




ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185
10149 Torino ITALY
Uffici: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76 11
E. mail: emd.support@elitechgroup.com
sito WEB: www.elitechgroup.com

NOTICE of CHANGE dated 09/10/2024

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«COLISTIN-R ELITE MGB Kit» Ref. RTS202ING-48

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

- *Diagnostic sensitivity: increase of sample size (Rectal Swab mcr-2 spiked samples) by confirming the results already obtained.*

PLEASE NOTE

- *Composition, use and performance of the product remain unchanged.*
- *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
RTS202ING-48	U1222-035	December 2024
CTR202ING	U0123-014	January 2025



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



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



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



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



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



DIE REVIEW VON DIESER IFU IST KOMPATIBILE MIT DER VORIGE VERSION VON DEM KIT



COLISTIN-R ELITE MGB® Kit
Reagenz für die DNA-Amplifikation in Echtzeit

REF RTS202ING-48

TESTPRINZIP

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

Ausgehend von aus den einzelnen zu testenden Proben extrahierter DNA werden für die folgenden Colistin-Resistenzgene spezifische Amplifikationsreaktionen in der PCR Cassette durchgeführt:

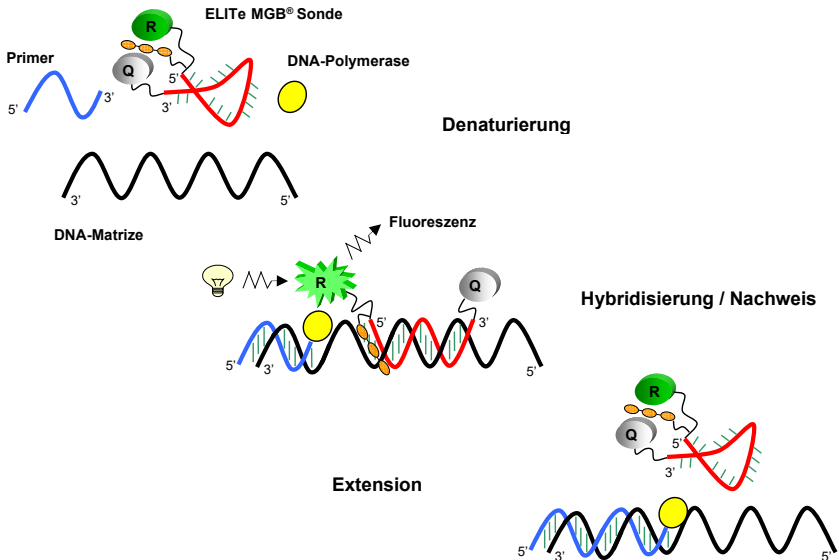
- mcr-1-Gen, nachgewiesen durch eine spezifische Sonde, die im Kanal **mcr1** (Kanal 5) ausgelesen wird,
- mcr-2-Gen, nachgewiesen durch eine spezifische Sonde, die im Kanal **mcr2** (Kanal 1) ausgelesen wird.

Darüber hinaus wird die für die exogene interne Extraktions- und Inhibitionskontrolle spezifische Amplifikationsreaktion anhand einer künstlichen Sequenz (IC2) durchgeführt und durch eine spezifische Sonde nachgewiesen, die im Kanal **IC** (Kanal 2) ausgelesen wird.

Die Sonden mit ELITE MGB®-Technologie werden aktiviert, wenn sie mit dem spezifischen Produkt der Amplifikationsreaktion hybridisieren. Die Fluoreszenzemission erhöht sich mit Zunahme des spezifischen Produkts der Amplifikationsreaktion und wird vom Gerät gemessen und aufgezeichnet. Am Ende des Amplifikationszyklus werden die Fluoreszenzkurven analysiert, um die Schwellenwertzyklen (Ct) zu identifizieren. Die Ergebnisinterpretation ermöglicht den Nachweis der Gene mcr-1 und mcr-2 für die übertragbare Colistin-Resistenz in der Ausgangsprobe.

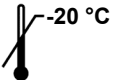
Der Assay wurde mit dem Gerät **ELITE InGenius** validiert.

In der folgenden Abbildung ist der Mechanismus der Aktivierung und Fluoreszenzemission der ELITE MGB®-Technologie-Sonde zusammenfassend dargestellt. Bitte beachten Sie, dass die Sonde während des Amplifikationszyklus nicht hydrolysiert wird, damit sie für die Analyse der Dissoziationskurve verwendet werden kann.



COLISTIN-R ELITE MGB® Kit
Reagenz für die DNA-Amplifikation in Echtzeit

REF RTS202ING-48



UDI 08033891486662

0344

INHALTSVERZEICHNIS

VERWENDUNGSZWECK	Seite 1
TESTPRINZIP	Seite 2
PRODUKTBESCHREIBUNG	Seite 3
IM LIEFERUMFANG DES PRODUKTS ENTHALTENE MATERIALIEN	Seite 3
BENÖTIGTE MATERIALIEN (NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN)	Seite 3
SONSTIGE BENÖTIGTE PRODUKTE	Seite 3
WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN	Seite 4
PROBEN UND KONTROLLEN	Seite 5
VERFAHREN	Seite 6
LEISTUNGSMERKMALE	Seite 12
QUELLENANGABEN	Seite 16
GRENZEN DES VERFAHRENS	Seite 17
FEHLERBEHEBUNG	Seite 18
SYMBOLE	Seite 20
ANWENDERHINWEISE	Seite 20
HINWEIS AN DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ	Seite 21
ANNEX	Seite A

VERWENDUNGSZWECK

Das Produkt **COLISTIN-R ELITE MGB® Kit** ist ein *In-vitro*-Diagnostikum, mit dem medizinisches Fachpersonal in einem qualitativen Nukleinsäure-Amplifikationstest die DNA der Gene mcr-1 und mcr-2 von *Enterobacteriaceae* für die übertragbare Colistin-Resistenz in klinischen Proben nachweisen und identifizieren kann.

Dieser Test ist in Verbindung mit dem Gerät **ELITE InGenius®** validiert, einem automatisierten, integrierten System zur Extraktion, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation, ausgehend von Rektalabstrichen.

Das Produkt ist, in Kombination mit den klinischen Daten und weiteren Laborbefunden des Patienten, als Hilfestellung bei der Diagnose einer *Enterobacteriaceae*-Infektion, die positiv auf Gene für die übertragbare Colistin-Resistenz ist, bestimmt.

PRODUKTBESCHREIBUNG

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

Der COL PCR Mix enthält:

- die spezifischen Primer und die Sonde für das **mcr-1**-Gen. Die Sonde **mcr1** ist mit AP639-Fluorophor markiert, durch die MGB®-Gruppe stabilisiert und durch einen nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht. Die Sonde wird im Kanal **mcr-1** (Kanal 5) des **ELITE InGenius** Systems nachgewiesen,
- die spezifischen Primer und die Sonde für das **mcr-2**-Gen. Die Sonde **mcr2** ist mit FAM-Fluorophor markiert, durch die MGB®-Gruppe stabilisiert und durch einen nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht. Die Sonde wird im Kanal **mcr-2** (Kanal 1) des **ELITE InGenius** Systems nachgewiesen,
- die spezifischen Primer und die Sonde für die künstliche Sequenz **IC2** der exogenen internen Kontrolle. Die Sonde **IC** ist mit AP525-Fluorophor markiert, durch die MGB®-Gruppe stabilisiert und durch einen nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht. Die Sonde wird im Kanal **IC** (Kanal 2) des **ELITE InGenius** Systems nachgewiesen.

Der COL PCR Mix enthält außerdem den Puffer, Magnesiumchlorid, die Nucleotidtriphosphate, die Stabilisatoren und das Enzym Taq DNA-Polymerase mit thermischer Aktivierung (Warmstart).

Das Produkt reicht aus für **48 Tests mit ELITE InGenius** einschließlich Kontrollen.

IM LIEFERUMFANG DES PRODUKTS ENTHALTENE MATERIALIEN

Komponente	Beschreibung	Menge	Gefahrenklasse
COL PCR Mix	Komplettes Reaktionsgemisch WEISSER Verschluss	4 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 (2–20 µl, 5–50 µl, 50–200 µl, 200–1000 µl).
- Hochreines Wasser für die Molekularbiologie.

SONSTIGE BENÖTIGTE PRODUKTE

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

Für die automatische Analyse der Proben werden das Gerät **ELITE InGenius** (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT030) und die folgenden spezifischen Assay Protocols (ELITechGroup S.p.A.) benötigt:

- Parameter für die Amplifikation der Positive Control „**COL-R ELITE_PC**“;
- Parameter für die Amplifikation der Negative Control „**COL-R ELITE_NC**“;
- Parameter für zu analysierende Proben „**COL-R ELITE_RcS_200_100**“.

Bei dem Gerät **ELITE InGenius** werden die folgenden generischen Produkte benötigt:

- Extraktionskartuschen **ELITE InGenius® SP 200** (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT032SP200),
- Verbrauchsmaterialien für die Extraktion **ELITE InGenius® SP 200 Consumable Set** (ELITechGroup

- S.p.A., Art.-Nr. INT032CS),
- Amplifikationskartuschen **ELITE InGenius® PCR Cassette** (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT035PCR),
- Spitzen „**300 µl Filter Tips Axyge**“ (Axygen BioScience Inc., CA, Art.-Nr. TF-350-L-R-S),
- Abfallboxen **ELITE InGenius® Waste Box** (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. F2102-000).

Als Vorlage für die interne Extraktions- und Inhibitionskontrolle wird das generische Produkt **CPE - Internal Control** (EG S.p.A., Art.-Nr. CTCRPE) benötigt. Dabei handelt es sich um eine stabilisierte Lösung, die Plasmid-DNAs und die genomische RNA des MS2-Phagen enthält.

Als Vorlage für die Amplifikations-Positive Control wird das Produkt **COLISTIN-R - ELITE Positive Control** (EG S.p.A., Art.-Nr. CTR202ING) benötigt. Dabei handelt es sich um eine stabilisierte Lösung mit Plasmid-DNAs.

Als Entnahmevorrichtung für Rektalabstrichproben werden die folgenden generischen Produkte benötigt:

- **eSWAB®** Kit (COPAN Italia S.p.A., Art.-Nr. 480CE), Abstrich und Fläschchen mit 1 ml Transportmedium oder eine entsprechende Vorrichtung.
- Für die Verdünnung von rektalen Abstrichproben wird das folgende generische Produkt benötigt:
- **eNAT®** Kit (COPAN Italia S.p.A., Art.-Nr. 606CS01R), Abstrich und Fläschchen mit 2 ml Denaturierungsmedium.

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

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

Allgemeine Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

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

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

Geeignete Schutzkleidung und 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 Chargen dürfen nicht 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 Nucleinsäuren 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

COLISTIN-R ELITE MGB® Kit
Reagenz für die DNA-Amplifikation in
Echtzeit

REF RTS202ING-48

müssen unter einer Laminar-Flow-Haube 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 PCR Cassettes müssen so gehandhabt werden, dass die Diffusion von Amplifikationsprodukten in die Umgebung und die Kontamination der Proben und Reagenzien vermieden werden.

Komponentenspezifische Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Der **COL PCR Mix** muss bei -20 °C dunkel aufbewahrt werden.
- Der **COL PCR Mix** darf maximal **sieben Mal** eingefroren und wieder aufgetaut werden; weitere Gefrier- und Auftauzyklen können zu einem Verlust der Produktleistung führen.
- Der **COL PCR Mix** muss innerhalb eines Monats nach dem ersten Öffnen des Röhrchens verwendet werden.

PROBEN UND KONTROLLEN

Proben

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

In eSwab entnommene Rektalabstriche (COPAN Italia S.p.A., Art.-Nr. 480CE)

Rektalabstriche für die DNA-Extraktion müssen gemäß den Laborrichtlinien in eSwab entnommen und identifiziert werden. Außerdem dürfen sie maximal 24 Stunden bei Raumtemperatur (~+25 °C) bzw. maximal 48 Stunden bei +2 bis +8 °C transportiert und aufbewahrt werden. Vor der Analyse mit diesem Produkt müssen 0,25 ml Probe in eSwab Medium in ein frisches eNAT Röhrchen mit 2,0 ml Medium überführt und durch Vortexen gemischt werden. eNat konserviert Nukleinsäuren bis zu vier Wochen lang bei Raumtemperatur und bis zu sechs Monate bei -20 °C und -70 °C. Nach Zugabe von 0,25 ml Probe in eSwab-Medium kann das eNAT-Röhrchen als Primärrohrrchen direkt in das **ELITE InGenius** System geladen werden.

Hinweis: Für die DNA-Extraktion aus Rektalabstrichen mit dem **ELITE InGenius** System und der **ELITE InGenius Software** Version 1.3 (oder entsprechende Nachfolgeversionen) das Assay Protocol **COL-R ELITE_RcS_200_100** verwenden. Dieses Protokoll verarbeitet 200 µl Probe, fügt die **CPE Internal Control** bei 10 µl/Extraktion hinzu und eluiert die Nukleinsäuren in 100 µl.

Extrahierte DNA kann bis zu 16 Stunden bei +2 bis +8 °C oder bis zu einem Monat bei -20 °C aufbewahrt werden.

Hinweis: Proben mit einer starken Trübung müssen gemäß den Angaben im Kapitel zur Fehlerbehebung behandelt werden.

Störende Substanzen

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

Bitte beachten Sie, dass ein hoher Gehalt an mit dem Rektalabstrich entnommener Fäkalmatrix (Probe mit starker Trübung) den Assay hemmen kann.

Amplifikationskontrollen

Vor der Analyse von Proben mit dem **ELITE InGenius** System ist es unbedingt erforderlich, die Amplifikationskontrollen für die verwendete Amplifikationsreagenzcharge zu generieren und zu genehmigen:

Als Amplifikations-Positive Control ist das Produkt **COLISTIN-R - ELITE Positive Control** (nicht im Lieferumfang dieses Kits enthalten) zusammen mit dem Assay Protocol **COL-R ELITE_PC** zu verwenden,

als Amplifikations-Negative Control ist hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) zusammen mit dem Assay Protocol **COL ELITE_NC** zu verwenden.

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

Darüber hinaus müssen die Amplifikationskontrollen erneut verarbeitet werden, wenn:

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

COLISTIN-R ELITE MGB® Kit
Reagenz für die DNA-Amplifikation in
Echtzeit

REF RTS202ING-48

Zertifiziertes Referenzmaterial

Die metrologische Rückverfolgbarkeit von Kalibrator- und Kontrollmaterialwerten in Bezug auf mcr-1-Werte ist bei dem **COLISTIN-R ELITE MGB Kit** nicht in vollem Maße gegeben, da kein WHO-Referenzmaterial verfügbar ist.

Die metrologische Rückverfolgbarkeit von Kalibrator- und Kontrollmaterialwerten in Bezug auf mcr-2-Werte ist bei dem **COLISTIN-R ELITE MGB Kit** nicht in vollem Maße gegeben, da kein WHO-Referenzmaterial verfügbar ist.

Qualitätskontrollen

Die geplante Validierung des Extraktions- und Amplifikationsverfahrens wird empfohlen. Es können getestete Proben oder zertifiziertes Referenzmaterial verwendet werden.

VERFAHREN

Das beim Gebrauch des **COLISTIN-R ELITE MGB Kit** mit dem **ELITE InGenius** System anzuwendende Verfahren 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 InGenius** einschalten und den Anmeldemodus „**CLOSED**“ (geschlossen) auswählen.
- prüfen, ob die Amplifikationskontrollen (Controls, COL Positive Control, COL Negative Control) zusammen mit der zu verwendenden Amplifikationsreagenzcharge ausgeführt wurden und genehmigte und gültige Ergebnisse (Status) vorliegen. Liegen keine genehmigten oder gültigen Amplifikationskontrollergebnisse vor, sind diese wie in den folgenden Abschnitten zu generieren,
- den Typ des Laufs auswählen, dazu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche zur Einrichtung des Laufs befolgen und die von ELITechGroup S.p.A. bereitgestellten Assay Protocols verwenden. Diese IVD-Protokolle wurden speziell mit dem **COLISTIN-R ELITE MGB Kit**, dem **ELITE InGenius** Gerät und der genannten Matrix validiert.

Das für das Testen von Proben mit dem Produkt **COLISTIN-R ELITE MGB Kit** verfügbare Assay Protocol ist in der nachfolgenden Tabelle beschrieben.

Assay Protocol für COLISTIN-R ELITE MGB® Kit			
Name	Matrix	Bericht	Eigenschaften
COL-R ELITE_RcS_200_100	Rektal-abstrich	Positiv/negativ	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl

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

Einrichtung des Laufs

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

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

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

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

Die wichtigsten Schritte für die Einrichtung der drei 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 COL PCR Mix-Röhrchen für den Lauf auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Reaktionen unter optimalen Reagenzverbrauchsbedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.

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

2. Die CPE-Röhrchen für den Lauf auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Extraktionen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
3. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
4. Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktionseingangsvolumen) 200 µl und das „Extracted Elute Volume“ (extrahiertes Elutionsvolumen) 100 µl betragen.
5. Für jede relevante Spur unter „Sample ID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.
6. Das zu verwendende Assay Protocol in der Spalte „Assay“ auswählen (d. h. COL-R ELITE_RcS_200_100).
7. Sicherstellen, dass unter „Protocol“ (Protokoll) Folgendes angezeigt wird: „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR).
8. Die Proben-Ladepositionen in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) auswählen:
 - wird ein Primärröhrchen verwendet, „Primary Tube“ (Primärröhrchen) auswählen.
 - wird ein Sekundärröhrchen verwendet, „Sonication Tube“ (Ultraschallröhrchen) auswählen.Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
9. CPE und COL PCR Mix auf den unter „Inventory Block“ (Bestandsblock) ausgewählten Bestandsblock laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf die Schaltfläche „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
10. Die Spitzenständer („Tip Racks“) 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 Extraktionskartuschen „ELITE InGenius SP 200“, alle benötigten Verbrauchsmaterialien und die zu extrahierenden Proben in die unter Schritt 8 angegebenen Positionen 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 Vorgangs ermöglicht das System ELITE InGenius es dem Benutzer, die Ergebnisse anzuzeigen, zu genehmigen und zu speichern und den Bericht auszudrucken und zu speichern.

Hinweis: Am Ende des Laufs muss die übrige extrahierte Probe im Elutionsröhrchen aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen, gekennzeichnet und maximal einen Monat bei -20 °C gelagert werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

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

Hinweis: Der PCR Mix kann für bis zu 7 Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden im gekühlten Block des Geräts verbleiben.

B. Amplifikationslauf

Zum Einrichten des Amplifikationslaufs ab der extrahierten DNA die folgenden Schritte ausführen, wie auf der grafischen Benutzeroberfläche angegeben:

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

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

2. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
3. Selbst wenn keine Extraktion durchgeführt wird, sicherstellen, dass das Extraktionseingangsvolumen („Extraction Input Volume“) 200 µl und das extrahierte Elutionsvolumen 100 µl beträgt.
4. Für jede relevante Spur die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.
5. Das zu verwendende Assay Protocol in der Spalte „Assay“ auswählen (d. h. COL-R ELITE_RcS_200_100).
6. In der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) auswählen.
7. Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr. (untere Reihe)) lautet. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
8. Den COL PCR Mix auf den unter „Inventory Block“ (Bestandsblock) ausgewählten Bestandsblock laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
9. 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.
10. Die PCR-Kassetten („PCR Cassettes“) und die extrahierte Nukleinsäure-Proben gemäß den Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche laden. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
11. Die Gerätetür schließen.
12. Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

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

Hinweis: Am Ende des Laufs muss die übrige extrahierte Probe aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und einen Monat bei -20 °C gelagert werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

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

Hinweis: Der PCR Mix kann für bis zu 7 Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden im gekühlten Block des Geräts verbleiben.

C. Amplifikationslauf für Positive Control und Negative Control

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

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

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

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

Nach Beendigung des Vorgangs ermöglicht das System ELITe InGenius es dem Benutzer, die Ergebnisse anzuzeigen, zu genehmigen und zu speichern und den Bericht auszudrucken und zu speichern.

Hinweis: Am Ende des Laufs muss die übrige Positive Control aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und bei -20 °C gelagert werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden. Die übrige Negative Control muss entsorgt werden.

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

Hinweis: Der PCR Mix kann für bis zu 7 Arbeitsläufe von jeweils 3 Stunden im gekühlten Block des Geräts verbleiben.

Überprüfung und Export der Ergebnisse

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

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

Das **ELITe InGenius** System generiert die Ergebnisse mithilfe des Produkts **COLISTIN-R 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 von Resistenzgenen (Kanäle **mcr1** und **mcr2**) in der Amplifikationsreaktion der Positive Control und Negative Control ausgesendeten Fluoreszenzsignale werden automatisch analysiert und von der Gerätesoftware mit den in den Assay Protocols „COL-R ELITe_PC“ und „COL-R ELITe_NC“ enthaltenen Parametern interpretiert.

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

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

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

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

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

B. Validierung der Probenergebnisse

Die von den Sonden für Resistenzgene (Kanäle **mcr1** und **mcr2**) und von der Sonde der internen Kontrolle (Kanal **IC**) in den Amplifikationsreaktionen der Probe ausgesendeten Fluoreszenzsignale werden automatisch analysiert und von der Gerätesoftware mit den im Assay Protocol „COL-R ELITe_RcS_200_100“ enthaltenen Parametern interpretiert.

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

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

1) Positive Control	Status
COL Positive Control	APPROVED (Genehmigt)
2) Negative Control	Status
COL Negative Control	APPROVED (Genehmigt)

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

Die möglichen Ergebnismeldungen sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt. Für jede Probe meldet das System eine Kombination aus Meldungen, die angeben, ob die Colistin-Resistenzgene nachgewiesen wurden oder nicht.

Ergebnis des Probenlaufs	Interpretation
mcr1: DNA detected. (mcr1: DNA nachgewiesen.)	In der Probe wurde die DNA des mcr-1-Gens nachgewiesen . Die Probe könnte Colistin-resistent sein.
mcr2: DNA detected. (mcr2: DNA nachgewiesen.)	In der Probe wurde die DNA des mcr-2-Gens nachgewiesen . Die Probe könnte Colistin-resistent sein.
mcr1: DNA not detected or below the LoD. (mcr1: DNA nicht nachgewiesen oder unter Nachweisgrenze.)	Die DNA des mcr-1-Gens wurde in der Probe nicht nachgewiesen oder liegt unter der Nachweisgrenze des Tests . Die Probe wurde negativ auf dieses Gen getestet oder seine Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays. Wenn auch das mcr-2-Gen nicht nachgewiesen wurde, könnte die Probe auf Colistin sensibel sein.
mcr2: DNA not detected or below the LoD. (mcr2: DNA nicht nachgewiesen oder unter Nachweisgrenze.)	Die DNA des mcr-2-Gens wurde in der Probe nicht nachgewiesen oder liegt unter der Nachweisgrenze des Tests . Die Probe wurde negativ auf diese Gene getestet oder ihre Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays. Wenn auch das mcr-1-Gen nicht nachgewiesen wurde, könnte die Probe auf Colistin sensibel sein.
Invalid - Retest Sample. (Ungültig - Probe erneut testen.)	Ungültiges Testergebnis aufgrund von fehlerhafter interner Kontrolle (falsche Extraktion oder Verschleppung des Inhibitors). Der Ct-Wert der internen Kontrolle war unbestimmt oder höher als 34 (Cut-off IC = 34). Der Test sollte wiederholt werden.

Von der **ELITE InGenius Software** als „Invalid - Retest Sample“ (Ungültig - Probe erneut testen) ausgegebene Proben sind nicht für die Ergebnisinterpretation geeignet. In diesem Fall wurde die interne Kontroll-DNA aufgrund von Problemen beim Amplifikations- oder Extraktionsschritt nicht effizient erkannt (Abbau von DNA, Verlust von DNA während der Extraktion oder Verschleppung von Inhibitoren im Eluat), was zu falschen Ergebnissen führen kann.

Wenn das Eluatvolumen ausreicht, kann die extrahierte Probe verdünnt oder unverdünnt 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.

Als „mcr1: DNA Not Detected or below LoD“ (mcr1: DNA nicht nachgewiesen oder unter Nachweisgrenze) oder „mcr2: DNA Not Detected or below LoD“ (mcr2: DNA nicht nachgewiesen oder unter Nachweisgrenze) ausgegebene Proben sind für die Analyse geeignet, es war jedoch nicht möglich, die Resistenzgen-RNA nachzuweisen. In diesem Fall kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Resistenzgen-DNA bei einer Konzentration unter der Nachweisgrenze des Tests vorhanden ist (siehe „Leistungsmerkmale“).

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

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

C. Export des Probenergebnisberichts

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

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

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

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

unterschrieben werden.

LEISTUNGSMERKMALE

Nachweisgrenze (LoD)

Die Nachweisgrenze (LoD) des Assays wurde in Kombination mit Rektalabstrichproben und dem ELITE InGenius System definiert.

Sechs Verdünnungsstufen eines mcr-1-positiven *E. coli*-Referenzmaterials (Stamm DSM 105182, entspricht NCTC 13846, von der DSMZ) wurden beginnend mit der Konzentration oberhalb der erwarteten LoD in negativen Rektalabstrichen zubereitet. Zwölf Replikate der einzelnen Verdünnungsstufen wurden mit dem ELITE InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet. Die LoD für die mcr-1-Zielsequenz wurde mittels Probit-Regressionsanalyse der Daten als die Konzentration berechnet, bei der eine 95%ige Wahrscheinlichkeit eines positiven Ergebnisses vorliegt. Die berechnete LoD wurde durch Analyse von 30 Replikaten einer mcr-1-Zielverdünnung in der entsprechenden Konzentration bestätigt.

Das endgültige Ergebnis ist in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Nachweisgrenze des mcr-1-Gens mit Rektalabstrichen und dem ELITE InGenius System (KbE/ml)		
LoD	95 % Konfidenzintervall	
	Untergrenze	Obergrenze
32	19	472

Da kein mcr-2-positiver Stamm oder mcr-2-positives Isolat verfügbar war, wurde die Nachweisgrenze (LoD) für die mcr-2-Zielsequenz auf 50 Kopien/ml geschätzt (entspricht 50 KbE/ml) und entspricht in etwa dem LoD-Wert der mcr-1-Zielsequenz. Die geschätzte LoD wurde durch Analyse von 30 Replikaten einer mcr-2-Zielverdünnung (Plasmid-DNA) in negativer Rektalmatrix in der entsprechenden Konzentration bestätigt.

Nachweiseffizienz (Inklusivität)

Zur Bewertung der Nachweiseffizienz des Assays für mcr-1- und mcr-2-Gene (Inklusivität) wurden Sequenzen mit Nukleotid-Datenbanken verglichen.

Die für die Hybridisierung der Primer und der Fluoreszenzmarker ausgewählten Regionen wurden bei der Anordnung der in der Datenbank verfügbaren Sequenzen für die Gene mcr-1 und mcr-2 überprüft. Die Analyse ergab ihre Erhaltung und ein Nichtvorhandensein von signifikanten Mutationen.

Die Nachweiseffizienz des Assays für das mcr-1-Gen wurde ebenfalls bei einer Reihe von 27 Colistin-resistenten kultivierten Isolaten, die als mcr-1-positiv *Enterobacteriaceae* charakterisiert waren, verifiziert.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Nachweiseffizienz (Inklusivität) des Produkts COLISTIN-R ELITE MGB® Kit					
Proben	Anzahl	mcr-1-positiv	mcr-2-positiv	Negativ	Ungültig
mcr-1-positiv Kulturisolate	27	27	0	0	0

Das Produkt ist in der Lage, die übertragbare (Plasmid-vermittelte) Colistin-Resistenz durch die Detektion der Gene mcr-1 und mcr-2 nachzuweisen, es ist jedoch nicht in der Lage, die mcr-Typen 3 bis 5 und 7 bis 10 nachzuweisen. Der Typ mcr-6 kann innerhalb des mcr-2-Detektors nachgewiesen werden.

Potenziell interferierende Marker

Die potenzielle Kreuzreaktivität des Assays mit anderen unbeabsichtigten Zielsequenzen wurde durch *In-silico*-Analyse von Sequenzen in der Nukleotidbank bewertet.

Die für die Hybridisierung der Primer und der Fluoreszenzmarker ausgewählten Regionen wurden bei der Anordnung der Sequenzen von Organismen, deren Vorhandensein in rektalen Abstrichproben vernünftigerweise erwartet werden kann, überprüft. Die Analyse ergab die Abwesenheit signifikanter Homologien und deutete auf keine potenzielle Interferenz hin.

Die Abwesenheit von Kreuzreaktivität mit anderen Organismen, die in rektalen Abstrichproben potenziell zu finden sind, wurde ebenfalls durch das Testen einer Reihe zertifizierter Stämme in einer Konzentration von zirka 10⁴ KbE/ml zusammen mit dem ELITE InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verifiziert.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Potenzielle Kreuzreaktivität		
Organismus	Stamm	Ergebnis
<i>K. pneumoniae</i>	NCTC 13439 (VIM)	Keine Kreuzreaktivität
<i>E. coli</i>	NCTC 13476 (IMP)	Keine Kreuzreaktivität
<i>S. marcescens</i>	UCLA 14-13-A11	Keine Kreuzreaktivität
<i>A. baumannii</i>	NCTC 13301	Keine Kreuzreaktivität
<i>A. lwoffii</i>	ATCC 15309	Keine Kreuzreaktivität
<i>B. adolescentis</i>	ATCC 15703	Keine Kreuzreaktivität
<i>B. longum</i>	ATCC 15707	Keine Kreuzreaktivität
<i>C. jejuni</i>	ATCC 33292	Keine Kreuzreaktivität
<i>C. albicans</i>	Zeptomatrix Z006	Keine Kreuzreaktivität
<i>C. freundii</i>	UCLA-14-13-A2 (KPC)	Keine Kreuzreaktivität
<i>C. difficile</i>	ATCC 43593	Keine Kreuzreaktivität
<i>C. perfringens</i>	ATCC 13124	Keine Kreuzreaktivität
<i>P. mirabilis</i>	ATCC 12453	Keine Kreuzreaktivität
<i>P. aeruginosa</i>	ATCC 27853	Keine Kreuzreaktivität
<i>S. enterica</i>	ATCC 700720	Keine Kreuzreaktivität
<i>K. pneumoniae</i>	DICON-126	Keine Kreuzreaktivität
<i>E. coli</i>	DICON-055	Keine Kreuzreaktivität
<i>E. coli</i>	DICON-045	Keine Kreuzreaktivität
<i>E. coli</i>	NCTC13400	Keine Kreuzreaktivität

Alle Stämme hatten beim Test mit dem Assay ein negatives Ergebnis.

Die Abwesenheit von Interferenz mit anderen Organismen, die in rektalen Abstrichproben zu finden sind, wurde ebenfalls durch das Testen einer Reihe zertifizierter Stämme in einer Konzentration von zirka 10⁴ KbE/ml oder höher, dotiert mit mcr-1-positivem zertifiziertem Material zu einer Endkonzentration von zirka 3 x LoD, zusammen mit dem ELITE InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verifiziert.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Mögliche Störeffekte		
Organismus	Stamm	Ergebnis
<i>K. pneumoniae</i>	ATCC 700603	Keine Interferenz
<i>E. coli</i>	ATCC BAA-201	Keine Interferenz
<i>S. marcescens</i>	UCLA 14-13-A11	Keine Interferenz
<i>A. baumannii</i>	NCTC 13301	Keine Interferenz
<i>A. lwoffii</i>	ATCC 15309	Keine Interferenz
<i>B. adolescentis</i>	ATCC 15703	Keine Interferenz
<i>B. longum</i>	ATCC 15707	Keine Interferenz
<i>C. jejuni</i>	ATCC 33292	Keine Interferenz
<i>C. albicans</i>	Zeptomatrix Z006	Keine Interferenz
<i>C. freundii</i>	ATCC 8090	Keine Interferenz
<i>C. difficile</i>	ATCC 43593	Keine Interferenz
<i>C. perfringens</i>	ATCC 13124	Keine Interferenz
<i>P. mirabilis</i>	ATCC 12453	Keine Interferenz
<i>P. aeruginosa</i>	ATCC 27853	Keine Interferenz
<i>S. enterica</i>	ATCC 700720	Keine Interferenz
<i>K. pneumoniae</i>	DICON-126	Keine Interferenz

Mögliche Störeffekte		
<i>E. coli</i>	DICON-055	Keine Interferenz
<i>E. coli</i>	DICON-045	Keine Interferenz
<i>E. coli</i>	NCTC13400	Keine Interferenz

Alle Stämme interferierten beim Test mit dem Assay nicht mit der Amplifikation der Zielsequenzen.

Störende Substanzen

Eine Reihe potenziell interferierender Substanzen in relevanten Konzentrationen wurde mit dem Assay getestet. Die getesteten Substanzen waren: menschliches Vollblut, Mucin, Einläufe (Vaseline-Öl), Antibiotika (Vancomycin), Antiazida (Alginsäure/Natriumhydrogencarbonat), Antidurchfallmedikamente (Loperamidhydrochlorid) und Laxanzien (Sennoside).

Die Substanzen wurden einzeln zu negativer Rektalmatrix, die mit mcr-1-positiven Referenzmaterialien in einer Konzentration von 3 x LoD dotiert war, hinzugefügt. Die Proben wurden in drei Wiederholungen mit dem ELITE InGenius-System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet. Der prozentuale Variationskoeffizient (VK %) des Ct-Werts bei Referenzproben wurde berechnet.

Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen aufgeführt.

Störende Substanzen			
Störende	Geprüfte Konzentrationen	Pos./Rep.	Ergebnis
Vollblut	5% v/v	3 / 3	Mcr-1 DNA nachgewiesen
Mucina	10 mg/mL	3 / 3	Mcr-1 DNA nachgewiesen
Vaselineöl	20 mg/mL	3 / 3	Mcr-1 DNA nachgewiesen
Vancomycin	12,5 mg/mL	3 / 3	Mcr-1 DNA nachgewiesen
Alginsäure/Natriumhydrogencarbonat	0.1 mg/mL	3 / 3	Mcr-1 DNA nachgewiesen
Loperamid-Hydrochlorid	7 µg/mL	3 / 3	Mcr-1 DNA nachgewiesen
Sennoside	0,1mg/mL	3 / 3	Mcr-1 DNA nachgewiesen
Ampicillin	18 µg / mL	3 / 3	Mcr-1 DNA nachgewiesen
Cephodoxima	4.5 µg / mL	3 / 3	Mcr-1 DNA nachgewiesen
Ciprofloxacin	5 µg / mL	3 / 3	Mcr-1 DNA nachgewiesen
Azythromycin	10 µg / mL	3 / 3	Mcr-1 DNA nachgewiesen

Alle Proben fielen in Bezug auf die Zielsequenz positiv aus. Die 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 festgestellt.

Wiederholpräzision

Die Wiederholpräzision der mit dem Assay in Kombination mit dem ELITE InGenius System erhaltenen Ergebnisse wurde durch Analyse eines Rektalmatrix-Panels mit einer negativen Probe und drei Proben, die in Konzentrationen von zirka 0,5 x LoD, 1,5 x LoD und 3 x LoD mit dem mcr-1-positiven Referenzmaterial (DSMZ) dotiert waren, getestet.

Die Wiederholpräzision wurde mittels Analyse von Panel-Proben in drei Wiederholungen, in zwei Läufen pro Tag und mit derselben Produktcharge berechnet. Drei verschiedene Produktchargen wurden an drei verschiedenen Tagen mit ein und demselben Gerät durch ein und denselben Bediener getestet. Die Proben wurden mit dem ELITE InGenius-System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet.

Die Ct-Werte der einzelnen Verdünnungsstufen wurden zur Berechnung des VK % herangezogen, um die Wiederholpräzision als Ungenauigkeit zu bewerten.

Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabellen zusammengefasst.

Wiederholpräzision				
Probe	Pos. / Wiederh.	mcr-1 Mitt. Ct-Wert	mcr-1 Standardabw.	mcr-1 VK %
3 x LoD (96 KbE/ml)	18/18	36,23	0,44	1,23
1,5 x LoD (48 KbE/ml)	18/18	36,82	0,59	1,61
0,5 x LoD (16 KbE/ml)	10/18	37,97	0,47	1,25
Negative Rektalmatrix	0/18	-	-	-

Beim Test der Wiederholpräzision erkannte der Assay die mcr-1-Zielsequenz wie erwartet und wies einen niedrigen VK % des Ct-Werts aus, der 5 % nicht überstieg.

Vergleichspräzision

Die Vergleichspräzision der mit dem Assay in Kombination mit dem ELITE InGenius System erhaltenen Ergebnisse wurde durch Analyse eines Rektalmatrix-Panels mit einer negativen Probe und drei Proben, die in Konzentrationen von zirka 0,5 x LoD, 1,5 x LoD und 3 x LoD mit den mcr-1-positiven Referenzmaterialien (DSMZ) dotiert waren, getestet.

Die Vergleichspräzision wurde mittels Analyse von Panel-Proben in drei Wiederholungen, in zwei Läufen pro Tag berechnet. Drei verschiedene Produktchargen wurden an drei verschiedenen Tagen auf drei verschiedenen Geräten durch drei verschiedene Bediener getestet. Die Proben wurden mit dem ELITE InGenius-System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet.

Die Ct-Werte der einzelnen Verdünnungsstufen wurden zur Berechnung des VK % herangezogen, um die Vergleichspräzision als Ungenauigkeit zu bewerten.

Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabellen zusammengefasst.

Vergleichspräzision				
Probe	Pos. / Wiederh.	mcr-1 Mitt. Ct-Wert	mcr-1 Standardabw.	mcr-1 VK %
3 x LoD (96 KbE/ml)	18/18	36,07	0,60	1,66
1,5 x LoD (48 KbE/ml)	18/18	36,86	0,53	1,44
0,5 x LoD (16 KbE/ml)	9/18	37,91	0,71	1,88
Negative Rektalmatrix	0/18	-	-	-

Beim Test der Vergleichspräzision erkannte der Assay die mcr-1-Zielsequenz wie erwartet und wies einen niedrigen VK % des Ct-Werts aus, der 5 % nicht überstieg.

Diagnostische Sensitivität (Positive Percent Agreement): Bestätigung positiver Proben

Da es aufgrund der geringen Inzidenz von Proben mit übertragbarer Resistenz gegen Colistin schwierig ist, klinische Proben zu finden, die positiv für die Gene mcr-1 und mcr-2 sind, wurden positive Proben analysiert, um die diagnostische Sensitivität des Produkts zu bewerten.

Die diagnostische Sensitivität des Assays als die Bestätigung positiver Proben wurde mittels Analyse von 107 Rektalabstrichproben bewertet. Diese wurden mit mcr-1- oder mcr-2-positiven *E. coli*-Isolaten dotiert.

56 Rektalabstrichproben wurden mit der Kulturmethode negativ getestet und anschließend mit verschiedenen mcr-1-positiven *E. coli*-Isolaten dotiert.

51 vermutlich *Enterobacteriaceae*-negative Rektalabstrichproben mit einer übertragbaren Colistin-Resistenz wurden mit dem mcr-2-positiven *E. coli*-Stamm NCTC 14378 dotiert.

Alle Proben wurden mit dem COLISTIN-R ELITE MGB Kit und dem ELITE InGenius System im "Extract + PCR" Modus analysiert.

Die Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle aufgeführt.

Proben	Anzahl	mcr-1-positiv	mcr-2-positiv	negativ	ungültig
mcr-1-dotierter Rektalabstrich	56	55	0	0	1
mcr-2-dotierter Rektalabstrich	51	0	51	0	0

55 der 56 mcr-1-dotierten Proben wurden als mcr-1-positiv bestätigt; eine Probe ergab ein ungültiges Ergebnis und wurde aus der Analyse ausgeschlossen.

Alle mcr-2-dotierten Proben (51 von 51) wurden als mcr-2-positiv bestätigt.

In diesem Test betrug die diagnostische Sensitivität bei Rektalabstrichproben sowohl für das mcr-1- als auch das mcr-2-Target 100 %.

Diagnostische Spezifität (Negative Percent Agreement): Bestätigung negativer Proben

Die diagnostische Spezifität des Assays als die Bestätigung negativer klinischer Proben wurde durch Analyse von 58 mcr-1- und mcr-2-negativen Rektalabstrichproben bewertet.

Die 58 rektalen Abstrichproben wurden durch die Kulturmethode als negativ für *Enterobacteriaceae*, die kolistinhaltige übertragbare Resistenzen tragen, zertifiziert und anschließend mit dem COLISTIN-R ELITE MGB Kit und dem ELITE InGenius-System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	Anzahl	mcr-1-positiv	mcr-2-positiv	negativ	ungültig
Rektalabstrich negativ für mcr-1 und mcr-2	58	1	0	54	3

Bei dem Test wurden 54 von 58 Proben als gültig und negativ bestätigt; eine Probe fiel abweichend mcr-1 niedrig positiv aus. Drei Proben ergaben ein ungültiges Ergebnis und wurden aus der Analyse ausgeschlossen. Bei diesem Test betrug die diagnostische Spezifität des Assays für rektale Abstrichproben 98 % für das mcr-1-Target und 100 % für das mcr-2-Target.

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 „COLISTIN-R ELITE MGB Kit“, FTP 202ING, aufgeführt.

QUELLENANGABEN

- Y. Y. Liu et al. (2016) *Lancet Infect Dis.* 16 (2): 161 – 168
- B. B. Xavier et al. (2016) *Euro Surveill.* 21(27): doi 10.2807/1560-7917
- H. Giamarellou (2016) *Int. J. Antimicrob. Agents.* 48 (6): 614 - 621
- E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e30

GRENZEN DES VERFAHRENS

Dieses Produkt darf nur mit der folgenden klinischen Probe verwendet werden: Rektalabstriche.
 Dieses Produkt nicht mit Proben verwenden, die tierischen Ursprungs sind oder aus Lebensmitteln stammen.

Dieses Produkt nicht mit Proben verwenden, die zu viel Fäkalmatrix enthalten: Proben mit einer starken Trübung hemmen die Amplifikationsreaktion von Nukleinsäuren und können zu ungültigen Ergebnissen führen.

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

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

Aufgrund ihrer hohen analytischen Sensitivität ist die bei diesem Produkt verwendete Methode zur Echtzeit-Amplifikation empfindlich für Kreuzkontaminationen durch die positiven Proben, die Positivkontrollen und die gleichen Amplifikationsprodukte. Kreuzkontaminationen führen zu falsch-positiven Ergebnissen. Durch das Produktformat werden Kreuzkontaminationen begrenzt. Trotzdem können Kreuzkontaminationen nur durch Beachtung der guten Laborpraxis und der vorliegenden Gebrauchsanweisung vermieden werden.

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

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

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

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

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

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

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

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

Dieses Produkt ist nicht in der Lage, die mcr-Typen 3 bis 5 und 7 bis 10 nachzuweisen. Dieses Produkt kann den mcr-6-Typ innerhalb des mcr-2-Detektors nachweisen.

Das Produkt ist in der Lage, die übertragbare (Plasmid-vermittelte) Colistin-Resistenz über die Gene mcr-1 und mcr-2 nachzuweisen, es ist jedoch nicht in der Lage, eine chromosomale Resistenz nachzuweisen.

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

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

FEHLERBEHEBUNG

Ungültige Reaktion der Positive Control	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Fehler beim Einrichten des Laufs.	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
Fehler beim Einrichten des Laufs.	Position des PCR Mix und der Negative Control kontrollieren. Volumina des PCR Mix und der Negative Control kontrollieren.
Kontamination der Negative Control.	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. (z.B. Trübung)	Oberflächen mit wässrigen Reinigungsmitteln reinigen, Laborkittel waschen, verwendete Teströhrchen und Spitzen austauschen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Ungültige Probenreaktion	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Fehler beim Einrichten des Laufs.	Position des PCR Mix, internen Kontrolle und der Probe kontrollieren. Volumina des PCR Mix, internen Kontrolle und der Probe kontrollieren.
Abbau der Vorlage für die interne Kontrolle.	Neue Aliquote der internen Kontrolle verwenden.
Inhibition durch die Probe störende Substanzen.	Amplifikation der eluierten Probe mit einer 1:2- oder 1:5-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „PCR Only“-Lauf (nur PCR) wiederholen. Extraktion mit einer weiteren 1:2-Verdünnung der getesteten Probe in eNAT™ Medium in einem „Extract + PCR“-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen.
Abbau des PCR Mix.	Ein neues Aliquot mit PCR Mix verwenden.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Fehler 30103	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Zu hohe Konzentration von Ziel-DNA in der Probe.	Wenn im PCR-Diagramm eine signifikante Amplifikation zu beobachten ist: - entsprechende Spur für die Probe auswählen und Ergebnis manuell bestätigen. Wenn ein Ct-Wert benötigt wird: - Amplifikation der eluierten Probe mit einer 1:10-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „PCR Only“-Lauf (nur PCR) wiederholen oder - Extraktion mit einer weiteren 1:10-Verdünnung der getesteten Probe in eNAT™ Medium in einem „Extract + PCR“-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen.

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

SYMBOLE

-  Katalognummer.
-  Temperaturobergrenze.
-  Chargenbezeichnung.
-  Verwendbar bis (letzter Tag des Monats).
-  In-vitro-Diagnose-Medizinprodukt.
-  Entspricht den Anforderungen der Verordnung (EU) 2017/746 über In-vitro-Diagnostika. Zertifizierung ausgestellt von DEKRA Certification B.V., Niederlande.
-  Eindeutige Geräteidentifikation
-  Genügend für „n“ Tests.
-  Achtung, Gebrauchsanweisung beachten.
-  Inhalt.
-  Vor Sonneneinstrahlung schützen.
-  Hersteller.

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.

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

REF RTS202ING-48

**HINWEIS AN DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE
LIZENZ**

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


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

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

eNAT® und eSWAB® sind eingetragene Marken von COPAN Italia S.p.A.

COLISTIN_R ELiTe MGB® Kit used with ELiTe InGenius®

Ref: RTS202ING-48

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

A. Intended use

The product **COLISTIN-R ELiTe MGB® Kit** is an in vitro diagnostic medical device intended to be used by healthcare professionals as qualitative nucleic acids amplification assay for the detection and identification of the transmissible Colistin-resistance *mcr-1* and *mcr-2* gene DNA of *Enterobacteriaceae* in clinical samples.

The assay is validated in association with the **ELiTe InGenius®** instrument, an automated integrated system for extraction, real time PCR and results interpretation, starting from rectal swabs.

The product is intended for use as an aid in the diagnosis of infections of *Enterobacteriaceae* positive for Colistin transmissible resistance genes, together with the patient's clinical data and other laboratory test results.

B. Amplified sequence

Target for Qualitative Application	Gene	Fluorophore
Target 1	<i>mcr-1</i> gene	AP639 (CH 5)
Target 2	<i>mcr-2</i> gene	FAM (CH 1)
Internal Control	IC2	AP525 (CH 2)

C. Validated Matrices

› Rectal Swabs

D. Tube type collection

Copan Ref.	Description
480CE	eSwab

E. Kit content

COL PCR Mix (Neutral)



X 4 (RTS202ING-48)

tubes of 280 µL
48 reactions per kit (ref. RTS202ING-48)
7 freeze-thaw cycles

Maximum Shelf-life: 24 Months

Storage temp.: - 20 °C

F. Material required not provided in the kit

- › ELiTe InGenius instrument: INT030
- › ELiTe InGenius SP200 Extraction Cartridge: INT032SP200
- › ELiTe InGenius PCR Cassette: INT035PCR
- › ELiTe InGenius Waste Box: F2102-000
- › 300 µL Filter Tips Axygen: TF-350-L-R-S
- › COLISTIN-R - ELiTe Positive Control: CTR202ING
- › CPE - Internal Control: CTCRPE
- › eSWAB: 480CE
- › eNAT: 606CS01R

G. ELiTe InGenius® Protocol

Protocol	Volume
Sample	200 µL
Total eluate	100 µL
PCR eluate input	20 µL
Complete PCR Mix	20 µL
Control Frequency	15 days
Calibration Frequency	60 days

H. Performance

Target	Matrix	Limit of Detection	Diagnostic Sensitivity	Diagnostic Specificity
mcr-1	Rectal swab	32 CFU/mL	100% 55/55*	98% 54/55*
mcr-2	Rectal swab	50 CFU/mL	100% 51/51*	100% 55/55*

*confirmed samples / tested samples

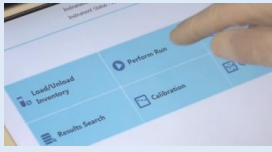
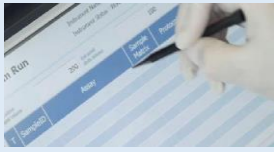

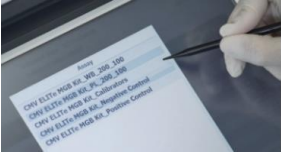

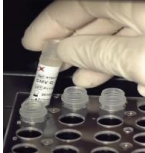
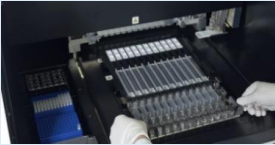

I. Procedures

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

Before analysis

1. Switch on ELITE InGenius Login with username and password Select the mode "Closed"
2. Verify controls: COL pos. and neg. controls in the "Control menu" *NB:* Both must have been run, approved and not expired
3. Thaw COL PCR Mixes and the Internal Control tubes Vortex gently Spin down 5 sec

Procedure - Complete run: Extraction + PCR

1. Select "Perform Run" on the touch screen

2. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", eluate: "100 µL"

3. Scan the sample barcodes with hand-barcode reader or type the sample ID

4. Select the "Assay protocol" of interest

5. Select the sample position: "Extraction tube"

6. Load the PCR Mixes and the Internal Control in the inventory block

7. Load: PCR cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip, Extraction tube racks

8. Close the door Start the run

9. View, approve and store the results
