionsprodukten und die Verbrauchsmaterialien aus dem Gerät entfernt und ohne Kontamination der Umwelt entsorgt werden. Ein Verschütten der Reaktionsprodukte vermeiden.

**Hinweis:** Der PCR Mix kann für bis zu **4 Arbeitsläufe** von jeweils 3 Stunden im gekühlten Block des Geräts verbleiben.

#### B. Amplifikationslauf

Zum Einrichten eines Amplifikationslaufs ab den extrahierten Nukleinsäuren die folgenden Schritte ausführen, wie auf der grafischen Benutzeroberfläche angegeben:

1. Die CRE PCR Mix-Röhrchen für den Lauf auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Reaktionen unter optimalen Reagenzverbrauchsbedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.

**Hinweis:** CRE PCR Mix im Dunkeln auftauen, da dieses Reagenz lichtempfindlich ist.

2. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
3. Selbst wenn keine Extraktion durchgeführt wird, sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.
4. Für jede relevante Spur die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.
5. Das zu verwendende Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ auswählen (d. h. CRE ELITE\_RcS\_200\_100).
6. In der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) auswählen.
7. Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr [untere Reihe]) lautet. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
8. Den CRE PCR Mix auf den unter „Inventory Block“ (Bestandsmanager) ausgewählten Bestandsblock laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
9. Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) ausgewählten Inventarbereich laden und kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
10. Die PCR Cassettes und die extrahierte Nukleinsäure-Proben gemäß den Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche laden. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
11. Schließen Sie die Gerätetür.

12. Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

Nach Beendigung des Vorgangs ermöglicht das System **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“ (Elutionsröhrchen) aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und bei -20 °C gelagert werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

**Hinweis:** Am Ende des Laufs müssen die PCR Cassettes mit den Reaktionsprodukten und die Verbrauchsmaterialien aus dem Gerät entfernt und ohne Kontamination der Umwelt entsorgt werden. Ein Verschütten der Reaktionsprodukte vermeiden.

**Hinweis:** Der PCR Mix kann für bis zu **4 Arbeitsläufe** von jeweils 3 Stunden im gekühlten Block des Geräts verbleiben.

### C. Amplifikationslauf für Positive Control und Negative Control

Zur Einrichtung des Amplifikationslaufs für die Positive Control und Negative Control führen Sie die folgenden Schritte durch, wie auf der grafischen Benutzeroberfläche angegeben:

1. Die CRE PCR Mix-Röhrchen für den Lauf auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für die Vorbereitung von 12 Reaktionen unter optimalen Reagenzverbrauchsbedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.

**Hinweis:** CRE PCR Mix im Dunkeln auftauen, da dieses Reagenz lichtempfindlich ist.

2. Das CRE - Positive Control Röhrchen für den Lauf auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 4 Läufe. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
3. Mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie in ein Elutionsröhrchen (im Lieferumfang des ELITe InGenius SP 200 Consumable Set enthalten) überführen.
4. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
5. Selbst wenn keine Extraktion durchgeführt wird, sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.
6. In der relevanten Spur das zu verwendende Assay Protocol in der Spalte „Assay“ auswählen.
7. Für die Positive Control „CRE ELITe\_PC“ in der Spalte „Assay“ auswählen und die Chargennummer und das Ablaufdatum für die CRE - Positive Control eintragen,
8. Für die Negative Control „CRE ELITe\_NC“ auswählen und die Chargennummer und das Ablaufdatum für das hochreine Wasser für die Molekularbiologie eintragen.
9. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
10. Den CRE PCR Mix auf den unter „Inventory Block“ (Bestandsmanager) ausgewählten Bestandsblock laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
11. Die „Tip Racks“ (Spitzenständer) in den unter „Inventory Area“ (Inventarbereich) ausgewählten Bestandsbereich laden/kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
12. PCR Cassettes, das Röhrchen CRE - Positive Control und das Röhrchen mit Wasser für die Molekularbiologie (CRE Negative Control) gemäß den Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche laden. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
13. Schließen Sie die Gerätetür.
14. Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

Nach Beendigung des Vorgangs ermöglicht das System **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 Positive Control aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und bei -20 °C gelagert werden. Ein Verschütten der Positive Control vermeiden. Die übrige Negative Control muss entsorgt werden.

**Hinweis:** Am Ende des Laufs müssen die PCR Cassettes mit den Reaktionsprodukten und Verbrauchsmaterialien aus dem Gerät entfernt und ohne Kontamination der Umwelt entsorgt werden. Ein Verschütten der Reaktionsprodukte vermeiden.

**Hinweis:** Der PCR Mix kann für bis zu **4 Arbeitsläufe** von jeweils 3 Stunden im gekühlten Block des Geräts verbleiben.

### Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

Am Ende des Laufs wird der Bildschirm „Results Display“ (Ergebnisanzeige) automatisch angezeigt. Auf diesem Bildschirm werden die Proben-/Kontrollergebnisse sowie die Informationen zum Lauf angezeigt. Über diesen Bildschirm kann das Ergebnis genehmigt und können die Berichte („Sample Report“ (Probenbericht) oder „Track Report“ (Spurbericht)) ausgedruckt oder gespeichert werden. Weitere Informationen finden Sie im Benutzerhandbuch des Geräts.

**Hinweis:** Das ELITe InGenius System kann mit dem Laborinformationssystem (LIS) verbunden werden, über das die Arbeitslauf-Ergebnisse an das Rechenzentrum des Labors gesendet werden können. Weitere Informationen finden Sie im Benutzerhandbuch des Geräts.

Das **ELITe InGenius** System generiert die Ergebnisse mithilfe des Produkts **CRE ELITe MGB® Kit** und geht dabei folgendermaßen vor:

- A. Validierung der Ergebnisse des Amplifikationslaufs für die Positive Control und Negative Control,
- B. Validierung der Probenergebnisse,
- C. Ausgabe des Probenergebnisberichts.

#### A. Validierung der Ergebnisse des Amplifikationslaufs für die Positivkontrolle und Negativkontrolle

Die von den Sonden für Resistenzgene (Kanäle **KPC**, **NDM VIM IMP** und **OXA**) in der Amplifikationsreaktion der Positive Control und Negative Control ausgesendeten Fluoreszenzsignale werden automatisch analysiert und von der ELITe InGenius Software mit den in den Assay protocols (Assay-Protokolle) „CRE ELITe\_PC“ und „CRE ELITe\_NC“ enthaltenen Parametern interpretiert.

Die Ergebnisse des Amplifikationslaufs für die Positive Control und Negative Control, die für die verwendete Amplifikationsreagenziencharge 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 für die Amplifikationsreagenziencharge spezifischen Ergebnisse des Amplifikationslaufs für die Positive Control und Negative Control laufen **nach 15 Tagen** ab.

Die Ergebnisse der Amplifikationsläufe für die Positive Control und Negative Control werden von der Gerätesoftware verwendet, um die Regelkarten („Control Charts“) einzurichten und die Leistung der Amplifikationsstufen zu überwachen. Weitere Informationen finden Sie im Benutzerhandbuch des Geräts.

**Hinweis:** Erfüllt das Ergebnis des Amplifikationslaufs für die Positive Control bzw. Negative Control nicht die Annahmekriterien, wird die Meldung „Failed“ (nicht bestanden) im Bildschirm „Controls“ angezeigt und das Ergebnis kann nicht genehmigt werden. In diesem Fall müssen die Amplifikationsreaktionen der Positive Control bzw. Negative Control wiederholt werden.

**Hinweis:** Wird die Positive Control bzw. Negative Control zusammen mit zu testenden Proben ausgeführt und ist ihr Ergebnis ungültig, so ist der gesamte Lauf ungültig. In diesem Fall muss die Amplifikation aller Proben ebenfalls wiederholt werden.

**B. Validierung der Probenergebnisse**

Die von den Sonden für Resistenzgene (Kanäle **KPC**, **NDM VIM IMP** und **OXA**) und von der Sonde der Internal Control (Kanal IC) in den Amplifikationsreaktionen der Probe ausgesendeten Fluoreszenzsignale werden automatisch analysiert und von der ELITe InGenius Software mit dem Assay Protocol (Assay-Protokoll) „CRE ELITe\_RcS\_200\_100“ enthaltenen Parametern interpretiert.

Die Ergebnisse werden in den vom Gerät generierten Berichten („Result Display“ (Ergebnisanzeige)) angezeigt.

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

<b>1) Positivkontrolle</b>	<b>„Status“</b>
CRE Positive Control	APPROVED (Genehmigt)
<b>2) Negativkontrolle</b>	<b>„Status“</b>
CRE Negative Control	APPROVED (Genehmigt)

Das System interpretiert das Assayergebnis für jede Probe automatisch gemäß dem Algorithmus der ELITe InGenius Software und den Parametern des Assay Protocol.

Die möglichen Ergebnismeldungen sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt. Für jede gültige Probe gibt das System eine Kombination aus drei Meldungen aus, die angeben, ob die CRE-Gene nachgewiesen wurden oder nicht.

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

Nicht für die Ergebnisinterpretation geeignete Proben werden von der **ELITe InGenius Software** als „Invalid - Retest Sample“ (Ungültig - Probe erneut testen) ausgegeben. In diesem Fall wurde die Internal Control-DNA aufgrund von Problemen beim Amplifikations- oder Extraktionsschritt nicht effizient erkannt (Abbau von DNA, Verlust von DNA während der Extraktion oder Verschleppung von Inhibitoren im Eluat), was zu falsch-negativen Ergebnissen führen kann.

Wenn das Eluatvolumen ausreicht, kann die extrahierte Probe mithilfe eines Amplifikationslaufs im Modus „PCR Only“ (nur PCR) erneut getestet werden. Ist auch das zweite Ergebnis ungültig, muss die Probe beginnend mit der Extraktion eines neuen Aliquots im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) erneut getestet werden.

Proben, die sich für die Analyse eignen, in denen jedoch keine Resistenzgen-DNA erkannt werden konnte, werden ausgegeben mit: „KPC, NDM, VIM, IMP or OXA DNA Not Detected or below LoD“. (KPC-, NDM-, VIM-, IMP- oder OXA-DNA Nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze) In diesem Fall kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Resistenzgen-DNA bei einer Konzentration unter der Nachweisgrenze des Tests vorhanden ist (siehe „Leistungsmerkmale“).

**Hinweis:** Bei der Interpretation der mit diesem Test erhaltenen Ergebnisse müssen alle klinischen Daten und sonstigen Laborbefunde des Patienten berücksichtigt werden.

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

**C. Ausgabe des Probenergebnisberichts**

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

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

Der „Track Report“ zeigt die Details eines Arbeitslaufs nach ausgewählter Spur an.

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

**LEISTUNGSMERKMALE**

**Nachweisgrenze (LoD)**

Die Nachweisgrenze (LoD) des CRE ELITe MGB® Kit bei Verwendung in Verbindung mit resuspendierten Rektalabstrichproben und dem ELITe InGenius® System wurde durch Testen von 6 CRE-Stämmen, jeweils einem der folgenden Gentyphen, verifiziert: KPC, IMP, VIM, NDM, OXA-48 und OXA-181. Die CRE-Organismen wurden mittels Ausplattieren gezüchtet und mittels Keimzahlbestimmung quantifiziert. Mindestens 6 Verdünnungsstufen jedes Stamms, beginnend mit der Konzentration über der erwarteten LoD, wurden in negativer Rektalmatrix zubereitet. Replikate der einzelnen Verdünnungsstufen wurden mit dem ELITe InGenius® System im Modus „Extraction + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet. Die LoD für jeden der CRE-Stämme wurde mittels binärer logistischer Regressionsanalyse der Daten als die Konzentration geschätzt, bei der eine 95%ige Wahrscheinlichkeit eines positiven Ergebnisses vorliegt. Die geschätzte LoD wurde durch Analyse von 20 Replikaten von Verdünnungen der einzelnen Organismen in der entsprechenden Konzentration bestätigt.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

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

**CRE ELITe MGB® Kit**  
Reagenz für die DNA-Amplifikation in  
Echtzeit

REF RTS200ING

**Nachweiseffizienz (Inklusivität)**

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

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

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

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

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

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

**CRE ELITe MGB® Kit**  
Reagenz für die DNA-Amplifikation in  
Echtzeit

REF RTS200ING

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

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

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	Anzahl	positiv	negativ	ungültig
KPC-positive Kulturisolate	22	22	0	0
Für OXA-48-ähnliche Gene positive Kulturisolate	35	35	0	0
NDM-positive Kulturisolate	23	23	0	0
IMP-positive Kulturisolate	11	11	0	0
VIM-positive Kulturisolate	17	17	0	0
Für OXA-48-ähnliche Gene und NDM positive Kulturisolate	6	6	0	0

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

**Potenziell interferierende Marker**

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

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

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

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

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

**Störende Substanzen**

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

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

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

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

**Wiederholpräzision**

Die Wiederholpräzision des CRE ELITE MGB® Kits wurde in Form einer Intra-Lauf-Genauigkeit in Verbindung mit dem ELITE InGenius-System getestet. Hierzu wurden 3 Läufe/Tag über 5 Tage mit zwei Reihen mit 4 Elementen in 3 Replikaten/Lauf durchgeführt. Die erste Reihe enthielt drei positive Proben (CRE-Stämme KPC + NDM + OXA, VIM und IMP in niedriger Konzentration) und eine negative Probe. Die zweite Reihe mit denselben Organismen in moderater Konzentration und eine negative Probe wurden analog getestet.

Die Ergebnisse als Ct-Werte für jedes CRE-Zielgen (und Internal Control) sowie jede Konzentration einzeln wurden mithilfe des ANOVA-Verfahrens analysiert.

Es wurde festgestellt, dass die Intra-Lauf-Genauigkeit die Hauptkomponente der laborinternen Ungenauigkeit ist. Die Variabilität des CRE ELITE MGB® Kits für jedes CRE-Zielgen überstieg jedoch nicht einen prozentualen Variabilitätskoeffizienten (VK %) von 2,0 %.

Die Ergebnisse sind nachfolgend zusammengefasst.

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

**Vergleichspräzision**

Die Vergleichspräzision des CRE ELITE MGB® Kits wurde als „Charge-zu-Charge“- und „Gerät-zu-Gerät“-Variabilität in Verbindung mit dem ELITE InGenius-System getestet. Hierzu wurden von 2 Bedienern auf 3 Geräten über 8 Tage 2 Läufe/Tag mit 3 Produktchargen und zwei Reihen mit 3 Elementen in 2 Replikaten/Lauf durchgeführt. Die erste Reihe enthielt drei positive Proben (CRE-Stämme KPC + NDM + OXA, VIM und IMP in niedriger Konzentration). Die zweite Reihe mit denselben Organismen in moderater Konzentration wurde analog getestet.

Eine zweite Untersuchung wurde von 2 Bedienern durchgeführt, indem 3 Läufe/Tag für 1 Tag auf 3 Geräten mit 3 Produktchargen und mit einer negativen Probe in 4 Wiederholungen/Lauf durchgeführt wurden.

Die Ergebnisse als Ct-Werte für jedes CRE-Zielgen (und Internal Control) sowie jede Konzentration einzeln wurden mithilfe des ANOVA-Verfahrens analysiert.

Es wurde festgestellt, dass die Auswirkungen von Gerät und Produktcharge durchweg statistisch signifikant waren. Die Variabilität des CRE ELITE MGB® Kits für jedes CRE-Zielgen überstieg jedoch nicht einen VK % von 2,3 %.

Die Ergebnisse sind nachfolgend zusammengefasst.

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

**Nichtvorhandensein von Kreuzkontamination**

Das Nichtvorhandensein einer Kreuzkontamination von positiven zu negativen Proben oder einer Verschleppung von einem Lauf in einen anderen wurde anhand von 3 integrierten Läufen (DNA-Extraktion aus dem Primärrohrchen gefolgt von PCR), in denen 6 hoch KPC-positive Proben mit 10<sup>6</sup> KbE/ mL in eNAT-Medium abwechselnd mit 6 negativen Proben von eNAT-Medium untersucht wurden, überprüft.

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

**Fehlerrate des Gesamtsystems**

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

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

Alle getesteten Proben fielen mit dem CRE ELITE MGB® Kit positiv aus.

**Diagnostische Sensitivität: Bestätigung positiver Proben**

Die diagnostische Sensitivität des Assays als Bestätigung positiver klinischer Proben wurde durch die Analyse einiger CRE-positiver Rektalabstrichproben und einiger mit CRE-Isolaten versetzter Rektalabstrichproben bewertet, da es schwierig war, eine signifikante Anzahl positiver klinischer Proben für jedes CRE-Zielgen zu finden.

Die 30 positiven Rektalabstrichproben wurden durch eine Kulturmethode (Carba Smart medium, bioMérieux) identifiziert und durch einen validierten firmeneigenen MALDI-TOF-Assay und einen Real-Time PCR-Assay charakterisiert.

Die anderen 120 Rektalabstrichproben wurden mit der Kulturmethode als negativ identifiziert und anschließend mit 10 CRE-Stämmen dotiert, jeweils zwei der folgenden Gentypen: KPC, IMP, VIM, NDM, OXA-48-ähnlich. Für jeden Stamm wurden 12 Proben analysiert.

Die Proben wurden im FecalSWAB™ entnommen, im eNAT™ Kit verdünnt und dann mit dem CRE ELITe MGB® Kit und dem ELITe InGenius System im Modus „Extraction + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

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

Alle bis auf zwei der getesteten Proben fielen mit dem CRE ELITe MGB® Kit positiv aus. Die zwei Proben (CAR.50 und CAR.84) ergaben ein ungültiges Ergebnis und wiesen eine starke Trübung auf. Ein erneuter Test der verdünnten Proben lieferte ein negatives Ergebnis für CAR.50 (mit Isolat B1 KPC-2 dotiert) und ein positives Ergebnis für CAR.84 (mit Isolat VIM-4 dotiert). Bei diesem Test lag die Sensitivität bei 99,3 %.

Die diagnostische Sensitivität des Assays als Bestätigung positiver klinischer Proben wurde auch durch die Analyse einiger CRE-positiver Blutkulturproben und einiger mit CRE-Isolaten dotierter Blutkulturproben bewertet, da es schwierig war, eine signifikante Anzahl positiver klinischer Proben für jedes CRE-Zielgen zu finden.

Die 29 Blutkulturproben wurden mittels Mikroskop und Kulturmethode identifiziert und mit einem MALDI-TOF-Assay charakterisiert.

Die anderen 20 Blutkulturproben wurden mit der Kulturmethode als negativ identifiziert und anschließend mit 4 CRE-Stämmen der folgenden Gentypen dotiert: OXA-48, NDM, VIM und IMP. Für jeden Stamm wurden 5 Proben analysiert.

Die Proben wurden in hochreinem Wasser verdünnt und dann mit dem CRE ELITe MGB® Kit und dem ELITe InGenius System im Modus „Extraction + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	Anzahl	positiv	negativ	ungültig
KPC-positive Blutkultur	16	16	0	0
OXA-48-positive Blutkultur	5	5	0	0
NDM-positive Blutkultur	4	4	0	0
IMP-positive Blutkultur	2	2	0	0
VIM-positive Blutkultur	2	2	0	0
OXA-48-dotierte Blutkultur	5	5	0	0
NDM-dotierte Blutkultur	5	5	0	0
VIM-dotierte Blutkultur	5	5	0	0
IMP-dotierte Blutkultur	5	5	0	0

Alle Proben wurden mit dem CRE ELITe MGB® Kit positiv getestet. Bei diesem Test lag die Sensitivität bei 100 %.

**Diagnostische Spezifität: Bestätigung negativer Proben**

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

52 negative Rektalabstrichproben wurden mit der Kulturmethode (Carba Smart medium, bioMérieux) identifiziert.

Die 45 Blutkulturen wiesen nach 36 Stunden ein negatives Wachstum auf.

Die Rektalabstrichproben wurden im FecalSWAB™ entnommen, im eNAT™ Kit verdünnt und dann mit dem CRE ELITe MGB® Kit und dem ELITe InGenius System im Modus „Extraction + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Blutkulturproben wurden in hochreinem Wasser verdünnt und dann mit dem CRE ELITe MGB® Kit und dem ELITe InGenius System im Modus „Extraction + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	Anzahl	positiv	negativ	ungültig
CRE-negativer Rektalabstrich	52	0	52	0
CRE-negative Blutkultur	45	2	43	0

In der ersten Analyse wurden 51 Proben von Rektalabstrichen mit dem CRE ELITe MGB® Kit negativ getestet. Eine Probe erwies sich als ungültig (CAR.31) und hatte eine starke Trübung. Diese verdünnte und erneut getestete Probe fiel negativ aus. Bei diesem Test betrug die Spezifität des Assays 100 %.

Alle mit dem CRE ELITe MGB® Kit getesteten Blutkulturproben waren gültig. Dreiundvierzig (43) von 45 Proben wurden als negativ bestätigt, zwei Proben fielen mit einem Ct-Wert nahe der Nachweisgrenze der Methode positiv aus. Bei diesem Test lag die Spezifität bei 96 %.

**Hinweis:** Die vollständigen Daten und Ergebnisse der Tests, die zur Bewertung der Leistungsmerkmale des Produkts mit Matrizes und dem Gerät durchgeführt wurden, sind in der technischen Dokumentation „CRE ELITe MGB® Kit“, FTP RTS200ING, aufgeführt.

**QUELLENANGABEN**

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

**GRENZEN DES VERFAHRENS**

Dieses Produkt darf nur mit DNA verwendet werden, die aus den folgenden klinischen Proben extrahiert wurde: Rektalabstriche und Blutkulturen.

Keine Proben mit starker Trübung zusammen mit diesem Produkt verwenden: Die Fäkalmatrix hemmt die Amplifikationsreaktion der Nukleinsäuren und kann zu ungültigen Ergebnissen führen.

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

Die mit diesem Produkt erhaltenen Ergebnisse hängen von der korrekten Durchführung von Identifizierung, Entnahme, Transport, Lagerung und Verarbeitung der Proben ab. Zur Vermeidung falscher Ergebnisse ist es daher notwendig, bei diesen Schritten vorsichtig vorzugehen und die den Produkten für die Nukleinsäureextraktion beiliegenden Gebrauchsanweisungen sorgfältig zu befolgen.

Aufgrund ihrer hohen analytischen Sensitivität ist die bei diesem Produkt verwendete Methode zur Echtzeit-Amplifikation empfindlich für Kreuzkontaminationen durch die positiven Proben, die Positivkontrollen und die gleichen Amplifikationsprodukte. Kreuzkontaminationen führen zu falsch-positiven Ergebnissen. Durch das Produktformat werden Kreuzkontaminationen begrenzt. Trotzdem können Kreuzkontaminationen 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 ernststen Folgen für den Anwender und andere Personen vermieden werden.

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

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

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

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

Bei Koinfektionen kann die Sensitivität für eine Zielsequenz durch die Amplifikation einer zweiten Zielsequenz beeinflusst werden.

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 in der Primer- oder Sondenbindungsregion der Ziel-DNA können den Nachweis der Ziel-DNA beeinträchtigen.

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

Wie bei allen diagnostischen Produkten besteht auch bei diesem Produkt ein Restrisiko von ungültigen, falsch-positiven und falsch-negativen 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.

**FEHLERBEHEBUNG**

<b>Ungültige Reaktion der Positivkontrolle</b>	
<b>Mögliche Ursachen</b>	<b>Abhilfemaßnahmen</b>
Einstellfehler des Geräts.	Position von PCR Mix und Positive Control kontrollieren. Volumen von PCR Mix und Positive Control kontrollieren.
Abbau der Positive Control.	Ein neues Aliquot der Positive Control verwenden.
Abbau des PCR Mix.	Ein neues Aliquot mit PCR Mix verwenden.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

<b>Ungültige Reaktion der Negativkontrolle</b>	
<b>Mögliche Ursachen</b>	<b>Abhilfemaßnahmen</b>
Einstellfehler des Geräts.	Position des PCR Mix und der Negativkontrolle kontrollieren. Volumina des PCR Mix und der Negativkontrolle kontrollieren.
Kontamination der Negativkontrolle	Ein neues Aliquot hochreines Wasser für die Molekularbiologie verwenden.
Kontamination des PCR Mix.	Ein neues Aliquot mit PCR Mix verwenden.
Kontamination des Extraktionsbereichs, von Racks oder des „Inventory Block“ (Bestandsmanager)	Oberflächen mit wässrigen Reinigungsmitteln reinigen, Laborkittel waschen, verwendete Teströhrchen und Spitzen austauschen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

<b>Ungültige Probenreaktion</b>	
<b>Mögliche Ursachen</b>	<b>Abhilfemaßnahmen</b>
Einstellfehler des Geräts.	Position des PCR Mix und der Probe kontrollieren. Volumina des PCR Mix und der Probe kontrollieren.
Abbau des PCR Mix.	Ein neues Aliquot von PCR Mix und Internal Control verwenden.
Inhibition durch die Probe störende Substanzen.	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 klinischen Probe in frischem eNAT™ Medium in einem „Extract + PCR“-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen.
Abbau des PCR Mix.	Ein neues Aliquot mit PCR Mix verwenden.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Fehler 30103	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Zu hohe Konzentration von Zielsubstanz in der Probe.	Wenn im PCR-Diagramm eine signifikante Amplifikation zu beobachten ist: - entsprechende Spur für die Probe auswählen und Ergebnis manuell bestätigen. 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 oder - Extraktion mit einer 1:10-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „Extract + PCR“-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen.

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 Präanalyse-schritten	Kontakt zwischen Mikropipette und Röhrchenwand vermeiden. Mikropipette nach dem Pipettieren jeder Probe mit frischer 3%iger Natriumhypochloritlösung 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 in der Gebrauchsanweisung von ELITe InGenius 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 oder DNA/RNA-Cleaner reinigen. Einen UV-Dekontaminationszyklus durchführen. Ein neues Röhrchen mit PCR Mix und/oder KbE verwenden.

**SYMBOLE**

-  Katalognummer.
-  Temperaturobergrenze.
-  Chargenbezeichnung.
-  Verfallsdatum (letzter Tag des Monats).
-  Erfüllt die Anforderungen der Europäischen Richtlinie 98/79/EG über *In-vitro*-Diagnostika.
-  Ausreichend für „N“ Tests
-  Achtung, Gebrauchsanweisung beachten.
-  Inhalt.
-  Vor Sonneneinstrahlung schützen.
-  Hersteller.

**CRE ELITe MGB® Kit**  
Reagenz für die DNA-Amplifikation in  
Echtzeit

**REF** RTS200ING

**HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE  
LIZENZ**

ELITe MGB® Nachweisreagenzien sind durch eines oder mehrere der US-Patente mit den Nummern 6,127,121, 6,485,906, 6,660,845, 6,699,975, 6,727,356, 6,790,945, 6,949,367, 6,972,328, 7,045,610, 7,319,022, 7,368,549, 7,381,818, 7,662,942, 7,671,218, 7,715,989, 7,723,038, 7,759,126, 7,767,834, 7,897,736, 8,008,522, 8,067,177, 8,163,910, 8,389,745, 8,969,003, 8,980,855, 9,056,887, 9,085,800 und 9,169,256 und der EP-Patente mit den Nummern 1068358, 1144429, 1232157, 1261616 1430147, 1781675, 1789587, 1975256 und 2714939 sowie durch anhängige Patentanmeldungen geschützt.

Diese eingeschränkte Lizenz gestattet es der natürlichen oder juristischen Person, der dieses Produkt zur Verfügung gestellt wurde, das Produkt zu verwenden und die mithilfe des Produkts generierten Daten nur für humandiagnostische Zwecke zu verwenden. Weder die ELITechGroup S.p.A. noch deren Lizenzgeber gewähren weitere, ausdrückliche oder stillschweigende Lizenzen für andere Zwecke.

ELITe MGB®, ELITe InGenius® und das ELITe MGB®-Logo sind eingetragene Marken der ELITechGroup in der Europäischen Union.

TaqMan™ ist eine Marke von Roche Molecular Systems, Inc.

eNAT™ und FecalSWAB™ sind Marken von COPAN Italia S.p.A.