ELITechGroup
EMPOWERING IVD

ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185
10149 Torino ITALIEN
Hauptniederlassung: Tel. +39-011 976 191
Fax +39-011 936 76 11
E-Mail: emd.support@elitechgroup.com
Website: www.elitechgroup.com

GI Viral PLUS ELITe MGB® Kit

Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF **RTS501ING**

UDI **08033891487515**

CE **IVD**
0123

-20 °C

INHALTSVERZEICHNIS

VERWENDUNGSZWECK	**Seite 1**
TESTPRINZIP	**Seite 2**
PRODUKTBESCHREIBUNG	**Seite 2**
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 BEI ELITe InGenius	**Seite 7**
VERFAHREN BEI ELITe BeGenius	**Seite 12**
LEISTUNGSMERKMALE	**Seite 16**
QUELLENANGABEN	**Seite 28**
GRENZEN DES VERFAHRENS	**Seite 28**
FEHLERBEHEBUNG	**Seite 29**
SYMBOLE	**Seite 32**
ANWENDERHINWEISE	**Seite 33**
HINWEIS AN DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ	**Seite 33**
ANLAGE: KURZANLEITUNG	**Seite A**

VERWENDUNGSZWECK

Das Produkt **GI Viral PLUS ELITe MGB® Kit** ist ein *In-vitro*Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal in qualitativen Multiplex-Nukleinsäure-RT- (reverse Transkription) und Real-Time-PCR-Assays zum **Nachweis und zur Identifizierung** der genomischen DNA von Adenoviren (ADV), und der genomischen RNA von Noroviren (NV), Rotaviren (RV), Astroviren (ASV) und Sapoviren (SV), die aus klinischen Proben extrahiert wurde, bestimmt ist.

Der Assay kann die DNA von Adenoviren der Serotypen F40 und F41 (typisiert durch Schmelzanalyse), die RNA von Noroviren der Gengruppen GI und GII (typisiert durch Schmelzanalyse), Rotaviren der Gruppe A, humanen Astroviren und humanen Sapoviren nachweisen.

Dieser Assay ist in Verbindung mit den Geräten **ELITe InGenius®** und **ELITe BeGenius®**, automatisierten und integrierten Systemen zur Extraktion, reversen Transkription, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation mit humanen Stuhlproben, validiert.

Das Produkt ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Diagnose von gastrointestinalen Virusinfektionen bei Patienten mit Verdacht auf eine Infektion mit Adenovirus, Norovirus, Rotavirus, Astrovirus oder Sapovirus bestimmt.

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

TESTPRINZIP

Bei dem Test handelt es sich um eine qualitative Ein-Schritt-Real-Time-PCR mit Multiplex-RT (reverse Transkription), mit der die DNA von Adenoviren und die RNA von Noroviren, Rotaviren, Astroviren und Sapoviren aus Proben nachgewiesen, revers transkribiert und dann unter Verwendung eines kompletten Reaktionsgemischs amplifiziert wird, das Primer und Sonden mit ELITe MGB-Technologie enthält.

Die ELITe MGB-Sonden werden aktiviert, wenn sie mit den jeweiligen PCR-Produkten hybridisieren. **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius** überwachen den Fluoreszenzanstieg und berechnen die Schwellenwertzyklen (Ct) sowie die Schmelztemperaturen (Tm).

Bei den ELITe MGB-Sonden werden die Fluorophore im spiralförmig gefalteten, einzelsträngigen Zustand der Sonde gequencht. Die Fluorophore sind in der Sonden/Amplicon-Duplex aktiv, da der Quencher räumlich von dem Fluorophor getrennt ist. Es ist zu beachten, dass das Fluorophor während der PCR nicht abgespalten wird und für die Dissoziationsanalyse und die Berechnung der Schmelztemperatur verwendet werden kann.

PRODUKTBESCHREIBUNG

Das **GI Viral PLUS ELITe MGB Kit** umfasst die folgenden Komponenten:

- **GI-V PCR Mix**, ein optimiertes und stabilisiertes PCR-Gemisch, das die spezifischen Primer und Sonden enthält für:
  - das Hexonprotein-Gen von Adenovirus F40 und F41, nachgewiesen in Kanal **ADV**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher® gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor® 639 (AP639) markiert,
  - das Polyprotein-RdRp-Gen von Norovirus GI und GII, nachgewiesen in Kanal **NV**; die Sonden sind durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und mit einem FAM-Farbstoff markiert,
  - das NSP3-Gen der Rotavirus-Gruppe A, nachgewiesen in Kanal **RV**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 593 (AP593) markiert,
  - das Kapsidprotein-Gen von Astroviren, nachgewiesen in Kanal **ASV**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 690 (AP690) markiert,
  - das Polyprotein-Gen von Sapovirus GI/GII/GIV und Sapovirus GV, nachgewiesen in Kanal **SV**; die Sonden sind durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 559 (AP559) markiert,
  - die Internal Control (**IC**), die für eine Region der genomischen RNA des Phagen MS2 spezifisch ist, nachgewiesen in Kanal **IC**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 525 (AP525) markiert.

Der **GI-V PCR Mix** enthält außerdem Puffer, Magnesiumchlorid, Nukleotidtriphosphate und „Hot-start"-DNA-Polymerase.

- **RT EnzymeMix**, ein optimiertes und stabilisiertes Gemisch aus Enzymen zur reversen Transkription.

Das **GI Viral PLUS ELITe MGB Kit** enthält ausreichend Reagenzien für **96 Tests** auf dem **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius,** wobei 20 µl **GI-V PCR Mix** und 0,3 µl **RT EnzymeMix** pro Reaktion verwendet werden.

Der **GI Viral PLUS ELITe MGB Kit** kann auch in Verbindung mit gleichwertigen Geräten verwendet werden.

IM LIEFERUMFANG DES PRODUKTS ENTHALTENE MATERIALIEN

Komponente	Beschreibung	Menge	Gefahrenklasse
GI-V PCR Mix Art.-Nr. RTS501ING	Gemisch aus Reagenzien für die reverse Transkription und Real-Time-PCR in Röhrchen mit **WEISSEM Verschluss**	**4 x 600 µl**	-
RT EnzymeMix Art.-Nr. RTS003-RT	Enzyme zur reversen Transkriptase in Röhrchen mit Verschluss mit **SCHWARZEM Einsatz**	**2 x 20 µl**	-

BENÖTIGTE MATERIALIEN (NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN)

- Laminar-Flow-Haube.
- Puderfreie Einweghandschuhe aus Nitril oder einem ähnlichen Material.
- Vortex-Mixer.
- Tischzentrifuge (~3.000 U/min).
- Tisch-Mikrozentrifuge (~13.000 U/min).
- Thermomixer.
- Mikropipetten und sterile Spitzen mit Aerosolfilter oder sterile Direktverdrängerspitzen (0,5–10 µl, 2–20 µl, 5–50 µl, 50–200 µl, 200–1000 µl).
- sterile 2,0-ml-Röhrchen mit Schraubverschluss (Sarstedt, Deutschland, Art.-Nr. 72.694.005).
- Hochreines Wasser für die Molekularbiologie.

SONSTIGE BENÖTIGTE PRODUKTE

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

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

Geräte und Software	Produkte und Reagenzien
ELITe InGenius (EG SpA, Art.-Nr. INT030) **ELITe InGenius Software**, Version 1.3.0.19 (oder später) **GI Viral PLUS ELITe_PC**, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Positive Control-Analyse **GI Viral PLUS ELITe_NC**, Assay-Protokoll mit Parametern für die Negative Control-Analyse **GI Viral PLUS ELITe_ST_200_100**, Assay-Protokoll mit Parametern für die Stuhlprobenanalyse.	**ELITe InGenius SP200** (EG SpA., Art.-Nr. INT032SP200) **ELITe InGenius SP 200 Consumable Set** (EG SpA, Art.-Nr. INT032CS) **ELITe InGenius PCR Cassette** (EG SpA, Art.-Nr. INT035PCR), **ELITe InGenius Waste Box** (EG SpA, Art.-Nr. F2102-000) **300 µL Filter Tips Axygen** (Corning Life Sciences Inc., Art.-Nr. TF-350-L-R-S), nur mit ELITe InGenius **1000 µL Filter Tips Tecan** (Tecan, Schweiz, Art.-Nr. 30180118) nur mit ELITe BeGenius **CPE - Internal Control** (EG SpA, Art.-Nr. CTRCPE), **GI Viral PLUS - ELITe Positive Control** (EG SpA, Art-Nr. CTR501ING) **InhibitEX Buffer** (QIAGEN GmbH, Deutschland, Art.-Nr. 19593) oder ein entsprechendes Produkt. **Minitip Flocked Swab®** (COPAN Italia S.p.A., Italien, Art.-Nr. 501CS01) oder eine entsprechende Vorrichtung. **FecalSwab™** (COPAN Italia S.p.A., Italien Art.-Nr. 470CE) oder eine entsprechende Vorrichtung mit Cary-Blair-Medium.
ELITe BeGenius (EG SpA., Art.-Nr. INT040) **ELITe BeGenius Software**, Version 2.2.1 (oder später) **GI Viral PLUS ELITe_Be_PC**, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Positive Control-Analyse. **GI Viral PLUS ELITe_Be_NC**, Assay-Protokoll mit Parametern für die Negative Control-Analyse. **GI Viral PLUS ELITe_Be_ST_200_100**, Assay-Protokoll mit Parametern für die Stuhlprobenanalyse.	

GI Viral PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF **RTS501ING**

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

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

Allgemeine Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

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

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

Geeignete Schutzkleidung und 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 bereitgestellten Anweisungen aufmerksam lesen.
Bei der Durchführung des Assays die bereitgestellten Produktanweisungen befolgen.
Das Produkt darf nach Ablauf des angegebenen Ablaufdatums nicht mehr verwendet werden.
Es dürfen nur mit dem Produkt bereitgestellte und vom Hersteller empfohlene 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 den Nukleinsäureabbau in den Proben oder die Probenkontamination durch PCR-Produkte.

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

Die Proben müssen geeignet und möglichst für diese Art der Analyse dediziert sein. Die Proben müssen unter einer Sicherheitswerkbank verarbeitet werden. Die zur Verarbeitung der Proben verwendeten Pipetten dürfen ausschließlich für diesen Zweck verwendet werden. Die Pipetten müssen nach dem Verdrängungsprinzip arbeiten oder in Verbindung mit Aerosol-Filterspitzen verwendet werden. Die verwendeten Spitzen müssen steril und sowohl DNase- und RNase-frei als auch DNA- und RNA-frei sein.

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

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

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

Komponentenspezifische Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Komponente	Umgebungstemperatur bei Lagerung	Haltbarkeit nach Anbruch	Gefrier- und Auftauzyklen
GI-V PCR Mix	-20°C oder darunter (lichtgeschützt)	einen Monat	bis zu fünf
RT EnzymeMix	-20°C oder darunter	einen Monat	bis zu zehn Mal für bis zu zehn Minuten bei +2 bis +8 °C

PROBEN UND KONTROLLEN

Proben

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

Probe	Anforderungen an die Entnahme	Transport-/Lagerbedingungen			
		+16 / +26 °C (Raumtemperatur)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Stuhl	ohne Konservierungsmittel entnommen	≤ 24 Stunden	≤ 48 Stunden	≤ 1 Monat	≤ 2 Monate
	in FecalSwab entnommen	≤ 48 Stunden	≤ 5 Tage	≤ 1 Monat	≤ 2 Monate

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

Die unten beschriebenen Anweisungen für die Vorbehandlung der Probe befolgen.

Vorbehandlungsverfahren ausgehend von nativem Stuhl, der ohne Konservierungsmittel gesammelt wurde:

- 1 ml InhibitEX Buffer in ein 2-ml-Sarstedt-Röhrchen übertragen,
- die Stuhlprobe mit einem Minitip Flocked Swab mit Sollbruchstelle bei 80 mm (Copan) sammeln, die Probe aus verschiedenen Stuhlabschnitten aufnehmen und den Überschuss entsorgen; hierfür den Tupferschaft gegen die Behälterwand drücken und abbrechen,
- den Tupfer in das 2-ml-Sarstedt-Röhrchen mit dem InhibitEX Buffer einführen und mindestens 10 Mal drehen; dabei an der Röhrchenwand entlangstreifen,
- den Tupfer entsorgen und den Röhrchenverschluss schließen,
- durch Vortexen ~60 Sek. mischen,
- in einem Thermomixer 10 Min. bei ~+80 °C und ~800 U/min inkubieren,
- 15 Sek. bei 10.000 xg (RZB) zentrifugieren,
- 200 µl des geklärten Stuhlüberstands vorsichtig in ein Extraktionsröhrchen (beim Gerät ELITe InGenius) oder in ein 2-ml-Sarstedt-Röhrchen (beim Gerät ELITe BeGenius) überführen, dabei darauf achten, dass das pelletierte fäkale Material nicht beeinträchtigt wird.

Vorbehandlungsverfahren ausgehend von Stuhl, der in FecalSwab gesammelt wurde:

- 500 µl InhibitEX Buffer in ein 2-ml-Sarstedt-Röhrchen überführen,
- 500 µl der Probensuspension aus dem FecalSwab in das 2-ml-Sarstedt-Röhrchen mit dem InhibitEX Buffer überführen,
- das Röhrchen dicht verschließen und ~60. Sek. durch Vortexen mischen,
- in einem Thermomixer 10 Min. bei ~+80 °C und ~800 U/min inkubieren,
- 15 Sek. bei 10.000 xg (RZB) zentrifugieren,
- 200 µl des geklärten Stuhlüberstands vorsichtig in ein Extraktionsröhrchen (beim Gerät ELITe InGenius) oder in ein 2-ml-Sarstedt-Röhrchen (beim Gerät ELITe BeGenius) überführen, dabei darauf achten, dass das pelletierte fäkale Material nicht beeinträchtigt wird.

GI Viral PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTS501ING

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

Assay-Protokolle für GI Viral PLUS ELITe MGB Kit				
Probe	**Gerät**	**Name des Assay-Protokolls**	**Bericht**	**Eigenschaften**
Nativer Stuhl oder in FecalSwab entnommener Stuhl	**ELITe InGenius**	**GI Viral PLUS ELITe_ST_200_100**	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: 10 µl
	ELITe BeGenius	**GI Viral PLUS ELITe_Be_ST_200_100**		

Bei allen Protokollen müssen 200 µl Probe in ein Extraktionsröhrchen (bei ELITe InGenius) bzw. ein 2-ml-Sarstedt-Röhrchen (bei ELITe BeGenius) überführt werden.

Hinweis: Das Pipettieren in das **Extraktionsröhrchen** oder das **2-ml-Sarstedt-Röhrchen** kann **Kontamination verursachen**. Die geeigneten Pipetten verwenden und alle im Abschnitt „Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen“ aufgeführten Empfehlungen befolgen.

Aufgereinigte Nukleinsäuren können bei Raumtemperatur 16 Stunden und bei -20 °C oder darunter höchstens einen Monat aufbewahrt werden.

Daten zu störenden Substanzen sind im Abschnitt „Leistungsmerkmale“ sind „Potenziell interferierende Substanzen“ aufgeführt.

PCR-Kontrollen

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

- Für die Positive Control das Produkt **GI Viral PLUS - ELITe Positive Control** (nicht in diesem Kit enthalten) mit den Assay-Protokollen (Assay Protocols) **GI Viral PLUS ELITe_PC** oder **GI Viral PLUS ELITe_Be_PC** verwenden.
- Für die Negative Control hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) mit den Assay-Protokollen (Assay Protocols) **GI Viral PLUS ELITe_NC** oder **GI Viral PLUS ELITe_Be_NC** verwenden.

Hinweis: ELITe InGenius und **ELITe BeGenius** ermöglichen die Erstellung und Speicherung der Validierung der PCR-Kontrollen für jede PCR-Reagenziencharge. Die Ergebnisse der PCR-Kontrollen verfallen nach **15 Tagen**, danach müssen die Positive Control und die Negative Control erneut durchgeführt werden. Die PCR-Kontrollen müssen erneut generiert werden, wenn eines der folgenden Ereignisse eintritt:

- eine neue Reagenziencharge verwendet wird,
- die Ergebnisse der Qualitätskontrollanalyse (siehe nächster Abschnitt) liegen außerhalb der Spezifikation,
- es werden größere Wartungs- oder Instandhaltungsarbeiten an **ELITe InGenius** oder **ELITe BeGenius** durchgeführt.

Qualitätskontrollen

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

VERFAHREN BEI ELITe InGenius

Das beim Gebrauch des **GI Viral PLUS ELITe MGB Kit** mit dem **ELITe InGenius** anzuwendende Verfahren besteht aus drei Schritten:

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

SCHRITT 1 – Prüfung der Systembereitschaft

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

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

SCHRITT 2 – Einrichtung des Laufs

Das **GI Viral PLUS ELITe MGB Kit** kann mit **ELITe InGenius** für die Durchführung der folgenden Läufe verwendet werden:

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

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

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

Vor dem Einrichten eines Laufs:

1. Die benötigten **GI-V PCR Mix**-Röhrchen 30 Minuten bei Raumtemperatur auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für **24 Tests** unter optimalen Bedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Dreimal durch Vortexen bei niedriger Drehzahl 10 Sekunden lang mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

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

2. Die benötigten **RT EnzymeMix** Röhrchen herausnehmen. Jedes Röhrchen reicht aus für **48 Tests**. Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

Hinweis: Der **RT EnzymeMix** darf nicht länger als 10 Minuten Temperaturen über -20 °C ausgesetzt werden.

3. Ein 2-ml-Röhrchen (Sarstedt Art.-Nr. 72.694.005, nicht im Lieferumfang des Kits enthalten) für das **komplette Reaktionsgemisch** zubereiten und mit einem Permanentmarker beschriften.

4. Die benötigten Volumina von **GI-V PCR Mix** und **RT EnzymeMix** für die Zubereitung des **kompletten Reaktionsgemischs** auf Grundlage der Anzahl (N) an zu analysierenden Proben berechnen, wie in der nachstehenden Tabelle beschrieben.

GI Viral PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF **RTS501ING**

Probenanzahl (N)	GI-V PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µl	(N + 1) x 0,3 µl
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µl	(N + 2) x 0,3 µl
N = 12	290 µl	4,4 µl

5. Das **komplette Reaktionsgemisch** zubereiten: dazu die errechneten Volumina der zwei Komponenten in das beschriftete 2-ml-Röhrchen überführen. Dreimal durch Vortexen bei niedriger Drehzahl 10 Sekunden lang mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

Hinweis: Das komplette Reaktionsgemisch muss für jeden Arbeitslauf frisch zubereitet werden und **darf nicht** zur Wiederverwendung aufbewahrt werden.

Hinweis: Das **komplette Reaktionsgemisch** ist lichtempfindlich und darf daher keinem direkten Licht ausgesetzt werden.

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

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])	C. Lauf für Positive und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
1	**Proben identifizieren** und, falls erforderlich, auf Raumtemperatur auftauen. Die Proben gemäß dem im Abschnitt „Proben und Kontrollen“ beschriebenen Verfahren vorbehandeln. Für diesen Assay müssen 200 µl vorbehandelte Probe in ein zuvor beschriftetes Extraktionsröhrchen überführt werden.	**Elutionsröhrchen** mit den extrahierten Nukleinsäuren auf Raumtemperatur **auftauen**. Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.	**Positive Control**-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur **auftauen**. Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Jedes Röhrchen reicht aus für 4 Reaktionen.
2	Die benötigten **CPE-Röhrchen** 30 Minuten auf Raumtemperatur **auftauen**. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Extraktionen.	Nicht anwendbar.	Die **Negative Control vorbereiten**: dazu mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie in ein Elutionsröhrchen überführen, das im Lieferumfang des ELITe InGenius SP 200 Consumable Set enthalten ist.
3	Auf der Startseite „**Perform Run**“ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „**Perform Run**“ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „**Perform Run**“ (Lauf durchführen) auswählen.
4	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktionseingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktionseingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktionseingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.
5	Für jede Probe eine Spur zuweisen und unter „SampleID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.	Für jede Probe eine Spur zuweisen und unter „SampleID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.	Nicht anwendbar.
6	**Das Assay-Protokoll** in der Spalte „Assay“ **auswählen** (siehe „Proben und Kontrollen“).	**Das Assay-Protokoll** in der Spalte „Assay“ **auswählen** (siehe „Proben und Kontrollen“).	**Das Assay-Protokoll** in der Spalte „Assay“ **auswählen** (siehe „Proben und Kontrollen“). Die Chargennummer und das Ablaufdatum der Positive Control und des hochreinen Wassers für die Molekularbiologie eingeben.
7	Sicherstellen, dass unter „Protocol“ (Protokoll) Folgendes angezeigt wird: „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR).	In der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) auswählen.	Sicherstellen, dass in der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) ausgewählt ist.

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])	C. Lauf für Positive und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
8	Die Proben-Ladeposition als „Extraction Tube“ (Extraktionsröhrchen) in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) auswählen.	Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr. (untere Reihe)) lautet.	Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr. (untere Reihe)) lautet.
9	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
10	**CPE und** das **komplette Reaktionsgemisch** gemäß der „Load List“ (Liste Laden) auf den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) **laden** und die Chargennummer und das Ablaufdatum des CPE und PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.	Das **komplette Reaktionsgemisch** gemäß der „Load List“ (Liste Laden) auf den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) **laden** und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.	Das **komplette Reaktionsgemisch** gemäß der „Load List“ (Liste Laden) auf den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) **laden** und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.
11	Auf „Next“ klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ klicken, um fortzufahren.
12	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.
13	Auf „Next“ klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ klicken, um fortzufahren.
14	PCR-Kassette, ELITe InGenius SP 200 Extraktionskartuschen und alle benötigten Verbrauchsmaterialien und zu extrahierenden Proben **laden**.	PCR-Kassette und Elutionsröhrchen mit extrahierten Proben **laden**.	PCR-Kassette und Röhrchen für die Positive Control und Negative Control **laden**.
15	Auf „Next“ klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ klicken, um fortzufahren.
16	Die Gerätetür schließen.	Die Gerätetür schließen.	Die Gerätetür schließen.
17	„Start“ (starten) drücken.	„Start“ (starten) drücken.	„Start“ (starten) drücken.

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

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

Hinweis: Das komplette Reaktionsgemisch muss für jeden Arbeitslauf frisch zubereitet werden und **darf nicht** zur Wiederverwendung aufbewahrt werden.

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

Hinweis: Die **GI-V Positive Control** kann für 4 separate Läufe von jeweils 3 Stunden verwendet werden.

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

SCHRITT 3 – Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

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

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

GI Viral PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTS501ING

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

ELITe InGenius generiert Ergebnisse mit dem **GI Viral PLUS ELITe MGB Kit** und geht dabei folgendermaßen vor:

A. Validierung der Ergebnisse der 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 **ELITe InGenius Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse der Zielsequenzen der Reaktionen der Positive Control und der Negative Control mit den Parametern der Assay-Protokolle (Assay Protocols) **GI Viral PLUS ELITe_PC** und **GI Viral PLUS ELITe_NC**. Die sich daraus ergebenden Ct- und Tm-Werte werden zur Überprüfung des Systems (Reagenziencharge und Gerät) verwendet.

Die Ergebnisse der Positive Control und Negative Control, die für die PCR-Reagenziencharge spezifisch sind, werden in der Datenbank („Controls“) gespeichert. Sie können vom „Administrator“ oder „Analyst“ unter Befolgung der Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche angezeigt und genehmigt werden.

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

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

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

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

B. Validierung der Probenergebnisse

Die **ELITe InGenius Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse für die Zielsequenzen (Kanäle **NV**, **SV, ADV, RV** und **ASV**) und die Internal Control (Kanal **IC**) mit den Assay-Protokoll-Parametern **GI Viral PLUS ELITe_ST_200_100**.

Die Ergebnisse werden auf dem Bildschirm „Results Display“ (Ergebnisanzeige) angezeigt.
Der Probenlauf kann genehmigt werden, wenn die zwei in der nachfolgenden Tabelle angegebenen Bedingungen erfüllt sind.

1) Positive Control	**Status**
GI-V Positive Control	APPROVED (Genehmigt)
2) Negative Control	**Status**
GI-V Negative Control	APPROVED (Genehmigt)

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

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

Ergebnis des Probenlaufs	Interpretation
NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Erkannt Genogroup I)	**Norovirus-RNA wurde** in der Probe **nachgewiesen** und als Gengruppe I typisiert.
NV:RNA Detected Genogroup II (NV:RNA Erkannt Genogroup II)	**Norovirus-RNA wurde** in der Probe **nachgewiesen** und als Gengruppe II typisiert.
NV:RNA Detected Typing not determined (NV:RNA Erkannt Typing not determined)	**Norovirus-RNA** wurde in der Probe zwar **nachgewiesen**, die Analyse für die Gengruppen-Typisierung war jedoch nicht möglich. Der Test sollte wiederholt werden.
NV:RNA Not Detected or below the LoD (NV:RNA Nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde **keine Norovirus-RNA nachgewiesen**. Die Probe wurde negativ auf die Ziel-RNA getestet oder die Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
Ergebnis des Probenlaufs	**Interpretation**
SV:RNA Detected (SV:RNA Erkannt)	In der Probe wurde **Sapovirus-RNA nachgewiesen**.
SV:RNA Not Detected or below the LoD (SV:RNA Nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde **keine Sapovirus-RNA nachgewiesen**. Die Probe wurde negativ auf die Ziel-RNA getestet oder die Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
RV:RNA Detected (RV:RNA Erkannt)	In der Probe wurde **Rotavirus-RNA nachgewiesen**.
RV:RNA Not Detected or below the LoD (RV:RNA Nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde **keine Rotavirus-RNA nachgewiesen**. Die Probe wurde negativ auf die Ziel-RNA getestet oder die Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
ADV:DNA Detected Serotype F40 (ADV:DNA Erkannt Serotype F40)	**Adenovirus-DNA wurde** in der Probe **nachgewiesen** und als Serotyp F40 typisiert.
ADV:DNA Detected Serotype F41 (ADV:DNA Erkannt Serotype F41)	**Adenovirus-DNA wurde** in der Probe **nachgewiesen** und als Serotyp F41 typisiert.
ADV:DNA Detected Typing not determined (ADV:DNA Erkannt Typing not determined)	**Adenovirus-DNA wurde** in der Probe zwar **nachgewiesen**, die Analyse für die Gengruppen-Typisierung war jedoch nicht möglich. Der Test sollte wiederholt werden.
ADV:DNA Not Detected or below the LoD (ADV:DNA Nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde **keine Adenovirus-DNA nachgewiesen**. Die Probe wurde negativ auf die Ziel-DNA getestet oder die Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
ASV:RNA Detected (ASV:RNA Erkannt)	In der Probe wurde **Astrovirus-RNA nachgewiesen**.
ASV:RNA Not Detected or below the LoD (ASV:RNA Nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde **keine Astrovirus-RNA nachgewiesen**. Die Probe wurde negativ auf die Ziel-RNA getestet oder die Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
Invalid-Retest Sample (Ungültig - Probe erneut testen)	**Ungültiges Testergebnis** durch fehlerhafte Internal Control (z. B. aufgrund von falscher Extraktion, Verschleppung von Inhibitoren). Der Test sollte wiederholt werden.

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

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

Als „XXX:RNA/DNA not detected or below the LoD“ (XXX:RNA/DNA nicht nachgewiesen oder unter der Nachweisgrenze) ausgegebene Proben sind für die Analyse geeignet, es wurde jedoch keine DNA/RNA der Zielgene nachgewiesen. In diesem Fall kann entweder die Probe für die DNA/RNA der Zielgene negativ sein oder die DNA/RNA der Zielgene ist bei einer Konzentration unter der Nachweisgrenze des Assays vorhanden (siehe „Leistungsmerkmale“).

Als „XXX:RNA/DNA Detected Typing not determined“ (XXX:RNA/DNA nachgewiesen, Typisierung nicht bestimmt) ausgegebene Proben sind für die Typisierung der Gengruppe I oder II des Norovirus und des Serotyps F40 oder F41 des Adenovirus geeignet. Die Proben sind jedoch Norovirus-RNA- und/oder Adenovirus-DNA-positiv.

GI Viral PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTS501ING

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

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

C. Ausgabe des Probenergebnisberichts

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

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

Der „Track Report“ zeigt die Ergebnisdetails nach ausgewählter Spur an.

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

VERFAHREN BEI ELITe BeGenius

Das beim Gebrauch des **GI Viral PLUS ELITe MGB Kit** mit dem **ELITe BeGenius** anzuwendende Verfahren besteht aus drei Schritten:

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

SCHRITT 1 – Prüfung der Systembereitschaft

Vor Beginn des Laufs:

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

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

SCHRITT 2 – Einrichtung des Laufs

Das **GI Viral PLUS ELITe MGB Kit** kann mit **ELITe BeGenius** für die Durchführung der folgenden Läufe verwendet werden:

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

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

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

Vor dem Einrichten eines Laufs:

1. Die benötigten **GI-V PCR Mix**-Röhrchen 30 Minuten bei Raumtemperatur auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für **24 Tests** unter optimalen Bedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Dreimal durch Vortexen bei niedriger Drehzahl 10 Sekunden lang mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

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

2. Die benötigten **RT EnzymeMix** Röhrchen herausnehmen. Jedes Röhrchen reicht aus für **48 Tests**. Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

Hinweis: Der **RT EnzymeMix** darf nicht länger als 10 Minuten Temperaturen über -20 °C ausgesetzt werden.

3. Ein 2-ml-Röhrchen (Sarstedt Art.-Nr. 72.694.005, nicht im Lieferumfang des Kits enthalten) für das **komplette Reaktionsgemisch** zubereiten und mit einem Permanentmarker beschriften.

4. Die benötigten Volumina von **GI-V PCR Mix** und **RT EnzymeMix** für die Zubereitung des **kompletten Reaktionsgemischs** auf Grundlage der Anzahl (N) an zu analysierenden Proben berechnen, wie in der nachstehenden Tabelle beschrieben.

Probenanzahl (N)	GI-V PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µl	(N + 1) x 0,3 µl
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µl	(N + 2) x 0,3 µl
N = 12	290 µl	4,4 µl
13 ≤ N ≤ 18	(N + 3) x 20 µl	(N + 3) x 0,3 µl
19 ≤ N ≤ 23	(N + 4) x 20 µl	(N + 4) x 0,3 µl
N = 24	580 µl	8,7 µl

5. Das **komplette Reaktionsgemisch** zubereiten: dazu die errechneten Volumina der zwei Komponenten in das beschriftete 2-ml-Röhrchen überführen. Dreimal durch Vortexen bei niedriger Drehzahl 10 Sekunden lang mischen, dann den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

Hinweis: Das komplette Reaktionsgemisch muss für jeden Arbeitslauf frisch zubereitet werden und **darf nicht** zur Wiederverwendung aufbewahrt werden.

Hinweis: Das **komplette Reaktionsgemisch** ist lichtempfindlich und darf daher keinem direkten Licht ausgesetzt werden.

GI Viral PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF **RTS501ING**

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

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])	C. Lauf für Positive und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
1	**Proben identifizieren** und, falls erforderlich, auf Raumtemperatur auftauen. Die Proben gemäß dem im Abschnitt „Proben und Kontrollen" beschriebenen Verfahren vorbehandeln. Für diesen Test müssen **200 µl** vorbehandelte **Probe** in ein zuvor etikettiertes 2-ml-Sarstedt-Röhrchen überführt werden.	Falls erforderlich, die **Elutionsröhrchen** mit den extrahierten Nukleinsäuren auf Raumtemperatur **auftauen**. Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.	**Positive Control**-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur **auftauen**. Jedes Röhrchen reicht aus für 4 Reaktionen. Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.
2	Die benötigten **CPE**-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur **auftauen**. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Extraktionen.	Nicht anwendbar	Die **Negative Control** vorbereiten: dazu mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie in ein Elutionsröhrchen überführen, das im Lieferumfang des ELITe InGenius SP 200 Consumable Set enthalten ist.
3	Auf der Startseite „**Perform Run**" (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „**Perform Run**" (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „**Perform Run**" (Lauf durchführen) auswählen.
4	Alle Racks aus der „Kühleinheit" entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.	Die „Racks" aus Spur 1, 2 und 3 (L1, L2 und L3) der „Cooler Unit" entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.	Die „Racks" aus Spur 1, 2 und 3 (L1, L2 und L3) der „Cooler Unit" entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.
5	Den Laufmodus („Run mode") wählen: „**Extract + PCR**" (Extraktion + PCR).	Den Laufmodus („Run mode") wählen: „**PCR Only**" (Nur PCR).	Den Laufmodus („Run mode") wählen: „**PCR Only**" (Nur PCR).
6	**Die Proben** in das „Sample Rack" (Probenständer) **laden**. Wenn als Sekundärröhrchen „2 mL Tubes" (2-ml-Röhrchen) geladen werden, verwenden Sie die blauen Adapter für das „Sample Rack".	**Die Proben** in das „Elution Rack" (Elutionsablage) **laden**.	Die Röhrchen für die **Positive Control und Negative Control** in das „Elution Rack" (Elutionsablage) **laden**.
7	Das „**Sample Rack**" in die „Cooler Unit" **einsetzen**, beginnend mit „Lane 5" (L5) (Spur 5). Unter „Sample ID" (SID) die Proben-ID für jede verwendete „Position" eingeben (Beim Laden von Sekundärröhrchen „2 mL Tube" (2-ml-Röhrchen) angeben). Bei Sekundärröhrchen ohne Barcode die Proben-ID manuell eingeben.	Das „**Elution Rack**" in die „Cooler Unit" **einsetzen**, beginnend mit „Lane 3" (L3) (Spur 3). Für jede „Position" die „Sample ID" (Proben-ID), die „Sample Matrix" (Probenmatrix), das „Extraction Kit" (Extraktionskit) und das „Extracted eluate vol." (extrahierte Eluatvolumen) eingeben.	Das „**Elution Rack**" in die „Cooler Unit" **einsetzen**, beginnend mit „Lane 3" (L3) (Spur 3). Für jede „Position" unter „Reagent name" den Reagenznamen, unter „S/N" die Seriennummer, unter „Lot No." die Chargennummer, unter „Exp. Date" das Verfallsdatum und unter „T/R" die Anzahl der Reaktionen eingeben.
8	Auf „Next" (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next" (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next" (Weiter) klicken, um fortzufahren.
9	Sicherstellen, dass „Extraction Input Volume" (Extraktionseingangsvolumen) 200 µl und „Extracted Elute Volume" (extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.	Sicherstellen, dass „Extraction Input Volume" (Extraktionseingangsvolumen) 200 µl und „Extracted Elute Volume" (extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.	Sicherstellen, dass „Extraction Input Volume" (Extraktionseingangsvolumen) 200 µl und „Extracted Elute Volume" (extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.
10	Das Assay-Protokoll in der Spalte „Assay" (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen").	Das Assay-Protokoll in der Spalte „Assay" (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen").	Das Assay-Protokoll in der Spalte „Assay" (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen").
11	Auf „Next" klicken, um fortzufahren.	Auf „Next" klicken, um fortzufahren.	Auf „Next" klicken, um fortzufahren.
	Hinweis: Bei Verarbeitung von mehr als 12 Proben das Verfahren ab Punkt 6 wiederholen.		-

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])	C. Lauf für Positive und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
12	Die „Elution tubes“ (Elutionsröhr) in das „Elution Rack“ (Elutionsablage) laden (Elutionsröhrchen können zur Verbesserung der Rückverfolgbarkeit mit einem Barcode etikettiert werden).	Nicht anwendbar	Nicht anwendbar
13	Das „Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ einsetzen, beginnend mit „Lane 3“ (L3) (Spur 3). Bei Verarbeitung von mehr als 12 Proben das Verfahren wiederholen und dabei Spur 2 (L2) verwenden.	Nicht anwendbar.	Nicht anwendbar
14	Auf „Next“ klicken, um fortzufahren.	Nicht anwendbar	Nicht anwendbar
15	**CPE** und das **komplette Reaktionsgemisch** in das „**Reagent/Elution Rack**“ (Reagenz-/Elutionsrack) laden.	Das **komplette Reaktionsgemisch** in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsrack) **laden**.	Das **komplette Reaktionsgemisch** in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsrack) **laden**.
16	Das „Reagent/Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ in Spur 2 (L2), falls verfügbar, oder in Spur 1 (L1) einsetzen. Für jedes PCR-Mix-Reagenz und/oder CPE unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.	Das „Reagent/Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ in Spur 2 (L2), falls verfügbar, oder in Spur 1 (L1) einsetzen. Für jedes PCR-Mix-Reagenz unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.	Das „Reagent/Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ in Spur 2 (L2), falls verfügbar, oder in Spur 1 (L1) einsetzen. Für jedes PCR-Mix-Reagenz unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.
17	Auf „Next“ klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ klicken, um fortzufahren.
18	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.
19	Auf „Next“ klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ klicken, um fortzufahren.
20	Den „**PCR Rack**“ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) in den Bestandsbereich laden.	Den „**PCR Rack**“ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) in den Bestandsbereich laden.	Den „**PCR Rack**“ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) in den Bestandsbereich laden.
21	Auf „Next“ klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ klicken, um fortzufahren.
22	Den „Extraction Rack“ (Extraktionsrack) mit den „ELITe InGenius SP 200“ Extraktionskartuschen und die für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden.	Nicht anwendbar.	Nicht anwendbar.
23	Die Gerätetür schließen.	Die Gerätetür schließen.	Die Gerätetür schließen.
24	„Start“ (starten) drücken.	„Start“ (starten) drücken.	„Start“ (starten) drücken.

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

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

Hinweis: Das komplette Reaktionsgemisch muss für jeden Arbeitslauf frisch zubereitet werden und **darf nicht** zur Wiederverwendung aufbewahrt werden.

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

GI Viral PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTS501ING

Hinweis: Die **GI-V Positive Control** kann für 4 separate Läufe von jeweils 3 Stunden verwendet werden.

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

SCHRITT 3 – Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

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

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

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

ELITe BeGenius generiert die Ergebnisse mit dem **GI Viral PLUS ELITe MGB Kit** und geht dabei folgendermaßen vor:

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

Hinweis: Einzelheiten sind dem entsprechenden Abschnitt unter Verfahren bei **ELITe InGenius** zu entnehmen.

LEISTUNGSMERKMALE

Nachweisgrenze (LoD)

Die Nachweisgrenze (LoD) des Assays wurde für die Geräte ELITe BeGenius und ELITe InGenius durch Testen von nativen Stuhlproben, die mit Referenzmaterial von Norovirus GI, Norovirus GII, Astrovirus, Adenovirus F40, Adenovirus F41 und Rotavirus (ZeptoMetrix und ATCC) und Sapovirus GI/II/IV und Sapovirus GV (Plasmide von EG SpA) dotiert waren, ermittelt.

Es wurde eine Probit-Regressionsanalyse der Ergebnisse durchgeführt und die Nachweisgrenze als die Konzentration geschätzt, bei der eine 95%ige Wahrscheinlichkeit eines positiven Ergebnisses vorliegt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Pathogen	LoD	Grenzen des 95%-Konfidenzintervalls	
		Untere Grenze	Obere Grenze
Norovirus GI	219 $TCID_{50}$/ml	146 $TCID_{50}$/ml	507 $TCID_{50}$/ml
Norovirus GII	151 $TCID_{50}$/ml	114 $TCID_{50}$/ml	321 $TCID_{50}$/ml
Astrovirus	690 $TCID_{50}$/ml	409 $TCID_{50}$/ml	2782 $TCID_{50}$/ml
Adenovirus F40	0,082 $TCID_{50}$/ml	0,058 $TCID_{50}$/ml	0,149 $TCID_{50}$/ml
Adenovirus F41	0,006 $TCID_{50}$/ml	0,004 $TCID_{50}$/ml	0,09 $TCID_{50}$/ml
Rotavirus	2,4 $TCID_{50}$/ml	1,9 $TCID_{50}$/ml	3,5 $TCID_{50}$/ml
Sapovirus GV	792 Kopien/ml	583 Kopien/ml	1267 Kopien/ml
Sapovirus GI/II/IV	1119 Kopien/ml	859 Kopien/ml	1897 Kopien/ml

Der berechnete LoD-Wert wurde überprüft, indem auf ELITe BeGenius und ELITe InGenius native Stuhlproben und in FecalSwab gesammelte Stuhlproben, die mit Referenzmaterialien von Norovirus GI, Norovirus GII, Astrovirus, Adenovirus F40, Adenovirus F41, Rotavirus, Sapovirus GI/II/IV und Sapovirus GV in der behaupteten Konzentration dotiert waren, getestet wurden.

Die erhaltenen Ergebnisse bestätigten die behaupteten Konzentrationen für alle Zielgene des GI Viral PLUS MGB Kit mit den beiden Matrizes auf ELITe BeGenius und ELITe InGenius.

Inklusivität: Nachweiseffizienz bei verschiedenen Stämmen oder Isolaten

Die Inklusivität des Assays, d. h. die Nachweiseffizienz bei verschiedenen Genotypen oder Isolaten von Norovirus (GI/GII), Astrovirus, Adenovirus (F40/F41), Rotavirus und Sapovirus (GI/II/IV/GV) wurde mittels *In-silico*-Analyse bewertet. Die Analyse zeigte bei allen relevanten Zielsequenzen, außer bei Norovirus, eine Erhaltung und ein Nichtvorhandensein signifikanter Mutationen. Daher sind für einige Norovirus-Genotypen oder -Isolate unterschiedliche Nachweiseffizienzen zu erwarten.

Die Inklusivität wurde auch durch die Analyse von 10 Referenzmaterialien (Qnostics, Vircell, ZeptoMetrix und ATCC) und die Testung von 14 Plasmid-DNAs, die für die wichtigsten genomischen Varianten von Norovirus GI und Norovirus GII repräsentativ sind, überprüft.

Die Ergebnisse mit den Referenzmaterialien sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Ziel	Anbieter	Positiv / Wiederholungen	Ergebnis
Norovirus GI	ZeptoMetrix	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV: RNA nachgewiesen, Gengruppe I)
Norovirus GII	Vircell	6/6	NV:RNA Detected Genogroup II (NV:RNA Erkannt Genogroup II)
Adenovirus F40	ZeptoMetrix	6/6	ADV:DNA Detected Serotype F40 (ADV:DNA Erkannt Serotype F40)
Adenovirus F41	Vircell	6/6	ADV:DNA Detected Serotype F41 (ADV:DNA Erkannt Serotype F41)
Adenovirus F41	Qnostics	6/6	ADV:DNA Detected Serotype F41 (ADV:DNA Erkannt Serotype F41)
Rotavirus	Vircell	6/6	RV:RNA Detected (RV:RNA Erkannt)
Rotavirus	Qnostics	6/6	RV:RNA Detected (RV:RNA Erkannt)
Sapovirus	ATCC	6/6	SV:RNA Detected (SV:RNA Erkannt)
Astrovirus I	ATCC	6/6	ASV:RNA Detected (ASV:RNA Erkannt)
Astrovirus V	ATCC	6/6	ASV:RNA Detected (ASV:RNA Erkannt)

Alle Proben wurden mit dem GI Viral PLUS ELITe MGB Kit richtig erkannt.

GI Viral PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTS501ING

Die Ergebnisse mit den Plasmid-DNAs sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Probe	Kopien / Reaktion	Positiv / Wiederholungen	Ergebnis
Plasmid Norovirus GI (SEQ ID MN938461)	750	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Erkannt Genogroup I)
Plasmid Norovirus GI (SEQ ID KP027330)	750	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Erkannt Genogroup I)
Plasmid Norovirus GI (SEQ ID MZ470608)	$4x10^4$	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Erkannt Genogroup I)
Plasmid Norovirus GI (SEQ ID OK562729)	$3x10^4$	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Erkannt Genogroup I)
Plasmid Norovirus GI (SEQ ID MN421562)	$1x10^5$	6/6	NV:RNA Detected Genogroup II (NV:RNA Erkannt Genogroup II)
Plasmid Norovirus GI (SEQ ID LC378987)	$1x10^7$	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Erkannt Genogroup I)
Plasmid Norovirus GI (SEQ ID MW647681)	750	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Erkannt Genogroup I)
Plasmid Norovirus GI (SEQ ID OK147886)	750	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Erkannt Genogroup I)
Plasmid Norovirus GI (SEQ ID MW362461)	750	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Erkannt Genogroup I)
Plasmid Norovirus GI (SEQ ID EU085525)	750	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Erkannt Genogroup I)
Plasmid Norovirus GII (SEQ ID MK328934)	$1x10^2$	6/6	NV:RNA Detected Genogroup II (NV:RNA Erkannt Genogroup II)
Plasmid Norovirus GII (SEQ ID MG674721)	$1x10^2$	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Erkannt Genogroup I)
Plasmid Norovirus GII (SEQ ID MG495078)	$1x10^2$	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Erkannt Genogroup I)
Plasmid Norovirus GII (SEQ ID KC464491)	$1x10^2$	6/6	NV:RNA Detected Genogroup II (NV:RNA Erkannt Genogroup II)

Bei einigen GI-Varianten des Norovirus kann sich die Sensitivität des Produkts bis zu 10.000-fach verändern.

Bei dem Norovirus GI Genotyp 9 gibt das Produkt eine falsche Typisierung als „Norovirus GII“ an.

Bei den Norovirus GII-Genotypen 6 und 7 gibt das Produkt eine falsche Typisierung als „Norovirus GI“ an.

Interferenz unter den Zielsequenzen

Die mögliche Interferenz unter den Zielsequenzen des Assays wurde durch einen Test der Co-Amplifikation von Norovirus GI, Norovirus GII, Astrovirus, Adenovirus F40, Adenovirus F41, Rotavirus, Sapovirus GI/II/IV und Sapovirus GV (Plasmid-DNAs von EG SpA) ermittelt.

Für jede Zielsequenz ist die bei allen Replikaten nachweisbare niedrigere Konzentration in der folgenden Tabelle angegeben.

Getestete Zielsequenz (niedrige Kopienzahl)	Interferierende Zielsequenz bei hoher Konzentration (50.000 Kopien/Reaktion)						
	NV1	NV2	SV124	SV5	RV	ADV-F40	ASV
NV1	-	-	50 Kopien/rxn	50 Kopien/rxn	50 Kopien/rxn	50 Kopien/rxn	50 Kopien/rxn
NV2	-	-	100 Kopien/rxn	100 Kopien/rxn	100 Kopien/rxn	100 Kopien/rxn	100 Kopien/rxn
SV124	100 Kopien/rxn	100 Kopien/rxn	-	-	100 Kopien/rxn	100 Kopien/rxn	100 Kopien/rxn
SV5	50 Kopien/rxn	50 Kopien/rxn	-	-	50 Kopien/rxn	50 Kopien/rxn	50 Kopien/rxn
RV	250 Kopien/rxn	250 Kopien/rxn	250 Kopien/rxn	250 Kopien/rxn	-	250 Kopien/rxn	250 Kopien/rxn
ADV-F40	50 Kopien/rxn	50 Kopien/rxn	50 Kopien/rxn	50 Kopien/rxn	50 Kopien/rxn	-	50 Kopien/rxn
ASV	250 Kopien/rxn	250 Kopien/rxn	250 Kopien/rxn	250 Kopien/rxn	250 Kopien/rxn	250 Kopien/rxn	-

Das GI Viral PLUS ELITe MGB Kit zeigt eine minimale Interferenz unter den Zielsequenzen. Alle Zielsequenzen sind selbst dann nachweisbar, wenn sie in etwa 200-mal geringerer Anzahl als die anderen gesuchten Pathogene vorhanden sind.

Potenziell interferierende Organismen: Kreuzreaktivität

Die potenzielle Kreuzreaktivität mit unbeabsichtigten Organismen, die in klinischen Stuhlproben vorkommen können, wurde für den Assay durch eine *In-silico*-Analyse bewertet. Die Analyse ergab keine signifikante Homologie mit anderen unbeabsichtigten Organismen (Viren, Bakterien, Protozoen und Pilze), so dass keine Kreuzreaktivität zu erwarten ist, außer bei einigen Adenoviren, die sich von F40 und F41 unterscheiden.

Das Fehlen einer Kreuzreaktivität mit potenziell interferierenden Organismen wurde auch durch die Analyse eines Panels unbeabsichtigter Organismen (ATCC, ZeptoMetrix, DSMZ und Plasmid-DNAs) überprüft.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Probe	Positiv / Wiederholungen					Ergebnis
	NV	SV	RV	ADV	ASV	
Aeromonas hydrophila	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Bacteroides fragilis	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Helicobacter pylori	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Saccharomyces cerevisiae	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Plesiomonas shigelloides	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Klebsiella pneumoniae	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Escherichia coli	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Serratia Marcescens	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Acinetobacter baumannii	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Bifidobacterium adolescentis	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Candida albicans	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Citrobacter freundii	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Clostridium difficile	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Proteus mirabilis	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Pseudomonas aeruginosa	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Enterobacter cloacae	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Giardia lamblia	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Cryptosporidium parvum	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Entamoeba histolytica	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Yersinia enterocolitica	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Salmonella enterica	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Shigella flexneri	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Vibrio cholerae	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Campylobacter jejuni	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Echovirus 4	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Adenovirus-Spezies C	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	Kreuzreaktivität für ADV
Adenovirus-Spezies A	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Adenovirus-Spezies B	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Adenovirus-Spezies C	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	Kreuzreaktivität für ADV
Adenovirus-Spezies D	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	Kreuzreaktivität für ADV
Adenovirus-Spezies E	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Adenovirus-Spezies G	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	Kreuzreaktivität für ADV

Bei Verwendung des GI Viral PLUS ELITe MGB Kits wiesen alle getesteten potenziell interferierenden Organismen, mit Ausnahme von Adenovirus C, D und G, keine Kreuzreaktivität für die Amplifikation des Zielgens auf.

GI Viral PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTS501ING

Potenziell interferierende Organismen: Inhibition

Die potenzielle Hemmung unbeabsichtigter Organismen, die in klinischen Stuhlproben vorkommen können, wurde für den Test durch die Analyse eines Panels unbeabsichtigter Organismen (ATCC, ZeptoMetrix, DSMZ und Plasmid-DNAs) bewertet, die mit Norovirus (GI/GII), Astrovirus, Adenovirus (F40/F41), Rotavirus, Sapovirus (GI/II/IV/GV) (Plasmid-DNAs von EG SpA) dotiert waren.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Organismus	Positiv / Wiederholungen						Ergebnis
	NV1	NV2	RV	ADV-F40	ADV-F41	ASV	
Aeromonas hydrophila	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Bacteroides fragilis	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Helicobacter pylori	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Saccharomyces cerevisiae	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Plesiomonas shigelloides	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Klebsiella pneumoniae	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Escherichia coli	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Serratia Marcescens	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Acinetobacter baumannii	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Bifidobacterium adolescentis	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Candida albicans	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Citrobacter freundii	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Clostridium difficile	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Proteus mirabilis	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Pseudomonas aeruginosa	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Enterobacter cloacae	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Giardia lamblia	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Cryptosporidium parvum	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Entamoeba histolytica	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Yersinia enterocolitica	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Salmonella enterica	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Shigella flexneri	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Vibrio cholerae	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Campylobacter jejuni	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Echovirus 4	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Adenovirus-Spezies C	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Adenovirus-Spezies A	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Adenovirus-Spezies B	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Adenovirus-Spezies C	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Adenovirus-Spezies D	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Adenovirus-Spezies E	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Adenovirus-Spezies G	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz

Alle getesteten potenziell interferierenden Organismen wiesen für die Zielamplifikation mit dem GI Viral PLUS ELITe MGB Kit keine Inhibition auf.

Potenziell interferierende Substanzen: Kreuzreaktivität

Die Kreuzreaktivität mit potenziell störenden (endogenen und exogenen) Substanzen, die in Stuhlproben vorkommen können, wurde für den Assay durch die Analyse einer Reihe von Substanzen in relevanten Konzentrationen bewertet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Substanz	Positiv / Wiederholungen						Ergebnis
	NV1	NV2	RV	ADV-F40	ADV-F41	ASV	
Vaseline-Öl	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Nonoxynol-9	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Bismutsubsalicylat	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Loperamidhydrochlorid	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Bisacodyl	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Azithromycin	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Vancomycin	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Metronidazol	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Ampicillin	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Cefpodoxim	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Ciprofloxacin	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Hydrocortison	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Calciumcarbonat	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Alginsäure	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Aluminiumhydroxid	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Magnesiumtrisilicat	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Vollblut	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Mucin	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Palmitinsäure	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Stearinsäure	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität

Der Test zeigte, dass bei Verwendung des GI Viral PLUS ELITe MGB Kit keine der getesteten Substanzen mit den Zielsequenzen kreuzreagiert.

Potenziell interferierende Substanzen: Inhibition

Die potenzielle Inhibition interferierender Substanzen (endogen und exogen), die in klinischen Stuhlproben vorkommen können, wurde für den Assay durch die Analyse eines Panels von Substanzen in relevanten Konzentrationen in Proben bewertet, die mit Norovirus-GI-, Norovirus-GII-, Astrovirus-, Adenovirus-F40-, Adenovirus-F41-, Rotavirus-, Sapovirus-GV- und Sapovirus-GI/GII/GIV-Referenzmaterial (Plasmide von ZeptoMetrix, ATCC und EG SpA) dotiert waren.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Substanz	Positiv / Wiederholungen						Ergebnis
	NV1	NV2	RV	ADV-F40	ADV-F41	ASV	
Vaseline-Öl	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Nonoxynol-9	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Bismutsubsalicylat	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Loperamidhydrochlorid	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Bisacodyl	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Azithromycin	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Vancomycin	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Metronidazol	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Ampicillin	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Cefpodoxim	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Ciprofloxacin	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Hydrocortison	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Calciumcarbonat	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Alginsäure	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Aluminiumhydroxid	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Magnesiumtrisilicat	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Vollblut	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Mucin	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Palmitinsäure	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Stearinsäure	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz

Der Test zeigte, dass die getesteten Substanzen bei Verwendung des GI Viral PLUS ELITe MGB Kit den Nachweis der Zielsequenzen nicht hemmen.

GI Viral PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR
REF RTS501ING

Kreuzkontamination

Zur Bewertung der möglichen Kreuzkontamination während der Analyse wurden für den Assay 60 Replikate einer negativen Stuhlprobe im Wechsel mit 60 Replikaten derselben Probe, die mit Adenovirus-F40 (ADV-F40)-Referenzmaterial (ZeptoMetrix) in einer Konzentration von 1 x 10^4 $TCID_{50}$/ml dotiert waren, getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Proben	Anzahl	Positiv	Negativ	% Übereinstimmung
Positiv	60	60	0	100 %
Negativ	60	0	60	100 %

Bei keiner der getesteten negativen Proben wurden falsch-positive Ergebnisse erhalten. Bei diesem Test mit dem GI Viral PLUS ELITe MGB Kit wurde weder innerhalb der Läufe noch zwischen den Läufen eine Kreuzkontamination festgestellt.

Fehlerrate des Gesamtsystems

Die Fehlerrate des Gesamtsystems für den Assay wurde durch die Analyse von 52 verschiedenen negativen nativen Stuhlproben und 52 Stuhlproben, die in FecalSwab mit Norovirus GII-Referenzmaterial (ZeptoMetrix) in einer Konzentration von 3 x LoD dotiert waren, bewertet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Proben	Anzahl	Positiv	Negativ	Fehlerrate des Gesamtsystems
Nativer Stuhl, dotiert auf 3 x LoD	52	52	0	0 %
Stuhl in FecalSwab, dotiert auf 3 x LoD	52	52	0	0 %

In diesem Test mit dem GI Viral PLUS ELITe MGB Kit wurden 100 % der nativen Stuhlproben und 100 % der in FecalSwab gesammelten Stuhlproben als positiv bestätigt. In diesem Test betrug die Fehlerrate des Gesamtsystems 0 % bei nativen Stuhlproben und 0 % bei Stuhlproben, die mit FecalSwab gesammelt wurden.

Wiederholpräzision

Zur Bewertung der Wiederholpräzision des Assays mit ELITe BeGenius und ELITe InGenius wurde ein Panel nativer Stuhlproben, die negativ oder mit Norovirus-GII-, Adenovirus-F40-, Rotavirus-, Astrovirus- und Sapovirus-GI/II/IV-Referenzmaterial (Plasmid-DNA von ZeptoMetrix, ATCC und EG SpA) dotiert waren, analysiert.

Ein Beispiel für die Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs (an einem Tag) mit ELITe BeGenius ist in der nachstehenden Tabelle aufgeführt.

Probe	Ziel	Anzahl	Mittelwert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	NV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		6	31,25	0,42	1,34	100 %
	NV (Tm)	6	68,4	0,17	0,25	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		6	-	-	-	100 %
Neg.	SV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		6	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		6	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		6	32,36	0,50	1,55	100 %
Neg.	RV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		6	30,18	0,29	0,95	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		6	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		6	-	-	-	100 %
Neg.	ADV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		6	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		6	34,17	0,81	2,37	100 %
	ADV (Tm)	6	70,4	0,27	0,38	100 %
3xLoD SV124	ADV (Ct)	6	-	-	-	100 %
Neg.	ASV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		6	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		6	27,14	0,36	1,32	100 %
3xLoD SV124		6	-	-	-	100 %

Ein Beispiel für die Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs (an einem Tag) mit ELITe InGenius ist in der nachstehenden Tabelle aufgeführt.

Probe	Ziel	Anzahl	Mittelwert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	NV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		6	29,91	0,41	1,38	100 %
	NV (Tm)	6	69,0	0,05	0,07	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		6	-	-	-	100 %
Neg.	SV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		6	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		6	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		6	32,94	0,83	2,52	100 %
Neg.	RV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		6	30,01	0,23	0,76	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		6	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		6	-	-	-	100 %
Neg.	ADV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		6	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		6	34,32	0,64	1,86	100 %
	ADV (Tm)	6	71,0	0,16	0,23	100 %
3xLoD SV124	ADV (Ct)	6	-	-	-	100 %
Neg.	ASV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		6	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		6	27,26	0,46	1,70	100 %
3xLoD SV124		6	-	-	-	100 %

Ein Beispiel für die Ergebnisse der laufübergreifenden Wiederholpräzision (an zwei Tagen) mit ELITe BeGenius ist in der nachstehenden Tabelle aufgeführt.

Probe	Ziel	Anzahl	Mittelwert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	NV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		12	30,97	0,43	1,39	100 %
	NV (Tm)	12	68,4	0,16	0,24	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		12	-	-	-	100 %
Neg.	SV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		12	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		12	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		12	32,37	0,45	1,39	100 %
Neg.	RV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		12	30,07	0,27	0,89	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		12	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		12	-	-	-	100 %
Neg.	ADV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		12	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		12	33,80	0,71	2,10	100 %
	ADV (Tm)	12	70,3	0,24	0,34	100 %
3xLoD SV124	ADV (Ct)	12	-	-	-	100 %
Neg.	ASV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		12	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		12	27,02	0,33	1,22	100 %
3xLoD SV124		12	-	-	-	100 %

GI Viral PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTS501ING

Ein Beispiel für die Ergebnisse der laufübergreifenden Wiederholpräzision (an zwei Tagen) mit ELITe InGenius ist in der nachstehenden Tabelle aufgeführt.

Probe	Ziel	Anzahl	Mittelwert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	NV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		12	30,08	0,46	1,53	100 %
	NV (Tm)	12	68,9	0,11	0,16	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		12	-	-	-	100 %
Neg.	SV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		12	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		12	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		12	32,74	0,78	2,37	100 %
Neg.	RV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		12	30,18	0,40	1,32	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		12	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		12	-	-	-	100 %
Neg.	ADV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		12	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		12	34,44	0,63	1,82	100 %
	ADV (Tm)	12	71,0	0,14	0,19	100 %
3xLoD SV124	ADV (Ct)	12	-	-	-	100 %
Neg.	ASV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		12	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		12	27,03	0,41	1,51	100 %
3xLoD SV124		12	-	-	-	100 %

Beim Test der Wiederholpräzision erkannte der GI Viral PLUS ELITe MGB Kit alle Proben wie erwartet und wies eine maximale Variabilität der Ct-Zielwerte als VK% unter 5 % aus.

Vergleichspräzision

Zur Bewertung der Vergleichspräzision des Assays mit ELITe BeGenius und ELITe InGenius wurde ein Panel nativer Stuhlproben, die negativ oder mit Norovirus-GII-, Adenovirus-F40-, Rotavirus-, Astrovirus- und Sapovirus-GI/II/IV-Referenzmaterial (Plasmid-DNA von ZeptoMetrix, ATCC und EG SpA) dotiert waren, analysiert.

Die Ergebnisse der chargenübergreifenden Vergleichspräzision (an sechs Tagen und drei Chargen) mit ELITe BeGenius sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt.

Probe	Ziel	Anzahl	Mittelwert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	NV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	31,95	0,91	2,85	100 %
	NV (Tm)	36	68,5	0,17	0,25	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		36	-	-	-	100 %
Neg.	SV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		36	32,49	0,39	1,19	100 %
Neg.	RV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	30,60	0,56	1,82	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		36	-	-	-	100 %
Neg.	ADV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		36	33,12	0,75	2,27	100 %
	ADV (Tm)	36	70,3	0,41	0,58	100 %
3xLoD SV124	ADV (Ct)	36	-	-	-	100 %
Neg.	ASV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		36	28,15	0,97	3,44	100 %
3xLoD SV124		36	-	-	-	100 %

Die Ergebnisse der chargenübergreifenden Vergleichspräzision (an sechs Tagen und mit drei Chargen) mit ELITe InGenius sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt.

Probe	Ziel	Anzahl	Mittelwert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	NV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	30,54	0,55	1,80	100 %
	NV (Tm)	36	69,1	0,21	0,30	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		36	-	-	-	100 %
Neg.	SV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		36	32,75	0,57	1,74	100 %
Neg.	RV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	30,41	0,41	1,35	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		36	-	-	-	100 %
Neg.	ADV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		36	33,66	0,78	2,31	100 %
	ADV (Tm)	36	70,8	0,30	0,43	100 %
3xLoD SV124	ADV (Ct)	36	-	-	-	100 %
Neg.	ASV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		36				100 %
3xLoD SV124		36	-	-	-	100 %

GI Viral PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF **RTS501ING**

Die Ergebnisse der geräteübergreifenden Vergleichspräzision (an sechs Tagen, mit drei Chargen und drei Geräten) mit ELITe BeGenius sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt.

Probe	Ziel	Anzahl	Mittelwert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	NV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	31,73	0,93	2,93	100 %
	NV (Tm)	36	68,6	0,24	0,36	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		36	-	-	-	100 %
Neg.	SV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		36	32,45	0,44	1,35	100 %
Neg.	RV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	30,80	0,53	1,73	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		36	-	-	-	100 %
Neg.	ADV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		36	32,91	0,68	2,07	100 %
	ADV (Tm)	36	70,5	0,37	0,52	100 %
3xLoD SV124	ADV (Ct)	36	-	-	-	100 %
Neg.	ASV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		36	28,26	0,95	3,35	100 %
3xLoD SV124		36	-	-	-	100 %

Die Ergebnisse der geräteübergreifenden Vergleichspräzision (an sechs Tagen, mit drei Chargen und drei Geräten) mit ELITe InGenius sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt.

Probe	Ziel	Anzahl	Mittelwert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	NV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	30,74	0,62	2,02	100 %
	NV (Tm)	36	69,1	0,21	0,30	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		36	-	-	-	100 %
Neg.	SV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		36	32,66	0,47	1,43	100 %
Neg.	RV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	30,28	0,42	1,38	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		36	-	-	-	100 %
Neg.	ADV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		36	32,78	0,63	1,91	100 %
	ADV (Tm)	36	70,8	0,37	0,52	100 %
3xLoD SV124	ADV (Ct)	36	-	-	-	100 %
Neg.	ASV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		36	25,57	0,88	3,18	100 %
3xLoD SV124		36	-	-	-	100 %

Beim Test der Vergleichspräzision erkannte der GI Viral PLUS ELITe MGB Kit alle Proben wie erwartet und wies eine maximale Variabilität der Ct-Zielwerte als VK% unter 5 % aus.

Diagnostische Spezifität: Bestätigung negativer Proben

Zur Bewertung der diagnostischen Spezifität des Assays als Bestätigung negativer klinischer Proben wurden in Verbindung mit ELITe InGenius klinische Stuhlproben, die ohne Konservierungsstoffe gesammelt worden waren, analysiert und für jede Zielsequenz als negativ bestätigt.

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

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Negativ auf die Zielsequenz getestete Stuhlproben	Anzahl	Positiv	Negativ	Diagnostische Spezifität in %
Adenovirus F40/F41	101	0	101	100 %
Norovirus GI/GII	101	0	101	100 %
Rotavirus	101	0	101	100 %
Astrovirus	100	0	100	100 %
Sapovirus	101	0	101	100 %

Alle Stuhlproben waren negativ und für die Analyse gültig.

Die diagnostische Spezifität des GI Viral PLUS ELITe MGB Kit in Kombination mit Stuhl betrug in diesem Test 100 % für alle Zielsequenzen.

Der Grenzwert IC Ct wurde auf 34 für ELITe InGenius und auf 35 für ELITe BeGenius festgelegt.

Diagnostische Sensitivität: Bestätigung positiver Proben

Zur Bewertung der diagnostischen Sensitivität des Assays als Bestätigung positiver klinischer Proben wurden in Verbindung mit ELITe InGenius klinische Stuhlproben, die ohne Konservierungsstoffe gesammelt worden waren, analysiert und für jede Zielsequenz als positiv bestätigt.

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

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Positiv auf die Zielsequenz getestete Stuhlproben	Anzahl	Positiv	Negativ	Diagnostische Sensitivität in %
Adenovirus F40	15	15	0	100 %
Adenovirus F41	35	35	0	
Norovirus GI	20	13	7	92,9 %
Norovirus GII	120	117	3	
Rotavirus	50	50	0	100 %
Astrovirus	50	50	0	100 %
Sapovirus	55	51	4	92,7 %

Die diagnostische Sensitivität des GI Viral PLUS ELITe MGB Kit in Verbindung mit Stuhl in diesem Test betrug 100 % bei ADV F40/F41, 92,9 % bei NV GI/GII, 100 % bei RV, 100 % bei ASV und 92,7 % bei SV.

Hinweis: Die vollständigen Daten und Ergebnisse der Tests, die zur Bewertung der Leistungsmerkmale des Produkts mit Matrizes und Geräten durchgeführt wurden, sind in der technischen Produktdokumentation „GI Viral PLUS ELITe MGB Kit“, FTP 501ING, aufgeführt.

GI Viral PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTS501ING

QUELLENANGABEN

V. P. Ramanan et al. (2017) Diagn.Microbiol. Infect. Dis. 87: 325-327
Y. Liu et al. (2012) J. Clin. Microbiol. 50: 2384 - 2389
: F. Jakab et al. (2019) J. Med. Virol. 74: 71 - 7
S. Q. Zeng et al. (2008) J. Virol. Methods 153: 238 - 240
M. Diez-Valcarce et al. (2018) J. Clin Virol. 104: 65 - 72
E. Lukhtanov et al. (2007) Nucleic Acids Res. 35: e 30
K. Linnet et al. (2004) Clin. Chem. 50: 732 - 740.
P. Chhabra et al. (2019) J. Gen. Virol. 100: 1393 - 1406
K. Kumthip et al. (2019) Ann Res Hosp 3: 1 - 3
B. Lopman et al. (2015) CDC Review: 1-44

GRENZEN DES VERFAHRENS

Dieses Produkt darf nur mit den folgenden klinischen Proben verwendet werden: nativer Stuhl oder in FecalSwab entnommener Stuhl.

Derzeit liegen keine Daten zur Produktleistung mit anderen klinischen Proben vor.

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

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

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

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

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

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

Eine räumliche Trennung von Vorbereitung des kompletten Reaktionsgemischs und die Extraktion/Amplifikation/Detektion von Amplifikationsprodukten ist zu beachten, 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 zeigt, dass die Ziel-DNA oder -RNA nicht in der DNA oder RNA, 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 (siehe „Leistungsmerkmale“) 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, Insertionen oder Deletionen in der Primer- oder Sondenbindungsregion der Ziel-DNA oder -RNA können den Nachweis und die Typisierung der Ziel-DNA oder -RNA beeinträchtigen.

Falls die Adenovirus-Spezies C oder G in der Probe vorkommen, weist das Produkt sie als Adenovirus-Zielsequenz ohne Typbestimmung nach.
Falls die Adenovirus-Spezies D in der Probe vorkommt, weist das Produkt sie nach und typisiert sie als Adenovirus-Serotyp F41.

Wie bei allen diagnostischen Medizinprodukten müssen bei der Interpretation der mit diesem Produkt erhaltenen Ergebnisse alle relevanten klinischen Beobachtungen und Laborbefunde berücksichtigt werden.

Wie bei allen diagnostischen Produkten besteht auch bei diesem Produkt ein Restrisiko von ungültigen oder fehlerhaften Ergebnissen. Dieses Restrisiko kann nicht eliminiert oder weiter minimiert werden. In manchen Fällen kann dieses Restrisiko zu falschen Entscheidungen mit potenziell gefährlichen Auswirkungen auf den Patienten beitragen.
Dieses Restrisiko im Zusammenhang mit dem Verwendungszweck des Produkts wurde jedoch gegen den potenziellen Nutzen für den Patienten abgewogen und als akzeptabel eingestuft.

FEHLERBEHEBUNG

Ungültige Reaktion der Positive Control	
Mögliche Ursachen	**Abhilfemaßnahmen**
Einstellfehler des Geräts.	Position des kompletten Reaktionsgemischs und der Positive Control kontrollieren. Volumina des kompletten Reaktionsgemischs und der Positive Control kontrollieren.
Fehler bei der Zubereitung des kompletten Reaktionsgemischs.	Volumina der bei der Zubereitung des kompletten Reaktionsgemischs verwendeten Reagenzien kontrollieren.
Abbau des kompletten Reaktionsgemischs oder seiner Komponenten.	Das komplette Reaktionsgemisch nicht wiederverwenden, sondern für jeden Arbeitslauf frisch zubereiten. Das komplette Reaktionsgemisch nicht länger als 30 Minuten bei Raumtemperatur aufbewahren. Den RT EnzymeMix nicht länger als 10 Minuten bei Temperaturen über -20 °C aufbewahren. Das komplette Reaktionsgemisch erneut zubereiten. Ein neues Aliquot der Komponenten verwenden.
Abbau der Positive Control.	Die Positive Control nicht für mehr als 4 unabhängige Arbeitsläufe verwenden (jeweils 3 Stunden im Extraktionsbereich oder in der Kühleinheit). Ein neues Aliquot der Positive Control verwenden.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

GI Viral PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTS501ING

Ungültige Reaktion der Negative Control	
Mögliche Ursachen	**Abhilfemaßnahmen**
Einstellfehler des Geräts.	Position des kompletten Reaktionsgemischs und der Negativkontrolle kontrollieren. Volumina des kompletten Reaktionsgemischs und der Negativkontrolle kontrollieren.
Kontamination der Negativkontrolle.	Die Negative Control nicht für mehr als 1 Lauf verwenden. Ein neues Aliquot hochreines Wasser für die Molekularbiologie verwenden.
Kontamination des kompletten Reaktionsgemischs oder seiner Komponenten.	Das komplette Reaktionsgemisch erneut zubereiten. Ein neues Aliquot Komponenten verwenden.
Kontamination des Extraktionsbereichs, der Racks, des Bestandsblocks oder der Kühleinheit.	Oberflächen mit wässrigen Reinigungsmitteln reinigen, Laborkittel waschen, verwendete Röhrchen und Spitzen austauschen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Ungültige Probenreaktion	
Mögliche Ursachen	**Abhilfemaßnahmen**
Einstellfehler des Geräts.	Position von komplettem Reaktionsgemisch, Internal Control und Probe kontrollieren. Volumina von komplettem Reaktionsgemisch, Internal Control und Probe kontrollieren.
Fehler bei der Zubereitung des kompletten Reaktionsgemischs.	Volumina der bei der Zubereitung des kompletten Reaktionsgemischs verwendeten Reagenzien kontrollieren.
Abbau des kompletten Reaktionsgemischs oder seiner Komponenten.	Das komplette Reaktionsgemisch nicht wiederverwenden, sondern für jeden Arbeitslauf frisch zubereiten. Das komplette Reaktionsgemisch nicht länger als 30 Minuten bei Raumtemperatur aufbewahren. Den RT EnzymeMix nicht länger als 10 Minuten bei Temperaturen über -20 °C aufbewahren. Das komplette Reaktionsgemisch erneut zubereiten. Ein neues Aliquot Komponenten verwenden.
Abbau der Vorlage für die Internal Control.	Ein neues Aliquot der Internal Control verwenden.
Inhibition durch Störsubstanzen in der Probe.	Amplifikation der eluierten Probe mit einer 1:2-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „PCR Only“-Lauf (nur PCR) wiederholen. Extraktion mit einer 1:2-Verdünnung der vorbehandelten Probe in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „Extract + PCR“-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

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

Fehler bei der Berechnung des Ct-Werts	
Mögliche Ursachen	**Abhilfemaßnahmen**
Zu hohe Konzentration von Ziel-DNA in der Probe oder Probe mit anomalem Fluoreszenzsignal.	Wenn im PCR-Diagramm eine signifikante Amplifikation zu beobachten ist, entsprechende Spur für die Probe auswählen und Ergebnis manuell als positiv bestätigen. Wenn im PCR-Diagramm keine Amplifikation zu beobachten ist, entsprechende Spur für die Probe auswählen und Ergebnis manuell als negativ bestätigen oder als ungültig belassen. 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. - Extraktion der vorbehandelten Probe mit einer 1:10-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „Extract + PCR"-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen.

Ungewöhnlich hoher Anteil positiver Ergebnisse innerhalb ein und desselben Laufs (Reaktionen mit ähnlich späten Ct-Werten)	
Mögliche Ursachen	**Abhilfemaßnahmen**
Kontamination von Probe zu Probe bei Präanalyseschritten.	Mikropipette nach dem Pipettieren jeder Probe mit frischer 3%iger Natriumhypochloritlösung (Bleiche) 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 auf der Benutzeroberfläche 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 (Bleiche) oder DNA/RNA-Cleaner reinigen. Einen UV-Dekontaminationszyklus durchführen. Das komplette Reaktionsgemisch erneut zubereiten und/oder ein neues Aliquot von CPE verwenden.

GI Viral PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTS501ING

SYMBOLE

REF	Katalognummer.
	Temperaturobergrenze.
LOT	Chargenbezeichnung.
	Verwendbar bis (letzter Tag des Monats).
IVD	*In-vitro*-Diagnostikum
CE 0123	Erfüllt die Anforderungen der Verordnung (EU) 2017/746 über *In-vitro*-Diagnostika (IVDR). Zertifizierung ausgestellt von der TÜV SÜD Product Service GmbH, Deutschland.
UDI	Unique Device Identification, eindeutige Gerätekennung
	Genügend für „n" Tests.
	Vorsicht, Gebrauchsanweisung beachten.
FORT	Inhalt.
	Vor Sonneneinstrahlung schützen.
	Hersteller.

GI Viral PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und die Real-Time-PCR

REF RTS501ING

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 mit Auswirkungen auf die Produktleistung und Gerätesicherheit vor.

HINWEIS AN DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ

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

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

Die ELITe InGenius®- und die ELITe BeGenius®-Technologie sind durch Patente und Patentanmeldungen geschützt.

Diese eingeschränkte Lizenz erlaubt der Person oder Einrichtung, der das Produkt zur Verfügung gestellt wurde, das Produkt und die bei Verwendung des Produkts erzeugten Daten ausschließlich für die Humandiagnostik zu verwenden. Weder die ELITechGroup S.p.A. noch deren Lizenzgeber gewähren weitere, ausdrückliche oder stillschweigende Lizenzen für andere Zwecke.

MGB®, Eclipse Dark Quencher®, AquaPhluor®, ELITe MGB®, das ELITe MGB®-Gerätelogo, ELITe InGenius® und ELITe BeGenius® sind eingetragene Marken der ELITechGroup in der Europäischen Union.

Minitip Flocked Swab® ist eine eingetragene Marke von COPAN Italia S.p.A., FecalSwab™ ist eine Marke von COPAN Italia S.p.A.

GI Viral PLUS ELITe MGB® Kit
used in association with Genius series® platforms
Ref: RTS501ING

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

Intended use

The product GI Viral PLUS ELITe MGB® Kit is an in vitro diagnostic medical device intended to be used by healthcare professionals as qualitative multiplex nucleic acids reverse transcription and Real-Time PCR assay for the detection and identification of the genomic DNA of Adenovirus (ADV), and the genomic RNA of Norovirus (NV), Rotavirus (RV), Astrovirus (ASV) and Sapovirus (SV), extracted from clinical specimens.

The assay is able to detect the DNA of Adenovirus belonging to serotypes F40 and F41 (typed by melting analysis), the RNA of Norovirus belonging to genogroups GI and GII (typed by melting analysis), Rotavirus belonging to group A, human Astrovirus and human Sapovirus.

The assay is validated in association with the ELITe InGenius® and ELITe BeGenius® instruments, automated and integrated systems for extraction, reverse transcription, Real-Time PCR and results interpretation, using human stool specimens.

The product is intended for use as an aid in the diagnosis of gastrointestinal viral infections in patients suspected of having Adenovirus, Norovirus, Rotavirus, Astrovirus or Sapovirus infection.

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

Amplified sequence

Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
Target 1	GI and GII Polyprotein	FAM	NV
Target 2	capsid protein	AP690	ASV
Target 3	F40 and F41 Hexon protein	AP639	ADV
Target 4	group A NSP3	AP593	RV
Target 5	GI/GII/GIV and GV Polyprotein	AP559	SV
Internal Control	phage MS2	AP525	IC

Validated matrix

- Native stool collected without preservatives
- Stool collected in FecalSwab (Modified Cary Blair medium)

Kit content and related products

GI Viral PLUS ELITe MGB Kit (RTS501ING)		GI Viral PLUS - ELITe Positive Control (CTR501ING)	
X 4	X 2	X 3	
GI-V PCR Mix 4 tubes of 600 µL 24 reactions per tube 96 reactions per kit 5 freeze-thaw cycles per tube	**RT EnzymeMix** 2 tubes of 20 µL 48 reactions per tube 96 reactions per kit 10 freeze-thaw cycles	**GI-V Positive Control** 3 tubes of 160 µL 4 reactions per tube 12 reactions per kit 4 freeze-thaw cycles	
Maximum shelf-life:	**18 months**	Maximum shelf-life	**24 months**
Storage temperature	**≤ -20°C**	Storage temperature	**≤ -20°C**

Other products required not provided in the kit

- ELITe InGenius instrument: INT030.
- ELITe BeGenius instrument: INT040.
- ELITe InGenius SP 200: INT032SP200.
- ELITe InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS.
- ELITe InGenius PCR Cassette: INT035PCR.
- ELITe InGenius Waste Box: F2102-000.
- 300 µL Filter Tips Axigen: TF-350-L-R-S.
- 1000 µL Filter Tips Tecan: 30180118.
- CPE - Internal Control: CTRCPE
- InhibitEX Buffer (QIAGEN GmbH, Germany, ref. 19593) or an equivalent device.
- Minitip Flocked Swab® (COPAN Italia S.p.A., Italy, ref. 501CS01) or an equivalent device.
- FecalSwab™ (COPAN Italia S.p.A., Italy, ref. 470CE,) or an equivalent device with Cary Blair medium.

ELITe InGenius and ELITe BeGenius Protocol

› Sample volume	200 µL	› Eluate PCR input volume	10 µL
› CPE volume	10 µL	› GI-V PCR Mix volume	20 µL
› Total elution volume	100 µL	› Frequency of controls	15 days

ELITe InGenius and ELITe BeGenius Performances

Matrix	Target	Limit of Detection	Sensitivity	Specificity
Native Stool / Stool collected in FecalSwab	Norovirus GI	**219 $TCID_{50}$/mL**	**92.9%** (130/140)	**100%** (101/101)
	Norovirus GII	**151 $TCID_{50}$/mL**		
	Astrovirus	**690 $TCID_{50}$/mL**	**100%** (50/50)	**100%** (100/100)
	Adenovirus F40	**0.082 $TCID_{50}$/mL**	**100%** (50/50)	**100%** (101/101)
	Adenovirus F41	**0.006 $TCID_{50}$/mL**		
	Rotavirus	**2.4 $TCID_{50}$/mL**	**100%** (50/50)	**100%** (101/101)
	Sapovirus GV	**792 copies/mL**	**92.7%** (51/55)	**100%** (101/101)
	Sapovirus GI/II/IV	**1119 copies/mL**		

Sample preparation

This product is intended for use on the **ELITe InGenius** and **ELITe BeGenius** with the following clinical specimens identified according to laboratory guidelines, and collected, transported, and stored under the following conditions.

Sample type	Transport/Storage conditions			
	+16 / +26 °C (room temperature)	**+2 / +8 °C**	**-20 ± 10 °C**	**-70 ± 15 °C**
Native stool collected without preservatives	≤ 24 hours	≤ 48 hours	≤ 1 month	≤ 2 months
Stool collected in FecalSwab (Modified Cary Blair medium)	≤ 48 hours	≤ 5 days	≤ 1 month	≤ 2 months

Note: The specimens have to be pre-treated before use according to the procedure described in the complete IFU.

ELITe InGenius Procedures

The user is guided step-by-step by the Graphic User Interface of ELITe InGenius software to setup the run. All the steps: extraction, reverse transcription, Real-Time PCR and result interpretation are automatically performed. Two operational modes are available: complete run (Extract + PCR) or PCR Only.

Before analysis

1. Switch on ELITe InGenius.
Log in with username and password.
Select the mode "**CLOSED**".

2. Verify controls: **GI-V Positive Control** and **GI-V Negative Control** in the "Controls" menu.
Note: Both must have been run, approved and not expired.

3. Thaw the **GI-V PCR Mix** and the **CTRCPE** tubes.
Vortex gently.
Spin down 5 sec.

4. Prepare the complete reaction mixture

Sample Number (N)	GI-V PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0.3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0.3 µL
N = 12	290 µL	4.4 µL

5. Vortex gently
Spin down 5 sec
Keep the complete reaction mixture in ice. Do not expose to direct light.

Procedure 1 – Complete run: Extract + PCR (e.g., samples)

1. Select "Perform Run" on the touch screen

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

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

4. Select the "Assay Protocol" of interest: GI Viral PLUS ELITe_ST_200_100

5. Select the method "Extract + PCR" and the sample position "Extraction Tube"

6. Load the complete reaction mixture and the Internal Control in the Inventory Block

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

8. Close the door.
Start the run

9. View, approve and store the results

Note: If an Extract Only mode is needed, refer to the instrument user's manual for procedure.

Procedure 2: PCR Only (e.g., eluates, controls)

1. Select “Perform Run” on the touch screen	**2.** Verify the extraction volumes: Input: “200 µL”, elution: “100 µL”	**3.** Scan the sample barcodes with hand-barcode reader or type the sample ID
4. Select the “Assay Protocol” of interest: GI Viral PLUS ELITe_ST_200_100 or GI Viral PLUS ELITe_PC or GI Viral PLUS ELITe_NC	**5.** Select the method “PCR Only” and the sample position “Elution Tube”	**6.** Load the complete reaction mixture in the Inventory Block
7. Load PCR Cassette rack and the Elution tube rack with the extracted nucleic acid	**8.** Close the door. Start the run	**9.** View, approve and store the results

ELITe BeGenius Procedures

The user is guided step-by-step by the Graphic User Interface of ELITe BeGenius software to setup the run. All the steps: extraction, reverse transcription, Real-Time PCR and result interpretation are automatically performed. Two operational modes are available: complete run (Extract + PCR) or PCR Only.

Before analysis

1. Switch on ELITe BeGenius. Log in with username and password. Select the mode “**CLOSED**”.	**2.** Verify controls: **GI-V Positive Control** and **GI-V Negative Control** in the “Controls” menu. *Note:* Both must have been run, approved and not expired.	**3.** Thaw the **GI-V PCR Mix** and the **CTRCPE** tubes. Vortex gently. Spin down 5 sec.

4. Prepare the complete reaction mixture

Sample Number (N)	GI-V PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0.3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0.3 µL
N = 12	290 µL	4.4 µL
13 ≤ N ≤ 18	(N + 3) x 20 µL	(N + 3) x 0.3 µL
19 ≤ N ≤ 23	(N + 4) x 20 µL	(N + 4) x 0.3 µL
N = 24	580 µL	8.7 µL

5. Vortex gently
Spin down 5 sec
Keep the complete reaction mixture in ice. Do not expose to direct light.

Procedure 1 - Complete run: Extract + PCR (e.g., samples)

1. Select “Perform Run” on the touch screen and then click on the run mode «Extract + PCR»	**2.** Insert the Sample Rack with the barcoded samples in the Cooler Unit. The barcode scan is already active	**3.** Verify the extraction volumes: Input: “200 µL”, Eluate: “100 µL”
4. Select the “Assay Protocol” of interest: GI Viral PLUS ELITe_Be_ST_200_100 **Note**: if a second extraction is performed repeat steps from 2 to 4	**5.** Print the labels to barcode the empty elution tubes. Load the tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit	**6.** Load the complete reaction mixture and the Internal Control in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit
7. Load “PCR Basket” with “PCR Cassette” and the “Extraction Basket” with the “ELITe InGenius SP 200” extraction cartridges and the required extraction consumables	**8.** Close the door. Start the run	**9.** View, approve and store the results

Procedure 2: PCR Only (e.g., eluates, controls)

1. Select “Perform Run” on the touch screen and then click on the run mode «PCR Only»	**2.** Load the extracted nucleic acid or controls barcoded tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit”	**3.** Verify the extraction volumes: Input: “200 µL”, Eluate: “100 µL”
4. Select the “Assay Protocol” of interest: GI Viral PLUS ELITe_Be_ST_200_100 or GI Viral PLUS ELITe_Be_PC or GI Viral PLUS ELITe_Be_NC	**5.** Load the Complete reaction mixture in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit	**6.** Load “PCR Basket” with “PCR Cassette”
7. Close the door. Start the run	**8.** View, approve and store the results	