

NOTICE of CHANGE dated 07/02/2025

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«Bordetella ELITE MGB® Kit» Ref. RTS140ING

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

Insertion of interpretative sentence relating to IS481 in paragraphs:

- “Validation of Sample results”
- “Potential interfering markers (cross-reactivity)”
- “Potential interfering markers (inhibition)”
- “Procedure limitations”

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

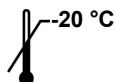
PLEASE NOTE

	LA REVISIONE DI QUESTO IFU E' COMPATIBILE ANCHE CON LA VERSIONE PRECEDENTE DEL KIT
	THE REVIEW OF THIS IFU IS ALSO COMPATIBLE WITH THE PREVIOUS VERSION OF THE KIT
	CET IFU MIS A JOUR ANNULE ET REMPLACE ET EST PARFAITEMENT COMPATIBLE AVEC LA VERSION PRECEDENTE DU KIT
	LA REVISIÓN DE ESTE IFU ES COMPATIBLE TAMBIÉN CON LA VERSIÓN ANTERIOR DEL KIT
	A REVISÃO DO ESTE IFU ÉTAMBÉM COMPATÍVEL COM A VERSÃO ANTERIOR DO KIT
	DIESE FASSUNG DER GEBRAUCHSANLEITUNG IST KOMPATIBEL MIT DER VORHERIGEN VERSION DES TESTKITS

Bordetella ELITE MGB® Kit

Reagenz für die DNA-Amplifikation in Echtzeit

REF RTS140ING



INHALTSVERZEICHNIS

VERWENDUNGSZWECK	Seite 1
TESTPRINZIPIEN	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 13
REFERENZEN	Seite 18
GRENZEN DES VERFAHRENS	Seite 19
FEHLERBEHEBUNG	Seite 20
SYMBOLE	Seite 22
HINWEIS AN DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ	Seite 23

VERWENDUNGSZWECK

Das Produkt „**Bordetella ELITE MGB® Kit**“ ist Teil eines qualitativen Multiplex-Nukleinsäure-Amplifikationstests zum Nachweis und zur Identifizierung der DNA von *Bordetella pertussis* (BP), *Bordetella parapertussis* (BPP) und *Bordetella holmesii* (BH) in klinischen Proben.

Der Assay wurde beginnend mit Nasopharyngealaspirat zusammen mit dem System **ELITE InGenius®** validiert.

Das Produkt ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Diagnose von *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* und *Bordetella holmesii* in Kombination mit den klinischen Daten und weiteren Laborbefunden des Patienten bestimmt.

Bordetella ELITE MGB® Kit

Reagenz für die DNA-Amplifikation in Echtzeit

REF RTS140ING

TESTPRINZIPIEN

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 verschiedene Amplifikationsreaktionen vom **BORD PCR Mix** in der PCR-Kassette durchgeführt, um die folgenden Zielsequenzen zu amplifizieren:

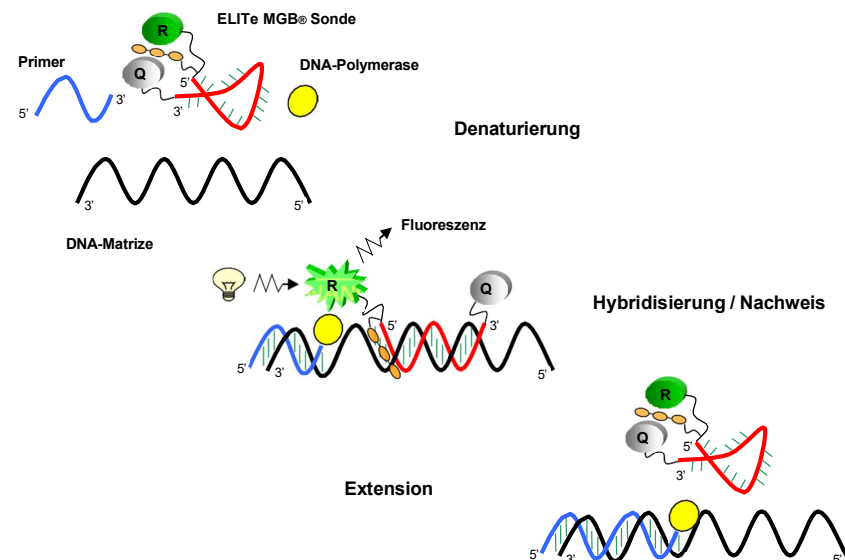
- Wiederholte IS481-Sequenz von *B. pertussis* und *B. holmesii*, nachgewiesen durch die spezifische Sonde **IS481** (Kanal 1),
- ptxA-Gen von *B. pertussis*, nachgewiesen durch die spezifische Sonde **BP** (Kanal 5),
- recA-Gen von *B. holmesii*, nachgewiesen durch die spezifische Sonde **BH** (Kanal 6),
- Wiederholte IS1001-Sequenz von *B. pertussis*, nachgewiesen durch die spezifische Sonde **BPP** (Kanal 4),

Der BORD PCR Mix amplifiziert außerdem die Internal Control zur Extraktions- und Inhibitionskontrolle, basierend auf einer künstlichen Sequenz (IC2) und nachgewiesen durch die spezifische Sonde in Kanal **IC** (Kanal 2).

Die Sonden mit ELITE MGB®-Technologie werden aktiviert, wenn sie mit dem spezifischen Produkt der Amplifikationsreaktion hybridisieren. Die Fluoreszenzemission 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 gesuchten Pathogene in der Ausgangsprobe.

Der Assay wurde in Kombination mit **ELITE InGenius**, einem automatisierten und integriertem System zur Extraktion, Amplifikation und zum Nachweis von Nukleinsäuren sowie zur Ergebnisinterpretation 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.



PRODUKTBESCHREIBUNG

Das Produkt „**Bordetella ELITe MGB® Kit**“ enthält ein gebrauchsfertiges Komplettgemisch für die Echtzeit-Amplifikation, **BORD PCR Mix**, das in acht Teströhrchen aliquotiert ist. 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 BORD PCR Mix enthält die spezifischen Primer und Sonde für:

- die wiederholte **IS481**-Sequenz von *B. pertussis* und *B. holmesii*. Die Sonde **IS481** (Kanal 1) ist mit FAM-Fluorophor markiert, durch die MGB®-Gruppe stabilisiert und durch einen nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht,
- das **ptxA**-Gen von *B. pertussis*. Die Sonde **BP** (Kanal 5) ist mit AP639-Fluorophor markiert, durch die MGB®-Gruppe stabilisiert und durch einen nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht,
- das **recA**-Gen von *B. holmesii*. Die Sonde **BH** (Kanal 6) ist mit AP690-Fluorophor markiert, durch die MGB®-Gruppe stabilisiert und durch einen nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht,
- die wiederholte **IS1001**-Sequenz von *B. parapertussis*. Die Sonde **BPP** (Kanal 4) ist mit AP593-Fluorophor markiert, durch die MGB®-Gruppe stabilisiert und durch einen nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht,
- die künstliche Sequenz **IC2** der exogenen Internal Control (IC). Die Sonde **IC** (Kanal 2) ist mit AP525-Fluorophor markiert, durch die MGB®-Gruppe stabilisiert und durch einen nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht.

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

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

IM LIEFERUMFANG DES PRODUKTS ENTHALTENE MATERIALIEN

Komponente	Beschreibung	Menge	Gefahrenklasse
BORD PCR Mix	Komplettes Reaktionsgemisch WEISSER Verschluss	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 (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 Extraktions- und Inhibitionskontrolle, die Amplifikations-Positive Control und die Verbrauchsmaterialien sind **nicht** in diesem Produkt enthalten.

Für die automatische DNA-Extraktion, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation der Proben werden das Gerät „**ELITe InGenius**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT030) und die folgenden spezifischen Assay-Protokolle (ELITechGroup S.p.A.) benötigt:

- Parameter für die Amplifikation der Positivkontrolle „**BORD ELITe_PC**“,
- Parameter für die Amplifikation der Negative Control „**BORD ELITe_NC**“,
- Parameter für zu analysierende Nasopharyngeal-aspirat-Proben „**BORD ELITe_NPA_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 Axygen**“ (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**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. CTRCPE) benötigt. Dabei handelt es sich um eine stabilisierte Lösung, die Plasmid-DNAs und die genomische RNA des Phagen enthält.

Als Vorlage für die Amplifikations-Positive-Control wird das spezifische Produkt „**Bordetella - ELITe Positive Control**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. CTR140ING), benötigt. Dabei handelt es sich um eine stabilisierte Lösung, die Plasmid-DNAs enthält.

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

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

Allgemeine Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

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

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

Geeignete Schutzkleidung und 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 Nukleinsäuren oder die Kontamination der Proben durch Amplifikationsprodukte.

Für die Einrichtung des Arbeitslaufs werden dafür vorgesehene Laborkittel, Schutzhandschuhe und Hilfsmittel benötigt. Die Bereiche für molekularbiologische Tests und für Tests von mikrobiologischen Kulturen müssen räumlich getrennt sein. Flüssiges oder festes Kulturmedium niemals in dem für Extraktions-/Amplifikationsreaktionen vorbehaltenen Bereich handhaben.

Die Proben müssen für diese Analyseart geeignet und, falls möglich, dafür vorgesehen 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 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 **PCR Mix** muss bei -20 °C dunkel aufbewahrt werden.

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

PROBEN UND KONTROLLEN

Proben

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

Nasopharyngeal aspirat

Die Nasopharyngeal aspirat-Proben für die Nukleinsäureextraktion müssen gemäß den Laborrichtlinien entnommen werden. Außerdem dürfen sie maximal zwei Tage bei Raumtemperatur (+18 bis +25 °C) bzw. maximal sieben Tage bei +2 bis +8 °C transportiert und aufbewahrt werden; anderenfalls müssen sie tiefgefroren bei -20 °C für maximal einen Monat oder bei -70 °C für längere Zeit aufbewahrt 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.

Vor der Analyse mit diesem Produkt müssen 0,2 ml Probe in das im „ELITe InGenius® SP 200 Consumable Set“ enthaltene Ultraschallröhrchen überführt werden.

Hinweis: Für die Durchführung der DNA-Extraktion aus Nasopharyngeal aspirat mit dem System ELITe InGenius und der ELITe InGenius Software Version 1.3 (oder spätere Versionen) das Assay-Protokoll **BORD ELITe_NPA_200_100** verwenden. Dieses Protokoll verarbeitet 200 µl Probe, fügt den **CPE** (Internal Control) bei 10 µl/Extraktion hinzu und eluiert die Nukleinsäuren in 100 µl.

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 das Reagenz **Bordetella - ELITe Positive Control** (nicht im Lieferumfang dieses Kits enthalten) zusammen mit dem Assay-Protokoll **BORD ELITe_PC** zu verwenden,
- als Amplifikations-Negative Control ist hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) zusammen mit dem Assay-Protokoll **BORD ELITe_NC** zu verwenden.

Hinweis: Das System **ELITe InGenius** benötigt für jede in seiner Datenbank gespeicherte Amplifikationsreagenzcharge genehmigte und gültige Ergebnisse aus Amplifikationskontrollen.

Die genehmigten und in der Datenbank gespeicherten Ergebnisse der Amplifikationskontrolle laufen **nach 15 Tagen** ab. Am Ablaufdatum müssen die Positive Control und Negative Control zusammen mit der verwendeten Amplifikationsreagenzcharge erneut verarbeitet werden.

Darüber hinaus müssen die Amplifikationskontrollen erneut generiert werden, wenn:

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

Qualitätskontrollen

Die geplante Validierung des Extraktions- und Amplifikationsverfahrens wird empfohlen. Es können getestete Proben oder zertifiziertes Referenzmaterial verwendet werden. Externe Kontrollen sind gemäß den einschlägigen Anforderungen der lokalen, staatlichen und föderalen Akkreditierungsorganisationen zu verwenden.

VERFAHREN

Das beim Gebrauch des **Bordetella 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:

- das **ELITe InGenius**-Gerät einschalten und den Anmeldemodus „**CLOSED**“ (geschlossen) auswählen.
- prüfen, ob die Amplifikationskontrollen (Controls, BORD Positive Control, BORD 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 ELITe MGB® Kits, dem Gerät **ELITe InGenius** und der genannten Matrix validiert.

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

Assay-Protokoll für Bordetella ELITe MGB® Kit			
Name	Matrix	Bericht	Eigenschaften
BORD ELITe_NPA_200_100	Nasopharyngeal aspirat	Positiv/negativ	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Internal Control: 10 µl 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 Produkt **Bordetella 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 BORD 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: BORD 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“ (extrahierte 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 (z. B. BORD ELITe_NPA_200_100).
7. Sicherstellen, dass unter „Protocol“ (Protokoll) Folgendes angezeigt wird: „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR).
8. „Extraction Tube“ (Extraktionsröhrchen) in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) auswählen.
9. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
10. CPE und BORD 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.
11. 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.
12. Die „PCR Cassettes“ (PCR-Kassetten), 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.
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 extrahierte Probe im Elutionsröhrchen aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen, gekennzeichnet und bei -20 °C gelagert werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

Hinweis: Am Ende des Laufs müssen die PCR-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 BORD 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: BORD 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 Eluatvolumen 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 (z. B. BORD ELITe_NPA_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 BORD 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 im Elutionsröhrchen aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und bei -20 °C gelagert werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

Hinweis: Am Ende des Laufs müssen die PCR-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 BORD 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: BORD PCR Mix im Dunkeln auftauen, da dieses Reagenz lichtempfindlich ist.

- 2. Das BORD Positive Control Röhrchen für den Lauf auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 4 Läufe. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
- 3. Mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie in ein Elutionsröhrchen (im Lieferumfang des ELITe InGenius SP 200 Consumable Set enthalten) überführen.
- 4. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
- 5. Selbst wenn keine Extraktion durchgeführt wird, sicherstellen, dass das Extraktionseingangsvolumen („Extraction Input Volume“) 200 µl und das extrahierte Eluatvolumen 100 µl beträgt.
- 6. In der relevanten Spur das zu verwendende Assay Protocol in der Spalte „Assay“ auswählen.
- 7. Für die Positivkontrolle „BORD ELITe_PC“ in der Spalte „Assay“ auswählen und die Chargennummer und das Ablaufdatum für die BORD Positive Control eintragen.
- 8. Für die Negative Control „BORD 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 BORD 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 Spitzenständer 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 BORD 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, gekennzeichnet und bei -20 °C gelagert werden. Ein Verschütten der Kontrolle 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 Genehmigung der Ergebnisse

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

Hinweis: Das **ELITe InGenius** System kann mit dem Laborinformationssystem (LIS, 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 **Bordetella 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 Pathogen-Genen (Kanäle **IS481**, **BP**, **BH** und **BPP**) in der Amplifikationsreaktion der Positive Control und Negative Control ausgesendeten Fluoreszenzsignale werden automatisch analysiert und von der Gerätesoftware mit den in den Assay-Protokollen „BORD ELITe_PC“ und „BORD ELITe_NC“ enthaltenen Parametern interpretiert.

Die Ergebnisse des Amplifikationslaufs für die Positive Control und Negative Control, die für die verwendete Amplifikationsreagenzcharge 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 Amplifikationsreagenzcharge 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 Pathogen-Gene (Kanäle **IS481**, **BP**, **BH** und **BPP**) und von der Sonde der Internal Control (Kanal **IC**) in den Amplifikationsreaktionen der Probe ausgesendeten Fluoreszenzsignale werden automatisch analysiert und von der Gerätesoftware mit den im Assay-Protokoll „BORD ELITe_NPA_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
BORD Positive Control	APPROVED (Genehmigt)
2) Negative Control	Status
BORD 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 den folgenden Meldungen, die angeben, ob die Pathogen-DNA nachgewiesen wurden oder nicht.

Ergebnis des Probenlaufs	Interpretation
IS481: DNA nachgewiesen.	In der Probe wurde die DNA von <i>B. pertussis</i> oder <i>B. holmesii</i> (IS481) nachgewiesen. Hinweis: Wenn IS481 DNA nachgewiesen wird, könnte <i>B. pertussis</i> (BP) oder <i>B. holmesii</i> (BH) DNA ebenfalls typisiert werden.
IS481: Nachweis von DNA anderer verwandter Arten.	In der Probe wurde IS481-ähnliche DNA eines unbeabsichtigten Organismus nachgewiesen.
IS481: DNA Nicht nachgewiesen oder unter Nachweisgrenze.	In der Probe wurde die DNA von <i>B. pertussis</i> und <i>B. holmesii</i> (IS481) nicht nachgewiesen. Die Probe wurde negativ auf diese Pathogene getestet oder ihre Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
BP: typing positive. (BP: Typisierung positiv.)	In der Probe wurde die DNA von <i>B. pertussis</i> nachgewiesen. Hinweis: Wenn das BP-Ziel nachgewiesen wird, muss das IS481-Ziel ebenfalls nachgewiesen werden.
BP: typing not feasible. (BP: Typisierung nicht machbar.)	In der Probe wurde diese <i>B. pertussis</i>-spezifische Ziel-DNA nicht nachgewiesen. Bitte überprüfen Sie auch die Ergebnisse der IS481-Ziel-DNA.
BH: typing positive. (BP: Typisierung positiv.)	In der Probe wurde die DNA von <i>B. holmesii</i> nachgewiesen. Hinweis: Wenn das BH-Ziel nachgewiesen wird, muss das IS481-Ziel ebenfalls nachgewiesen werden.
BH: typing not feasible. (BH: Typisierung nicht machbar.)	In der Probe wurde diese <i>B. holmesii</i>-spezifische Ziel-DNA nicht nachgewiesen. Bitte überprüfen Sie auch die Ergebnisse der IS481-Ziel-DNA.
BPP: DNA nachgewiesen.	In der Probe wurde die DNA von <i>B. paraptussis</i> nachgewiesen.
BPP: DNA Nicht nachgewiesen oder unter Nachweisgrenze.	In der Probe wurde die DNA von <i>B. paraptussis</i> nicht nachgewiesen. Die Probe wurde negativ auf dieses Pathogen getestet oder seine Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
Invalid - Retest Sample (Ungültig - Probe erneut testen).	Ungültiges Testergebnis aufgrund von fehlerhafter Internal Control wegen falscher Extraktion oder Verschleppung von Inhibitoren. 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 Internal Control DNA aufgrund von Problemen beim Amplifikations- oder Extraktionsschritt nicht effizient erkannt (Abbau von DNA, Verlust von DNA während der Extraktion oder Verschleppung des Inhibitors im Eluat), 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.

Als „IS481: DNA not detected or below the LoD“ (IS481: DNA nicht nachgewiesen oder unter der Nachweisgrenze) oder „BPP DNA Not Detected or below the LoD“ (BPP-DNA nicht nachgewiesen oder unter der Nachweisgrenze) ausgegebene Proben sind für die Analyse geeignet, es war jedoch nicht möglich, die Ziel-DNA nachzuweisen. In diesem Fall kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Ziel-DNAs bei einer Konzentration unter der Nachweisgrenze des Tests vorhanden sind (siehe „Leistungsmerkmale“).

Als „IS481: Mit „Nachweis von DNA anderer verwandter Arten“ ausgegebene Proben sind für die Analyse geeignet und die IS481-ähnliche DNA eines unbeabsichtigten Organismus wurde in der Probe nachgewiesen. In diesem Fall wird die Probe für IS481 als „positiv“ ausgegeben, es wurde jedoch keine *B. holmesii*-spezifische Ziel-DNA (BH) oder *B. pertussis*-spezifische Ziel-DNA (BP) in der Probe nachgewiesen.

Wenn DNA der IS481-Gensequenz mit hoher Kopienzahl nachgewiesen wird, kann es sein, dass in schwach positiven Proben die *B. pertussis*-spezifische Ziel-DNA (BP) oder die *B. holmesii*-spezifische Ziel-DNA (BH) aufgrund der unterschiedlichen Kopienzahl der spezifischen Zielgene nicht nachgewiesen wird (z. B. liegen der Promotor des ptxA-Gens und das recA-Gen in BP bzw. BH in einfacher Kopie vor). Die Probe ist jedoch positiv für *B. pertussis* oder für *B. holmesii*, eine Identifizierung ist allerdings nicht möglich.

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

Erfassungsgrenze (LoB)

Die Erfassungsgrenze (LoB) des Bordetella ELITe MGB® Kit wurde in Kombination mit Nasopharyngealaspirat- (NPA) Proben und dem ELITe InGenius System definiert.

Die LoB wurde durch Testen einer Reihe von 60 klinischen NPA-Proben, die im externen Labor mit einer Kulturmethode und einem handelsüblichen CE-IVD-Assay negativ auf das IS481-Ziel (*B. pertussis* und *B. holmesii*) und auf IS1001 (*B. paraptussis*) getestet worden waren, verifiziert. Jede Probe wurden mit dem ELITe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet. Aufgrund der hohen analytischen Sensitivität wurde die LoB durch Anwendung eines Ct-Cut-off-Wertes von 40 für das IS481-Target (*B. pertussis* und *B. holmesii*) und für das BPP-Target (IS1001, *B. paraptussis*) definiert, um 95 % der negativen Ergebnisse zu erhalten.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

<i>B. pertussis</i> / <i>B. holmesii</i> (IS481-Target)				
Matrix	Anzahl	Positiv	Negativ	% Negativität
Negative Nasopharyngealaspirate	60	3	57	95
<i>B. paraptussis</i> (BPP-Target)				
Matrix	Anzahl	Positiv	Negativ	% Negativität
Negative Nasopharyngealaspirate	60	1	59	98

Die Proben, die in Verbindung mit dem Bordetella ELITe MGB® Kit und dem ELITe InGenius System ein positives Ergebnis lieferten, wiesen hohe Ct-Werte (zwischen 37 und 40) auf und lagen somit in einer sehr niedrigen Konzentration vor.

Nachweisgrenze (LoD)

Die Nachweisgrenze (LoD) des Bordetella ELITe MGB® Kit wurde in Kombination mit Nasopharyngealaspirat (NPA) und dem ELITe InGenius System definiert.

Die LoD wurde berechnet, indem ein Panel negativer NPA-Proben mit einem Referenzmaterial von *B. pertussis*, *B. paraptussis* und *B. holmesii* (DSMZ, Deutschland) mit bekanntem Titer aufgestockt wurde. Beginnend mit einer Konzentration über dem erwarteten LoD-Wert wurden sechs Verdünnungsstufen zubereitet. Jede Verdünnungsstufe wurde in 12 Wiederholungen mit dem ELITe InGenius System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet. Die LoD wurde mittels Probit-Regressionsanalyse der Daten als die Konzentration geschätzt, bei der eine 95%ige Wahrscheinlichkeit eines positiven Ergebnisses vorliegt.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Ziel	LoD (CFU/ml)	Grenzen des 95%-Konfidenzintervalls	
		Untere Grenze	Obere Grenze
<i>B. pertussis</i> (IS481-Target)	12	7	58
<i>B. paraptussis</i> (IS1001-Target)	11	6	19
<i>B. holmesii</i> (IS481-Target)	12	5	34

Nachweiseffizienz (Inklusivität)

Die Nachweiseffizienz verschiedener Stämme oder Isolate von *B. pertussis*, *B. paraptussis* und *B. holmesii* des Produkts Bordetella ELITe MGB® Kit wurde mittels *In-silico*-Analyse von in der EBI ENA Nukleotid-Datenbank verfügbaren Sequenzen bewertet.

Die für die Hybridisierung der Primer und der Fluoreszenzsonden ausgewählten Regionen wurden bei der Anordnung der Sequenzen für die wiederholte IS481-Sequenz (*B. pertussis* und *B. holmesii*), das ptxA-Gen (*B. pertussis*), das recA-Gen (*B. holmesii*) und die wiederholte IS1001-Sequenz (*B. paraptussis*) überprüft. Die Hybridisierungsregionen wiesen eine Sequenzkonservierung und Abwesenheit signifikanter Mutationen auf, sodass eine effiziente Amplifikation aller analysierten Organismen zu erwarten ist.

Die Nachweiseffizienz verschiedener Stämme oder Isolate von *B. pertussis*, *B. paraptussis* und *B. holmesii* wurde ebenfalls durch die Analyse einer Reihe zertifizierter, bei niedriger Konzentration (etwa 100 Kopien/Reaktion) getesteter Materialien bewertet.

Zertifizierte Proben von genomischer DNA von Vircell Microbiologists (Spanien), DSMZ (Deutschland) und ATCC (USA) wurden verdünnt und mit dem System ELITe InGenius im Modus „PCR Only“ (nur PCR) in Dreifachbestimmung analysiert.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Inklusivität		
Organismen	Stamm	Ergebnis
<i>B. pertussis</i>	Vircell, F-Stamm	IS481 nachgewiesen, BP-Typisierung positiv
<i>B. paraptussis</i>	Vircell, CDC F5101	BPP nachgewiesen
<i>B. holmesii</i>	Vircell, klinisches Isolat	IS481 nachgewiesen, BH-Typisierung positiv
<i>B. pertussis</i>	DSMZ, klinisches Isolat	IS481 nachgewiesen, BP-Typisierung positiv
<i>B. paraptussis</i>	DSMZ, klinisches Isolat	BPP nachgewiesen
<i>B. holmesii</i>	DSMZ, klinisches Isolat	IS481 nachgewiesen, BH-Typisierung positiv
<i>B. pertussis</i>	ATCC, Tohama I	IS481 nachgewiesen, BP-Typisierung positiv
<i>B. paraptussis</i>	ATCC, 12822	BPP nachgewiesen

Alle getesteten Proben wurden mit dem Bordetella ELITe MGB® Kit positiv auf das richtige Pathogen getestet.

Potenziell interferierende Marker (Kreuzreaktivität)

Die potenzielle Kreuzreaktivität mit anderen ungewollten Organismen, die in respiratorischen Proben des Produkts Bordetella ELITe MGB® Kit gefunden wurden, wurde mittels *In-silico*-Analyse der in der EBI ENA Nukleotid-Datenbank verfügbaren Sequenzen bewertet.

Die Analyse ergab für die Zielsequenzen keine signifikante Homologie mit dem Großteil der unbeabsichtigten Organismen (Viren, Bakterien, Protozoen und Pilze), wodurch keine Kreuzreaktivität zu erwarten ist. Allerdings wurden bei einigen Stämmen von *B. hinzi*, *B. bronchialis* und *B. bronchiseptica* für den IS481-Nachweis, bei einigen Stämmen von *B. petrii* für den recA-Nachweis und bei *Achromobacter denitrificans* für den IS1001-Nachweis signifikante Homologien und potenzielle Interferenzen beobachtet.

Die Kreuzreaktivität mit anderen Organismen in den respiratorischen Proben wurde auch durch Testen einer Reihe zertifizierter genomischer DNA und RNA von der ATCC (USA) verifiziert.

Genomische DNA-Proben wurden in Dreifachbestimmung für jeden potenziell interferierenden Marker mit dem ELITe InGenius System im Modus „PCR Only“ (nur PCR) analysiert.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Potenziell interferierende Marker: Kreuzreaktivität		
Organismen	Stamm	Ergebnis
<i>Aspergillus fumigatus</i>	ATCC, 118	Negativ, keine Kreuzreaktivität
<i>Candida albicans</i>	ATCC, 3147	Negativ, keine Kreuzreaktivität
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC, Rosenbach	Negativ, keine Kreuzreaktivität
<i>Escherichia coli</i>	ATCC, H10407	Negativ, keine Kreuzreaktivität
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	ATCC, RB50	Negativ, keine Kreuzreaktivität
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC, Rd	Negativ, keine Kreuzreaktivität
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC, R6	Negativ, keine Kreuzreaktivität
<i>Legionella pneumophila</i>	ATCC, Philadelphia-1	Negativ, keine Kreuzreaktivität
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	ATCC, FH	Negativ, keine Kreuzreaktivität
<i>Chlamydomonas pneumoniae</i>	ATCC, AR-39	Negativ, keine Kreuzreaktivität
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	klinisches Isolat	Negativ, keine Kreuzreaktivität
CMV	ATCC, AD-169	Negativ, keine Kreuzreaktivität
Enterovirus	ATCC, Pesascek	Negativ, keine Kreuzreaktivität
ADV	ATCC, Adenoid 6	Negativ, keine Kreuzreaktivität
FluA	ATCC, A/PR/8/34	Negativ, keine Kreuzreaktivität
FluB	ATCC, B/Florida/4/2006	Negativ, keine Kreuzreaktivität
RSV	ATCC, A2	Negativ, keine Kreuzreaktivität
<i>Bordetella petrii</i>	DSMZ, DSM 12804	Negativ, keine Kreuzreaktivität*
<i>Bordetella petrii</i>	klinisches Isolat, REF504	Negativ, keine Kreuzreaktivität**

Potenziell interferierende Marker: Kreuzreaktivität		
Organismen	Stamm	Ergebnis
<i>Bordetella petrii</i>	klinisches Isolat, REF505	Negativ, keine Kreuzreaktivität*
<i>Bordetella petrii</i>	klinisches Isolat, BORD1836	Negativ, keine Kreuzreaktivität**
<i>Bordetella petrii</i>	klinisches Isolat, BUR-15-132	Negativ, keine Kreuzreaktivität**
<i>Bordetella petrii</i>	klinisches Isolat, BUR-19-174	Negativ, keine Kreuzreaktivität**

Die wichtigsten der getesteten potenziell interferierenden Organismen wiesen für die Zielsequenzen beim Test mit dem Bordetella ELITe MGB® Kit keine Kreuzreaktivität auf.

Laut Sequenzanalyse waren einige Stämme von *Bordetella petrii* (*) positiv für die BH-Zielsequenz. Aufgrund der unterschiedlichen Schmelztemperaturen (Tm) zwischen dem recA-Protein von *B. holmesii* und dem recA-Protein anderer *Bordetella*-Spezies gibt das Assay-Protokoll „Typing not feasible“ (Typisierung nicht machbar) aus.

Darüber hinaus haben andere Stämme von *B. petrii* (**) eine IS481-ähnliche Sequenz und reagieren positiv auf die IS481-Zielsequenz. Aufgrund der unterschiedlichen Tm zwischen IS481 von *B. pertussis* und *B. holmesii* und der IS481-ähnlichen Sequenz anderer *Bordetella*-Spezies gibt das Assay-Protokoll „other related species“ (andere verwandte Spezies) aus.

Potenziell interferierende Marker (Inhibition)

Die Abwesenheit einer Inhibition durch andere ungewollte Organismen in den respiratorischen Proben wurde durch Testen einer Reihe zertifizierter genomischer DNA und RNA von der ATCC verifiziert.

Hochkonzentrierte Proben mit genomischer DNA und RNA (zirka 100.000 Kopien pro Reaktion) wurden mit niedrigkonzentrierter genomischer DNA von *B. pertussis* oder *B. paraptussis* oder *B. holmesii* (DSMZ) in geringer Konzentration (zirka 100 Kopien pro Reaktion) dotiert und in Dreifachbestimmung für jeden potenziell interferierenden Marker mit dem System ELITe InGenius im Modus „PCR Only“ (nur PCR) analysiert.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Potenziell interferierende Marker: Inhibition		
Organismen	Stamm	Ergebnis
<i>Aspergillus fumigatus</i>	ATCC, 118	Positiv, keine Inhibition
<i>Candida albicans</i>	ATCC, 3147	Positiv, keine Inhibition
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC, Rosenbach	Positiv, keine Inhibition
<i>Escherichia coli</i>	ATCC, H10407	Positiv, keine Inhibition
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	ATCC, RB50	Positiv, keine Inhibition
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC, Rd	Positiv, keine Inhibition
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC, R6	Positiv, keine Inhibition
<i>Legionella pneumophila</i>	ATCC, Philadelphia-1	Positiv, keine Inhibition
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	ATCC, FH	Positiv, keine Inhibition
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	ATCC, AR-39	Positiv, keine Inhibition
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	klinisches Isolat	Positiv, keine Inhibition
CMV	ATCC, AD-169	Positiv, keine Inhibition
Enterovirus	ATCC, Pesascek	Positiv, keine Inhibition
ADV	ATCC, Adenoid 6	Positiv, keine Inhibition
FluA	ATCC, A/PR/8/34	Positiv, keine Inhibition
FluB	ATCC, B/Florida/4/2006	Positiv, keine Inhibition
RSV	ATCC, A2	Positiv, keine Inhibition
<i>Bordetella petrii</i>	DSMZ, DSM 12804	Positiv, keine Inhibition
<i>Bordetella petrii</i>	klinisches Isolat, REF504	Positiv, keine Inhibition
<i>Bordetella petrii</i>	klinisches Isolat, REF505	Positiv, keine Inhibition
<i>Bordetella petrii</i>	klinisches Isolat, BORD1836	Positiv, keine Inhibition
<i>Bordetella petrii</i>	klinisches Isolat, BUR-15-132	Positiv, keine Inhibition
<i>Bordetella petrii</i>	klinisches Isolat, BUR-19-174	Positiv, keine Inhibition

Im Test mit dem Bordetella ELITe MGB® Kit wurden alle gesuchten Pathogene bei Vorhandensein der oben aufgeführten, potenziell interferierenden Organismen richtig erkannt.

Mögliche Interferenz unter den Zielsequenzen

Die potenzielle Interferenz unter den Zielsequenzen des Produkts Bordetella ELITe MGB® Kit wurde durch einen Test der Co-Amplifikation von Referenzmaterialien von *B. pertussis*, *B. paraptussis* (ATCC) und *B. holmesii* (DSMZ) bewertet.

Die Reihe enthielt Proben mit genomischer DNA für *B. pertussis* oder *B. paraptussis* oder *B. holmesii* in hoher Konzentration (10⁵ Kopien/Reaktion) und andere gesuchte Pathogene in niedrigen Konzentrationsstufen (10³, 10², 10 Kopien/Reaktion).

Jede Bedingung wurde in Dreifachbestimmung in Verbindung mit dem ELITe InGenius System im Modus „PCR Only“ (nur PCR) analysiert.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Mögliche Interferenz unter den Zielsequenzen			
Getestete Zielsequenz	Interferierende Zielsequenz (~10 ⁵ Kopien/Reaktion)		
	<i>B. pertussis</i>	<i>B. paraptussis</i>	<i>B. holmesii</i>
<i>B. pertussis</i> (IS481)	-	10 Kopien/Reaktion	-
<i>B. paraptussis</i> (IS1001)	10 Kopien/Reaktion	-	100 Kopien/Reaktion
<i>B. holmesii</i> (IS481)	-	10 Kopien/Reaktion	-

B. pertussis, *B. paraptussis* und *B. holmesii* wurden mit dem Bordetella ELITe MGB® Kit in einer Konzentration von mindestens 10 Kopien/Reaktion nachgewiesen, selbst wenn andere gesuchte Pathogene in hoher Konzentration vorhanden waren. Im Fall von 10⁵ Kopien/Reaktion von *B. holmesii* wurde *B. paraptussis* in einer Konzentration von mindestens 100 Kopien/Reaktion nachgewiesen.

B. pertussis wurde mit dem Bordetella ELITe MGB® Kit bei einer Konzentration von mindestens 10 Kopien/Reaktion bei Vorhandensein von *B. paraptussis* in hoher Konzentration und bei einer Konzentration von mindestens 2.000 Kopien/Reaktion bei Vorhandensein von *B. holmesii* in hoher Konzentration typisiert.

B. holmesii wurde mit dem Bordetella ELITe MGB® Kit bei einer Konzentration von mindestens 10 Kopien/Reaktion bei Vorhandensein von *B. paraptussis* in hoher Konzentration und bei einer Konzentration von mindestens 1.000 Kopien/Reaktion bei Vorhandensein von *B. pertussis* in hoher Konzentration typisiert.

Störende Substanzen

Eine Reihe potenziell interferierender Substanzen in ihren höchsten relevanten Konzentrationen wurde mit dem Produkt Bordetella ELITe MGB® Kit getestet. Die getesteten Substanzen waren Mucin, menschliches Vollblut, das Antibiotikum Azithromycin, das Corticosteroid Beclometason, das Antihistaminikum Ebastin und das Mukolytikum Ambroxol.

Die Substanzen wurden einzeln zu den Nasopharyngealaspirat-Proben hinzugegeben, die mit den Referenzmaterialien von *B. pertussis*, *B. paraptussis* oder *B. holmesii* (DSMZ) in einer Konzentration von 3 x LoD dotiert waren. Die Proben wurden in 3 Wiederholungen mit dem ELITe InGenius®-System im Modus „Extraction + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Störende Substanzen				
Substanz	Konzentration	Pos. / Wiederh.		
		<i>B. pertussis</i>	<i>B. paraptussis</i>	<i>B. holmesii</i>
Mucin	1 Gew.-% (10 mg/ml)	3/3	3/3	3/3
Vollblut	10 Vol.-%	3/3	3/3	3/3
Azithromycin	0,2 µg/mL	3/3	3/3	3/3
Beclometason	64 ng/mL	3/3	3/3	3/3
Ebastin	0,4 µg/mL	3/3	3/3	3/3
Ambroxol	0,6 µg/mL	3/3	3/3	3/3

Bei keiner der getesteten Substanzen wurde in den getesteten Konzentrationen eine Interferenz mit dem Bordetella ELITe MGB® Kit festgestellt.

Wiederholpräzision

Die Wiederholpräzision der mit dem Produkt Bordetella ELITe MGB® Kit in Kombination mit dem ELITe InGenius System erhaltenen Ergebnisse wurde durch Analyse eines Panels von drei

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

REF

RTS140ING

Nasopharyngealaspirat-Proben, die mit den Referenzmaterialien von *B. pertussis*, *B. parapertussis* oder *B. holmesii* (DSMZ) in einer Konzentration von 3 x LoD dotiert waren, getestet.

Die Wiederholpräzision wurde durch die Analyse in drei Wiederholungen, in zwei Läufen pro Tag und mit derselben Produktcharge mit demselben Gerät durch ein und denselben Bediener bestimmt. Die Ergebnisse wurden für dieselbe Produktcharge (Wiederholpräzision innerhalb des Laufs) und für die drei verschiedenen Produktchargen (chargenübergreifende Wiederholpräzision) analysiert. Die Proben wurden mit dem ELITE InGenius-System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet.

Die Ct-Werte jeder Zielsequenz und Internal Control-Zielsequenz (IC2) wurden zur Berechnung des prozentualen Variationskoeffizienten (VK %) herangezogen, um die Wiederholpräzision als Ungenauigkeit zu bewerten.

Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabelle zusammengefasst.

Wiederholpräzision innerhalb des Laufs				
Ziel	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	Standardabw.	VK %
<i>B. pertussis</i> (IS481)	6	36,14	0,34	0,95
<i>B. parapertussis</i> (IS1001)	6	34,70	0,37	1,08
<i>B. holmesii</i> (IS481)	6	36,02	0,27	0,75
Internal Control	24	28,77	0,25	0,88

Chargenübergreifende Wiederholpräzision				
Ziel	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	Standardabw.	VK %
<i>B. pertussis</i> (IS481)	18	36,66	0,95	2,60
<i>B. parapertussis</i> (IS1001)	18	34,89	0,64	1,82
<i>B. holmesii</i> (IS481)	18	36,23	0,75	2,08
Internal Control	72	28,58	0,33	1,15

Die Wiederholpräzision des Produkts Bordetella ELITE MGB® Kit für jede Zielsequenz wies einen VK % von unter 3 % aus.

Vergleichspräzision

Die Vergleichspräzision der mit dem Produkt Bordetella ELITE MGB® Kit in Kombination mit dem ELITE InGenius System erhaltenen Ergebnisse wurde durch Analyse eines Panels von drei Nasopharyngealaspirat-Proben, die mit dem Referenzmaterial von *B. pertussis*, *B. parapertussis* und *B. holmesii* (DSMZ) in einer Konzentration von 3 x LoD dotiert waren, getestet.

Die Ergebnisse der Vergleichspräzision wurden in drei Wiederholungen in zwei Läufen pro Tag analysiert. 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 „Extraction + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet.

Die Ct-Werte jeder Zielsequenz und Internal Control-Zielsequenz (IC2) wurden zur Berechnung des prozentualen Variationskoeffizienten (VK %) herangezogen, um die Vergleichspräzision als Ungenauigkeit zu bewerten.

Die Ergebnisse sind nachfolgend zusammengefasst.

Geräteübergreifende Vergleichspräzision				
Ziel	Anzahl	Mittlerer Ct-Wert	Standardabw.	VK %
<i>B. pertussis</i> (IS481)	18	36,48	0,86	2,35
<i>B. parapertussis</i> (IS1001)	18	34,80	0,68	1,95
<i>B. holmesii</i> (IS481)	18	36,23	0,85	2,34
Internal Control	72	28,06	0,48	1,72

Die Vergleichspräzision des Produkts Bordetella ELITE MGB® Kit für jede Zielsequenz wies einen VK % von unter 3 % aus.

Diagnostische Sensitivität: Bestätigung positiver Proben

Die diagnostische Sensitivität des Assays als die Bestätigung positiver klinischer Proben wurde durch die Analyse klinischer, *B. pertussis*-positiver Nasopharyngealaspirat-Proben, die mit zertifiziertem Material von *B. parapertussis* oder *B. holmesii* (DSMZ) dotiert worden waren, bewertet. Die positiven Proben und die zum Dotieren verwendeten negativen Proben wurden mit einer Kulturmethode und einem

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

REF

RTS140ING

handelsüblichen CE-IVD-Assay im externen Labor zertifiziert. Künstliche hergestellte Proben auf *B. parapertussis* und *B. holmesii* wurden mit einer Konzentration von 30 x, 10 x und 3 x LoD dotiert.

Die Proben wurden gemäß den Angaben in „Proben und Kontrollen“ entnommen und mit dem Bordetella ELITE MGB® Kit und dem ELITE InGenius System im Modus „Extraction + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	Anzahl	Positiv	Negativ	Ungültig	Diagnostische Sensitivität in %
<i>B. pertussis</i> -positives Nasopharyngealaspirat	26	24	0	2	100 %
<i>B. parapertussis</i> -dotiertes Nasopharyngealaspirat	30	30	0	0	100 %
<i>B. holmesii</i> -dotiertes Nasopharyngealaspirat	30	30	0	0	100 %

Bei dem Test wurden 24 von 26 *B. pertussis*-positiven Nasopharyngealaspirat-Proben als positiv bestätigt. 2 Proben waren ungültig und wurden von der Analyse ausgeschlossen.

Bei dem Test wurden alle *B. parapertussis*- und *B. holmesii*-dotierten Nasopharyngealaspirat-Proben als positiv bestätigt.

Bei diesem Test betrug die diagnostische Sensitivität des Assays für *B. pertussis* *B. parapertussis* und *B. holmesii* im Zusammenhang mit Nasopharyngealaspirat-Proben 100 %.

Diagnostische Spezifität: Bestätigung negativer Proben

Die diagnostische Spezifität des Assays zur Bestätigung negativer klinischer Proben wurde durch die Analyse klinischer Nasopharyngealaspirat-Proben bewertet, die mit einer Kulturmethode und einem handelsüblichen CE-IVD-Assay im externen Labor als negativ für *B. pertussis*, *B. parapertussis* und *B. holmesii* zertifiziert wurden.

Die Proben wurden gemäß den Angaben in „Proben und Kontrollen“ entnommen und dann mit dem Bordetella ELITE MGB® Kit und dem ELITE InGenius System im Modus „Extraction + PCR“ (Extraktion + PCR) getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	Anzahl	Positiv	Negativ	Ungültig	Diagnostische Spezifität in %
<i>B. pertussis</i> / <i>B. holmesii</i> -negatives Nasopharyngealaspirat	60	0	59	1	100 %
<i>B. parapertussis</i> -negatives Nasopharyngealaspirat	86	1	82	3	98,8 %

Bei dem Test wurden 59 von 60 *B. pertussis*- / *B. holmesii*-negativen Nasopharyngealaspirat-Proben als gültig und negativ bestätigt. 1 Probe war ungültig und wurde von der Analyse ausgeschlossen.

Bei dem Test wurden 82 von 86 *B. parapertussis*-negativen Nasopharyngealaspirat-Proben als gültig und negativ bestätigt. 3 Proben waren ungültig und wurden von der Analyse ausgeschlossen. 1 Probe fiel abweichend positiv aus.

Bei diesem Test betrug die diagnostische Sensitivität des Assays für *B. pertussis* / *B. holmesii* im Zusammenhang mit Nasopharyngealaspirat-Proben 100 %.

Bei diesem Test betrug die diagnostische Spezifität des Assays für *B. parapertussis* im Zusammenhang mit Nasopharyngealaspirat-Proben 98,8 %.

Hinweis: Die vollständigen Daten und Ergebnisse der Tests, die zur Bewertung der Leistungsmerkmale des Produkts mit Matrices und dem Gerät durchgeführt wurden, sind in der technischen Dokumentation „Bordetella ELITE MGB® Kit“, FTP 140ING, aufgeführt.

REFERENZEN

- U. Reischl et al. (2001) J Clin Microbiol. 39: 1963–1966.
N. K. Fry et al. (2009) J Med Microbiol. 58: 1023-9.
A. Van der Zee (1993) J Bacteriol. 175: 141-7.
J. L. Guthrie et al. (2010) J Clin Microbiol. 48: 1435-7
E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e30

GRENZEN DES VERFAHRENS

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

Dieses Produkt darf nur mit klinischen Nasopharyngeal-aspirat-Proben verwendet werden.

Derzeit liegen keine Daten zur Produktleistung mit den folgenden klinischen Proben vor:
Nasopharyngealabstrich, Sputum, bronchoalveoläre Lavage (BAL), Bronchialaspirat (BA).

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.

Bei diesem Produkt müssen die Bereiche für molekularbiologische Tests und für Tests von mikrobiologischen Kulturen räumlich getrennt sein, um falsch-positive Ergebnisse zu vermeiden.

Dieses Produkt macht das Tragen von spezieller Laborkleidung 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 aus der Probe extrahierten DNA nachzuweisen ist. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass der Titer der Ziel-DNA unter der Nachweisgrenze des Produkts (siehe „Leistungsmerkmale“) liegt. In diesem Fall kann das Ergebnis falsch-negativ sein.

Bei Koinfektionen kann die Sensitivität für eine Zielsequenz durch die Amplifikation einer zweiten Zielsequenz (siehe „Leistungsmerkmale“) beeinträchtigt werden.

In manchen Fällen können *B. bronchiseptica*, *B. hinzii* und *B. bronchialis* die wiederholten IS481-Sequenzen enthalten und daher positive Ergebnisse für dieses Target generieren.

In manchen Fällen können *B. bronchiseptica* und *Achromobacter denitrificans* die wiederholten IS1001-Sequenzen enthalten und daher positive Ergebnisse für das BPP-Target generieren.

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

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

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

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

FEHLERBEHEBUNG

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 Probenreaktion	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Fehler beim Einrichten des Laufs.	Position des PCR Mix und der Probe kontrollieren. Volumina des PCR Mix und der Probe kontrollieren.
Abbau der Internal Control.	Neue Aliquote der Internal Control verwenden.
Abbau des PCR Mix.	Ein neues Aliquot mit PCR Mix verwenden.
Inhibition durch die Probe störende Substanzen.	Amplifikation der eluierten Probe mit einer 1:2-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „PCR Only“-Lauf (nur PCR) wiederholen. Extraktion mit einer 1:2-Verdünnung der Primärprobe in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „Extract + PCR“-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Ungewöhnlich hoher Anteil positiver Ergebnisse innerhalb ein und desselben Laufs (Reaktionen mit ähnlich späten Ct-Werten) Mögliche Ursachen Abhilfemaßnahmen

Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Kontamination von Probe zu Probe während der Präanalyseschritte	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 verwenden.

Fehler 30103

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

TH-Fehler

Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Probe mit anormaler Diagrammform.	Wenn im PCR-Diagramm eine signifikante Amplifikation mit negativer Baseline zu beobachten ist: - Amplifikation der eluierten Probe mit einer 1:10-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „PCR Only“-Lauf (nur PCR) wiederholen oder - Extraktion mit einer 1:10-Verdünnung der Primärprobe in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „Extract + PCR“-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen.

SYMBOLS

REF

Katalognummer.



Temperaturobergrenze.

LOT

Chargenbezeichnung.



Verwendbar bis (letzter Tag des Monats).

IVD

In-vitro-Diagnostikum.



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



Genügend für „n“ Tests.



Achtung, Gebrauchsanweisung beachten.

FORT

Inhalt.



Vor Sonneneinstrahlung schützen.



Hersteller.

**HINWEIS AN DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE
LIZENZ**

Dieses Produkt enthält Reagenzien, die von Life Technologies Corporation hergestellt wurden und im Rahmen von Lizenzvereinbarungen zwischen ELITechGroup S.p.A. und deren Tochtergesellschaften und Life Technologies Corporation vertrieben werden. Im Kaufpreis dieses Produkts eingeschlossen sind eingeschränkte, nicht übertragbare Rechte zum Gebrauch nur dieser Produktmenge ausschließlich für Aktivitäten des Käufers mit direktem humandiagnostischem Bezug. Informationen zum Kauf einer Lizenz für dieses Produkt zu anderen als den oben genannten Zwecken sind erhältlich bei Licensing Department, Life Technologies Corporation, 5781 Van Allen Way, Carlsbad, CA 92008, USA. Tel.: +1(760)603-7200. Fax: +1(760)602-6500. E-Mail: outlicensing@thermofisher.com.

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.