

NOTICE of CHANGE dated 20/08/2024

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«Coagulation ELITe MGB[®] Kit» Ref. RTSD00ING

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

- Update for compliance with the Regulation (EU) 2017/746 on in vitro diagnostic medical devices (IVDR) requirements and update of the Intended use, accordingly.
- **NOTE:** Composition and PERFORMANCE CHARACTERISTICS of the product remain unchanged.
- NOTE: The product lots reported into the table below are still placed on the market as per IVDD (98/79/EC) until expiration dates, according to Article 110 of IVDR. If you're using these product lots, the related IFU revision, NOT available anymore on the website, can be requested by contacting ELITechGroup staff.

PRODUCT REF	Lot Number	Expiry date	
RTSD00ING	U1123-091	31/08/2025	
RTSD00ING	U0524-050	31/07/2025	

PLEASE NOTE

	LA REVISIONE DI QUESTA IFU NON È COMPATIBILE CON LA VERSIONE PRECEDENTE DEL KIT
200	
20 83	THE REVISION OF THIS IFU IS NOT COMPATIBLE WITH THE PREVIOUS VERSION OF THE KIT
	LA RÉVISION DE CETTE IFU N'EST PAS COMPATIBLE AVEC LA VERSION PRÉCÉDENTE DU KIT
	LA REVISIÓN DE ESTE IFU NO ES COMPATIBLE CON LA VERSIÓN ANTERIOR DEL KIT
O	A REVISÃO DO ESTE IFU NÃO ÉTAMBÉM COMPATÍVEL COM A VERSÃO ANTERIOR DO KIT
	DIESE FASSUNG DER GEBRAUCHSANLEITUNG IST NICHT KOMPATIBEL MIT DER VORHERIGEN VERSION DES TESTKITS



VERWENDUNGSZWECK

Das Produkt **Coagulation ELITE MGB® Kit** ist ein In-vitro-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal bestimmt ist. Es dient als qualitativer Nukleinsäure-Real-Time-PCR-Assay zur allelischen Diskriminierung an den folgenden drei Loci in humanen genomischen DNA-Proben, die aus klinischen Proben extrahiert wurden:

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

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

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



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

TESTPRINZIPIEN

Der Assay ist eine qualitative Echtzeit-PCR, die mit **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius**, automatisierten und integrierten Systemen zur Extraktion, Amplifikation und zum Nachweis von Nukleinsäuren sowie zur Ergebnisinterpretation, validiert wird.

Ausgehend von aus den zu testenden Proben extrahierter genomischer DNA werden in der PCR-Kassette drei Amplifikationsreaktionen, die für die drei für die Zielsequenzen codierenden Humangene spezifisch sind, und eine für die interne Kontrolle spezifische Amplifikationsreaktion (Probeneignungstest) durchgeführt:

- Faktor V, SNP G1691A (Leiden)-Region, nachgewiesen durch eine spezifische Sonde, die im Kanal "FV" des Geräts mit einem AP639-Fluorophor markiert ist,
- Faktor II, SNP G20210A (Leiden)-Region, nachgewiesen durch eine spezifische Sonde, die im Kanal "FII" des Geräts mit einem FAM-Fluorophor markiert ist,
- MTHFR, SNP C677T-Region, nachgewiesen durch eine spezifische Sonde, die im Kanal "MTHFR" des Geräts mit einem AP593-Fluorophor markiert ist.
- Internal Control, Region des humanen beta-Globin-Gens, nachgewiesen durch eine Sonde, die im Kanal "**IC**" des Geräts mit einem AP525-Fluorophor markiert ist.

Die Sonden mit ELITe MGB[®]-Technologie werden aktiviert, wenn sie mit dem spezifischen Produkt der Amplifikationsreaktion hybridisieren. **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius** überwachen den Fluoreszenzanstieg und berechnen die Schwellenwertzyklen (Ct).

Am Ende des Amplifikationszyklus kann mittels Analyse der Schmelzkurve die Schmelztemperatur der Sonden ermittelt und das Vorliegen von Wildtyp- und/oder mutierten Allelen nachgewiesen werden.

PRODUKTBESCHREIBUNG

Das Produkt Coagulation ELITE MGB Kit enthält den 52M PCR Mix, ein gebrauchsfertiges Komplettgemisch für die Echtzeit-Amplifikation, das in acht Teströhrchen aliquotiert ist. Jedes Röhrchen enthält 280 µl Lösung und reicht für 12 Tests mit dem ELITe InGenius und ELITe BeGenius aus, wenn mindestens 2 Proben pro Lauf verarbeitet werden.

Der 52M PCR Mix enthält die spezifischen Primer und Sonden für:

- das Gerinnungsfaktor-V-Gen, SNP G1691A (Leiden)-Region. Die Sonde ist mit AP639-Fluorophor markiert, durch die MGB[®]-Gruppe stabilisiert und durch ein nicht fluoreszierendes Molekül ausgelöscht;
- das Gerinnungsfaktor-II-Gen, SNP G20210A-Region. Die Sonde ist mit FAM-Fluorophor markiert, durch die MGB[®]-Gruppe stabilisiert und durch ein nicht fluoreszierendes Molekül ausgelöscht;
- f
 ür das MTHFR-Gen, SNP C677T-Region. Die Sonde ist mit AP593-Fluorophor markiert, durch die MGB[®]-Gruppe stabilisiert und durch ein nicht fluoreszierendes Molek
 ül ausgel
 öscht;
- die IC, Region des f
 ür beta-Globin codierenden humanen Gens. Die Sonde ist mit AP525-Fluorophor markiert, durch die MGB[®]-Gruppe stabilisiert und durch ein nicht fluoreszierendes Molek
 ül ausgelöscht;

Der **52M PCR Mix** enthält außerdem Puffer, Magnesiumchlorid, Nukleotidtriphosphate und "Hotstart"-DNA-Polymerase.

Das Produkt reicht aus für **96 Tests** mit **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius**, wobei 20 μ l pro Reaktion verwendet werden.



IM LIEFERUMFANG DES PRODUKTS ENTHALTENE MATERIALIEN

Komponente Beschreibung		Beschreibung	Menge	Gefahrenklasse
	52M PCR Mix	Komplettes Reaktionsgemisch	8 x 280 μl	-

BENÖTIGTE MATERIALIEN (NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN)

- Laminar-Flow-Haube.

- 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, 20–1000 µl).

- Hochreines Wasser für die Molekularbiologie.

SONSTIGE BENÖTIGTE PRODUKTE

Die Reagenzien für die Extraktion von DNA aus den zu analysierenden Proben, die Amplifikations-Positivkontrolle und die Verbrauchsmaterialien sind **nicht** im Lieferumfang dieses Produkts enthalten.

Für die automatische Probenanalyse mit dem **ELITe InGenius** (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT030) oder **ELITe BeGenius** (EG SpA, Art.-Nr. INT040) werden die folgenden generischen Produkte benötigt:

- Extraktionskartuschen ELITe InGenius® SP 200 (EG SpA, Art.-Nr. INT032SP200),
- Verbrauchsmaterialien f
 ür die Extraktion ELITe InGenius[®] SP 200 Consumable Set (EG SpA, Art.-Nr. INT032CS),
- ELITe InGenius® Waste Box (EG SpA, Art.-Nr. F2102-000),
- ELITe InGenius® PCR Cassette (EG SpA, Art.-Nr. INT035PCR),
- 300 μL Filter Tips Axygen (Corning Life Sciences, Art.-Nr. TF-350-L-R-S), für ELITe InGenius,
- 1000 µL Filter Tips Tecan (Tecan, Art.-Nr. 30180118) für ELITe BeGenius.

Für die automatische Nukleinsäureextraktion, Echtzeit-PCR und Ergebnisinterpretation von Proben mit dem Gerät **ELITe InGenius** werden die folgenden spezifischen Assay-Protokolle benötigt:

- Parameter für die Amplifikation von Positivkontrolle 52M ELITe_PC,
- Parameter für die Amplifikation von Negativkontrolle 52M ELITe_NC,
- Parameter f
 ür zu analysierende Proben 52M ELITe_WB_200_200.

Für die automatische Nukleinsäureextraktion, Echtzeit-PCR und Ergebnisinterpretation von Proben mit dem Gerät **ELITe BeGenius** werden die folgenden spezifischen Assay-Protokolle benötigt:

- Parameter für die Amplifikation von Positivkontrolle **52M ELITe_Be_PC**,
- Parameter für die Amplifikation von Negativkontrolle 52M ELITE_BE_NC,
- Parameter für zu analysierende Proben **52M ELITe_Be_WB_200_200**.

Als Vorlage für die Amplifikation der Positivkontrolle wird das spezifische Produkt **Coagulation -ELITE Positive Control** (EG SpA, Art.-Nr. CTRD00ING) benötigt. Dabei handelt es sich um eine stabilisierte Lösung, die Plasmid-DNAs enthält.

Coagulation ELITe MGB_® Kit Reagenz für die DNA-Amplifikation in Echtzeit



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 lang mit 3%igem Natriumhypochlorit (Bleiche) behandelt oder eine Stunde lang bei 121 °C autoklaviert werden. Extraktionsreagenzien dürfen nicht mit Natriumhypochlorit (Bleiche) in Kontakt kommen.

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 Handschuhe zum Schutz der Augen und des Gesichts tragen.

- Lösungen niemals mit dem Mund pipettieren.
- Essen, Trinken, Rauchen und Schminken sind in den Arbeitsbereichen verboten.
- Die Hände nach der Handhabung von Proben und Reagenzien gründlich waschen.
- Übrig gebliebene Reagenzien und Abfälle gemäß den geltenden Vorschriften entsorgen.

Vor der Durchführung des Assays alle mit dem Produkt bereitgestellten Anweisungen aufmerksam lesen.

Während der Durchführung des Assays alle mit dem Produkt bereitgestellten Anweisungen befolgen. Das Produkt darf nach Ablauf des angegebenen Ablaufdatums nicht mehr verwendet werden.

Es dürfen nur die mit dem Produkt bereitgestellten und vom Hersteller empfohlenen Reagenzien verwendet werden.

Reagenzien von anderen Herstellern dürfen nicht verwendet werden.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen für molekularbiologische Anwendungen

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 dediziert sein. Die Proben müssen unter einer Sicherheitswerkbank verarbeitet werden. Die zur Verarbeitung der Proben verwendeten Pipetten dürfen ausschließlich für diesen Zweck verwendet werden. Die Pipetten müssen nach dem Verdrängungsprinzip arbeiten oder in Verbindung mit Aerosol-Filterspitzen verwendet werden. Die verwendeten Spitzen müssen steril, frei von DNasen und RNasen sowie frei von DNA und RNA sein.

Die Reagenzien müssen unter einer Laminar-Flow-Haube gehandhabt werden. Die Pipetten, die für die Handhabung der Reagenzien verwendet werden, dürfen nur für diesen Zweck verwendet werden. Die Pipetten müssen nach dem Verdrängungsprinzip arbeiten oder in Verbindung mit Aerosol-Filterspitzen verwendet werden. Die verwendeten Spitzen müssen steril und sowohl DNase- und RNase-frei als auch DNA- und RNA-frei sein.

Die Extraktionsprodukte müssen so verwendet werden, dass eine Freisetzung in die Umgebung minimiert wird, um die Möglichkeit einer Kontamination zu vermeiden. Die Pipetten, die für die Handhabung von Extraktionsprodukten verwendet werden, dürfen nur für diesen Zweck verwendet werden.

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 52M PCR Mix muss bei -20 °C oder darunter lichtgeschützt aufbewahrt werden.

Der **52M PCR Mix** muss nach dem ersten Öffnen innerhalb von einem Monat verwendet werden. Der **52M PCR Mix** darf maximal **sieben Mal** eingefroren und wieder aufgetaut werden; weitere Gefrier- und Auftauzyklen können zu einem Verlust der Produktleistung führen.

Der **52M PCR Mix** darf für bis zu **sieben separate Läufe von jeweils drei Stunden** (Modus "Extract + PCR" [Extraktion + PCR]) oder für bis zu 2 Läufe von jeweils 3 Stunden (Modus "Extract + PCR" [Extraktion + PCR]) sowie für die zum Starten eines dritten Laufs nötige Zeit (insgesamt 7 Stunden) im gekühlten Reagenzienblock von ELITe InGenius bzw. in der Kühleinheit von ELITe BeGenius verbleiben. Vorsichtig mischen und den Inhalt dann 5 Sekunden lang zentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

ELITe InGenius

PROBEN UND KONTROLLEN

Proben

Dieses Produkt muss mit in EDTA entnommenen Vollblutproben verwendet werden.

Die Vollblutproben für die DNA-Extraktion müssen gemäß den Laborrichtlinien in EDTA entnommen und identifiziert werden. Außerdem dürfen sie maximal drei Tage bei +2 bis +8 °C transportiert und aufbewahrt werden; anderenfalls müssen sie tiefgefroren bei -20 °C oder -70 °C oder darunter für maximal dreißig Tage aufbewahrt werden. Auch wenn eine länger Aufbewahrung bei -70 °C oder darunter, möglich ist, wie in der wissenschaftlichen Literatur ausführlich berichtet, sollte eine derartige Anwendung intern vom Endbenutzer des Produkts beurteilt werden.

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

Hinweis: Wird die DNA-Extraktion aus Vollblutproben mit ELITe InGenius und der ELITe InGenius Software, Version 1.2 (oder entsprechende spätere Versionen) durchgeführt, ist das Assay-Protokoll **52M ELITe_WB_200_200** zu verwenden. Dieses Protokoll verarbeitet 200 µl Probe und eluiert die Nukleinsäuren in 200 µl. Bei Verwendung eines Primärröhrchens (13 x 7,5 mm) muss das Probenvolumen mindestens 2,2 ml betragen.

Andere Proben

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

Störende Substanzen

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

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 **Coagulation ELITe Positive Control** (Produkt nicht im Lieferumfang dieses Kits enthalten) zusammen mit dem Protokoll **52M ELITe_PC** zu verwenden
- als Amplifikations-Negative Control ist hochreines Wasser f
 ür die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) zusammen mit dem Protokoll 52M ELITe_NC zu verwenden,

Hinweis: 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 Positiv- und die Negativkontrolle zusammen mit der Amplifikationsreagenzcharge erneut verarbeitet werden.

Coagulation ELITe MGB_® Kit Reagenz für die DNA-Amplifikation in Echtzeit



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

VERFAHREN

Der Gebrauch des Coagulation ELITe MGB Kit mit ELITe InGenius 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 (52M Positive Control, 52M Negative Control) zusammen mit der zu verwendenden Amplifikationsreagenzcharge ausgeführt wurden und genehmigt und gültig (Status) sind. 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 EG SpA bereitgestellten 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 **Coagulation ELITe MGB Kit** verfügbare Assay-Protokoll ist in der nachfolgenden Tabelle beschrieben.

Assay-Protokoll für Coagulation ELITe MGB Kit					
Name	Matrix	Bericht	Eigenschaften		
52M ELITe_WB_200_200	Vollblut	Wildtyp/ heterozygot/ homozygot	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 200 µl Internal Control: NEIN Sonifikation: NEIN Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl		

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

Einrichtung des Laufs

Das **Coagulation ELITe MGB Kit** kann mit **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 benötigten Parameter sind in dem auf dem Gerät verfügbaren Assay-Protokoll enthalten und werden bei Auswahl des Assay-Protokolls automatisch geladen.



Hinweis: ELITe InGenius kann mit dem "Location Information Server" (LIS) verbunden werden, der das Laden der Laufinformationen ermöglicht. Weitere Informationen finden Sie im Benutzerhandbuch des ELITe InGenius-Geräts.

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

A Integrierter Lauf

Zur Einrichtung eines integrierten Laufs führen Sie die folgenden Schritte durch, wie auf der grafischen Benutzeroberfläche angegeben:

- 1. Die Proben bei Raumtemperatur (+21 ±5 °C) auftauen und gemäß den Laborrichtlinien und dem Abschnitt "Proben und Kontrollen" handhaben.
- 52M PCR Mix-Röhrchen für den Lauf 30 Minuten bei Raumtemperatur (+21 ±5 °C) auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Reaktionen unter optimalen Bedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.

Hinweis: Den 52M PCR Mix lichtgeschützt auftauen lassen, da dieses Reagenz lichtempfindlich ist.

- 3. Auf der Startseite "Perform Run" (Lauf durchführen) auswählen.
- Sicherstellen, dass das Extraktionseingangsvolumen ("Extraction Input Volume") 200 µl und das extrahierte Eluatvolumen 200 µl beträgt.
- 5. Für jede relevante Spur unter "SampleID" (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.
- 6. Das zu verwendende Assay-Protokoll in der Spalte "Assay" auswählen (d. h. 52M ELITe_WB_200_200).
- 7. Sicherstellen, dass unter "Protocol" (Protokoll) Folgendes angezeigt wird: "Extract + PCR" (Extraktion + PCR).
- Die Proben-Ladepositionen in der Spalte "Sample Position" (Probenposition) auswählen:

 wird ein Primärröhrchen verwendet, "Primary Tube" (Primärröhrchen) auswählen.
 wird ein Sekundärröhrchen verwendet, "Extraction Tube" (Extraktionsröhrchen) auswählen.
 Auf "Next" (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
- 52M PCR Mix auf den unter "Inventory Block" (Bestandsblock) ausgewählten Bestandsblock laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen und die Chargennummer und das Verfallsdatum von 52M PCR Mix eintragen. Auf die Schaltfläche "Next" (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
- 10. Die Spitzenständer in den unter "Inventory Area" (Bestandsbereich) ausgewählten Bestandsbereich 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-Kassetten ("PCR Cassettes") die ELITe InGenius SP 200 Extraktionskartuschen, 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. Die Gerätetür schließen.
- 13. Auf "Start" drücken, um den Lauf zu starten.

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 Elutionsröhrchen aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen, gekennzeichnet und maximal einen Monat bei -20 °C oder darunter gelagert werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

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

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



Hinweis: Der PCR Mix kann für 7 unabhängige Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden verwendet oder für 2 Läufe von jeweils 3 Stunden (Modus "Extrakt + PCR" [Extraktion + PCR]) sowie für die zum Starten eines dritten Laufs nötige Zeit (insgesamt 7 Stunden) im gekühlten Block des Geräts gelagert werden. Vorsichtig mischen und den Inhalt dann 5 Sekunden lang zentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

B Amplifikationslauf

Zum Einrichten des Amplifikationslaufs ab der extrahierten DNA die folgenden Schritte unter Beachtung der grafischen Benutzeroberfläche ausführen:

 52M PCR Mix-Röhrchen für den Lauf 30 Minuten bei Raumtemperatur (+21 ±5 °C) 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: Den 52M PCR Mix lichtgeschützt auftauen lassen, da dieses Reagenz lichtempfindlich ist.

- 2. Auf der Startseite "Perform Run" (Lauf durchführen) auswählen.
- Selbst wenn keine Extraktion durchgeführt wird, sicherstellen, dass das Extraktionseingangsvolumen ("Extraction Input Volume") 200 µl und das extrahierte Elutionsvolumen 200 µl beträgt.
- 4. Für jede relevante Spur unter "SampleID" (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.
- 5. Das zu verwendende Assay-Protokoll in der Spalte "Assay" auswählen (d. h. 52M ELITe_WB_200_200).
- 6. In der Spalte "Protocol" (Protokoll) "PCR Only" (nur PCR) auswählen.
- 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.
- 52M PCR Mix auf den unter "Inventory Block" (Bestandsblock) ausgewählten Bestandsblock laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen und die Chargennummer und das Verfallsdatum von 52M PCR Mix eintragen. Auf "Next" (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
- Die Spitzenständer in den unter "Inventory Area"(Bestandsbereich) ausgewählten Bestandsbereich laden und kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf "Next" (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
- Die PCR-Kassette ("PCR Cassette") und die extrahierte Nukleinsäure-Proben gemäß den Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche laden. Auf "Next" (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
- 11. Die Gerätetür schließen.

12. Auf "Start" drücken, um den Lauf zu starten.

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" (Elutionsröhrchen) aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und einen Monat bei -20 °C oder darunter aufbewahrt werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

Hinweis: Am Ende des Laufs müssen die PCR-Kassette ("**PCR Cassette**") 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 7 unabhängige Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden verwendet oder für 2 Läufe von jeweils 3 Stunden (Modus "Extrakt + PCR" [Extraktion + PCR]) sowie für die zum Starten eines dritten Laufs nötige Zeit (insgesamt 7 Stunden) im gekühlten Block des Geräts gelagert werden. Vorsichtig mischen und den Inhalt dann 5 Sekunden lang zentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.



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:

 52M PCR Mix-Röhrchen für den Lauf 30 Minuten bei Raumtemperatur (+21 ±5 °C) 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: 52M PCR Mix im Dunkeln auftauen, da dieses Reagenz lichtempfindlich ist.

- 2. Das **52M Positive Control**-Röhrchen für den Lauf auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 4 Läufe. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
- Mindestens 50 μl hochreines Wasser f
 ür die Molekularbiologie in ein Elutionsr
 öhrchen (im Lieferumfang des "ELITE InGenius[®] SP 200 Consumable Set" enthalten)
 überf
 ühren.
- 4. Auf der Startseite "Perform Run" (Lauf durchführen) auswählen.
- 5. In der relevanten Spur das zu verwendende Assay Protocol in der Spalte "Assay" auswählen.
- Für die Positive Control das Assay-Protokoll 52M ELITe_PC in der Spalte "Assay" auswählen und die Chargennummer und das Ablaufdatum für die 52M Positive Control eintragen.
- Für die Negativkontrolle das Assay-Protokoll 52M ELITe_NC in der Spalte "Assay" auswählen und die Chargennummer und das Ablaufdatum für das hochreine Wasser für die Molekularbiologie eintragen.
- 8. Auf "Next" (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
- 52M PCR Mix auf den unter "Inventory Block" (Bestandsblock) ausgewählten Bestandsblock laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen und die Chargennummer und das Verfallsdatum von 52M PCR Mix eintragen. Auf "Next" (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
- 10. Die Spitzenständer in den unter "Inventory Area"(Bestandsbereich) ausgewählten Bestandsbereich laden und kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf "Next" (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
- Die PCR-Kassetten ("PCR Cassettes"), das "52M Positive Control"-Röhrchen und das Negative Control-Röhrchen gemäß den Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche laden. Auf "Next" (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
- 12. Die Gerätetür schließen.
- 13. Auf "Start" drücken, um den Lauf zu starten.

Nach Beendigung des Vorgangs 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 Positive Control aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen, identifiziert und bei -20 °C oder darunter gelagert werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden. Die übrige Negative Control muss entsorgt werden.

Hinweis: Am Ende des Laufs müssen die PCR-Kassette ("PCR Cassette") 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 7 unabhängige Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden verwendet oder für 2 Läufe von jeweils 3 Stunden (Modus "Extrakt + PCR" [Extraktion + PCR]) sowie für die zum Starten eines dritten Laufs nötige Zeit (insgesamt 7 Stunden) im gekühlten Block des Geräts gelagert werden. Vorsichtig mischen und den Inhalt dann 5 Sekunden lang zentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

Coagulation ELITe MGB_® Kit Reagenz für die DNA-Amplifikation in Echtzeit



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 **ELITe InGenius-Ge**räts.

Hinweis: ELITe InGenius kann mit dem "Location Information Server" (LIS) verbunden werden, über den die Laufergebnisse an das Rechenzentrum des Labors gesendet werden können. Weitere Informationen finden Sie im Benutzerhandbuch des **ELITe InGenius**-Geräts.

ELITe InGenius generiert die Ergebnisse mithilfe des Produkts Coagulation 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 Positive Control und Negative Control

Die von den Sonden der drei Gene (Kanäle FV, FII, MTHFR) und für die IC (Kanal IC) 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-Protokollen "52M ELITe_PC" und "52M ELITe_NC" enthaltenen Parametern interpretiert.

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

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

Vor der Analyse einer Probe ist es unbedingt erforderlich zu prüfen, ob die Ergebnisse der Positive Control und Negative Control für die PCR-Reagenziencharge genehmigt und gültig sind. Der Status der Ergebnisse der Positive Control und Negative Control für jede PCR-Reagenziencharge wird im Modul "Controls" angezeigt. Wenn die Ergebnisse der Positive Control und/oder Negative Control fehlen oder abgelaufen sind, führen Sie die Kontrolle(n) wie oben beschrieben aus.

Die **ELITe InGenius Software** verarbeitet die Ergebnisse der Positive Control und Negative Control und generiert Kontrollendiagramme ("Control Charts"). Zur Einrichtung der ersten Regelkarte werden vier genehmigte Ergebnisse der Positive Control und Negative Control verwendet. Für darauf folgende Kontrollen werden die Ergebnisse von der Software analysiert, um sicherzustellen, dass die Systemleistungen innerhalb der Akzeptanzkriterien liegen, die in den Kontrollendiagrammen angezeigt sind. Weitere Informationen finden Sie im Gerätehandbuch.

Hinweis: Wenn das Ergebnis der Positive Control oder Negative Control die Annahmekriterien nicht erfüllt, wird die Meldung "Failed" (nicht bestanden) im Bildschirm "Controls" angezeigt. In diesem Fall können die Ergebnisse nicht genehmigt werden, und die Läufe der Positive Control oder Negative Control müssen wiederholt werden.

Hinweis: Wenn das Ergebnis der Positive Control oder Negative Control ungültig ist und Proben im selben Lauf ausgeführt wurden, können die Proben genehmigt werden, aber ihre Ergebnisse werden nicht validiert. In diesem Fall müssen alle fehlgeschlagenen Kontrollen und Proben wiederholt werden.



B. Validierung der Probenergebnisse

Die von den Sonden der drei Gene (Kanäle FV, FII, MTHFR) und für die IC (Kanal IC) in den Proben-Amplifikationsreaktionen ausgesendeten Fluoreszenzsignale werden automatisch analysiert und von der Gerätesoftware mit den im Assay-Protokoll enthaltenen Parametern interpretiert.

Die **ELITe InGenius Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse für die drei Gene (Kanäle FV, FII, MTHFR) und die Internal-Control-Sonde (Kanal **IC**) mit den Assay-Protokoll-Parametern 52M ELITe_WB_200_200.

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 zutreffen.

Status	
APPROVED (Genehmigt)	
Status	
APPROVED (Genehmigt)	

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

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

Die möglichen Ergebnismeldungen einer Probe sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt.

Ergebnis des Probenlaufs	Interpretation
FV: Wildtype for Factor V (FV: Wildtyp für Faktor	Probe hat einen Wildtyp-Genotyp für Faktor V SNP
V)	G1691A-Locus.
FV: Heterozygous for Factor V Leiden (FV:	Probe hat einen mutierten (Leiden) heterozygoten
Heterozygot für Faktor V Leiden)	Genotyp für Faktor V SNP G1691A-Locus.
FV: Homozygous for Factor V Leiden (FV:	Probe hat einen mutierten (Leiden) homozygoten
Homozygot für Faktor V Leiden)	Genotyp für Faktor V SNP G1691A-Locus.
FII: Wildtype for Factor II (FII: Wildtyp für Faktor	Probe hat einen Wildtyp-Genotyp für Faktor II SNP
ll)	G20210A-Locus.
FII: Heterozygous for Factor II 20210A (FII:	Probe hat einen mutierten (20210A) heterozygoten
Heterozygot für Faktor II 20210A)	Genotyp für Faktor II SNP G20210A-Locus.
FII: Homozygous for Factor II 20210A (FII:	Probe hat einen mutierten (20210A) homozygoten
Homozygot für Faktor II 20210A)	Genotyp für Faktor II SNP G20210A-Locus.
MTHFR: Wildtype for MTHFR (MTHFR: Wildtyp	Probe hat einen Wildtyp-Genotyp für MTHFR SNP
für MTHFR)	C677T-Locus.
MTHFR: Heterozygous for MTHFR 677T	Probe hat einen mutierten (677T) heterozygoten
(MTHFR: Heterozygot für MTHFR 677T)	Genotyp für MTHFR SNP C677T-Locus.
MTHFR: Homozygous for MTHFR 677T (MTHFR:	Probe hat einen mutierten (677T) homozygoten
Homozygot für MTHFR 677T)	Genotyp für MTHFR SNP C677T-Locus.
IC (Interne Kontrolle): Valid Sample (IC: Gültige	Probe hat einen Ct-Wert der IC von weniger als 26,5
Probe)	und ist gültig
Inconclusive - Retest Sample (Uneindeutig -	Uneindeutiges Testergebnis aufgrund eines Problems
Probe erneut testen)	mit der Probe.
Invalid - Retest Sample (Ungültig - Probe erneut	Ungültiges Testergebnis aufgrund von falscher
testen)	Extraktion oder Verschleppung des Inhibitors.

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

Überarbeitete Version 07-R

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



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 humane genomische DNA der Probe aufgrund von Problemen beim Amplifikations- oder Extraktionsschritt nicht effizient erkannt (Abbau von DNA, Verlust von DNA während der Extraktion, Verschleppung von Inhibitoren im Eluat oder ungenügende DNA-Menge in der Probe), was zu falschen 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.

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

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

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.



Proben

Dieses Produkt muss mit in EDTA entnommenen Vollblutproben verwendet werden.

Die Vollblutproben für die DNA-Extraktion müssen gemäß den Laborrichtlinien in EDTA entnommen und identifiziert werden. Außerdem dürfen sie maximal drei Tage bei +2 bis +8 °C transportiert und aufbewahrt werden; anderenfalls müssen sie tiefgefroren bei -20 °C oder -70 °C oder darunter für maximal dreißig Tage aufbewahrt werden. Auch wenn eine länger Aufbewahrung bei -70 °C oder darunter, möglich ist, wie in der wissenschaftlichen Literatur ausführlich berichtet, sollte eine derartige Anwendung intern vom Endbenutzer des Produkts beurteilt werden.

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

Hinweis: Wird die DNA-Extraktion aus Vollblutproben mit ELITe BeGenius und der ELITe BeGenius Software, Version 2.1.0 (oder entsprechende spätere Versionen) durchgeführt, ist das Assay-Protokoll **52M ELITe_Be_WB_200_200** zu verwenden. Dieses Protokoll verarbeitet 200 µl Probe und eluiert die Nukleinsäuren in 200 µl. Bei Verwendung eines Primärröhrchens (13 x 75 mm, 13 x 100 mm oder 16 x 100 mm) muss das Probenvolumen mindestens 1,5 ml betragen.



Andere Proben

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

Störende Substanzen

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

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 Coagulation ELITe Positive Control (Produkt nicht im Lieferumfang dieses Kits enthalten) zusammen mit dem Protokoll 52M ELITe_Be_PC zu verwenden,
- als Amplifikations-Negative Control ist hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) zusammen mit dem Protokoll **52M ELITe_Be_NC** zu verwenden.

Hinweis: Das Gerät ELITe BeGenius 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 Positiv- und die Negativkontrolle zusammen mit der 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 BeGenius-Gerät durchgeführt wird.

Qualitätskontrollen

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

VERFAHREN

Der Gebrauch des Coagulation ELITe MGB Kit mit ELITe BeGenius besteht aus drei Schritten:

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

Prüfung der Systembereitschaft

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

- ELITe BeGenius einschalten und den Anmeldemodus "CLOSED" (geschlossen) auswählen.
- Bestätigen, dass die Amplifikationskontrollen (52M Positive Control, 52M Negative Control) für die zu verwendende Charge des 52 M PCR Mix genehmigt und gültig (Status) sind. Wenn keine gültigen Kontrollen für die Charge 52 M PCR Mix verfügbar sind, die Amplifikationskontrollen wie unten beschrieben durchführen.
- 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-Protokolle verwenden. Diese IVD-Protokolle wurden speziell mit ELITe MGB Kits, dem Gerät ELITe BeGenius und der genannten Matrix validiert.

Coagulation ELITe MGB_® Kit Reagenz für die DNA-Amplifikation in Echtzeit



- Die für das Testen von Proben mit dem Produkt **Coagulation ELITe MGB Kit** verfügbaren Assay-Protokolle sind in der nachfolgenden Tabelle beschrieben:

Assay-Protokoll für Coagulation ELITe MGB Kit					
Name	Matrix	Bericht	Eigenschaften		
52M ELITe_Be_WB_200_200	Vollblut	Wildtyp/ heterozygot/ homozygot	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 200 µl Internal Control: NEIN Sonifikation: NEIN Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl		

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

Einrichtung des Laufs

Das **Coagulation ELITE MGB Kit** kann zusammen mit **ELITE BeGenius** zur 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 benötigten Parameter sind in dem auf dem Gerät verfügbaren Assay-Protokoll enthalten und werden bei Auswahl des Assay-Protokolls automatisch abgerufen.

Hinweis: Das Gerät ELITe BeGenius 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 **ELITe BeGenius**-Geräts.

Die wichtigsten Schritte für die Einrichtung der drei Durchlauftypen 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 Proben bei Raumtemperatur (+21 ±5 °C) auftauen und gemäß den Laborrichtlinien und dem Abschnitt "Proben und Kontrollen" handhaben.
- Die benötigten 52M PCR Mix-Röhrchen 30 Minuten bei Raumtemperatur (+21 ±5 °C) auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Reaktionen unter optimalen Bedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Vorsichtig mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.

Hinweis: Den 52M PCR Mix lichtgeschützt auftauen lassen, da dieses Reagenz lichtempfindlich ist.

- 3. Auf der Startseite "Perform Run" (Lauf durchführen) auswählen.
- 4. Die Racks aus der "Kühleinheit" entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.
- 5. Den Laufmodus wählen: "Extract + PCR" (Extraktion + PCR).
- 6. Die Proben in Rack 5 und 4 (immer mit Rack 5 beginnend) laden, ggf. Adapter für einen richtigen Sitz verwenden.
- 7. Das Rack in die "Kühleinheit" einsetzen. Auf "Next" klicken, um fortzufahren.

Hinweis: Beim Laden von Sekundärröhrchen "2-ml-Röhrchen" angeben. Bei Sekundärröhrchen ohne Barcode die Proben-ID manuell eingeben.

 Sicherstellen, dass das Extraktionseingangsvolumen ("Extraction Input Volume") 200 µl und das extrahierte Elutionsvolumen ("Extraction Elution Volume") 200 µl beträgt.

REF RTSD00ING

- 9. Das zu verwendende Assay-Protokoll in der Spalte "Assay" auswählen (d. h. 52M ELITe_Be_WB_200_200). Auf "Next" klicken, um fortzufahren.
- 10. Bei Verwendung von Rack 4 Schritt 7 bis 9 wiederholen.
- 11. Die Elutionsröhrchen in die Racks 3 und 2 laden (immer mit Rack 3 beginnen).

Hinweis: Elutionsröhrchen können zur Verbesserung der Rückverfolgbarkeit etikettiert werden.

- 12. Das Rack in die "Kühleinheit" einsetzen. Auf "Next" klicken, um fortzufahren.
- 13. Bei Verwendung von Rack 2 Schritt 12 wiederholen.
- 14. 52M-PCR Mix in Rack 1 laden.
- 15. Das Rack 1 in die "Kühleinheit" einsetzen. Auf "Next" klicken, um fortzufahren.
- 16. Die Spitzen in den Spitzenständern prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen. Auf "Next" klicken, um fortzufahren.
- 17. Den Korb mit der **PCR-Kassette** in den Bestandsbereich ("Inventory Area") laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf "Next" klicken, um fortzufahren.
- 18. Den Korb mit den Extraktionskartuschen ELITe InGenius SP 200 und den für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf "Next" klicken, um fortzufahren.
- 19. Die Gerätetür schließen.
- 20. Auf "Start" drücken, um den Lauf zu starten.

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 Elutionsröhrchen aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen, gekennzeichnet und bei -20 °C oder darunter gelagert werden.

Hinweis: Am Ende des Laufs müssen die PCR-Kassette ("PCR Cassette") 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 7 unabhängige Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden verwendet oder für 2 Läufe von jeweils 3 Stunden (Modus "Extrakt + PCR" [Extraktion + PCR]) sowie für die zum Starten eines dritten Laufs nötige Zeit (insgesamt 7 Stunden) im gekühlten Block des Geräts gelagert werden. Vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

B Amplifikationslauf

Zum Einrichten des Amplifikationslaufs ab der extrahierten DNA die folgenden Schritte unter Beachtung der grafischen Benutzeroberfläche ausführen:

- 1. Falls erforderlich die Proben auf Raumtemperatur (+21 ±5 °C) auftauen. Vorsichtig mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
- Die benötigten 52M PCR Mix-Röhrchen 30 Minuten bei Raumtemperatur (+21 ±5 °C) auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 24 Reaktionen unter optimalen Bedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.

Hinweis: Den 52M PCR Mix lichtgeschützt auftauen lassen, da dieses Reagenz lichtempfindlich ist.

- 2. Auf der Startseite "Perform Run" (Lauf durchführen) auswählen.
- 3. Die Racks 1, 2 und 3 aus der "Kühleinheit" entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.
- 4. Den Laufmodus wählen: "PCR Only" (Nur PCR).
- 5. Die Proben in die Racks 3 und 2 laden (immer mit Rack 3 beginnen).
- 6. Das Rack in die "Kühleinheit" einsetzen. Auf "Next" klicken, um fortzufahren.

Coagulation ELITe MGB_® Kit Reagenz für die DNA-Amplifikation in Echtzeit

- Sicherstellen, dass das "Extraction Input Volume" (Extraktionseingangsvolumen) 200 µl und das "Extraction Elution Volume" (extrahierte Elutionsvolumen) 200 µl betragen, auch wenn keine Extraktion durchgeführt wird.
- 8. Das zu verwendende Assay-Protokoll in der Spalte "Assay" auswählen (z. B. 52M ELITe_Be_WB_200_200). Auf "Next" klicken, um fortzufahren.
- 9. Bei Verwendung von Rack 2 Schritt 7 bis 9 wiederholen.
- 10.52M PCR Mix in Rack 1 laden.
- 11.Das Rack in die "Kühleinheit" einsetzen. Auf "Next" klicken, um fortzufahren.
- 12.Die Spitzen in den Spitzenständern prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen. Auf "Next" klicken, um fortzufahren.
- 13.Den Korb mit der **PCR-Kassette** in den Bestandsbereich ("Inventory Area") laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf "Next" klicken, um fortzufahren.
- 14.Die Gerätetür schließen.
- 15.Auf "Start" drücken, um den Lauf zu starten.

Nach Beendigung des Vorgangs 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 kann die übrige extrahierte Probe aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen, identifiziert und bei ~-20 °C oder darunter gelagert werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

Hinweis: Am Ende des Laufs muss die PCR-Kassette ("PCR Cassette") mit den Reaktionsprodukten aus dem Gerät entfernt und ohne Kontamination der Umwelt entsorgt werden. Ein Verschütten der Reaktionsprodukte vermeiden.

Hinweis: Der PCR Mix kann für 7 unabhängige Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden verwendet oder für 2 Läufe von jeweils 3 Stunden (Modus "Extrakt + PCR" [Extraktion + PCR]) sowie für die zum Starten eines dritten Laufs nötige Zeit (insgesamt 7 Stunden) im gekühlten Block des Geräts gelagert werden. Vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

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:

 Die benötigten 52M PCR Mix-Röhrchen 30 Minuten bei Raumtemperatur (+21 ±5 °C) auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Reaktionen unter optimalen Bedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Vorsichtig mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.

Hinweis: Den 52M PCR Mix lichtgeschützt auftauen lassen, da dieses Reagenz lichtempfindlich ist.

- 52M Positive Control-Röhrchen 30 Minuten bei Raumtemperatur (+21 ±5 °C) auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 4 Reaktionen. Vorsichtig mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
- 3. ≥ 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie (wie Negative Control) in ein Elutionsröhrchen (im Lieferumfang des **ELITE InGenius SP Consumable Set** enthalten) überführen.
- 4. Auf der Startseite "Perform Run" (Lauf durchführen) auswählen.
- 5. Die Racks 1, 2 und 3 aus der "Kühleinheit" entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.
- 6. Den Laufmodus wählen: "PCR Only" (Nur PCR).
- 7. Die Röhrchen für die Positive und Negative Control in die Racks 3 laden.
- 8. Das Rack in die "Kühleinheit" einsetzen. Auf "Next" klicken, um fortzufahren.
- Das zu verwendende Assay-Protokoll der Spalte "Assay" auswählen (52M ELITe_Be_PC und 52M ELITe_Be_NC). Klicken Sie auf die Schaltfläche "Next" (Weiter), um fortzufahren.
- 10. 52M PCR Mix in Rack 2 laden.

REF RTSD00ING



- 11. Das Rack 2 in die "Kühleinheit" einsetzen. Auf "Next" (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
- 12. Die Spitzen in den Spitzenständern prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen. Auf "Next" klicken, um fortzufahren.
- 13. Den Korb mit der **PCR-Kassette** in den Bestandsbereich ("Inventory Area") laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf "Next" klicken, um fortzufahren.
- 14. Die Gerätetür schließen.
- 15. Auf "Start" drücken, um den Lauf zu starten.

Nach Beendigung des Vorgangs 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 kann die übrige Positive Control aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und bei -20 °C oder darunter gelagert werden. Ein Verschütten der Positive Controls vermeiden.

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

Hinweis: Der PCR Mix kann für 7 unabhängige Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden verwendet oder für 2 Läufe von jeweils 3 Stunden (Modus "Extrakt + PCR" [Extraktion + PCR]) sowie für die zum Starten eines dritten Laufs nötige Zeit (insgesamt 7 Stunden) im gekühlten Block des Geräts gelagert werden. Vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

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.

ELITe BeGenius generiert Ergebnisse mithilfe des Coagulation ELITe MGB Kits 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.

Hinweis: Einzelheiten sind den entsprechenden Kapiteln des ELITe InGenius Handbuchs zu entnehmen.

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



LEISTUNGSMERKMALE BEI ELITe InGenius und ELITe BeGenius

Nachweiseffizienz (Inklusivität)

Zur Bewertung der Nachweiseffizienz für Faktor-V-, Faktor-II- und MTHFR-Gene wurden Sequenzen mit Nukleotid-Datenbanken verglichen.

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

Die Fluoreszenzmarker ermöglicht den Nachweis der in den folgenden Tabellen aufgeführten Faktor-V-, Faktor-II- und MTHFR-Gene. Die Grenzen der zugehörigen Tm-Intervalle für **ELITe InGenius** wurden mit in den Verifizierungs- und Validierungsstudien erhaltenen Daten berechnet. Die verwendeten Tm-Bereiche werden in der folgenden Tabelle angezeigt. Die Tm-Intervalle für **ELITe BeGenius** wurden durch Analyse der in der Verifizierungsstudie über die Ausweitung der Nutzung des Produkts auf **ELITe BeGenius** erhaltenen Daten berechnet.

Con	Detektiortee Allel	Tm-Bereich			
Gen	Detektiertes Aller	ELITe InGenius	ELITe BeGenius		
Eaktor V	Allel 1691G (Wildtyp)	53,0 °C – 57,0 °C	52,5 °C – 56,5 °C		
Faktor V	Allel 1691A (mutiert, Leiden)	61,0 °C – 65,0 °C	59,5 °C – 63,5 °C		
Faktor II	Allel 20210G (Wildtyp)	56,0 °C – 61,0 °C	55,0 °C – 60,0 °C		
	Allel 20210A (mutiert)	64,0 °C – 69,0 °C	63,0 °C – 68,0 °C		
MTHFR	Allel MTHFR 677C (Wildtyp)	55,0 °C – 59,0 °C	54,0 °C – 58,0 °C		
	Allel MTHFR 677T (mutiert)	64,0 °C – 68,0 °C	63,0 °C – 67,0 °C		

Analytische Sensitivität:

Die analytische Sensitivität des **Coagulation ELITe MGB Kits** wurde auf dem **ELITe InGenius** (Modus "PCR Only" (nur PCR)) definiert und auf dem **ELITe BeGenius** (Modus "PCR Only" (nur PCR)) verifiziert.

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

Die analytische Sensitivität wurde mithilfe von Reihen humaner genomischer DNA, die für Faktor V und Faktor II zertifiziert waren (WHO Reference Reagent Factor V Leiden, Human gDNA, 1st International Genetic International Panel, NIBSC, UK, code 04/224 und WHO Reference Reagent Prothrombin Mutation G20210A, Human gDNA, 1st International Genetic International Panel, NIBSC, UK, code 05/130) verifiziert.

Die drei Proben (Wildtyp, heterozygot und homozygot) jedes Panels wurden in 4 Wiederholungen bei ca. 70 ng pro Reaktion getestet, um das Amplifikations- und Detektionsverfahren mit dem Produkt und dem **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius** durchzuführen. Alle Wiederholungen waren gültig und korrekt bestimmt.

Analytische Spezifität

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

Eine simulierte Probe, die zirka 80.000 Kopien Plasmid-DNA enthielt, wurde in 24 Wiederholungen zur Durchführung des Amplifikations- und Detektionsverfahrens mit dem Produkt und dem ELITe InGenius verwendet. Alle Wiederholungen waren korrekt bestimmt: Keine für Faktor II SNP C20209T mutierte Probe wurde als heterozygot oder homozygot für Faktor II SNP G20210A mutiert ausgewiesen.



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

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

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

Simulierte Proben, die zirka 80.000 Kopien Plasmid-DNA enthielten, wurden in 6 Wiederholungen zur Durchführung des Amplifikations- und Detektionsverfahrens mit dem Produkt und dem **ELITe InGenius** verwendet. Alle Wiederholungen waren "Inconclusive" (Uneindeutig) oder korrekt bestimmt. Keine für die seltenen, analysierten SNPs mutierte Probe wurde als heterozygot oder homozygot für die untersuchten SNPs ausgewiesen.

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

Potenziell interferierende Organismen: Kreuzreaktivität

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

Die Analyse der amplifizierten Region der Produktsequenzen ergab die Abwesenheit signifikanter Homologien. Daher ist keine Kreuzreaktivität mit potenziell interferierenden Organismen zu erwarten.

Potenziell interferierende Organismen: Inhibition

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

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

Störende Substanzen

Die Wirkung potenziell störender Substanzen wurde durch Analyse einer in EDTA entnommenen Vollblutprobe bewertet, die heterozygot für die drei untersuchten Gene war und mit den folgenden potenziell störenden Substanzen dotiert war: Bilirubin 300 µg/ml, Triglyzeride 4 mg/ml, Heparin 8,3 µg/ml, 50 mM EDTA, Ibuprofen 100 µg/ml, Ganciclovir 10 µg/ml, Ampicillin 18 µg/ml und Ciclosporin 0,3 µg/ml.

Die mit den Substanzen dotieren Proben und eine (nicht dotierte) Referenzprobe wurden dem gesamten Analyseverfahren unterzogen: dem Extraktions- und Amplifikationsverfahren in 3 Wiederholungen mit dem Produkt und dem **ELITE InGenius**. Alle Replikate waren gültig und korrekt genotypisiert.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

	Genotyp	IC Ct (Grenzwert = 26,5)			
Probe	FV het / FII het /		Replikate	Ergebnis	
	MTHFR het	1	1 2 3		
"Control" (Kontrolle)	3/3	22,72	22,42	22,25	Keine Interferenz
Cyclosporin A	3/3	22,55	22,17	22,31	Keine Interferenz
Ganciclovir	3/3	22,47	22,87	22,35	Keine Interferenz
Heparin	3/3	22,31	22,67	22,31	Keine Interferenz
EDTA	3/3	23,27	23,46	23,41	Keine Interferenz
Ibuprofen	3/3	24,98	23,77	23,59	Keine Interferenz
Triglyzeride	3/3	23,42	24,49	24,51	Keine Interferenz
Ampicillin	3/3	22,59	22,69	22,26	Keine Interferenz
Bilirubin	3/3	22,73	22,61	22,35	Keine Interferenz

Coagulation ELITe MGB_® Kit Reagenz für die DNA-Amplifikation in Echtzeit



Wiederholpräzision

Die Wiederholpräzision der mit dem Produkt **Coagulation ELITe MGB Kit** in Kombination mit **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius** erhaltenen Ergebnisse wurde durch Analyse eines aus 3 Proben bestehenden Panels von in EDTA entnommenem Vollblut erhalten wurde, getestet:

- Genotyp FII SNP G1691A heterozygot (Leiden) (FV normal und MTHFR normal),
- Genotyp FV SNP G20210A heterozygot (FII normal und MTHFR heterozygot),
- Genotyp MTHFR SNP C677T heterozygot (FII normal und FV normal).

Die Wiederholpräzision innerhalb des Laufs wurde mittels Analyse von 3 Proben des Panels, alle heterozygot auf den untersuchten SNP eines Gens, mit 8 Replikaten in einem Lauf pro Tag und mit derselben Produktcharge, am selben Tag mit demselben Gerät bestimmt. Die Proben wurden an zufälligen Positionen im Modus "Extract + PCR" (Extraktion + PCR) abgearbeitet.

Die laufübergreifende Wiederholpräzision wurde mittels Analyse von 3 Proben des Panels, alle heterozygot auf den untersuchten SNP eines Gens, mit 8 Replikaten in einem Lauf pro Tag und mit derselben Produktcharge, an zwei verschiedenen Tagen mit demselben Gerät bestimmt. Die Proben wurden an zufälligen Positionen im Modus "Extract + PCR" (Extraktion + PCR) abgearbeitet.

Alle Replikate waren gültig und korrekt bestimmt. Die Variabilität der erhaltenen Ergebnisse wurde als VK % von IC-Ct-Werten und von Tm der drei untersuchten Gene berechnet.

Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen zusammengefasst.

Wiederholpräzision innerhalb des Laufs auf ELITe InGenius							
Panel-Probe Ziel Anzahl Mittlerer Ct-Wert KV % Ct							
Heterozygot FII SNP G1691A	IC (Interne	8	22,07	0,41			
Heterozygot FV SNP G20210A	IC (Interne	8	22,91	0,76			
Heterozygot MTHFR SNP C677T	Kontrolle)	8	22,02	1,22			

Wiederholpräzision innerhalb des Laufs auf ELITe InGenius						
Panel-Probe	Allel	Anzahl	Mittlere Tm	VK % Tm		
Hotoromygot Ell SNR C1601A	Faktor II Wildtyp	8	58,19	0,207		
Helerozygol FII SNP G 1091A	Faktor II mutiert	8	65,66	0,051		
Hotorozygot EV SND C20210A	Faktor V Wildtyp	8	55,18	0,048		
Heterozygot FV SNP G20210A	Faktor V mutiert	8	62,31	0,120		
Listeremunet MTUER SND C677T	MTHFR Wildtyp	8	56,73	0,183		
Helerozygol MTHER SNP Co771	MTHFR mutiert	8	65,90	0,169		

Laufübergreifende Wiederholpräzision auf ELITe InGenius					
Panel-Probe Ziel Anzahl Mittlerer Ct-Wert KV % Ct					
Heterozygot FII SNP G1691A	IC (Interne Kontrolle)	16	22,12	1,12	
Heterozygot FV SNP G20210A		16	22,91	0,75	
Heterozygot MTHFR SNP C677T		16	22,10	1,36	

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



Die Wiederholpräzision auf **ELITe InGenius** des Produkts **Coagulation ELITe MGB Kit** ergab Ct-Werte von IC mit einem VK % von unter 5 % und einem Tm-Wert der drei untersuchten Gene von niedriger als 5 %.

Wiederholpräzision innerhalb des Laufs auf ELITe BeGenius						
Panel-Probe Ziel Anzahl Mittlerer Ct-Wert KV % Ct						
Heterozygot FII SNP G1691A	IC (Interne Kontrolle)	8	22,35	1,90		
Heterozygot FV SNP G20210A		8	22,95	2,20		
Heterozygot MTHFR SNP C677T		8	22,40	1,28		

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

Laufübergreifende Wiederholpräzision auf ELITe BeGenius						
Panel-Probe Ziel Anzahl Mittlerer Ct-Wert KV % Ct						
Heterozygot FII SNP G1691A	IC (Interne Kontrolle)	16	22,26	1,58		
Heterozygot FV SNP G20210A		16	23,10	2,02		
Heterozygot MTHFR SNP C677T		16	22,45	1,75		

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

Die Wiederholpräzision auf **ELITE BeGenius** des Produkts **Coagulation ELITE MGB Kit** ergab Ct-Werte von IC mit einem VK % von unter 5 % und einem Tm-Wert der drei untersuchten Gene von niedriger als 5 %.





Vergleichspräzision

Die Vergleichspräzision der mit dem Produkt "Coagulation ELITe MGB Kit" in Kombination mit den Systemen **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius** erhaltenen Ergebnisse wurde durch Analyse eines aus 3 Proben bestehenden Panels, das aus in EDTA entnommenem Vollblut erhalten wurde, getestet:

- Genotyp FII SNP G1691A heterozygot (Leiden) (FV normal und MTHFR normal),
- Genotyp FV SNP G20210A heterozygot (FII normal und MTHFR heterozygot),
- Genotyp MTHFR SNP C677T heterozygot (FII normal und FV normal).

Die chargenübergreifende Vergleichspräzision wurde durch die Analyse von 3 Panel-Proben, alle heterozygot auf den untersuchten SNP eines Gens, mit 8 Replikaten pro Tag mit 2 verschiedenen Chargen und demselben Gerät an 2 Tagen ermittelt. Die Proben wurden an zufälligen Positionen im Modus "Extract + PCR" (Extraktion + PCR) abgearbeitet.

Die geräteübergreifende Vergleichspräzision wurde durch die Analyse von 3 Panel-Proben, alle heterozygot auf den untersuchten SNP eines Gens, mit 8 Replikaten pro Tag mit 2 verschiedenen Geräten, 2 verschiedenen Bedienern an 2 Tagen ermittelt. Die Proben wurden an zufälligen Positionen im Modus "Extract + PCR" (Extraktion + PCR) abgearbeitet.

Alle Replikate waren gültig und korrekt bestimmt. Die Variabilität der erhaltenen Ergebnisse wurde als VK % von IC-Ct-Werten und von Tm der drei untersuchten Gene berechnet.

Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen zusammengefasst.

Chargenübergreifende Vergleichspräzision auf ELITe InGenius					
Panel-Probe Ziel Anzahl Mittlerer Ct-Wert KV % Ct					
Heterozygot FII SNP G1691A	IC (Interne Kontrolle)	16	22,28	1,28	
Heterozygot FV SNP G20210A		16	22,46	2,58	
Heterozygot MTHFR SNP C677T		16	23,14	1,47	

Chargenübergreifende Vergleichspräzision auf ELITe InGenius				
Panel-Probe	Allel	Anzahl	Mittlere Tm	VK % Tm
Heterozygot FII SNP G1691A	Faktor II Wildtyp	16	58,1	0,23
	Faktor II mutiert	16	65,7	0,12
Heterozygot FV SNP G20210A	Faktor V Wildtyp	16	55,1	0,10
	Faktor V mutiert	16	62,3	0,13
Listeremunat MTUER SNR C677T	MTHFR Wildtyp	16	56,6	0,32
Helelozygol WITHER SNP C0771	MTHFR mutiert	16	65,8	0,22

Geräteübergreifende Vergleichspräzision auf ELITe InGenius					
Panel-Probe Ziel Anzahl Mittlerer Ct-Wert KV % C					
Heterozygot FII SNP G1691A	IC (Interne Kontrolle)	16	22,38	1,53	
Heterozygot FV SNP G20210A		16	22,45	2,34	
Heterozygot MTHFR SNP C677T		16	23,13	1,27	

Geräteübergreifende Vergleichspräzision auf ELITe InGenius				
Panel-Probe	Allel	Anzahl	Mittlere Tm	VK % Tm
Heterozygot FII SNP G1691A	Faktor II Wildtyp	16	58,1	0,27
	Faktor II mutiert	16	65,6	0,12
Heterozygot FV SNP G20210A	Faktor V Wildtyp	16	55,1	0,21
	Faktor V mutiert	16	62,2	0,16
Listense wet MTUED OND COZZE	MTHFR Wildtyp	16	56,6	0,35
Helelozygol MI HFR SNP Coll I	MTHFR mutiert	16	65,7	0,28

Die Vergleichspräzision auf **ELITe InGenius** des Produkts **Coagulation ELITe MGB Kit** ergab Ct-Werte von IC mit einem VK % von unter 5 % und einem Tm-Wert der drei untersuchten Gene von niedriger als 5 %.

SCH mRTSD00ING_de



Chargenübergreifende Vergleichspräzision auf ELITe BeGenius					
Panel-Probe Ziel Anzahl Mittlerer Ct-Wert KV % Ct					
Heterozygot FII SNP G1691A		16	22,42	1,72	
Heterozygot FV SNP G20210A	IC (Interne Kontrolle)	16	22,60	1,99	
Heterozygot MTHFR SNP C677T		16	22,80	2,20	

Chargenübergreifende Vergleichspräzision auf ELITe BeGenius				
Panel-Probe	Allel	Anzahl	Mittlere Tm	VK % Tm
Heterozygot FII SNP G1691A	Faktor II Wildtyp	16	57,6	0,29
	Faktor II mutiert	16	65,2	0,11
	Faktor V Wildtyp	16	54,8	0,11
Helefozygol FV SNP G20210A	Faktor V mutiert	16	61,5	0,24
	MTHFR Wildtyp	16	56,2	0,27
Helelozygol WITHER SNP C6//T	MTHFR mutiert	16	65,2	0,28

Geräteübergreifende Vergleichspräzision auf ELITe BeGenius						
Panel-Probe	Ziel	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	KV % Ct		
Heterozygot FII SNP G1691A		16	22,51	1,60		
Heterozygot FV SNP G20210A	IC (Interne Kontrolle)	16	22,63	1,68		
Heterozygot MTHFR SNP C677T		16	23,15	1,83		

Geräteübergreifende Vergleichspräzision auf ELITe BeGenius				
Panel-Probe	Allel	Anzahl	Mittlere Tm	VK % Tm
Hotorozygot Ell SND C1601A	Faktor II Wildtyp	16	57,7	0,45
Helelozygol FII SNF G 1091A	Faktor II mutiert	16	65,2	0,13
Listere Tyret EV SND C202104	Faktor V Wildtyp	16	54,8	0,16
Helelozygol FV SNP G20210A	Faktor V mutiert	16	61,6	0,23
Listeremunat MTLIER SNR C677T	MTHFR Wildtyp	16	56,2	0,30
Helerozygol WITHER SINP COTT	MTHFR mutiert	16	65,3	0,17

Die Vergleichspräzision auf **ELITe BeGenius** des Produkts **Coagulation ELITe MGB Kit** ergab einen VK % des Ct-Werts der IC-Amplifikation von unter 5 % und einen VK % des Tm-Werts der drei untersuchten Gene von niedriger als 5 %.

Robustheit: Test auf Kreuzkontamination

Das Nichtvorhandensein von Kreuzkontamination wurde durch Analyse von Vollblutproben im Wechsel mit Wasser für die Molekularbiologie analysiert.

Bei diesem Test wurden 6 Vollblutproben im Wechsel mit 6 Wasserproben in fünf verschiedenen Läufen dem vollständigen Analyseverfahren, dem Extraktions- und Amplifikationsverfahren mit dem Produkt **Coagulation ELITE MGB Kit** und **ELITE InGenius**, unterzogen.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

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

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

Coagulation ELITe MGB_® Kit Reagenz für die DNA-Amplifikation in Echtzeit



Diagnostische Übereinstimmung: Bestätigung des zertifizierten Proben-Genotyps

Die diagnostische Übereinstimmung dieses Tests als die Fähigkeit, den Genotyp der zertifizierten Probe korrekt zu identifizieren, wurde an klinischen Vollblutproben von Personen mit bekanntem Genotyp und, für mutierte homozygoten Genotypen von Faktor II SNP G20210A- und MTHFR SNP C677T-Loci, an simulierten Proben getestet.

Die diagnostische Übereinstimmung wurde anhand von 219 in EDTA entnommenen Vollblutproben von verschiedenen Personen, deren Genotyp durch validierte Real-Time-PCR-Referenzassays bestimmt wurde, und 92 simulierten Proben mit mutiertem homozygotem Genotyp, die mit Plasmid-DNA-Mischungen in Plasmamatrix vorbereitet wurden, verifiziert.

Die Proben wurden mit durch Extraktions- und Amplifikationsverfahren unter Verwendung des Produkts und des **ELITe InGenius** getestet.

Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen zusammengefasst.

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

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

Proben-Genotyp: Faktor II G20210A	Anza hl	wт	Het.	Hom.	Diagnostische Übereinstimmung	Gesamte Diagnostische Übereinstimmung
Wildtyp	160	160	0	0	100 %	
Heterozygot	59	0	59	0	100 %	100.0/
Homozygot mutiert (simuliert)	56	0	0	56	100 %	100 %

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

Proben-Genotyp: MTHFR C677T	Anz ahl	wт	Het.	Hom.	Diagnostische Übereinstimmung	Gesamte Diagnostische Übereinstimmung
Wildtyp	63	63	0	0	100 %	
Heterozygot	136	0	136	0	100 %	
Homozygot mutiert	19	0	0	19		100 %
Homozygot mutiert (simuliert)	36	0	0	36	100 %	

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

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

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

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





FEHLERBEHEBUNG

Ungültige Reaktion der Positive Control				
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen			
Einstellfehler des Geräts.	Position des PCR Mix und der Positive Control kontrollieren. Volumina des PCR Mix und der 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.			

Ungültige Reaktion der Negative Control					
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen				
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 Bestandsblocks.	Oberflächen mit wässrigen Reinigungsmitteln reinigen, Laborkittel waschen, verwendete Teströhrchen und Spitzen austauschen.				
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.				

Ungültige oder uneindeutige Probenreaktion				
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen			
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 mit PCR Mix verwenden.			
Störsubstanz in der Probe.	Die Amplifikation der eluierte Probe mit einer 1: 2- Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem "PCR Only"-Lauf (nur PCR) wiederholen.			
DNA-Menge in der Probe nicht ausreichend.	Extraktion und Amplifikation mit einem neuen Aliquot der Probe in einem "Extract + PCR"-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen.			
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.			

Fehler 30103	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Zu hohe Ziel-DNA-Konzentration in der Probe.	Amplifikationsreaktion der Probe mit einer 1:10- Verdünnung der eluierten Probe in Wasser für die Molekularbiologie in einem "PCR Only"-Lauf (nur PCR) wiederholen.

QUELLENANGABEN

Voorberg, J. et al. (1994) *The Lancet* <u>343</u>: 1535 - 1536. Baker, R. et al. (1994) *The Lancet* <u>344</u>: 1162. Poort, S. R. et al. (1996) Blood 88: 3698 - 3703. Kluijtmans L. A. et al. (1996) Am J Hum Genet 58: 35 - 41. Cattaneo M. et al. (1997) Arterioscler Thromb Vasc Biol. 17: 1662-1666.

GRENZEN DES VERFAHRENS

Dieses Produkt darf nur mit klinischen, in EDTA entnommenen Vollblutproben verwendet werden. Es liegen keine Daten zur Produktleistung mit DNA vor, die aus den folgenden klinischen Proben extrahiert wurde: Speichel.

Die mit diesem Produkt erhaltenen Ergebnisse hängen von der 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 ernsten 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 ernsten 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.

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

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

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

Wie bei allen diagnostischen Produkten besteht auch bei diesem Produkt ein Restrisiko von ungültigen, uneindeutigen und falschen 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.



TH Error (Schwellenwert-Fehler), SDM Error (Fehler bei Maximum der zweiten Ableitung), Ct Error (Ct-Fehler)				
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen			
Probe mit anormaler Diagrammform.	Amplifikationsreaktion der Probe mit einer 1:10- Verdünnung der eluierten Probe in Wasser für die Molekularbiologie in einem "PCR Only"-Lauf (nur PCR) wiederholen.			

SYMBOLE



Unique Device Identification, eindeutige Gerätekennung



Genügend für "n" Tests.

Achtung, Gebrauchsanweisung beachten. FORT Inhalt.



Vor Sonneneinstrahlung schützen



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



ANWENDERHINWEISE

Jeder schwerwiegende Zwischenfall, der im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetreten ist, muss dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedsstaates, in dem der Anwender und/oder der Patient ansässig ist, gemeldet werden. Zum Zeitpunkt der aktuellen Überarbeitung der Gebrauchsanweisung lag kein schwerwiegender Zwischenfall oder Rückruf des Produkts vor.

Eine "Zusammenfassung der Unbedenklichkeit und der Leistung" wird der Öffentlichkeit über die Europäische Datenbank für Medizinprodukte (Eudamed) zur Verfügung gestellt, sobald dieses Informatiksystem funktionsfähig ist. Vor der Veröffentlichung des Hinweises über die vollständige Funktionsfähigkeit von Eudamed wird die "Zusammenfassung der Sicherheit und Leistung" der Öffentlichkeit auf Anfrage ohne unnötige Verzögerung zur Verfügung gestellt.

HINWEIS AN 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 nicht übertragbare Rechte, die auf den Gebrauch nur dieser Produktmenge ausschließlich für Aktivitäten des Käufers mit direktem humandiagnostischem Bezug beschränkt sind. Informationen bezüglich einer Lizenz zum Kauf dieses Produkts zu anderen als den oben genannten Zwecken erhalten Sie bei Licensing Department, Thermo-Fisher Scientific, E-Mail: outlicensing@thermofisher.com.

ELITe MGB® Nachweisreagenzien sind durch eines oder mehrere der US-Patente mit den Nummern 6972339. 7112684. 7319022. 7348146. 7381818. 7541454. 7582739. 7601851. 7671218. 7718374. 7723038, 7759126, 7767834, 7851606, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8569516, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529 und der EP-Patente mit den Nummern 1430147, 1687609, 1781675, 1789587, 2689031, 2714939, 2736916, 2997161 sowie durch anhängige Patentanmeldungen geschützt.

Die ELITe InGenius®- und die ELITe BeGenius®-Technologie ist durch Patente geschützt oder Gegenstand von Patentanmeldungen.

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

12.09.2023

SCH mRTSD00ING de

12.09.2023

Seite 28/28

Coagulation ELITe MGB[®] kit used with ELITe InGenius and ELITe BeGenius

Ref: RTSD00ING



This document is a simplified version of the official instruction for use. Please refer to the complete document before use: www.elitechgroup.com This document is available only in English.

A.Intended use

i

1

The product **Coagulation ELITE MGB® Kit** is an *in vitro* diagnostic medical device intended to be used by healthcare professionals as qualitative nucleic acids Real-Time PCR assay for the allelic discrimination of the following three loci in human genomic DNA samples extracted from clinical specimens:

- coagulation Factor V gene, single nucleotide polymorphism (SNP) G1691A (Leiden),
- coagulation Factor II gene, SNP G20210A,
- 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene, SNP C677T.

The assay is validated in association with the **ELITe InGenius**[®] and **ELITe BeGenius**[®], automated and integrated instruments for extraction, Real-Time PCR and results interpretation, using human specimens of whole blood collected in EDTA.

The product is intended for use as an aid in assessing the risk of deep vein thrombosis in patients suspected of having coagulation disorders and at risk of deep vein thrombosis.

The results must be interpreted in combination with all relevant clinical observations and laboratory outcomes.

B. Amplified sequence

Target	Gene	Fluorophore
SNP G1691A (Leiden)	Factor V	AP639
SNP G20210A	Factor II	FAM
SNP C677T	MTHFR	AP593
Internal Control	Human beta Globin gene	AP525

C. Validated matrix

Whole Blood collected in EDTA.

D. Kit content



G. Performance

Target	Limit of Detection	Total Diagnostic Agreement
Factor V SNP G1691A	70ng DNA/reaction	100%
Factor II SNP G20210A	70ng DNA/reaction	100%
MTHFR SNP C677T	70ng DNA/reaction	100%

H. Procedures ELITe InGenius

The user is guided step-by-step by the ELITe InGenius software to prepare the run. All the steps: extraction, amplification and result interpretation are automatically performed. Three operational mode are available: complete run, PCR only or extraction only.

Before analysis

1.	Switch on ELITe InGenius Identification with username and password Select the mode "Closed"	2.	Verify controls: 52M positive and negative controls in the "Control menu" N.B: Both have been run, approved and not expired	3.	Thaw the 52M-PCR-Mix tube Vortex gently Spin down 5 sec
----	--	----	---	----	---

Procedure 1 - Complete run: Extraction + PCR

1. Select "Perform Run" on the touch screen



4. Select the "Assay protocol" of interest



 Load: PCR cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip, extraction tube and primary sample racks



Parlom Run 201

2. Verify the extraction volume:

Input: "200 μL", eluate: "200 μL"

 Select the sample position: Primary tube or extraction tube



8. Close the door Start the run







6. Load the PCR Mix in the inventory block



9. View, approve and store the results



1 to 4: Follow the Complete Run procedure described above

- Load the PCR cassette rack Load the PCR Mix in the inventory block
- Procedure 2 PCR only
- Select the protocol "PCR only" and set the sample position "Extra tube"
- 8. Close the door Start the run

- **6.** Load the extracted nucleic acid tubes in the Elution tubes rack
- 9. View, approve and store the results

Procedure 3 - Extraction only

1 to 4 : Follow the Complete Run procedure described above	5.	Select the protocol "Extraction Only" and set the sample position: Primary tube or Secondary tube	6.	Load: Extraction cartridge, Elution tube, Tip cassette, extraction tube and primary sample racks
7. Close the door Start the run	8.	Archive the eluate sample		

Procedures ELITe BeGenius Ι.

The user is guided step-by-step by the ELITE BeGenius software to prepare the run. All the steps: extraction, amplification and result interpretation are automatically performed. Three operational mode are available: complete run, PCR only or extraction only.

Before analysis

Verify controls: 52M Positive Control 1. Switch on ELITe BeGenius. 2. 3. Thaw the 52M PCR Mix tube. Log in with username and password. and 52M Negative Control in the Vortex gently. Select the mode "Closed". "Controls" menu. Spin down 5 sec. Note: Both must have been run, approved and not expired.

Procedure 1 - Complete run: Extraction + PCR

1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «Extraction and PCR»



4. Select the "Assay protocol" of interest

int Crawdio LKG	n Data Ndune	200 Sco 201 Critector Duta Ndur 202	100	Seve Tem	nes 11	Print Load Templetes
Red W	Sergie 13	Annual Distances and the Control		Secolar Decision	-	ne Chilleri et
0 Tes 1 de 1	-					and a state
19-0	SEROR.			Erat	+ POR 1	
15.2	8208032			Privat	PO1 1	1
15.3	ON GOWER DO			Extent	• PO1 1	
15-4	ON GEDWOR_C1			Druct	+ 902 1	
15-6	ON GENERAL CI			Error	+ POR 1	
15.6	DNG/W/#_C			Priori	PCR 1	1
157	ON Peak vs Costs			Deve	+ PO1 1	
15-4	CNV Peak yo Contr			DOWN	+ POR 1	
15-4	CNN Politica Calif.			ECOT.	+ POR 1	
19-00	CNV logid vo Carl			FIGHT	PER 1	

Note: if a second extraction is performed repeat steps from 2 to 4

7. Load: Filter Tips, Extraction rack, and PCR rack



2. Insert the Sample Rack with the barcoded samples in the cooling area. The barcode scan is already active



5. Print the labels to barcode the empty elution tubes. Load the tubes in the Elution and insert it in the cooling area Rack and insert it in the cooling area

Perform Run			Intuner	c Name : 200 c Satur : RSA	-HODEL			ServicePS5./ Servic OPD1 mod R(20(2002 12/40-2
Print the Sample ID	label	s and a	flx them	on the elu	ate tubes.			
0.02.0104.05		Paikke	Sampis 12	× -	Barcodo Content			
	2	04	NEGRO	\$20001348	1123/56506(110) 8000	10000	_	
	K	04	STOORE	PRODUCTION	er de service de la construcción de	10001		Print
88-88								
· 비원 = 영영 •								Drave this Screen
· (1) (2) - (2) (2) -								
							Ð	Red
8	<	¥		Su .		Ð		0

8. Close the door. Start the run



3. Verify the extraction volumes: Input: "200 μL", Eluate: "200 μL"



6. Load the Q-PCR-Mix in Reagent Rack



9. View, approve and store the results



Procedure 2 - PCR only

1. Select "Perform Run" on the touch screen and the click on the run mode «PCR Only»	2. Load the extracted nucleic acid barcoded tubes in the Elution Rack and insert it in the cooling area	3. Select the "Assay protocol" of interest
4. Load the Q-PCR-Mix in Reagent Rack and insert it in the cooling area Load filter tips and the PCR rack	5. Close the door. Start the run Procedure 3 - Extraction only	6. View, approve and store the results
1 to 4 : Follow the Complete Run procedure described above	 Select the protocol "Extraction Only" in the Assay Protocol selection screen. 	6. Load : Filter Tips and the Extraction Rack
7. Close the door Start the run	8. Archive the eluate sample	