



ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185
10149 Torino ITALY

Offices: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76 11
E. mail: emd.support@elitechgroup.com
WEB site: www.elitechgroup.com

NOTICE of CHANGE dated 14/03/19

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«Respiratory Bacterial ELITE MGB[®] Panel» Ref. RTS553ING

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

- *Modification of the indication of the number of reactions to be prepared in excess during preparation of the complete reaction mixture RB PCR Mix.*

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

PLEASE NOTE



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



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



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



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



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



DIE REVIEW VON DIESER IFU IST KOMPATIBLE MIT DER VORIGE VERSION VON DEM TEST-KIT



Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel

Reagenz für die DNA-Amplifikation in Echtzeit

REF RTS553ING



INHALTSVERZEICHNIS

VERWENDUNGSZWECK	Seite 1
TESTPRINZIPIEN	Seite 2
BESCHREIBUNG DES PRODUKTS	Seite 2
MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN	Seite 3
ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTER MATERIALIEN	Seite 3
ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE	Seite 3
WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN	Seite 4
PROBEN UND KONTROLLEN	Seite 5
VERFAHREN	Seite 6
LEISTUNGSMERKMALE	Seite 13
GRENZEN DES VERFAHRENS	Seite 18
FEHLERBEHEBUNG	Seite 19
SYMBOLS	Seite 20
HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ	Seite 21

VERWENDUNGSZWECK

Das Produkt „Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel“ ist Bestandteil eines qualitativen Multiplex-Nukleinsäure-Amplifikationstests für den Nachweis der DNA von *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae* und *Chlamydomphila pneumoniae* in respiratorischen Proben (BAL, bronchoalveoläre Lavage).

Das Produkt ist, in Kombination mit den klinischen Daten und weiteren Laborbefunden des Patienten, zur Diagnose von Infektionen mit *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae* und *Chlamydomphila pneumoniae* bestimmt.

Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel

Reagenz für die DNA-Amplifikation in Echtzeit

REF RTS553ING

TESTPRINZIPIEN

Der Test besteht aus einer Multiplex-Echtzeit-Amplifikationsreaktion mit einem automatisierten und integriertem System zur Extraktion, Echtzeit-Amplifikation und Ergebnisinterpretation.

Ausgehend von der DNA, die aus den zu untersuchenden Proben extrahiert wurde, werden in der Kartusche drei für die folgenden Bakterien spezifische Amplifikationsreaktionen durchgeführt:

- *Legionella pneumophila* (Lpneu), nachgewiesen durch eine spezifische Sonde im ELITE InGenius-Kanal „Legio“;
- *Mycoplasma pneumoniae* (Mpneu), nachgewiesen durch eine spezifische Sonde im ELITE InGenius-Kanal „Mpneu“;
- *Chlamydomphila pneumoniae* (Cpneu), nachgewiesen durch eine spezifische Sonde im ELITE InGenius-Kanal „Cpneu“.

Außerdem wird auch die interne Extraktions- und Inhibitionskontrolle (IC, Internal Control) in der Kartusche amplifiziert. Die Internal Control basiert auf *Streptococcus equi* (Sequi) und wird im ELITE InGenius-Kanal „IC“ durch eine spezifische Sonde erkannt.

Die Sonden mit TaqMan™ MGB-Technologie werden aktiviert, wenn sie mit dem spezifischen Produkt der Amplifikationsreaktion hybridisieren, und sie werden vom Taq-DNA-Polymerase-Enzym hydrolysiert. Die Fluoreszenzemission erhöht sich mit Zunahme des spezifischen Produkts der Amplifikationsreaktion und wird vom Gerät gemessen und aufgezeichnet. Durch die Verarbeitung der Daten lässt sich die oben angegebene DNA in der Ausgangsprobe nachweisen.

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

BESCHREIBUNG DES PRODUKTS

Das Produkt „Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel“ umfasst die folgenden Komponenten:

- **RB-Primer and probe mix**

Ein Gemisch aus Oligonukleotid-Primern zur Echtzeit-Amplifikation in einer Stabilisierungslösung, aliquotiert in zwei Teströhrchen (VIOLETT Verschluss). Jedes Röhrchen enthält **90 µl** Lösung, die bei der Durchführung einer Anzahl an Reaktionen, die einem Vielfachen von 4 entspricht, und mit maximal 8 Läufen mit **ELITE InGenius** für **48 Tests** ausreicht.

- **RB-buffer mix**

Ein optimiertes und stabilisiertes Gemisch aus Reagenzien für die Echtzeit-Amplifikation, das in zwei Teströhrchen aliquotiert ist (ORANGER Verschluss). Jedes Röhrchen enthält **750 µl** Lösung, die bei der Durchführung einer Anzahl an Reaktionen, die einem Vielfachen von 4 entspricht, und mit maximal 8 Läufen mit **ELITE InGenius** für **48 Tests** ausreicht.

- **RB-enzyme**

Ein optimiertes und stabilisiertes Gemisch aus Enzymen für die Echtzeit-Amplifikation, das in zwei Teströhrchen (GELBER Verschluss) voraliquotiert ist. Jedes Röhrchen enthält **60 µl** Lösung, die bei der Durchführung einer Anzahl an Reaktionen, die einem Vielfachen von 4 entspricht, und mit maximal 8 Läufen mit **ELITE InGenius** für **48 Tests** ausreicht.

Das Produkt reicht aus für **96 Tests mit ELITE InGenius** einschließlich Kontrollen.

**MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE
MATERIALIEN**

Komponente	Beschreibung	Menge	Gefahrenklasse
RB primer and probe mix	Primer/Sondenmix für Lpneu, Mpneu, Cpneu und IC (Sequi) (VIOLETTES Verschluss)	2 x 90 µl	-
RB buffer mix	PCR-Puffer (ORANGER Verschluss)	2 x 750 µl	-
RB enzyme	PCR-Enzymgemisch (GELBER Verschluss)	2 x 60 µl	-

ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTER MATERIALIEN

- Sicherheitswerkbank.
- Puderfreie Einweghandschuhe aus Nitril oder einem ähnlichen Material.
- Vortex-Mixer.
- Tisch-Mikrozentrifuge (12.000–14.000 U/min).
- Mikropipetten und sterile Spitzen mit Aerosolfilter oder sterile Direktverdrängerspitzen (0,5–10 µl, 2–20 µl, 5–50 µl, 50–200 µl, 200–1000 µl).
- Hochreines Wasser für die Molekularbiologie.
- Sarstedt 2,0-ml-Röhrchen mit Schraubverschluss (Sarstedt Art.-Nr. 72.694.005).

ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE

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

Für die automatische DNA-Extraktion, Echtzeit-Amplifikation und Ergebnisinterpretation werden das Gerät „**ELiTe InGenius**“ (ELiTechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT030) und die folgenden spezifischen Assay-Protokolle benötigt:

- Parameter für die Amplifikation von Positivkontrolle „**RB ELiTe_PC**“ (ELiTechGroup S.p.A.),
- Parameter für die Amplifikation von Negativkontrolle „**RB ELiTe_NC**“ (ELiTechGroup S.p.A.),
- Parameter für zu analysierende Proben „**RB ELiTe_BAL_200_100**“ (ELiTechGroup S.p.A.).

Für die automatische Probenanalyse mit dem Gerät „**ELiTe InGenius**“ (ELiTechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT030) werden die folgenden generischen Produkte benötigt:

- Extraktionskartuschen „**ELiTe InGenius® SP 200**“ (ELiTechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT032SP200),
- Verbrauchsmaterialien für die Extraktion und Amplifikation „**ELiTe InGenius® SP 200 Consumable Set**“ (ELiTechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT032CS),
- Amplifikationskartuschen „**ELiTe InGenius® PCR Cassette**“ (ELiTechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT035PCR),
- Spitzen „**300 µl Universal Fit Filter Tips**“ (Axygen BioScience Inc., CA, USA, Art.-Nr. TF-350-L-R-S),
- Abfallboxen „**ELiTe InGenius® Waste Box**“ (ELiTechGroup S.p.A., Art.-Nr. F2102-000).
- Als Vorlage für die Internal Control der Extraktion und Inhibition wird das generische Produkt „**500-Internal Control**“ (ELiTechGroup S.p.A., Art.-Nr. IC500) benötigt. Dieses basiert auf Streptococcus equi (S. equi).
- Als Amplifikations-Positive-Control wird das spezifische Produkt „**Respiratory Bacterial-ELiTe Positive Control**“ (ELiTechGroup S.p.A., Art.-Nr. CTR553ING), benötigt. Dabei handelt es sich um eine stabilisierte Lösung mit Plasmid-DNAs.

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

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

Allgemeine Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

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

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

Geeignete Schutzkleidung und Schutzhandschuhe sowie Augen-/Gesichtsschutz tragen.

Lösungen niemals mit dem Mund pipettieren.

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

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

Restliche Reagenzien und Abfälle gemäß den geltenden Vorschriften entsorgen.

Auf die aktuelle Version der Gebrauchsanweisung Bezug nehmen, die online verfügbar ist.

Vor Durchführung des Tests alle dem Produkt beiliegenden Anweisungen aufmerksam lesen.

Während der Durchführung des Assays alle mit dem Produkt bereitgestellten Anweisungen befolgen. Das Produkt nicht nach dem angegebenen Ablaufdatum verwenden.

Nur die mit dem Produkt mitgelieferten bzw. vom Hersteller empfohlenen Reagenzien verwenden.

Keine Reagenzien aus unterschiedlichen Chargen verwenden.

Keine Reagenzien anderer Hersteller verwenden.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen für die Molekularbiologie

Molekularbiologische Verfahren dürfen nur von qualifizierten und geschulten Fachkräften durchgeführt werden, um fehlerhafte Ergebnisse zu vermeiden, insbesondere im Hinblick auf die Zersetzung der in den Proben enthaltenen Nukleinsäuren oder die Kontamination der Proben durch Amplifikationsprodukte.

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

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

Die PCR Cassettes müssen so gehandhabt werden, dass die Diffusion von Amplifikationsprodukten in die Umgebung so weit wie möglich reduziert wird, um eine Kontamination der Proben und Reagenzien zu vermeiden.

Komponentenspezifische Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

• **RB-Primer and probe mix**

RB-Primer und Sonde müssen bei -20 °C dunkel aufbewahrt werden.

RB-Primer und Sonde dürfen maximal **acht Mal** eingefroren und wieder aufgetaut werden; weitere Gefrier- und Auftauzyklen können zu einem Verlust der Produktleistung führen.

Respiratory Bacterial ELiTe MGB® Panel
Reagenz für die DNA-Amplifikation in
Echtzeit

REF RTS553ING

• **RB enzyme**

Das RB-Enzym muss bei -20 °C aufbewahrt werden.

Das RB-Enzym darf nicht länger als 10 Minuten Temperaturen über -20 °C ausgesetzt werden. Die Lagerung auf Eis oder in einem Kühlblock wird empfohlen. Es darf für höchstens **acht Mal** verwendet werden.

• **RB-buffer mix**

Der RB-Puffer muss bei -20 °C aufbewahrt werden.

Der RB-Puffer darf maximal **acht Mal** eingefroren und wieder aufgetaut werden; weitere Gefrier- und Auftauzyklen können zu einem Verlust der Produktleistung führen.

PROBEN UND KONTROLLEN

Proben

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

Respiratorische Proben (BAL, bronchoalveoläre Lavage)

Die respiratorischen Proben für die Nukleinsäureextraktion müssen gemäß den Laborrichtlinien entnommen werden. Außerdem dürfen sie maximal eine Woche bei +2 bis +8 °C transportiert und aufbewahrt werden; anderenfalls müssen sie tiefgefroren bei -20 °C für maximal dreißig Tage oder bei -70 °C für bis zu einem Jahr aufbewahrt werden.

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 unmittelbar vor der Extraktion aufgetaut werden, um einen möglichen Nukleinsäureabbau zu vermeiden.

Hinweis: Wird die DNA-Extraktion aus BAL mit dem **ELiTe InGenius** und der **ELiTe InGenius Software**, Version 1.2 (oder entsprechende spätere Versionen) durchgeführt, ist das Assay Protocol **RB ELiTe_BAL_200_100** zu verwenden. Dieses Protokoll verarbeitet 200 µl Probe, fügt die **500 Internal Control** bei 10 µl/Extraktion hinzu und eluiert die Nukleinsäuren in 100 µl.

Amplifikationskontrollen

Vor der Analyse von Proben ist es unbedingt erforderlich, die Amplifikationskontrollen für die verwendete Amplifikationsreagenz-Charge zu generieren und zu genehmigen:

als Amplifikations-Positivkontrolle ist das Produkt **Respiratory Bacterial-ELiTe Positive Control** (nicht im Lieferumfang dieses Kits enthalten) zusammen mit dem Protokoll **RB ELiTe_PC** zu verwenden,

als Amplifikations-Negativkontrolle ist hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) zusammen mit dem Protokoll **RB ELiTe_NC** zu verwenden.

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

Die genehmigten und in der Datenbank gespeicherten Ergebnisse der Amplifikationskontrolle laufen **nach 15 Tagen** ab. Am Ablaufdatum müssen die Positiv- und die Negativkontrolle zusammen mit der Amplifikationsreagenzcharge erneut verarbeitet werden.

Darüber hinaus müssen die Amplifikationskontrollen erneut generiert werden, wenn:

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

Qualitätskontrollen

Es wird empfohlen, das gesamte Analyseverfahren, die Extraktion und Amplifikation, durch Testen als Prozesskontrollen, d. h. einer negativ getesteten und einer positiv getesteten Probe bzw. eines kalibrierten Referenzmaterials, zu validieren.

Respiratory Bacterial ELiTe MGB® Panel
Reagenz für die DNA-Amplifikation in
Echtzeit

REF RTS553ING

VERFAHREN

Das beim Gebrauch des **Respiratory Bacterial ELiTe MGB® Panel** mit dem System **ELiTe InGenius** anzuwendende Verfahren besteht aus drei Schritten:

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

Prüfung der Systembereitschaft

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

- **ELiTe InGenius** einschalten und den Anmeldemodus „**CLOSED**“ (geschlossen) auswählen.
- prüfen, ob die Amplifikationskontrollen (Controls, RB Positive Control, RB Negative Control) zusammen mit der zu verwendenden Amplifikationsreagenzcharge ausgeführt und genehmigt wurden und noch nicht abgelaufen sind (Status). Liegen keine genehmigten oder gültigen Amplifikationskontrollen vor, sind diese wie in den folgenden Abschnitten beschrieben auszuführen.
- den Typ des Laufs auswählen, dazu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche zur Einrichtung des Laufs befolgen und die von ELiTechGroup S.p.A. bereitgestellten Assay Protocols (Assay-Protokolle) verwenden. Diese IVD-Protokolle wurden speziell mit ELiTe MGB® Kits, dem Gerät ELiTe InGenius und der genannten Matrix validiert. Das für das Testen von Proben mit dem Produkt **Respiratory Bacterial ELiTe MGB® Panel** verfügbare Assay Protocol ist in der nachfolgenden Tabelle beschrieben.

Assay Protocol für Respiratory Bacterial ELiTe MGB® Panel			
Name	Matrix	Melden Sie	Eigenschaften
RB ELiTe_BAL_200_100	BAL, bronchoalveoläre Lavage	Positiv/negativ	Extraktion Eingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 15 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 10 µl

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

Einrichtung des Laufs

Das Produkt **Respiratory Bacterial ELiTe MGB® Panel** kann mit dem System **ELiTe InGenius** für die Durchführung der folgenden Läufe verwendet werden:

- Integrierter Lauf (Extraktion + PCR),
- Amplifikationslauf (nur PCR),
- Amplifikationslauf für die Positiv- und Negativkontrolle (nur PCR).

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

Hinweis: Das System ELiTe InGenius kann mit dem LIS (Location Information Server) verbunden werden, über den die Arbeitslauf-Informationen gesendet werden können. Weitere Informationen finden Sie im Benutzerhandbuch des Geräts.

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

A. Integrierter Lauf

Vor Beginn des Laufs ist es wichtig, Folgendes durchzuführen:

1. Die Teströhrchen mit den zu analysierenden Proben entnehmen und auf Raumtemperatur (+18 bis 25 °C) auftauen. Durch Vortexen 10 Sekunden lang mischen, den Röhrcheninhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und die Röhrchen auf Eis lagern.
2. Die für den Lauf benötigten Teströhrchen mit dem RB-Primer und Sondenmix (VIOLETTES Verschluss) entnehmen und 30 Minuten bei Raumtemperatur (+18 bis 25 °C) auftauen; dabei berücksichtigen, dass der Inhalt jedes Teströhrchens für 48 Reaktionen ausreicht. Durch Vortexen dreimal 10 Sekunden lang mischen, den Röhrcheninhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und die Röhrchen auf Eis lagern.
3. Die für den Lauf benötigten Röhrchen mit dem RB-Puffermix (ORANGER Verschluss) entnehmen und 30 Minuten bei Raumtemperatur (+18 bis 25 °C) auftauen; dabei berücksichtigen, dass der Inhalt jedes Teströhrchens für 48 Reaktionen ausreicht. Durch Vortexen dreimal 10 Sekunden lang mischen, den Röhrcheninhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und die Röhrchen auf Eis lagern.
4. Die für den Lauf benötigten Röhrchen mit dem RB-Enzym (GELBER Verschluss) herausnehmen und daran denken, dass der Inhalt jedes Röhrchens für die Einrichtung von 48 Reaktionen ausreicht. Die Röhrchen vorsichtig schütteln, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und die Röhrchen auf Eis aufbewahren.

Hinweis: Das RB-Enzym darf nicht länger als 10 Minuten Temperaturen über -20 °C ausgesetzt werden.

Nach dem Auftauen wird die Lagerung auf Eis oder in einem Kühlblock empfohlen.

5. Ein 2-ml-Röhrchen für das komplettes Reaktionsgemisch RB PCR Mix zubereiten und erkennbar mit einem Permanentmarker kennzeichnen.
6. Die Volumina der drei im Kit enthaltenen Komponenten, die für die Zubereitung des kompletten Reaktionsgemischs RB PCR Mix benötigt werden, auf Grundlage der Anzahl an zu analysierenden Proben berechnen, wie in der folgenden Tabelle beschrieben.

Hinweis: Zur Berechnung der Volumina der drei Komponenten muss die Anzahl der Reaktionen (N) des Laufs bestimmt werden, indem die Anzahl der zu testenden Proben plus eine Reaktion (bei Analyse von 1 bis 4 Proben), zwei Reaktionen (bei Analyse von 5 bis 8 Proben) oder drei Reaktionen (bei Analyse von 9 bis 12 Proben) als Sicherheitsmarge gezählt werden.

Anzahl der Reaktionen	RB-Primer und Sondenmix	RB-Puffermix	RB-Enzym
1	1,5 µl	12,5 µl	1 µl
Anzahl	N x 1,5 µl	N x 12,5 µl	N x 1 µl

7. Das komplette Reaktionsgemisch RB PCR Mix zubereiten: dazu die errechneten Volumina der drei Komponenten in das vorgesehene Röhrchen geben.

Hinweis: Das komplette Reaktionsgemisch unmittelbar vor dem Laden in das Gerät zubereiten.

Hinweis: Das komplette Reaktionsgemisch **darf nicht** aufbewahrt werden. Es ist 3 aufeinander folgende Läufe lang stabil (am selben Tag wie bei der Rekonstitution des Reaktionsgemischs), wenn es in das Gerät geladen wurde („Inventory Area“, Inventarbereich). Wichtig ist jedoch, es zwischen den einzelnen Läufen zu mischen.

Hinweis: Zur Vermeidung einer Materialverschwendung und zum Erreichen genauer Volumina beim Pipettieren nicht die gesamte Spitze in die Flüssigkeit tauchen. Der Pipettiervorgang muss sehr langsam ausgeführt werden, um die Bildung von Luftblasen zu verhindern. Vor dem Dispensieren die Spitze an der Gefäßkante abstreifen, um überschüssige Flüssigkeit von der Außenseite der Spitze zu entfernen. Darauf achten, die Spitzen nach jedem Pipettierschritt auszutauschen.

8. Dreimal durch Vortexen bei niedriger Drehzahl 10 Sekunden lang mischen, das Röhrchen 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und auf Eis lagern.
9. Die **500 Internal Control**-Röhrchen für den Lauf auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 32 Extraktionen. Vor jedem Lauf gründlich mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren. Den Inhalt vor dem Laden in das Gerät durch Auf- und Abpipettieren erneut mischen.

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

10. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
11. Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) auch dann 100 µl beträgt.
12. Für jede relevante Spur unter „SampleID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.
13. Das zu verwendende Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ auswählen (d. h. RB ELiTe_BAL_200_100).
14. Sicherstellen, dass das „Protocol“ (Protokoll) angezeigt wird: „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR).
15. Die Proben-Ladepositionen in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) auswählen:
 - wird ein Primärröhrchen verwendet, „Primary Tube“ (Primärröhrchen) auswählen.
 - wird ein Sekundärröhrchen verwendet, „Sonication Tube“ (Ultraschallröhrchen) auswählen.
 Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
16. 500 Internal Control und RB PCR Mix auf den unter „Inventory Block“ (Bestandsblock) ausgewählten Bestandsblock laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf die Schaltfläche „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
17. Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) ausgewählten Inventarbereich laden und kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf die Schaltfläche „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
18. Die „PCR Cassettes“ (PCR-Kassetten), die Extraktionskartuschen „ELiTe InGenius SP 200“, alle benötigten Verbrauchsmaterialien und die zu extrahierenden Proben in die unter Schritt 15 angegebenen Positionen laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
19. Schließen Sie die Gerätetür.
20. Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

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

Hinweis: Am Ende des Laufs muss die übrige extrahierte Probe aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen, gekennzeichnet und bis zu 30 Tage bei -20 °C aufbewahrt werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

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

B. Amplifikationslauf

1. Die Teströhrchen mit den extrahierten Proben entnehmen und bei Raumtemperatur (+18 bis 25 °C) auftauen. Durch Vortexen 10 Sekunden lang mischen, den Röhrcheninhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und die Röhrchen auf Eis lagern.
2. Das komplette Reaktionsgemisch RB PCR Mix mit einem für den Lauf ausreichenden Volumen zubereiten, wie in Abschnitt A beschrieben. Integrierter Lauf (von Punkt 2 bis 8; die interne Kontrolle nicht auftauen).

Gehen Sie zum Einrichten des Amplifikationslaufs wie folgt vor und befolgen Sie die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche:

3. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
4. Selbst wenn keine Extraktion durchgeführt wird, sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.
5. Für jede relevante Spur die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.
6. Das zu verwendende Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ auswählen (d. h. RB ELiTe_BAL_200_100).
7. In der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) auswählen.
8. Sicherstellen, dass die Proben-Ladeposition in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „ExtraTube (bottom row)“ (Zusatzröhrchen [untere Reihe]) lautet. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
9. Den RB PCR Mix auf den unter „Inventory Block“ (Bestandsblock) ausgewählten Bestandsblock laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
10. Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) ausgewählten Inventarbereich laden und kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
11. Die PCR-Kassetten („PCR Cassettes“) und die extrahierte Nukleinsäure-Proben gemäß den Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche laden. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
12. Schließen Sie die Gerätetür.
13. Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

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

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

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

C. Amplifikationslauf für Positive Control und Negative Control

1. Das komplette Reaktionsgemisch RB PCR Mix mit einem für den Lauf ausreichenden Volumen zubereiten, wie in Abschnitt A beschrieben. Integrierter Lauf (von Punkt 2 bis 8; die interne Kontrolle nicht auftauen).
2. Das Produkt **Respiratory Bacterial-ELiTe Positive Control** für die Amplifikation der Positive Control verwenden. Jedes Röhrchen reicht aus für 6 Läufe. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
3. Für die Läufe mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie in ein Elution Tube (Elutionsröhr) (im Lieferumfang des ELiTe InGenius SP 200 Consumable Set enthalten) überführen.

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

4. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
5. In der relevanten Spur das zu verwendende Assay Protocol in der Spalte „Assay“ auswählen.
6. Für die Positivkontrolle „RB ELiTe_PC“ in der Spalte „Assay“ auswählen und die Chargennummer und das Ablaufdatum von Respiratory Bacterial-ELiTe Positive Control eintragen.
7. Für die Negative Control „RB ELiTe_NC“ auswählen und die Chargennummer und das Ablaufdatum für das hochreine Wasser für die Molekularbiologie eintragen.
8. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
9. Den RB PCR Mix auf den unter „Inventory Block“ (Bestandsblock) ausgewählten Bestandsblock laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
10. Die „Tip Racks“ (Spitzenständer) in den unter „Inventory Area“ (Inventarbereich) ausgewählten Bestandsbereich laden/kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
11. „PCR Cassettes“ (PCR-Kassetten), das Röhrchen RB Positive Control und das Röhrchen für die Negative Control gemäß den Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche laden. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
12. Schließen Sie die Gerätetür.
13. Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

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

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

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

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

Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

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

Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel
Reagenz für die DNA-Amplifikation in
Echtzeit

REF RTS553ING

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

Das **ELITE InGenius** System generiert die Ergebnisse mithilfe des Produkts **Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel** und geht dabei folgendermaßen vor:

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

A. Validierung der Ergebnisse des Amplifikationslaufs für die Positivkontrolle und Negativkontrolle

Die von den Sonden der Zielgene („Legio“, „Mpneu“, „Cpneu“) in der Amplifikationsreaktion der Positive Control und Negative Control ausgesendeten Fluoreszenzsignale werden automatisch analysiert und von der Gerätesoftware mit den in den Assay Protocol „RB ELITE_PC“ und „RB ELITE_NC“ enthaltenen Parametern interpretiert.

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

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

Vor der Analyse von Proben ist es unbedingt erforderlich zu prüfen, ob die Amplifikation der Positiv- und der Negativkontrolle mit der zu verwendenden Amplifikationsreagenziencharge durchgeführt wurde und genehmigte und gültige Ergebnisse vorliegen. Die Verfügbarkeit der Ergebnisse der Amplifikation der Positiv- und der Negativkontrolle mit dem Status „Approved“ (Genehmigt) wird im Fenster „Controls“ (Kontrollen) auf der grafischen Benutzeroberfläche angezeigt. Fehlen die Ergebnisse des Amplifikationslaufs für die Positive Control und Negative Control, so sind sie wie oben beschrieben zu generieren.

Hinweis: Erfüllt das Ergebnis des Amplifikationslaufs für die Positiv- bzw. Negativkontrolle nicht die Annahmekriterien, wird die Meldung „not passed“ (nicht bestanden) im Bildschirm „Controls“ angezeigt und das Ergebnis kann nicht genehmigt werden. In diesem Fall muss die Amplifikationsreaktion der Positive Control bzw. Negative Control wiederholt werden.

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

B. Validierung der Probenergebnisse

Die von den Sonden der Zielgene („Legio“, „Mpneu“, „Cpneu“) und von der Sonde der Internal Control („IC“) in den Proben-Amplifikationsreaktionen ausgesendeten Fluoreszenzsignale werden automatisch analysiert und von der Gerätesoftware mit den im Assay Protocol RB ELITE_CSF_200_100 enthaltenen Parametern interpretiert.

Hinweis: Vor der Analyse von Proben ist zu prüfen, ob die Amplifikation der Kontrollen mit der zu verwendenden Amplifikationsreagenziencharge durchgeführt wurde und genehmigte und gültige Ergebnisse vorliegen. Die Verfügbarkeit der Ergebnisse der Amplifikation der Kontrollen mit dem Status „Approved“ (Genehmigt) wird im Fenster „Controls“ (Kontrollen) auf der grafischen Benutzeroberfläche angezeigt. Fehlen die Ergebnisse des Amplifikationslaufs für Kontrollen, so sind sie wie oben beschrieben zu generieren.

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

Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel
Reagenz für die DNA-Amplifikation in
Echtzeit

REF RTS553ING

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

1) Positivkontrolle	„Status“
RB Positive Control	APPROVED (Genehmigt)
2) Negativkontrolle	„Status“
RB Negative Control	APPROVED (Genehmigt)

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

Die möglichen Ergebnismeldungen einer Probe sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt. Die verschiedenen Gene werden bzw. werden nicht in Kombination nachgewiesen.

Ergebnis des Probenlaufs	Interpretation
Legio: DNA Detected. (Legio:DNA Erkannt.)	In der Probe wurde Legionella pneumophila-DNA nachgewiesen .
Mpneu: DNA Detected. (Mpneu:DNA Erkannt.)	In der Probe wurde Mycoplasma pneumoniae-DNA nachgewiesen .
Cpneu: DNA Detected. (Cpneu:DNA Erkannt.)	In der Probe wurde Chlamydomphila pneumoniae-DNA nachgewiesen .
Legio: DNA Not Detected or below LoD (Legio:DNA Nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze).	In der Probe wurde keine Legionella pneumophila-DNA nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf diese Gene getestet oder ihre Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
Mpneu: DNA Not Detected or below LoD (Mpneu:DNA Nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze).	In der Probe wurde die keine Mycoplasma pneumoniae-DNA nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf dieses Gen getestet oder seine Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
Cpneu: DNA Not Detected or below LoD (Cpneu:DNA Nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze).	In der Probe wurde keine Chlamydomphila pneumoniae-DNA nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf dieses Gen getestet oder seine Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
Invalid - Retest Sample (Ungültig - Probe erneut testen).	Ungültiges Testergebnis aufgrund von fehlerhafter interner Kontrolle (falsche Extraktion oder Verschleppung des Inhibitors).

Nicht für die Ergebnisinterpretation geeignete Proben werden von der ELITE InGenius Software als „Invalid - Retest Sample“ (Ungültig - Probe erneut testen) ausgegeben. In diesem Fall wurde die Internal Control DNA aufgrund von Problemen beim Amplifikations- oder Extraktionsschritt nicht effizient erkannt (Abbau von DNA, Verlust von DNA während der Extraktion oder Verschleppung von Inhibitoren im Eluat), was zu falschen und falsch-negativen Ergebnissen führen kann.

Wenn das Eluatvolumen ausreicht, kann die extrahierte Probe mithilfe eines Amplifikationslaufs im Modus „PCR Only“ (nur PCR) erneut getestet werden. Ist auch das zweite Ergebnis ungültig, muss die Probe beginnend mit der Extraktion eines neuen Aliquots im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) erneut getestet werden.

Proben, die sich für die Analyse eignen, in denen jedoch keine *Legionella pneumophila*-, *Mycoplasma pneumoniae*- und *Chlamydomphila pneumoniae*-DNA erkannt werden konnte, werden ausgegeben mit: „Not Detected or below LoD“ (Nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze). In diesem Fall kann nicht ausgeschlossen werden, dass die DNA bei einer Konzentration unter der Nachweisgrenze des Tests vorhanden ist (siehe „Leistungsmerkmale“).

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

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

C. Ausgabe des Probenergebnisberichts

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

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

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

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

LEISTUNGSMERKMALE

Nachweisgrenze (LoD)

Zur Verifizierung der für respiratorische Proben in Verbindung mit dem System ELITE InGenius angewandten Nachweisgrenze (LoD) dieses Assays wurden serielle Verdünnungen von Plasmiden, welche die Zielsequenz für jeden Erreger des Multiplex-Assays enthielten (80.000-40.000-20.000-10.000-5.000-2.500-1.250-625-312 Kopien/ml), getestet.

Die absolute LoD aus den Ergebnissen der 10 Wiederholungen der seriellen Plasmidverdünnungen wurde als der letzte Verdünnungsschritt definiert, bei dem 100 % der Replikate als positiv erkannt werden.

Die LoD-Werte sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Nachweisgrenze bei respiratorischen Proben und dem ELITE InGenius System (Kopien/ml)	
Target	LoD (Kopien/ml)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> (Mpneu)	625
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i> (Cpneu)	1.250
<i>Legionella pneumophila</i> (Lpneu)	5.000

Außerdem wurde mittels Regressionsanalyse die analytische Sensitivität analysiert. Zur Berechnung des Regressionskoeffizienten R² und der Steigung wurde eine lineare Regression an Plasmid-Verdünnungsreihen durchgeführt. Die R²-Werte für alle vier Erreger lagen über 0,98, was die gute Linearität des Nachweises in diesem Verdünnungsbereich belegt.

Wiederholpräzision

Zum Testen der Wiederholpräzision, d. h. die Intra-Lauf-Ungenauigkeit, dieses Assays in Verbindung mit dem ELITE InGenius System wurden für jeden Erreger 10 Wiederholungen einer charakterisierten klinischen Probe (10 x LoD und 3 x LoD) durchgeführt, die durch Extraktion und das PCR-Verfahren mit demselben Bediener, denselben Reagenzienchargen, demselben Gerät und in derselben Umgebung getestet wurden.

Die Datenanalyse des Intra-Assays zeigt eine gute Wiederholpräzision der Ergebnisse mit einem Variationskoeffizienten von weniger als 4 % für jede Erregerprobe und für jede Konzentration (10 x LoD und 3 x LoD).

Die Ergebnisse sind nachfolgend zusammengefasst.

Wiederholpräzision des Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel					
Probe	Konzentration	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% positiv
Legio_sample1	10xLoD	30,5	0,2	0,5	100
Legio_sample1	3xLoD	32,5	0,3	0,8	100
Mpneu_sample4	10xLoD	30,6	0,3	0,9	100
Mpneu_sample4	3xLoD	32,6	0,5	1,4	100
Cpneu_sample1	10xLoD	31,1	0,6	1,9	100
Cpneu_sample1	3xLoD	33,7	1,3	3,7	100

Vergleichspräzision

Die Vergleichspräzision als „Charge-zu-Charge“- , „Gerät-zu-Gerät“- und „Standort-zu-Standort“- Variabilität dieses Assays in Verbindung mit dem ELITE InGenius-System wurde mit denselben Proben und denselben Reagenzienchargen, jedoch mit unterschiedlichen Bedienern und Geräten, zu unterschiedlichen Zeiten und in unterschiedlichen Laboren ermittelt.

Die Präzision wurde auf der Grundlage statistischer Messungen der Ungenauigkeit, wie Standardabweichung (SD) und Variationskoeffizient (VK%), ausgedrückt. Die Analyse des Inter-Assays ergab für jede Erregerprobe und für jede Konzentration eine gute Vergleichspräzision der Ergebnisse mit VK-Werten kleiner oder gleich 3,0 %.

Die Ergebnisse sind nachfolgend zusammengefasst.

Vergleichspräzision des Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel					
Probe	Konzentration	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% positiv
Legio_sample1	10xLoD	30,4	0,6	2,0	100
Legio_sample1	3xLoD	32,7	0,3	1,0	100
Mpneu_sample4	10xLoD	30,8	0,5	1,7	100
Mpneu_sample4	3xLoD	33,2	1,0	3,0	100
Cpneu_sample1	10xLoD	30,4	0,8	2,7	100
Cpneu_sample1	3xLoD	32,3	0,5	1,6	100

Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel
Reagenz für die DNA-Amplifikation in
Echtzeit

REF RTS553ING

Test der analytischen Spezifität und des Referenzmaterials

Die Spezifität des Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel in Verbindung mit dem ELITE InGenius-System wurde bewertet, indem eine Extraktion und ein PCR-Prozess an den Panels LPDNA15 und CP.MP16 QCMD vorgenommen wurden.

Dieser Assay ist imstande, den vollen Score des QCMD-Panels zu erhalten, ohne von einer Kreuzreaktivität durch verwandte oder potenziell störende Nukleinsäuren oder von probenbezogenen Bedingungen betroffen zu sein. Als einzige Probe fehlte CP.MP16-06, eine selten erkannte „Veranschaulichungsprobe“.

Die Ergebnisse sind nachfolgend zusammengefasst.

Probe	Beschreibung	Probenstatus	Ct-Wert		
			Legio	Mpneu	Cpneu
LPDNA15-01	<i>L. pneumophila</i> sg1	erkannt	34,5	neg	neg
LPDNA15-02	<i>L. pneumophila</i> sg6	erkannt	29,6	neg	neg
LPDNA15-03	<i>L. pneumophila</i> sg1	häufig erkannt	31,0	neg	neg
LPDNA15-04	<i>L. pneumophila</i> sg1	häufig erkannt	27,4	neg	neg
LPDNA15-05	<i>L. longbeachae</i>	n. z.	26,4*	neg	neg
LPDNA15-06	negativ	negativ	neg	neg	neg
LPDNA15-07	<i>L. pneumophila</i> sg1	häufig erkannt	27,4	neg	neg
LPDNA15-08	<i>L. pneumophila</i> sg1	häufig erkannt	30,5	neg	neg
LPDNA15-09	<i>L. pneumophila</i> sg3	häufig erkannt	28,6	neg	neg
LPDNA15-10	negativ	negativ	neg	neg	neg
CP.MP16-02	<i>M. pneumoniae</i>	selten erkannt	neg	36,8	neg
CP.MP16-03	<i>M. pneumoniae</i>	erkannt	neg	31,1	neg
CP.MP16-05	<i>M. pneumoniae</i>	häufig erkannt	neg	27,8	neg
CP.MP16-06	<i>C. pneumoniae</i>	selten erkannt	neg	neg	neg (2/2)
CP.MP16-07	<i>C. pneumoniae</i>	häufig erkannt	neg	neg	32,2
CP.MP16-08	<i>M. pneumoniae</i>	häufig erkannt	neg	29,1	neg
CP.MP16-09	negativ	negativ	neg	neg	neg
CP.MP16-10	<i>M. pneumoniae</i>	erkannt	neg	31,3	neg

* Das Produkt ist in der Lage, auch die DNA von *Legionella longbeachae* zu erkennen; die Leistungen bei diesem Target sind nicht vollständig definiert.

Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel
Reagenz für die DNA-Amplifikation in
Echtzeit

REF RTS553ING

Die Spezifität wurde auch anhand von etwa 80 klinischen Proben, die Bakterien, Parasiten und Viren enthielten, bewertet. Es wurden keine anderen als die erwarteten Erreger nachgewiesen.

Die Ergebnisse sind nachfolgend zusammengefasst.

Erreger (Viren)	Ergebnis
Adenovirus	negativ
Astrovirus	negativ
Coronavirus 229	negativ
Coronavirus 43	negativ
Coronavirus 63	negativ
Cytomegalovirus	negativ
Enterovirus	negativ
Epstein-Barr-Virus	negativ
Herpes-simplex-Virus 1	negativ
Herpes-simplex-Virus 2	negativ
Humanes Herpesvirus 6	negativ
Humanes Herpesvirus 7	negativ
Humanes Metapneumovirus	negativ
Influenza-A-Virus	negativ
Influenza-B-Virus	negativ
Masernvirus	negativ
Mumpsvirus	negativ
Norovirus G1	negativ
Norovirus G2	negativ
Parainfluenzavirus 1	negativ
Parainfluenzavirus 2	negativ
Parainfluenzavirus 3	negativ
Parainfluenzavirus 4	negativ
Parvovirus B19	negativ
Polyomavirus 1 (BKV)	negativ
Respiratorisches Synzytialvirus A	negativ
Respiratorisches Synzytialvirus B	negativ
Rhinovirus	negativ
Rotavirus	negativ
Sapovirus	negativ
Varicella-Zoster-Virus	negativ

Pathogen (Bakterien und Parasiten)	Ergebnis	Pathogen (Bakterien und Parasiten)	Ergebnis
<i>Aeromonas hydrophila</i>	negativ	<i>Legionella pneumophila</i>	positiv
<i>Bacillus spp.</i>	negativ	<i>Legionella ansia</i>	negativ
<i>Bifidobacterium</i>	negativ	<i>Listeria monocytogenes</i>	negativ
<i>Bordetella pertussis</i>	negativ	<i>Moraxella catarrhalis</i>	negativ
<i>Campylobacter jejuni</i>	negativ	<i>Morganella morganii</i>	negativ
<i>Campylobacter coli</i>	negativ	<i>Mycoplasma genitalium</i>	negativ
<i>Chlamydia trachomatis</i>	negativ	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	positiv
<i>Citrobacter freundii</i>	negativ	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	negativ
<i>Clostridium difficile</i>	negativ	<i>Proteus mirabilis</i>	negativ
<i>Clostridium perfringens</i>	negativ	<i>Proteus vulgaris</i>	negativ
EHEC vtx+	negativ	<i>Rhodococcus equi</i>	negativ
EIEC	negativ	<i>Salmonella typhimurium</i>	negativ
<i>Enterococcus faecalis</i>	negativ	<i>Shigella boydii</i>	negativ
EPEC	negativ	<i>Staphylococcus aureus</i>	negativ
ETEC	negativ	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	negativ
<i>Haemophilus influenzae</i>	negativ	<i>Treponema pallidum</i>	negativ
<i>Hafnia alvei</i>	negativ	<i>Vibrio cholerae</i>	negativ
<i>Klebsiella oxytoca</i>	negativ	<i>Yersinia enterocolitica</i>	negativ
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	negativ		

Diagnostische Sensitivität: Bestätigung positiver Proben

Die diagnostische Sensitivität des Assays zur Bestätigung positiver klinischer Proben wurde durch Testen einer Reihe künstlich hergestellter Proben bewertet, wobei die Ziel-DNA aus dem Referenzmaterial in verschiedene negative Proben verdünnt wurde.

Die Ergebnisse sind in der nachfolgenden Tabelle zusammengefasst.

Probe	Anzahl	Positiv	Negativ	Ungültig
<i>Legionella-pneumophila</i> -positive BAL	30	30	0	0
<i>Mycoplasma-pneumoniae</i> -positive BAL	30	30	0	0
<i>Mycoplasma-pneumoniae</i> -positive BAL	30	30	0	0

Bei diesem Test lag die diagnostische Sensitivität bei 100 % für *Legionella pneumophila*, 100 % für *Mycoplasma pneumoniae* und 100 % für *Chlamydomphila pneumoniae*.

Diagnostische Spezifität: Bestätigung negativer Proben

Die diagnostische Spezifität des Assays zur Bestätigung negativer klinischer Proben wurde durch Testen einer Reihe archivierter Proben von verschiedenen negativen Patienten bewertet.

Die Ergebnisse sind in der nachfolgenden Tabelle zusammengefasst.

Probe	Anzahl	Positiv	Negativ	Ungültig
<i>Legionella-pneumophila</i> -negative BAL	34	0	34	0
<i>Mycoplasma-pneumoniae</i> -negative BAL	34	0	34	0
<i>Chlamydomphila-pneumoniae</i> -negative BAL	34	0	34	0

Bei diesem Test lag die diagnostische Spezifität bei 100 % für *Legionella pneumophila*, 100 % für *Mycoplasma pneumoniae* und 100 % für *Chlamydomphila pneumoniae*.

Außerdem wurden die klinischen Proben zuvor positiv auf andere Erreger von Atemwegserkrankungen (RSV A und B, Influenza A und B, Parainfluenza 1, 2, 3, 4, Adenovirus, Metapneumovirus, Enterovirus, Coronavirus QC43, 229E, NL63, Rhinovirus und Bocavirus), Pneumocystis, HHV7, HSV1, HHV6, EBV und CMV getestet und zeigten die Abwesenheit von Kreuzreaktivität, da keine positiven Signale erkannt wurden.

Hinweis: Die vollständigen Daten und Ergebnisse der Tests, die zur Bewertung der Leistungsmerkmale des Produkts mit Matrizes und dem Gerät durchgeführt wurden, sind in der technischen Produktdokumentation „Respiratory Bacterial ELiTe MGB® Panel“, FTP RTS553ING, aufgeführt.

GRENZEN DES VERFAHRENS

Dieses Produkt darf nur mit DNA verwendet werden, die aus klinischen respiratorischen Proben (BAL, bronchoalveoläre Lavage) extrahiert wurde.

Es liegen keine Daten zu einer Inhibition durch antivirale, antibiotische, chemotherapeutische oder immunosupprimierende Medikamente vor.

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

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

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

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

Dieses Produkt darf nur von qualifiziertem Personal, das im Umgang mit molekularbiologischen Techniken, wie Extraktion, Amplifikation und Nachweis von Nukleinsäuren geschult ist, verwendet werden. Dadurch sollen falsche Ergebnisse vermieden werden.

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

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

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

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

Mögliche Störeffekte durch bestimmte Patientenzustände können falsche Ergebnisse verursachen.

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

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

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

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

FEHLERBEHEBUNG

Ungültige Reaktion der Positivkontrolle	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Einstellfehler des Geräts.	Position des PCR Mix und der Positive Control kontrollieren. Volumina des PCR Mix und der Positive Control kontrollieren.
Abbau der Positive Control.	Ein neues Aliquot der Positive Control verwenden.
Abbau des PCR Mix.	Ein neues Aliquot mit PCR Mix verwenden.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Ungültige Reaktion der Negativkontrolle	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Einstellfehler des Geräts.	Position des PCR Mix und der Negativkontrolle kontrollieren. Volumina des PCR Mix und der Negativkontrolle kontrollieren.
Kontamination der Negativkontrolle.	Ein neues Aliquot hochreines Wasser für die Molekularbiologie verwenden.
Kontamination des PCR Mix.	Ein neues Aliquot mit PCR Mix verwenden.
Kontamination des Extraktionsbereichs, von Racks oder des „Inventory Block“ (Bestandsmanager)	Oberflächen mit wässrigen Reinigungsmitteln reinigen, Laborkittel waschen, verwendete Teströhrchen und Spitzen austauschen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Ungültige Probenreaktion	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Einstellfehler des Geräts.	Position des PCR Mix und der Probe kontrollieren. Volumina des PCR Mix und der Probe kontrollieren.
Abbau des PCR Mix.	Ein neues Aliquot mit PCR Mix zubereiten.
Inhibition durch die Probe störende Substanzen.	Amplifikation der eluierten Probe mit einer 1:2-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „PCR Only“-Lauf (nur PCR) wiederholen. Extraktion mit einer 1:2-Verdünnung der Probe in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „Extract + PCR“-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

SYMBOLE

-  Katalognummer.
-  Temperaturobergrenze.
-  Chargenbezeichnung.
-  Verfallsdatum (letzter Tag des Monats).
-  Erfüllt die Anforderungen der Europäischen Richtlinie 98/79/EG über *In-vitro*-Diagnostika. Zertifizierung ausgestellt von DEKRA Certification B.V., Niederlande.
-  Ausreichend für „N“ Tests
-  Achtung, Gebrauchsanweisung beachten.
-  Inhalt.
-  Vor Sonneneinstrahlung schützen.
-  Hersteller.

Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel
Reagenz für die DNA-Amplifikation in
Echtzeit

REF RTS553ING

**HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE
LIZENZ**

MGB® TaqMan™ Nachweisreagenzien sind durch eines oder mehrere der US-Patente mit den Nummern 6,127,121, 6,485,906, 6,660,845, 6,699,975, 6,727,356, 6,790,945, 6,949,367, 6,972,328, 7,045,610, 7,319,022, 7,368,549, 7,381,818, 7,662,942, 7,671,218, 7,715,989, 7,723,038, 7,759,126, 7,767,834, 7,897,736, 8,008,522, 8,067,177, 8,163,910, 8,389,745, 8,969,003, 8,980,855, 9,056,887, 9,085,800 und 9,169,256 und der EP-Patente mit den Nummern 0819133, 1068358, 1144429, 1232157, 1261616 1430147, 1781675, 1789587, 1975256 und 2714939 sowie durch anhängige Patentanmeldungen geschützt.

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

„ELITE MGB® und das ELITE MGB®-Logo sind von der ELITechGroup eingetragene Marken in der Europäischen Union.

ELITE InGenius® ist eine eingetragene Marke der ELITechGroup.

TaqMan™ ist eine Marke von Roche Molecular Systems, Inc.