

Instructions for use

Meningitis Bacterial ELITe MGB[®] Kit

Reagenzien für die DNA-Real-Time-PCR



REF RTS300ING

UDI 08033891486471

CE **IVD**

ÄNDERUNGSVERLAUF

Rev.	Änderungsvermerk	Datum (TT.MM. JJ)
03	Erweiterte Verwendung des Produkts in Verbindung mit dem Gerät ELITE BeGenius (REF INT040). Neue grafische und inhaltliche Gestaltung der Gebrauchsanweisung.	20/01/25
02	Aktualisierung des Abschnitts „Grenzen des Verfahrens“ Beschreibung des IC-Grenzwerts, der bereits im Assay-Protokoll des Produkts übernommen wurde	11/05/23
00 — 01	Neuproduktentwicklung und nachfolgende Änderungen	-

HINWEIS!

Die Revision dieser Gebrauchsanweisung ist auch mit der vorangehenden Version des Kits kompatibel

INHALTSVERZEICHNIS

1 VERWENDUNGSZWECK.....	4
2 TESTPRINZIP	4
3 BESCHREIBUNG DES PRODUKTS	4
4 MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN.....	5
5 ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN	5
6 ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE	5
7 WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN	6
8 PROBEN UND KONTROLLEN.....	7
9 VERFAHREN BEI ELITe InGenius	9
10 VERFAHREN BEI ELITe BeGenius	15
11 LEISTUNGSMERKMALE	19
12 REFERENZEN.....	28
13 GRENZEN DES VERFAHRENS.....	28
14 FEHLERBEHEBUNG	29
15 SYMBOLE	31
16 HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ.....	32
Appendix A QUICK START GUIDE.....	33

1 VERWENDUNGSZWECK

Das Produkt **Meningitis Bacterial ELITE MGB® Kit** ist ein In-vitro-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal in qualitativen Multiplex-Nukleinsäure-Real-Time-PCR-Assays zum Nachweis und zur Identifizierung der genomischen DNA von **Neisseria meningitidis**, **Streptococcus pneumoniae**, **Haemophilus influenzae** und **Haemophilus influenzae Typ B** bestimmt ist.

Dieser Assay ist in Verbindung mit den Geräten **ELITE InGenius®** und **ELITE BeGenius®**, automatisierten und integrierten Systemen zur Extraktion, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation mit humanen, in EDTA entnommenen Liquor- und Vollblutproben validiert.

Das Produkt ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Diagnose von Infektionen des Zentralnervensystems und systemischen Infektionen mit *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* und *Haemophilus influenzae Typ B* bestimmt.

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

2 TESTPRINZIP

Der Assay ist eine qualitative Real-Time-PCR für den Nachweis von *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* und *Haemophilus influenzae Typ B*, die aus Proben isoliert und mit dem Testreagenz **MB PCR Mix**, das Primer und ELITE MGB-Technologie-Sonden enthält, amplifiziert wurden.

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 **Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit** enthält das Assay-Reagenz **MB PCR Mix**, ein optimiertes und stabilisiertes PCR-Gemisch, das die spezifischen Primer und Sonden enthält für:

- das **ctrA**-Gen von verkapseltem N.-meningitidis-Bakterium, nachgewiesen im Kanal **Nmen**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher® gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 593 (AP593) markiert,
- das **lytA**-Gen von verkapseltem S.-pneumoniae-Bakterium, nachgewiesen in Kanal **Spne**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher® gequencht und mit einem FAM-Farbstoff markiert,
- das **fucK**-Gen von H. influenzae, nachgewiesen im Kanal **Hinf**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher® gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 639 (AP639) markiert,
- das **bcsB**-Gen von verkapseltem H.-influenzae-Bakterium Typ B, nachgewiesen im Kanal **HinfB**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher® gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 525 (AP525) markiert,
- die künstliche **IC2**-Sequenz der exogenen Internal Control (IC), nachgewiesen im Kanal **IC**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher® gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 680 (AP680) markiert.

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

Das **Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit** enthält ausreichend Reagenzien für **96 Tests** auf dem **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius (12 Tests pro Röhrchen)**, wobei 20 µl pro Reaktion verwendet werden.

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

4 MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN

Tabelle 1

Komponente	Beschreibung	Menge	Gefahrenklasse
MB PCR Mix Art.-Nr. RTS300ING	Gemisch aus Reagenzien für die Real-Time-PCR in Röhrchen WEISSEM Verschluss	8 x 280 µl	-

5 ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN

- Laminar-Flow-Haube.
- Puderfreie Einweghandschuhe aus Nitril oder einem ähnlichen Material.
- Vortex-Mixer.
- Tischzentrifuge (~5.000 U/min).
- Tisch-Mikrozentrifuge (~13.000 U/min).
- Mikropipetten und sterile Spitzen mit Aerosolfilter oder sterile Direktverdrängerspitzen (0,5–10 µl, 2–20 µl, 5–50 µl, 50–200 µl, 200–1000 µl).
- sterile 2,0-ml-Röhrchen mit Schraubverschluss (Sarstedt, Deutschland, Art.-Nr. 72.694.005).
- Hochreines Wasser für die Molekularbiologie.

6 ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE

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

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

Tabelle 2

Geräte und Software	Produkte und Reagenzien
<p>ELITE InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, Art.-Nr. INT030).</p> <p>ELITE InGenius Software, Version 1.3.0.19 (oder später).</p> <p>MB ELITE_PC, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Positive Control-Analyse</p> <p>MB ELITE_NC, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Negative Control-Analyse</p> <p>MB ELITE_WB_200_100, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Vollblutproben-Analyse</p> <p>MB ELITE_CSF_200_100, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Liquorproben-Analyse</p>	<p>ELITE InGenius SP200 (EG SpA., Art.-Nr. INT032SP200).</p> <p>ELITE InGenius SP 200 Consumable Set (EG SpA, Art.-Nr. INT032CS).</p> <p>ELITE InGenius PCR Cassette (EG SpA, Art.-Nr. INT035PCR).</p> <p>ELITE InGenius Waste Box (EG SpA, Art.-Nr. F2102-000).</p> <p>300 µL Filter Tips Axygen (Corning Life Sciences Inc., Art.-Nr. TF-350-L-R-S), nur mit ELITE InGenius.</p> <p>1000 µL Filter Tips Tecan (Tecan, Schweiz, Art.-Nr. 30180118) nur mit ELITE BeGenius.</p> <p>CPE - Internal Control (EG SpA, Art.-Nr. CTRCPE).</p> <p>Meningitis Bacterial - ELITE Positive Control (EG SpA, Art.-Nr. CTR300ING).</p>
<p>ELITE BeGenius (EG SpA, Art.-Nr. INT040).</p> <p>ELITE BeGenius Software, Version 2.2.1 (oder später).</p> <p>MB ELITE_Be_PC, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Positive Control-Analyse.</p> <p>MB ELITE_Be_NC, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Negative Control-Analyse.</p> <p>MB ELITE_Be_WB_200_100, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Vollblutproben-Analyse</p> <p>MB ELITE_Be_CSF_200_100, Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Liquorproben-Analyse</p>	

7 WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Dieses Produkt ist nur für den In-vitro-Gebrauch bestimmt.

7.1 Allgemeine Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

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

Alle zur Durchführung des Tests verwendeten Reagenzien und Materialien sind so zu handhaben und zu entsorgen, als wären sie infektiös. Direkten Kontakt mit den Reagenzien vermeiden. Verspritzen und Aerosolbildung vermeiden. Abfall ist unter Einhaltung angemessener Sicherheitsstandards zu handhaben und zu entsorgen. Brennbares Einwegmaterial muss verbrannt werden. Saurer und basischer Flüssigabfall muss vor der Entsorgung neutralisiert werden. Extraktionsreagenzien dürfen nicht mit Natriumhypochlorit (Bleiche) in Kontakt kommen.

Geeignete Schutzkleidung und Schutzhandschuhe sowie Augen-/Gesichtsschutz tragen.

Lösungen niemals mit dem Mund pipettieren.

Das Essen, Trinken, Rauchen oder die Verwendung von Kosmetika ist in den Arbeitsbereichen untersagt.

Nach der Handhabung von Proben und Reagenzien gründlich die Hände waschen.

Restliche Reagenzien und Abfälle gemäß den geltenden Vorschriften entsorgen.

Vor der Durchführung des Assays alle bereitgestellten Anweisungen aufmerksam lesen.

Bei der Durchführung des Tests die bereitgestellten Produktanweisungen befolgen.

Das Produkt nicht nach dem angegebenen Ablaufdatum verwenden.

Es dürfen nur mit dem Produkt bereitgestellte und vom Hersteller empfohlene Reagenzien verwendet werden.

Keine Reagenzien aus unterschiedlichen Chargen verwenden.

Keine Reagenzien anderer Hersteller verwenden.

7.2 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen für die Molekularbiologie

Molekularbiologische Verfahren dürfen nur von qualifizierten und geschulten Fachkräften durchgeführt werden, um fehlerhafte Ergebnisse zu vermeiden, insbesondere im Hinblick auf den Nukleinsäureabbau in den Proben oder die Probenkontamination durch PCR-Produkte.

Es werden Laborkittel, Handschuhe und Werkzeuge benötigt, die speziell für den jeweiligen Arbeitslauf vorgesehen sind.

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

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

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

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

7.3 Komponentenspezifische Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Tabelle 3

Komponente	Umgebungstemperatur bei Lagerung	Haltbarkeit nach Anbruch	Gefrier- und Auftauzyklen	On-Board-Stabilität (ELITE InGenius und ELITE BeGenius)
MB PCR Mix	-20 °C oder darunter (lichtgeschützt)	einen Monat	bis zu sieben	bis zu sieben separate* Läufe von jeweils drei Stunden oder bis zu 7 aufeinanderfolgende Stunden (2 Läufe von je 3 Stunden und die Zeit, die für den Beginn eines dritten Laufs benötigt wird)

* mit zwischenzeitlichem Gefrierzyklus

8 PROBEN UND KONTROLLEN

Proben und Assay-Protokolle

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

Tabelle 4

Probe	Anforderungen an die Entnahme	Transport-/Lagerbedingungen			
		+16 / +26 °C (Raumtemperatur)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Liquor	Kontamination mit Patientenblut vermeiden	≤ 3 Tage	≤ 3 Tage	≤ 1 Monat	langer Zeitraum
Vollblut	EDTA	≤ 3 Tage	≤ 3 Tage	≤ 1 Monat	langer Zeitraum

Es wird empfohlen, die Proben vor dem Einfrieren in Aliquote aufzuteilen, um wiederholten Gefrier- und Auftauzyklen vorzubeugen.

Bei Verwendung von gefrorenen Proben müssen die Proben vor der Extraktion aufgetaut werden, um einen möglichen Nukleinsäureabbau zu vermeiden.

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

Tabelle 5 Assay-Protokolle für Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit

Probe	Gerät	Name des Assay-Protokolls	Bericht	Eigenschaften
Liquor	ELITE InGenius	MB ELITE_CSF_200_100	Positiv/ negativ	Extraktion Eingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
	ELITE BeGenius	MB ELITE_Be_CSF_200_100		
Vollblut	ELITE InGenius	MB ELITE_WB_200_100	Positiv/ negativ	Extraktion Eingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
	ELITE BeGenius	MB ELITE_Be_WB_200_100		

HINWEIS!

Überprüfen Sie, ob das Primärröhrchen und das Probenvolumen mit ELITE InGenius oder ELITE BeGenius kompatibel sind, und befolgen Sie dabei die Gebrauchsanweisung des Extraktionskits **ELITEInGeniusSP200** (EG SpA, Art.-Nr. INT032SP200).

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

Falls erforderlich, müssen 200 µl Probe in ein **Extraction Tube** (Extraktionsröhrchen) bei ELITE InGenius bzw. 200 µl Probe in ein **2-ml-Sarstedt-Röhrchen** bei ELITE BeGenius überführt werden.

HINWEIS!

Das Pipettieren von Proben in das **Extraktionsröhrchen** oder das **2-ml-Sarstedt-Röhrchen** 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 „11 LEISTUNGSMERKMALE page 19“ unter „Potenziell interferierende Substanzen“ aufgeführt.

PCR-Kontrollen

Die Ergebnisse der PCR-Kontrollen müssen für jede Charge des PCR-Reagenzes erstellt und genehmigt werden.

- Für die Positive Control das Produkt „Meningitis Bacterial – ELITE Positive Control“ (nicht in diesem Kit enthalten) mit dem Assay-Protokoll „MB ELITE_PC“ oder „MB ELITE_Be_PC“ verwenden
- Für die Negative Control hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) mit dem Assay-Protokoll MB ELITE_NC oder MB 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
- eine größere Wartungs- oder Instandhaltungsmaßnahme wird am ELITE InGenius oder ELITE BeGenius durchgeführt.

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 **Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit** mit dem **ELITE InGenius** anzuwendende Verfahren besteht aus drei Schritten:

Tabelle 6

SCHRITT 1	Prüfung der Systembereitschaft	
SCHRITT 2	Einrichtung des Laufs	A) Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])
		B) Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])
		C) Lauf für die Positive Control und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
SCHRITT 3	Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse	1) Validierung der Ergebnisse der Positive Control und Negative Control
		2) Validierung der Probenergebnisse
		3) Ausgabe des Probenergebnisberichts

9.1 SCHRITT 1 - Prüfung der Systembereitschaft

Vor Beginn des Laufs:

- **ELITE InGenius** einschalten und den Modus „**CLOSED**“ (geschlossen) auswählen,

- auf der Startseite im Menü „Controls“ (Kontrollen) bestätigen, dass die PCR-Kontrollen (**Positive Control**, **Negative Control**) für die zu verwendende Charge des **PCR Mix** genehmigt und gültig (Status) sind. Wenn keine gültigen PCR-Kontrollen für die Charge **PCR Mix** verfügbar sind, die PCR-Kontrollen wie in den folgenden Abschnitten beschrieben durchführen,
- den Typ des Laufs auswählen, dazu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche zur Einrichtung des Laufs befolgen und die von EG SpA bereitgestellten Assay-Protokolle verwenden (siehe „Proben und Kontrollen“).

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

9.2 SCHRITT 2 - Einrichtung des Laufs

Das **Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit** kann auf **ELITE InGenius** für die folgenden Läufe verwendet werden:

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

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

HINWEIS!

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

Vor dem Einrichten eines Laufs:

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

HINWEIS!

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

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

Tabelle 7

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

Tabelle 7 (continued)

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])	C. Lauf für Positive und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
3	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
4	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.
5	Für jede Probe eine Spur zuweisen und unter „SampleID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.	Für jede Probe eine Spur zuweisen und unter „SampleID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.	Nicht anwendbar
6	Das Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“)	Das Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“)	Das Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“). Die Chargennummer und das Ablaufdatum der Positive Control und des hochreinen Wassers für die Molekularbiologie eingeben.
7	Sicherstellen, dass unter „Protocol“ (Protokoll) Folgendes angezeigt wird: „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR).	In der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) auswählen.	Sicherstellen, dass in der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) ausgewählt ist.
8	Als Proben-Ladeposition „Extraction Tube“ (Extraktionsröhrchen) in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) auswählen.	Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr [untere Reihe]) lautet.	Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr [untere Reihe]) lautet.
9	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
10	CPE und PCR Mix gemäß der „Load List“ (Liste Laden) auf den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.	PCR Mix gemäß der „Load List“ (Ladeliste) auf den „Inventory Block“ (Bestandsblock) laden und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.	PCR Mix gemäß der „Load List“ (Ladeliste) auf den „Inventory Block“ (Bestandsblock) laden und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.
11	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
12	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.
13	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
14	PCR Cassette, ELITE InGenius SP 200 Extraktionskartuschen und alle benötigten Verbrauchsmaterialien und zu extrahierenden Proben laden .	PCR Cassette und Elution Tube (Elutionsröhrchen) mit extrahierten Proben laden .	PCR Cassette, Positive Control- und Negative Control-Röhrchen laden .
15	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.

Tabelle 7 (continued)

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])	C. Lauf für Positive und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
16	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.
17	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.

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

HINWEIS!

Am Ende des Laufs muss die übrige extrahierte Probe im **Elution Tube** (Elutionsröhr.) aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen, gekennzeichnet und maximal einen Monat bei -20 ± 10 °C gelagert werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

HINWEIS!

Am Ende des Laufs kann der **PCR Mix** aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und bei -20 °C oder darunter aufbewahrt oder bis zu 7 Stunden (für 2 Läufe von jeweils etwa 3 Stunden sowie die zum Starten eines dritten Laufs nötige Zeit) im gekühlten Block aufbewahrt werden; vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

9.3 SCHRITT 3 - Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

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

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

HINWEIS!

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

ELITE InGenius generiert Ergebnisse mithilfe des **Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit** und geht dabei folgendermaßen vor:

1. Validierung der Positive Control- und Negative Control-Ergebnisse,
2. Validierung der Probenergebnisse,

3. Ausgabe des Probenergebnisberichts.

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

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

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

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

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

9.3.2 Validierung der Probenergebnisse

Die **ELITE InGenius Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse für die Zielsequenzen (Kanäle **Nmen**, **Spne**, **Hinf** und **HinfB**) und die Internal Control (Kanal **IC**) mit den Assay-Protokoll-Parametern **MB ELITE_CSF_200_100** und **MB ELITE_WB_200_100**.

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

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

Tabelle 8

1) Positivkontrolle	Status
MB Positive Control	APPROVED (Genehmigt)
2) Negativkontrolle	Status
MB Negative Control	APPROVED (Genehmigt)

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

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

Tabelle 9

Ergebnis des Probenlaufs	Interpretation
Nmen: DNA Detected (Nmen: DNA Erkannt)	In der Probe wurde <i>N. meningitidis</i> -DNA nachgewiesen.
Spne: DNA Detected (Spne: DNA Erkannt)	In der Probe wurde <i>S. pneumoniae</i> -DNA nachgewiesen.
Hinf: DNA Detected (Hinf: DNA Erkannt)	In der Probe wurde <i>H. influenzae</i> -DNA nachgewiesen.
HinfB: DNA Detected (HinfB: DNA Erkannt)	In der Probe wurde DNA von <i>H. influenzae</i> Typ B nachgewiesen. Hinweis: Beim Nachweis der DNA von <i>H. influenzae</i> Typ B könnte auch die generische <i>H. influenzae</i> -DNA erkannt werden.
Nmen: DNA not detected or below LoD (Nmen: Nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze).	In der Probe wurde keine <i>N. meningitidis</i> -DNA nachgewiesen. Das Probe wurde negativ auf <i>N. meningitidis</i> -DNA getestet oder ihre Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
Spne: DNA not detected or below LoD (Spne: Nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze).	In der Probe wurde die keine <i>S. pneumoniae</i>-DNA nachgewiesen. Die Probe wurde negativ auf <i>S. pneumoniae</i> -DNA getestet oder ihre Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
Hinf: DNA not detected or below LoD (Hinf: Nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze).	In der Probe wurde keine <i>H. influenzae</i>-DNA nachgewiesen. Die Probe wurde negativ auf <i>H. influenzae</i> -DNA getestet oder ihre Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
HinfB: DNA not detected or below LoD (HinfB: Nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze).	In der Probe wurde keine DNA von <i>H. influenzae</i> Typ B nachgewiesen. Das Probe wurde negativ auf <i>H. influenzae</i> -DNA getestet oder ihre Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
Invalid - Retest Sample (Ungültig - Probe erneut testen).	Ungültiges Testergebnis aufgrund von fehlerhafter Internal Control (z. B. aufgrund von falscher Extraktion, Verschleppung von Inhibitoren). Der Test sollte wiederholt werden.

Als „Invalid - Retest Sample“ (Ungültig - Probe erneut testen) ausgegebene Proben: In diesem Fall wurde die Internal-Control-DNA möglicherweise aufgrund von Problemen beim Probenentnahme-, Vorbehandlungs-, Extraktions- oder PCR-Schritt nicht effizient erkannt (z. B. falsche Probenahme, Abbau oder Verlust von DNA während der Extraktion oder Inhibitoren im Eluat), was zu falschen Ergebnissen führen kann.

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

Wenn in einer Probe DNA von *Haemophilus influenzae* Typ B nachgewiesen wird, kann die generische *Haemophilus influenzae*-DNA manchmal aufgrund einer unterschiedlichen Sensitivität der beiden Reaktionen nicht nachgewiesen werden. Die Probe ist jedoch positiv für DNA von *Haemophilus influenzae* Typ B.

Als „Xxx:DNA not detected or below the LoD“ (Xxx: DNA nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze) ausgegebene Proben sind für die Analyse geeignet, es wurde jedoch keine DNA der Zielsequenzen nachgewiesen. In diesem Fall kann entweder die Probe negativ für die Ziel-DNA sein oder die Ziel-DNA ist bei einer Konzentration unter der Nachweisgrenze des Assays vorhanden (siehe [11 LEISTUNGSMERKMALE page 19](#)).

HINWEIS!

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

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

9.3.3 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 **Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit** mit dem **ELITE BeGenius** anzuwendende Verfahren besteht aus drei Schritten:

Tabelle 10

SCHRITT 1	Prüfung der Systembereitschaft	
SCHRITT 2	Einrichtung des Laufs	A) Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])
		B) Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])
		C) Lauf für die Positive Control und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
SCHRITT 3	Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse	1) Validierung der Ergebnisse der Positive Control und Negative Control
		2) Validierung der Probenergebnisse
		3) Ausgabe des Probenergebnisberichts

10.1 SCHRITT 1 - Prüfung der Systembereitschaft

Vor Beginn des Laufs:

- **ELITE BeGenius** einschalten und den Modus „**CLOSED**“ (geschlossen) auswählen,
- - auf der Startseite im Menü „Controls“ (Kontrollen) bestätigen, dass die PCR-Kontrollen (**Positive Control, Negative Control**) für die zu verwendende Charge des **PCR Mix** genehmigt und gültig (Status) sind. Wenn keine gültigen PCR-Kontrollen für die Charge **PCR Mix** verfügbar sind, die PCR-Kontrollen wie in den folgenden Abschnitten beschrieben durchführen,
- den Typ des Laufs auswählen, dazu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche zur Einrichtung des Laufs befolgen und die von EG SpA bereitgestellten Assay-Protokolle verwenden (siehe „Proben und Kontrollen“).

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

10.2 SCHRITT 2 - Einrichtung des Laufs

Das **Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit** kann auf **ELITE BeGenius** für die folgenden Läufe verwendet werden:

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

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

HINWEIS!

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

Vor dem Einrichten eines Laufs:

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

HINWEIS!

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

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

Tabelle 11

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])	C. Lauf für Positive und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
1	Proben identifizieren und, falls erforderlich, auf Raumtemperatur auftauen. Falls erforderlich, 200 µl Probe in ein zuvor etikettiertes 2-ml-Sarstedt-Röhrchen überführen.	Falls erforderlich, die Elutionsröhrchen mit den extrahierten Nukleinsäuren auf Raumtemperatur auftauen . Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.	Positive Control-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen . Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Jedes Röhrchen reicht aus für 4 Reaktionen.
2	Die benötigten CPE-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen . Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Extraktionen.	Nicht anwendbar	Die Negative Control vorbereiten: dazu mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie in ein „Elution Tube“ (Elutionsröhr.) überführen, das im Lieferumfang des ELITe InGenius SP 200 Consumable Set enthalten ist.
3	Auf der Startseite „ Perform Run “ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „ Perform Run “ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „ Perform Run “ (Lauf durchführen) auswählen.
4	Alle Racks aus der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.	Die „Racks“ aus „Lane 1, 2 und 3 (L1, L2 und L3) der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.	Die „Racks“ aus „Lane 1, 2 und 3 (L1, L2 und L3) der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.
5	Den Laufmodus („Run mode“) wählen: „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR).	Den Laufmodus („Run mode“) wählen: „PCR Only“ (Nur PCR).	Den Laufmodus („Run mode“) wählen: „PCR Only“ (Nur PCR).
6	Die Proben in das Probenrack („Sample Rack“) laden . Wenn als Sekundärröhrchen „2 mL Tubes“ (2-ml-Röhrchen) geladen werden, verwenden Sie die blauen Adapter für das „Sample Rack“.	Die Proben in das „Elution Rack“ (Elutionsablage) laden .	Die Positive Control- und Negative Control-Röhrchen in das „Elution Rack“ (Elutionsablage) laden .

Tabelle 11 (continued)

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])	C. Lauf für Positive und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
7	Das „ Sample Rack “ in die „Cooler Unit“ einsetzen , beginnend mit „Lane 5“ (L5). Falls erforderlich, unter „Sample ID“ (SID) die Proben-ID für jede verwendete „Position“ eingeben (Beim Laden von Sekundärröhrchen „2 mL Tube“ (2-mL-Röhrchen) angeben). Bei Sekundärröhrchen ohne Barcode die Proben-ID manuell eingeben.	Das „ Elution Rack “ in die „Cooler Unit“ einsetzen , beginnend mit „Lane 3“ (L3). Falls erforderlich, für jede „Position“ die Proben-ID („Sample ID“), die Probenmatrix („Sample Matrix“), das Extraktionskit („Extraction Kit“) und das extrahierte Eluatvolumen („Extracted eluate vol.“) eingeben.	Das „ Elution Rack “ in die „Cooler Unit“ einsetzen , beginnend mit „Lane 3“ (L3). Falls erforderlich, für jede „Position“ unter „Reagent name“ den Reagenznamen, unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.
8	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
9	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.	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.
10	Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“).	Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“).	Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“).
11	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
	Hinweis: Bei Verarbeitung von mehr als 12 Proben das Verfahren ab Punkt 6 wiederholen.		Nicht anwendbar
12	Die „Elution tubes“ (Elutionsröhr) in das „Elution Rack“ (Elutionsablage) laden (Elutionsröhrchen können zur Verbesserung der Rückverfolgbarkeit mit einem Barcode etikettiert werden).	Nicht anwendbar	Nicht anwendbar
13	Das „Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ einsetzen, beginnend mit „Lane 3“ (L3). Bei Verarbeitung von mehr als 12 Proben das Verfahren wiederholen und dabei „Lane 2“ (L2) verwenden.	Nicht anwendbar	Nicht anwendbar
14	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Nicht anwendbar	Nicht anwendbar
15	CPE und PCR Mix in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsrack) laden.	Den PCR Mix in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsrack) laden .	Den PCR Mix in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsrack) laden .

Tabelle 11 (continued)

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

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

HINWEIS!

Am Ende des Laufs muss die übrige extrahierte Probe im **Elution Tube** (Elutionsröhr.) aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen, gekennzeichnet und maximal einen Monat bei -20 ± 10 °C gelagert werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

HINWEIS!

Am Ende des Laufs kann der **PCR Mix** aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und bei -20 °C oder darunter aufbewahrt oder bis zu 7 Stunden (2 Läufe von jeweils etwa 3 Stunden sowie die zum Starten eines dritten Laufs nötige Zeit) im gekühlten Block aufbewahrt werden; vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

10.3 SCHRITT 3 - Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

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

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

HINWEIS!

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

ELITE BeGenius generiert die Ergebnisse mithilfe des **Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit** und geht dabei folgendermaßen vor:

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

HINWEIS!

Einzelheiten sind dem entsprechenden Abschnitt unter „Verfahren bei **ELITE InGenius**“ zu entnehmen.

11 LEISTUNGSMERKMALE

Nachweisgrenze (LoD)

Die Nachweisgrenze (LoD) des Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit wurde in Kombination mit Liquorproben und in EDTA entnommenen Vollblutproben und dem ELITE InGenius System definiert.

Zur Berechnung der LoD wurde ein Panel aus Liquorproben und in EDTA entnommenen Vollblutproben, die mit Referenzmaterial von *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae* und *H. influenzae* Typ B mit bekanntem Titer (von einem externen Labor bereitgestellt) dotiert waren, getestet. Die LoD wurde mittels Probit-Regressionsanalyse der Daten als die Konzentration erhalten, bei der eine 95% ige Wahrscheinlichkeit eines positiven Ergebnisses vorliegt.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

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

Pathogen	LoD	95 % Konfidenzintervall	
		Untergrenze	Obergrenze
<i>N. meningitidis</i>	34	21	172
<i>S. pneumoniae</i>	34	22	134
<i>H. influenzae</i>	95	53	426
<i>H. influenzae</i> Typ B	66	41	197

Tabelle 13 Nachweisgrenze (Organismen/ml) bei Vollblutproben und ELITe InGenius System

Pathogen	LoD	95 % Konfidenzintervall	
		Untergrenze	Obergrenze
<i>N. meningitidis</i>	56	37	130
<i>S. pneumoniae</i>	189	119	473
<i>H. influenzae</i>	172	112	400
<i>H. influenzae</i> Typ B	77	50	186

Der berechnete LoD-Wert in Verbindung mit Vollblut und Liquor wurde auf den Geräten ELITe InGenius und ELITe BeGenius verifiziert. Hierzu wurde ein Pool aus Matrixproben, die mit Referenzmaterial der einzelnen Pathogene in der angegebenen Konzentration dotiert waren, getestet.

Nachweiseffizienz (Inklusivität)

Die Nachweiseffizienz des Assays für das *ctrA*-Gen des verkapselten *N. meningitidis*-Bakteriums, das *lytA*-Gen des verkapselten *S. pneumoniae*-Bakteriums, das *fucK*-Gen von *H. influenzae*, das *bcsB*-Gen des verkapselten *H. influenzae*-Bakteriums Typ B (Inklusivität) wurde durch Vergleich von Sequenzen mit Nukleotid-Datenbanken bewertet.

Die Analyse der für die Hybridisierung der Primer und der Fluoreszenzmarker ausgewählten Regionen in der Anordnung der in der Datenbank für die gesuchten Pathogene verfügbaren Sequenzen ergab ihre Erhaltung und ein Nichtvorhandensein von signifikanten Mutationen.

Der Nachweis von Stämmen von *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae* und *H. influenzae* Typ B wurde auch durch Analyse zertifizierter genomischer DNA aus klinischen Proben (von einem externen Labor bereitgestellt) verifiziert.

Die zertifizierten genomischen DNA-Proben wurden auf einen Ct-Wert von etwa 30 verdünnt und mit dem ELITe InGenius System analysiert.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 14 Inklusivität

Organismen	Probe	Positiv	Negativ
<i>N. meningitidis</i>	12 klinische Isolate	12	0
<i>S. pneumoniae</i>	12 klinische Isolate	12	0
<i>H. influenzae</i>	10 klinische Isolate	10	0
<i>H. influenzae</i> Typ B	12 klinische Isolate	12	0

Potenziell interferierende Marker

Die potenzielle Kreuzreaktivität mit anderen ungewollten Organismen des Assays wurde durch die *In-silico*-Analyse von in der EBI ENA Nukleotid-Datenbank vorhandenen Sequenzen bewertet.

Die für die Hybridisierung der Primer ausgewählten Regionen und die Fluoreszenzmarker wurden bei der Anordnung der Sequenzen anderer prokaryotischer und eukaryotischer Organismen überprüft. Die Hybridisierungsregionen wiesen keine signifikanten Homologien auf und zeigten keine potenziellen Interferenzen.

Die Abwesenheit von Kreuzreaktivität mit anderen Organismen, die in Liquor- und Vollblutproben zu finden sind, wurde ebenfalls durch das Testen eines Panels zertifizierter Materialien (ATCC, Vircell, NIBSC und klinische Isolate) verifiziert.

Genomische DNA-Proben anderer Organismen wurden für jeden potenziell kreuzreaktiven Organismus in Doppelbestimmung mit ELITE InGenius analysiert.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 15 Potenzielle Kreuzreaktivität

Organismus	Stamm	Ergebnis
<i>E. coli</i>	Klinisches Isolat	Keine Kreuzreaktivität
<i>B. burgdorferi</i>	IRS	Keine Kreuzreaktivität
<i>L. monocytogenes</i>	53 XXIII	Keine Kreuzreaktivität
<i>S. agalactiae</i>	G19	Keine Kreuzreaktivität
HSV1	McIntyre	Keine Kreuzreaktivität
HSV2	G	Keine Kreuzreaktivität
VZV	Ellen	Keine Kreuzreaktivität
JCV	Internationaler Standard	Keine Kreuzreaktivität
BKV	Internationaler Standard	Keine Kreuzreaktivität
<i>T. gondii</i>	RH	Keine Kreuzreaktivität
Enterovirus	Pesasek	Keine Kreuzreaktivität

Alle Organismen waren im Test mit dem Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit negativ auf die Zielsequenzen.

Die Abwesenheit von Interferenz mit anderen Organismen, die in Vollblut- und Liquorproben zu finden sind, wurde ebenfalls durch das Testen eines Panels zertifizierter Materialien (ATCC, Vircell, NIBSC und klinisches Isolat), die bis zu einer Endkonzentration von zirka 10 Kopien/Reaktion mit zertifizierter DNA von *N. meningitidis*, *S. pneumoniae* und *H. influenzae* Typ B dotiert waren, getestet.

Mit den Zielsequenzen dotierte genomische DNA-Proben anderer Organismen wurden für jeden potenziell interferierenden Organismus in Doppelbestimmung mit ELITE InGenius analysiert.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 16 Potenzielle Interferenz

Organismus	Stamm	Ergebnis
<i>E. coli</i>	Klinisches Isolat	Keine Interferenz
<i>B. burgdorferi</i>	IRS	Keine Interferenz
<i>L. monocytogenes</i>	53 XXIII	Keine Interferenz
<i>S. agalactiae</i>	G19	Keine Interferenz

Tabelle 16 Potenzielle Interferenz (continued)

Organismus	Stamm	Ergebnis
HSV1	McIntyre	Keine Interferenz
HSV2	G	Keine Interferenz
VZV	Ellen	Keine Interferenz
JCV	Internationaler Standard	Keine Interferenz
BKV	Internationaler Standard	Keine Interferenz
<i>T. gondii</i>	RH	Keine Interferenz
Enterovirus	Pesasek	Keine Interferenz

Alle Organismen interferierten beim Test mit dem Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit nicht mit der Amplifikation der Zielsequenzen.

Mögliche Interferenz unter den Zielsequenzen

Zur Bewertung der potenziellen Interferenz unter den Zielsequenzen des Assays wurde die Co-Amplifikation von Plasmid-DNA, die die Zielsequenzen von verkapseltem *N. meningitidis*-Bakterium (ctrA-Gen), verkapseltem *S. pneumoniae*-Bakterium (lytA-Gen), *H. influenzae* (fucK-Gen) und verkapseltem *H. influenzae*-Bakterium Typ B (bcsB-Gen) enthielt, getestet.

Das Panel enthielt Proben mit Plasmid-DNAs für *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae* oder *H. influenzae* Typ B in hoher Konzentration (10^5 Kopien/Reaktion) und andere gesuchte Pathogene in niedrigen Konzentrationsstufen (z. B. 10^3 , 10^2 , 10 Kopien/Reaktion).

Jede Bedingung wurde in Doppelbestimmung mit ELITE InGenius analysiert.

Für jede Zielsequenz ist die bei der Co-Amplifikationsreaktion in Doppelbestimmung niedrigste nachweisbare Konzentration (Kopien/Reaktion, Kop./Reakt.) in der folgenden Tabelle angegeben.

Tabelle 17 Interferenz unter den Zielsequenzen

Getestete Zielsequenz	Interferierende Zielsequenz bei $\sim 10^5$ Kopien/Reaktion			
	<i>N. meningitidis</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>H. influenzae</i>	<i>H. influenzae</i> Typ B
<i>N. meningitidis</i> nachweisbar bei	-	10 Kop./Reakt.	10 Kop./Reakt.	10^2 Kop./Reakt.
<i>S. pneumoniae</i> nachweisbar bei	10 Kop./Reakt.	-	10 Kop./Reakt.	10^2 Kop./Reakt.
<i>H. influenzae</i> nachweisbar bei	10^2 Kop./Reakt.	2×10^3 Kop./Reakt.	-	n. a.*
<i>H. influenzae</i> Typ B nachweisbar bei	10 Kop./Reakt.	10 Kop./Reakt.	10^2 Kop./Reakt.	-

* nicht anwendbar, da *H. influenzae* Typ B positive Ergebnisse für generisches *H. influenzae* liefert.

Störende Substanzen

Ein Panel potenziell interferierender Substanzen in relevanten Konzentrationen wurde mit dem Produkt Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit getestet. Die getesteten Substanzen waren EDTA, Rifampicin und Ampicillin.

Die Substanzen wurden einzeln zu Liquor- (Rifampicin und Ampicillin) und Vollblutproben (EDTA) hinzugegeben, die mit den jeweiligen Referenzmaterialien von *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae* und *H. influenzae* Typ B (von einem externen Labor bereitgestellt) in einer Konzentration von $3 \times \text{LoD}$ hinzugefügt. Die Proben wurden in drei Wiederholungen mit ELITE InGenius im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 18 Störende Substanzen: VK % (Referenz + Test)

Substanz	<i>N. meningitidis</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>H. influenzae</i>	<i>H. influenzae</i> Typ B	IC
Ampicillin	0,86	1,27	1,83	2,46	0,77
Rifampicin	1,14	1,28	1,36	2,75	0,81
EDTA	0,83	0,71	2,02	1,33	1,11

Alle Proben fielen in Bezug auf die relevante Zielsequenz positiv aus. Die prozentualen Variationskoeffizienten (VK %) der Ct-Werte lagen unter 5 %. Bei keiner der getesteten Substanzen wurde in den getesteten Konzentrationen eine Interferenz mit dem Nachweis der Zielsequenzen mithilfe des Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit festgestellt.

Wiederholpräzision

Zur Bewertung der Wiederholpräzision des erhaltenen Assays wurde auf ELITE InGenius und ELITE BeGenius ein Panel aus in EDTA entnommenen Vollblutproben, bestehend aus einer negativen Probe und positiven Proben, die mit Referenzmaterialien der einzelnen Zielsequenzen in einer Konzentration von zirka 3–4 x LoD dotiert waren, analysiert.

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

Tabelle 19 Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs mit Vollblutproben auf ELITE InGenius

Zielsequenz	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
<i>N. meningitidis</i>	6	34,07	0,25	0,74	100 %
<i>S. pneumoniae</i>	6	32,08	0,14	0,45	
<i>H. influenzae</i>	6	31,98	0,29	0,92	
<i>H. influenzae</i> Typ B	6	30,58	0,27	0,88	
Internal Control	18	27,03	0,19	0,70	100 %

Tabelle 20 Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs mit Vollblutproben auf ELITE BeGenius

Zielsequenz	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
<i>N. meningitidis</i>	6	34,28	0,29	0,83	100 %
<i>S. pneumoniae</i>	6	31,83	0,17	0,53	
<i>H. influenzae</i>	6	32,41	0,12	0,37	
<i>H. influenzae</i> Typ B	6	31,30	0,25	0,80	
Internal Control	18	28,88	0,69	2,40	100 %

Ein Beispiel für die Ergebnisse der laufübergreifenden Wiederholpräzision (an zwei Tagen) ist in den nachstehenden Tabellen aufgeführt.

Tabelle 21 Laufübergreifende Wiederholpräzision mit Vollblutproben auf ELITE InGenius

Zielsequenz	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
<i>N. meningitidis</i>	12	34,03	0,19	0,56	100 %
<i>S. pneumoniae</i>	12	32,13	0,14	0,43	
<i>H. influenzae</i>	12	31,87	0,25	0,78	
<i>H. influenzae</i> Typ B	12	30,56	0,22	0,73	
Internal Control	36	27,13	0,23	0,86	100 %

Tabelle 22 Laufübergreifende Wiederholpräzision mit Vollblutproben auf ELITE BeGenius

Zielsequenz	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
<i>N. meningitidis</i>	12	34,07	0,45	1,32	100 %
<i>S. pneumoniae</i>	12	31,70	0,54	1,69	
<i>H. influenzae</i>	12	32,51	0,27	0,82	
<i>H. influenzae</i> Typ B	12	31,33	0,29	0,94	
Internal Control	36	28,78	0,63	2,20	100 %

Beim Test der Wiederholpräzision wies der Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit für jede Zielsequenz eine maximale Variabilität der Ct-Zielwerte als VK% unter 5 % aus.

Vergleichspräzision

Zum Testen der chargen- und geräteübergreifenden Vergleichspräzision der mit dem Produkt Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit in Kombination mit ELITE InGenius erhaltenen Ergebnisse wurden ein Panel aus Liquorproben und ein Panel aus in EDTA entnommenen Vollblutproben analysiert. Jedes Panel war in einer Konzentration von etwa 3 x LoD mit den Referenzmaterialien der einzelnen Zielsequenzen dotiert.

Ein Beispiel der chargenübergreifenden Vergleichspräzision (bei drei Chargen) ist in den nachfolgenden Tabellen dargestellt.

Tabelle 23 Chargenübergreifende Vergleichspräzision bei Liquorproben auf ELITE InGenius

Zielsequenz	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
<i>N. meningitidis</i>	18	37,18	0,52	1,41	100 %
<i>S. pneumoniae</i>	18	36,41	0,72	1,98	
<i>H. influenzae</i>	18	38,23	0,64	1,68	
<i>H. influenzae</i> Typ B	18	35,59	0,48	1,36	
Internal Control	71/72	27,93	0,95	3,40	98,6 %

Tabelle 24 Chargenübergreifende Vergleichspräzision bei Vollblutproben auf ELITE InGenius

Zielsequenz	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
<i>N. meningitidis</i>	18	36,81	0,39	1,05	100 %
<i>S. pneumoniae</i>	18	34,40	0,30	0,88	
<i>H. influenzae</i>	18	38,38	0,56	1,45	
<i>H. influenzae</i> Typ B	18	35,72	0,61	1,72	
Internal Control	71/72	28,96	0,55	1,91	98,6 %

Ein Beispiel der geräteübergreifenden Vergleichspräzision (bei drei Geräten) ist in den nachfolgenden Tabellen dargestellt.

Tabelle 25 Geräteübergreifende Vergleichspräzision bei Liquorproben auf ELITE InGenius

Zielsequenz	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
<i>N. meningitidis</i>	18	37,24	0,53	1,41	100 %
<i>S. pneumoniae</i>	18	36,78	0,95	2,59	
<i>H. influenzae</i>	18	38,32	0,57	1,49	
<i>H. influenzae</i> Typ B	18	35,70	0,55	1,53	
Internal Control	72/72	28,55	1,11	3,90	100 %

Tabelle 26 Geräteübergreifende Vergleichspräzision bei Vollblutproben auf ELITE InGenius

Zielsequenz	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
<i>N. meningitidis</i>	18	36,95	0,58	1,57	100 %
<i>S. pneumoniae</i>	18	34,44	0,45	1,29	
<i>H. influenzae</i>	18	38,55	0,61	1,59	
<i>H. influenzae</i> Typ B	18	35,48	0,54	1,51	
Internal Control	72/72	29,36	1,04	3,54	100 %

Zur Bewertung der chargen- und geräteübergreifenden Vergleichspräzision mit ELITE BeGenius wurde ein Panel aus in EDTA entnommenen Vollblutproben, bestehend aus einer negativen Probe und positiven Proben, die mit Referenzmaterialien der einzelnen Zielsequenzen in einer Konzentration von zirka 3–4 x LoD dotiert waren, analysiert.

Ein Beispiel der chargenübergreifenden Vergleichspräzision (bei zwei Chargen) ist in den nachfolgenden Tabellen dargestellt.

Tabelle 27 Chargenübergreifende Vergleichspräzision bei Vollblutproben auf ELITE BeGenius

Zielsequenz	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
<i>N. meningitidis</i>	12	34,07	0,36	1,07	100 %
<i>S. pneumoniae</i>	12	31,75	0,30	0,94	
<i>H. influenzae</i>	12	32,53	0,21	0,63	
<i>H. influenzae</i> Typ B	12	31,27	0,23	0,73	
Internal Control	36	28,59	0,62	2,15	100 %

Ein Beispiel der geräteübergreifenden Vergleichspräzision (bei zwei Geräten) ist in der nachfolgenden Tabelle dargestellt.

Tabelle 28 Geräteübergreifende Vergleichspräzision bei Vollblutproben auf ELITE BeGenius

Zielsequenz	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% Übereinstimmung
<i>N. meningitidis</i>	12	33,81	0,25	0,75	100 %
<i>S. pneumoniae</i>	12	31,82	0,43	1,34	
<i>H. influenzae</i>	12	32,49	0,27	0,82	
<i>H. influenzae</i> Typ B	12	31,37	0,28	0,89	
Internal Control	36	28,15	0,39	1,39	100 %

Beim Test der Vergleichspräzision wies der Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit für jede Zielsequenz eine maximale Variabilität der Ct-Zielwerte als VK % unter 5 % aus.

Diagnostische Sensitivität: Bestätigung positiver Proben

Zur Bewertung der diagnostischen Sensitivität des Assays als Bestätigung positiver klinischer Proben wurden mit ELITE InGenius klinische Liquor- und in EDTA entnommene Vollblutproben analysiert. Die Proben waren als positiv bestätigt oder mit zertifizierten Materialien der einzelnen Zielsequenzen dotiert.

Da ELITE BeGenius gleichwertige analytische Leistungen wie ELITE InGenius aufwies, ist anzunehmen, dass die in Verbindung mit ELITE InGenius erhaltenen Ergebnisse für die diagnostische Sensitivität auch für ELITE BeGenius gelten:

Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen zusammengefasst.

Tabelle 29 Diagnostische Sensitivität bei Liquorproben

Positive/dotierte Liquorproben	Anzahl	Positiv	Negativ	Ungültig	Diagnostische Sensitivität in %
<i>N. meningitidis</i>	50	50	0	0	100 %
<i>S. pneumoniae</i>	50	50	0	0	100 %
<i>H. influenzae</i>	50	50	0	0	100 %
<i>H. influenzae</i> Typ B	20	20	0	0	100 %

Tabelle 30 Diagnostische Sensitivität bei Vollblutproben

Positive/dotierte Vollblutproben	Anzahl	Positiv	Negativ	Ungültig	Diagnostische Sensitivität in %
<i>N. meningitidis</i>	50	50	0	0	100 %
<i>S. pneumoniae</i>	57	57	0	0	100 %
<i>H. influenzae</i>	50	48	2	0	96,0 %
<i>H. influenzae</i> Typ B	20	20	0	0	100 %

Diagnostische Spezifität: Bestätigung negativer Proben

Zur Bewertung der diagnostischen Spezifität des Assays als Bestätigung negativer klinischer Proben wurden mit ELITe InGenius klinische Liquor- und in EDTA entnommene Vollblutproben analysiert, die für jede Zielsequenz als negativ bestätigt wurden.

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

Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen zusammengefasst.

Tabelle 31 Diagnostische Spezifität bei Liquorproben

Negative CSF-Proben	Anzahl	Positiv	Negativ	Ungültig	Diagnostische Spezifität in %
<i>N. meningitidis</i>	150	0	150	0	100 %
<i>S. pneumoniae</i>	150	1	149	0	99,3 %
<i>H. influenzae</i>	148	0	148	0	100 %
<i>H. influenzae</i> Typ B	150	0	150	0	100 %

Tabelle 32 Diagnostische Spezifität bei Vollblutproben

Negative Vollblutproben	Anzahl	Positiv	Negativ	Ungültig	Diagnostische Spezifität in %
<i>N. meningitidis</i>	153	0	153	0	100 %
<i>S. pneumoniae</i>	149	4	145	0	97,3 %
<i>H. influenzae</i>	151	3	148	0	98,0 %
<i>H. influenzae</i> Typ B	153	0	153	0	100 %

Der Ct-Grenzwert für die Internal Control (IC Ct) wurde für Liquor- und Vollblutproben im Zusammenhang mit ELITe InGenius und ELITe BeGenius auf 34 festgelegt.

Robustheit: ungültige Ergebnisse klinischer Proben

Die Robustheit des Assays als Bewertung ungültiger Ergebnissen bei der ersten Probenanalyse wurde durch die Analyse der Ergebnisse klinischer Proben verschiedener Matrices verifiziert.

Der Prozentsatz ungültiger Proben wurde anhand der Ergebnisse aus Tests zur diagnostischen Sensitivität und diagnostischen Spezifität verifiziert. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 33

Probe	Anzahl	Ungültiges Ergebnis	%
CSF-Proben	321	0	0 %
Vollblutproben	326	11	3,4 %

HINWEIS!

Die vollständigen Daten und Ergebnisse der Tests, die zur Bewertung der Leistungsmerkmale des Produkts mit Matrizes und Geräten durchgeführt wurden, sind in der technischen Produktdokumentation „Meningitis Bacterial ELiTe MGB Kit“, FTP RTS300ING, aufgeführt.

12 REFERENZEN

- F. Takenori Higa et al. (2013) Mem. Inst. Oswaldo Cruz 108: 246-247
 D. Llull et al. (2006) Journal Of Clinical Microbiology 44: 1250-1256
 D. Wroblewski et al. (2013) Molecular and Cellular Probes 27: 86-89
 K. L. Meyler et al. (2012) Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 74: 356-362
 E. A. Lukhtanov et al. (2007) Nucleic Acids Res. 35: e30

13 GRENZEN DES VERFAHRENS

Dieses Produkt darf ausschließlich mit den folgenden klinischen Proben verwendet werden: Liquor und in EDTA entnommenes Vollblut.

Dieses Produkt nicht mit heparinhaltigen Proben verwenden: Heparin hemmt die Amplifikationsreaktion von Nukleinsäuren und kann zu ungültigen Ergebnissen führen.

Derzeit liegen keine Daten zur Produktleistung mit den folgenden klinischen Proben vor: nasopharyngeale Abstriche, Nasopharyngeal aspirat, Sputum, bronchoalveoläre Lavage (BAL) und Bronchialaspirat (BA).

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

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

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

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

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

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

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

Bei Koinfektionen kann die Sensitivität für eine Zielsequenz durch die Amplifikation einer zweiten Zielsequenz beeinträchtigt werden (siehe [11 LEISTUNGSMERKMALE page 19](#)).

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 Sondenbindungsregion der Ziel-DNA können den Nachweis der Ziel-DNA beeinträchtigen.

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

Wie bei allen diagnostischen Produkten besteht auch bei diesem Produkt ein Restrisiko von ungültigen oder fehlerhaften Ergebnissen. Dieses Restrisiko kann nicht eliminiert oder weiter minimiert werden. In manchen Fällen kann dieses Restrisiko zu falschen Entscheidungen mit potenziell gefährlichen Auswirkungen auf den Patienten beitragen.

Dieses Restrisiko im Zusammenhang mit dem Verwendungszweck des Produkts wurde jedoch gegen den potenziellen Nutzen für den Patienten abgewogen und als akzeptabel eingestuft.

14 FEHLERBEHEBUNG

Tabelle 34

Ungültige Positive Control-Reaktion	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Einstellfehler des Geräts.	Position von PCR Mix und Positive Control kontrollieren. Volumina von PCR Mix und Positive Control kontrollieren.
Abbau des PCR Mix.	Den PCR Mix nicht für mehr als 7 unabhängige Läufe verwenden (jeweils 3 Stunden im gekühlten Reagenzienblock oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix nicht für mehr als 3 aufeinander folgende Läufe verwenden (7 Stunden im gekühlten Reagenzienblock oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix nicht länger als 30 Minuten bei Raumtemperatur aufbewahren. Ein neues Aliquot des PCR Mix verwenden.
Abbau des Positive Control.	Die Positive Control nicht für mehr als 4 unabhängige Läufe verwenden (jeweils 3 Stunden im Extraktionsbereich oder in der Cooler Unit). Ein neues Aliquot des Positive Control verwenden.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Tabelle 35

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

Tabelle 36

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

Tabelle 37

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

Tabelle 38

Fehler bei der Berechnung des Ct-Werts	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Zu hohe Konzentration von Ziel-DNA in der Probe oder Probe mit anomalem Fluoreszenzsignal.	<p>Wenn im PCR-Diagramm eine signifikante Amplifikation zu beobachten ist, entsprechende Spur für die Probe auswählen und Ergebnis manuell als positiv bestätigen.</p> <p>Wenn im PCR-Diagramm keine Amplifikation zu beobachten ist, entsprechende Spur für die Probe auswählen und Ergebnis manuell als negativ bestätigen oder als ungültig belassen.</p> <p>Wenn ein Ct-Wert benötigt wird:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Amplifikation der eluierten Probe mit einer 1:10-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „PCR Only“-Lauf (nur PCR) wiederholen. - Extraktion der Probe mit einer 1:10-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „Extract + PCR“-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen.

Tabelle 39

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.	<p>Mikropipette nach dem Pipettieren jeder Probe mit frischer 3%iger Natriumhypochloritlösung (Bleiche) oder DNA/RNA-Cleaner reinigen.</p> <p>Keine Pasteur-Pipetten verwenden. Die Pipetten müssen entweder Direktverdrängungspipetten sein oder zusammen mit Aerosolfilterspitzen verwendet werden.</p> <p>Proben in die letzten Positionen der Geräte einsetzen, wie auf der Benutzeroberfläche angegeben. Die von der Software angegebene Ladefolge beachten.</p>
Kontamination der Laborumgebung.	<p>Alle Oberflächen, die mit dem Bediener und den Proben (einschließlich Pipetten) in Kontakt kommen, mit frischer 3%iger Natriumhypochloritlösung (Bleiche) oder DNA/RNA-Cleaner reinigen.</p> <p>Einen UV-Dekontaminationszyklus durchführen.</p> <p>Ein neues Röhrchen mit PCR Mix und/oder KbE verwenden.</p>

15 SYMBOLE



Katalognummer.



Temperaturobergrenze.



Chargenbezeichnung.



Verfallsdatum (letzter Tag des Monats).



In-vitro-Diagnostikum.



Erfüllt die Anforderungen der Europäischen Richtlinie 98/79/EG über *In-vitro*-Diagnostika.



Unique Device Identification, eindeutige Geräteerkennung



Ausreichend für „N“ Tests



Gebrauchsanweisung beachten.



Inhalt.



Vor Sonneneinstrahlung schützen.



Hersteller.

16 HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ

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

ELITe MGB® detection reagents are covered by one or more of U. S. Patent numbers 7319022, 7348146, 7381818, 7541454, 7671218, 7718374, 7723038, 7759126, 7767834, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529, and EP patent numbers 1687609, 1781675, 1789587, 2689031, 2714939, 2736916, 2997161 as well as applications that are currently pending.

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 Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit zur Verwendung mit Plattformen der Genius-Reihe®



VORSICHT

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

VERWENDUNGSZWECK

Das Produkt **Meningitis Bacterial ELITE MGB® Kit** ist ein In-vitro-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal in qualitativen Multiplex-Nukleinsäure-Real-Time-PCR-Assays zum Nachweis und zur Identifizierung der genomischen DNA von **Neisseria meningitidis**, **Streptococcus pneumoniae**, **Haemophilus influenzae** und **Haemophilus influenzae Typ B** bestimmt ist.

Dieser Assay ist in Verbindung mit den Geräten **ELITE InGenius®** und **ELITE BeGenius®**, automatisierten und integrierten Systemen zur Extraktion, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation mit humanen, in EDTA entnommenen Liquor- und Vollblutproben validiert.

Das Produkt ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Diagnose von Infektionen des Zentralnervensystems und systemischen Infektionen mit *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* und *Haemophilus influenzae Typ B* bestimmt.

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

Amplifizierte Sequenz

Sequenz	Gen	Fluorophor	Kanal
<i>N. meningitidis</i>	ctrA	AP593	Nmen
<i>S. pneumoniae</i>	lytA	FAM	Spne
<i>H. influenzae</i>	fucK	AP639	Hinf
<i>H. influenzae Typ B</i>	bcsB	AP525	HinfB
Internal Control	IC2	AP680	IC

Validierte Matrix

- In EDTA entnommenes Vollblut
- Liquor

Kit-Inhalt und zugehörige Produkte

Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit Kit (RTS300ING)		Meningitis Bacterial - ELITE Positive Control (CTR300ING)	
 X 8		 X 3	
MB PCR Mix 8 Röhrrchen mit 280 µl 12 Reaktionen pro Röhrrchen 96 Reaktionen pro Kit 7 Einfrier- und Auftau-Zyklen pro Röhrrchen		MB Positive Control 3 Röhrrchen mit 160 µl 4 Reaktionen pro Röhrrchen 12 Reaktionen pro Kit 4 Gefrier- und Auftauzyklen	
Maximale Haltbarkeitsdauer:	24 Monate	Maximale Haltbarkeitsdauer:	24 Monate
Umgebungstemperatur bei Lagerung	≤ -20°C	Umgebungstemperatur bei Lagerung	≤ -20°C

Weitere benötigte, nicht im Kit enthaltene Produkte

<ul style="list-style-type: none"> › ELITE InGenius-Gerät: INT030. › ELITE BeGenius-Gerät: INT040. › ELITE InGenius SP 200: INT032SP200. › ELITE InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS. 	<ul style="list-style-type: none"> › ELITE InGenius PCR Cassette: INT035PCR. › ELITE InGenius Waste Box: F2102-000. › 300 µL Filter Tips Axigen: TF-350-L-R-S. › 1000 µL Filter Tips Tecan: 30180118.
---	---

ELITE InGenius- und ELITE BeGenius-Protokoll

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

Leistungsdaten für ELITE InGenius und ELITE BeGenius

Matrix	Zielsequenz	Nachweisgrenze	Diagnostische Sensitivität	Diagnostische Spezifität
Liquor	<i>N. meningitidis</i>	34	100 % 50/50*	100 % 150/150*
	<i>S. pneumoniae</i>	34	100 % 50/50*	99,3 % 149/150*
	<i>H. influenzae</i>	95	100 % 50/50*	100 % 148/148*
	<i>H. influenzae Typ B</i>	66	100 % 20/20*	100 % 150/150*
VB	<i>N. meningitidis</i>	56	100 % 50/50*	100 % 153/153*
	<i>S. pneumoniae</i>	189	100 % 57/57*	97,3 % 145/149*
	<i>H. influenzae</i>	172	96 % 48/50*	98 % 148/151*
	<i>H. influenzae Typ B</i>	77	100 % 20/20*	100 % 153/153*

* bestätigte Proben / getestete Proben

Probenvorbereitung

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

Tabelle 40

Probe	Anforderungen an die Entnahme	Transport-/Lagerbedingungen			
		+16 / +26 °C (Raumtemperatur)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Liquor	Kontamination mit Patientenblut vermeiden	≤ 3 Tage	≤ 3 Tage	≤ 1 Monat	langer Zeitraum
Vollblut	EDTA	≤ 3 Tage	≤ 3 Tage	≤ 1 Monat	langer Zeitraum

ELITE InGenius-Verfahren

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

Vor der Analyse

<p>1. ELITE InGenius einschalten. Mit dem Benutzernamen und Passwort anmelden. Den Modus „CLOSED“ (Geschlossen) wählen.</p>	<p>2. Kontrollen überprüfen: Positive Control sowie Negative Control im Menü „Controls“ (Kontrollen). Hinweis: Beide müssen ausgeführt und genehmigt worden sein und dürfen nicht abgelaufen sein.</p>	<p>3. Die PCR Mix-Röhrchen auftauen. Vorsichtig vortexen. 5 Sek. herunterzentrifugieren.</p>
--	---	--

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

<p>1. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen</p>	<p>2. Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingang: „200 µL“, Elutionsvolumen: „100 µL“</p>	<p>3. Die Proben-Barcodes mit dem tragbaren Barcodeleser scannen oder die Proben-ID eingeben</p>
<p>4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: MB ELITE_CSF_200_100 oder MB ELITE_WB_200_100</p>	<p>5. Die Methode „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) und die „Sample Position“ (Probenposition) auswählen: Extraction Tube (Extraktionsröhrchen)</p>	<p>6. Den PCR Mix in den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden</p>
<p>7. PCR Cassetten, ELITE InGenius SP 200 Extraktionskartuschen und alle benötigten Verbrauchsmaterialien und zu extrahierenden Proben laden</p>	<p>8. Tür schließen. Analyselauf starten</p>	<p>9. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern</p>

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)

<p>1. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen</p>	<p>2. Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingang: „200 µL“, Elutionsvolumen: „100 µL“</p>	<p>3. Die Proben-Barcodes mit dem tragbaren Barcodeleser scannen oder die Proben-ID eingeben</p>
<p>4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: MB ELITE_PC oder MB ELITE_NC oder MB ELITE_CSF_200_100 oder MB ELITE_WB_200_100</p>	<p>5. Die Methode „PCR Only“ (Nur PCR) und die „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube“ (Elutionsröhrchen) auswählen</p>	<p>6. Den PCR Mix in den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden</p>
<p>7. Folgendes laden: PCR-Kassette, Extraktionskartusche, Elution tube (Elutionsröhrchen), Spitzenkassette, Extraction Tube (Extraktionsröhrchen)-Rack</p>	<p>8. Tür schließen. Analyselauf starten</p>	<p>9. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern</p>

ELITE BeGenius-Verfahren

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

Vor der Analyse

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

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

<p>1. Auf dem Touchscreen „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen und anschließend auf den Laufmodus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) klicken.</p>	<p>2. Das Sample Rack (Probenständer) mit den barcodierten Proben in die Cooler Unit einsetzen. Der Barcode-Scan ist bereits aktiv</p>	<p>3. Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingang: „200 µL“, Elutionsvolumen: „100 µL“</p>
<p>4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: MB ELITe_Be_CSF_200_100 oder MB ELITe_Be_WB_200_100 <u>Hinweis:</u> Bei Durchführung einer zweiten Extraktion die Schritte 2 bis 4 wiederholen</p>	<p>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</p>	<p>6. Den PCR Mix in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen</p>
<p>7. Das „PCR Rack“ mit der „PCR Cassette“ und das „Extraction Rack“ (Extraktionsrack) mit den „ELITe InGenius SP 200“ Extraktionskartuschen und die für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden</p>	<p>8. Tür schließen. Analyselauf starten</p>	<p>9. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern</p>

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)

<p>1. Auf dem Touchscreen „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen und anschließend auf den Run mode „PCR Only“ (Nur PCR) klicken</p>	<p>2. Die barcodierten Röhrchen mit der extrahierten Nukleinsäure oder den Kontrollen in das Elution Rack (Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen</p>	<p>3. Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingang: „200 µL“, Elutionsvolumen: „100 µL“</p>
<p>4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: MB ELITe_Be_PC oder MB ELITe_Be_NC oder MB ELITe_Be_CSF_200_100 oder MB ELITe_Be_WB_200_100</p>	<p>5. Den PCR-Mix in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen</p>	<p>6. „PCR Rack“ mit „PCR Cassette“ beladen</p>
<p>7. Tür schließen. Analyselauf starten</p>	<p>8. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern</p>	

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

