



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

Uffici: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76 11
E-mail: emd.support@elitechgroup.com
Sito internet: www.elitechgroup.com

NOTICE of CHANGE dated 13/01/2026

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«Respiratory Viral PLUS ELITE MGB® Kit» Ref. RTS160ING

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

- Replacement of 2mL tube 953-217 and white cap 953-223 with 2mL tube 953-065 related to PCR Mix component tubes.
- Update of the paragraph "Symbols" with the symbol "Consult instructions for use".
- Update of the paragraph "Notice to purchaser: limited license".

Composition and use of the product remain unchanged.

PLEASE NOTE



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



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



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



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



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



DIESE FASSUNG DER GEBRAUCHSANLEITUNG IST KOMPATIBEL MIT DER VORHERIGEN VERSION DES TESTKITS

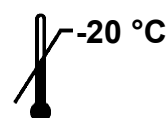


ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185
10149 Torino ITALIEN
Hauptniederlassung: Tel. +39-011 976 191
Fax +39-011 936 76 11
E-Mail: emd.support@elitechgroup.com
Website: www.elitechgroup.com

Respiratory Viral PLUS ELITe MGB® Kit

Reagenzien für die reverse RNA-Transkription und
die cDNA-Echtzeit-Amplifikation

REF RTS160ING



INHALT

VERWENDUNGSZWECK	Seite 1
TESTPRINZIPIEN	Seite 2
PRODUKTBESCHREIBUNG	Seite 3
IM LIEFERUMFANG DES PRODUKTS ENTHALTENE MATERIALIEN	Seite 3
BENÖTIGTE MATERIALIEN (NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN)	Seite 3
SONSTIGE BENÖTIGTE PRODUKTE	Seite 4
WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN	Seite 4
PROBEN UND KONTROLLEN	Seite 5
VERFAHREN	Seite 6
LEISTUNGSMERKMALE	Seite 13
QUELLENANGABEN	Seite 17
GRENZEN DES VERFAHRENS	Seite 18
FEHLERBEHEBUNG	Seite 19
SYMBOLS	Seite 21
HINWEIS AN DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ	Seite 22

VERWENDUNGSZWECK

Das Produkt „Respiratory Viral PLUS ELITe MGB® Kit“ ist Teil eines qualitativen Multiplex-Nukleinsäure-RT- (reverse Transkription) und Amplifikationstests zum Nachweis und zur Identifizierung der RNA von **Influenza A Virus (FluA)**, **Influenza B Virus (FluB)**, **Respiratory Syncytial Virus (RSV)** und **humam Metapneumovirus (hMPV)** in klinischen Proben.

Der Test ist validiert in Kombination mit dem System **ELITe InGenius®** sowie mit Nasen-/Rachenabstrichen und Proben aus bronchoalveolären Lavagen (BAL).

Das Produkt ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Diagnose von Atemwegsinfektionen in Kombination mit den klinischen Daten und weiteren Laborbefunden des Patienten bestimmt.

TESTPRINZIPIEN

Der Test besteht aus einer Multiplex-RT- (reverse Transkription) und Echtzeit-Amplifikationsreaktion (Ein-Schritt-Methode).

Ausgehend von aus den einzelnen zu testenden Proben extrahierter RNA werden verschiedene reverse Transkriptions- und Amplifikationsreaktionen in der PCR-Kassette durchgeführt, um die folgenden Zielsequenzen zu amplifizieren:

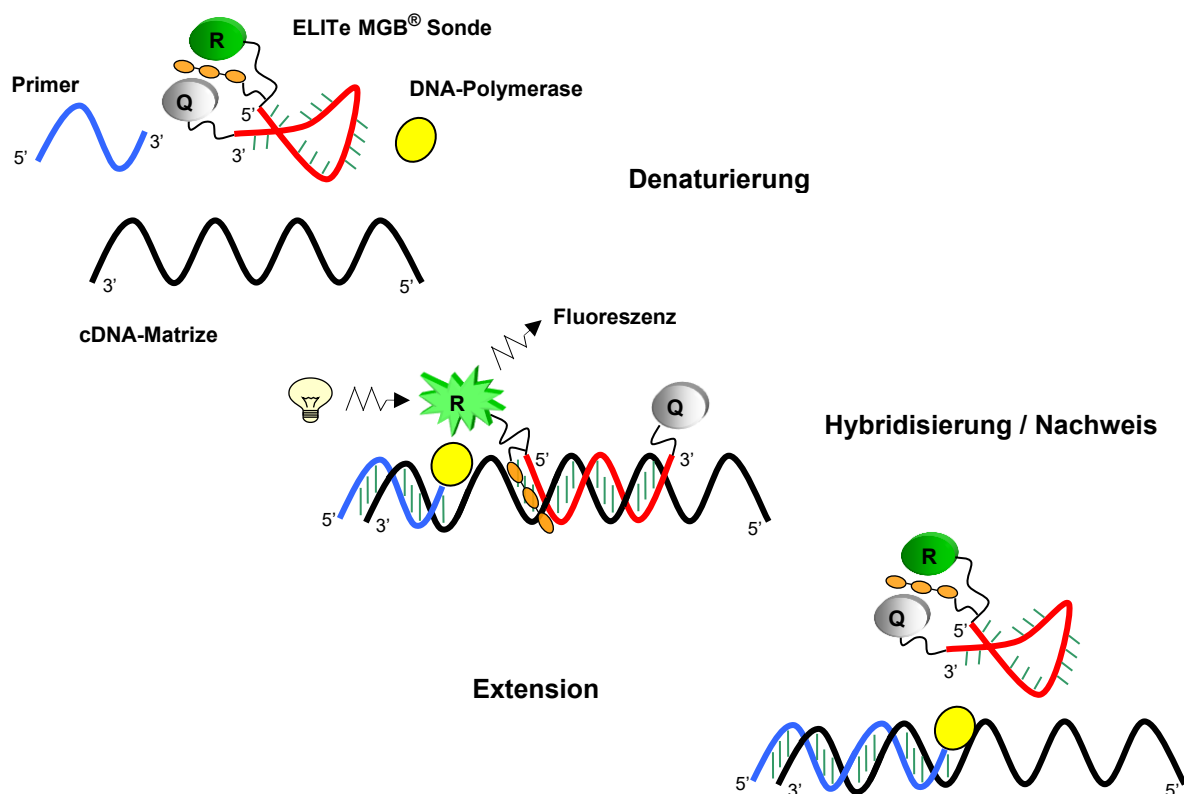
- Matrixprotein-Gensequenz von FluA, nachgewiesen durch die spezifische Sonde in Kanal **FluA** (Kanal 5).
- Matrixprotein-Gensequenz von FluB, nachgewiesen durch die spezifische Sonde in Kanal **FluB** (Kanal 1).
- Matrixprotein-Gensequenz von RSV, nachgewiesen durch die spezifische Sonde in Kanal **RSV** (Kanal 4).
- Fusionsprotein-Gensequenz von hMPV, nachgewiesen durch die spezifische Sonde in Kanal **hMPV** (Kanal 6).

Der PCR Mix amplifiziert außerdem die interne Extraktions- und Inhibitionskontrolle, basierend auf der genomischen RNA des MS2-Phagen und nachgewiesen durch die spezifische Sonde in Kanal **IC** (Kanal 2).

Die mit verschiedenen Fluorophoren markierten Sonden mit ELITE MGB®-Technologie werden aktiviert, wenn sie mit dem spezifischen Produkt der Amplifikationsreaktion hybridisieren. Die Fluoreszenzemission wird vom Gerät gemessen und aufgezeichnet. Am Ende des Amplifikationszyklus werden die Fluoreszenzkurven analysiert, um die Schwellenwertzyklen (Ct) zu identifizieren. Die Ergebnisinterpretation ermöglicht den Nachweis der gesuchten Pathogene in der Ausgangsprobe.

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

In der folgenden Abbildung ist der Mechanismus der Aktivierung und Fluoreszenzemission der ELITE MGB®-Technologie-Sonde zusammenfassend dargestellt. Bitte beachten Sie, dass die Sonde während des Amplifikationszyklus nicht hydrolysiert wird.



PRODUKTBESCHREIBUNG

Das Produkt „**Respiratory Viral PLUS ELITE MGB® Kit**“ umfasst die folgenden Komponenten:

• RV PLUS PCR Mix

Ein optimiertes und stabilisiertes Gemisch aus Oligonukleotiden und Reagenzien für die reverse Transkription und Echtzeit-Amplifikation, das **in vier Teströhrchen voraliquotiert wird** (WEISSER Verschluss). Jedes Röhrchen enthält **600 µl** Lösung, die für **24 Tests** (Verarbeitung von mindestens 5 Proben pro Lauf) zusammen mit **ELITE InGenius** ausreicht.

Der RV PLUS PCR Mix enthält die spezifischen Primer und Sonde für:

- die **Matrixprotein**-Gensequenz von FluA. Die Sonde **FluA** ist mit AP639-Fluorophor markiert, durch die MGB®-Gruppe stabilisiert und durch einen nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht.
- die **Matrixprotein**-Gensequenz von FluB. Die Sonde **FluB** ist mit FAM-Fluorophor markiert, durch die MGB®-Gruppe stabilisiert und durch einen nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht.
- die **Matrixprotein**-Gensequenz von RSV. Die Sonde **RSV** ist mit AP593-Fluorophor markiert, durch die MGB®-Gruppe stabilisiert und durch einen nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht.
- die **Fusionsprotein**-Gensequenz von hMPV. Die Sonde **hMPV** ist mit AP690-Fluorophor markiert, durch die MGB®-Gruppe stabilisiert und durch einen nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht.
- die genomische RNA-Sequenz des **MS2-Phagen** der exogenen internen Kontrolle (IC). Die Sonde **IC** ist mit AP525-Fluorophor markiert, durch die MGB®-Gruppe stabilisiert und durch einen nicht fluoreszierenden Anteil ausgelöscht.

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

• RT EnzymeMix

Ein optimiertes und stabilisiertes Gemisch aus Enzymen zur reversen Transkription, **voraliquotiert in zwei Teströhrchen** (Verschluss mit SCHWARZEM Einsatz). Jedes Röhrchen enthält **20 µl** Lösung, die für **48 Tests** zusammen mit **ELITE InGenius** ausreicht.

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

IM LIEFERUMFANG DES PRODUKTS ENTHALTENE MATERIALIEN

Komponente	Beschreibung	Menge	Gefahrenklasse
RV PLUS PCR Mix	Gemisch aus Reagenzien für die reverse Transkription und Echtzeit-Amplifikation NATURFARBENEM Verschluss	4 x 600 µl	-
RT EnzymeMix	Reverse Transkriptase 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.
- Tisch-Mikrozentrifuge (12.000–14.000 U/min).
- Mikropipetten und sterile Spitzen mit Aerosolfilter oder sterile Direktverdrängerspitzen (2–20 µl, 5–50 µl, 50–200 µl, 200–1000 µl).
- Sarstedt 2,0-ml-Röhrchen mit Schraubverschluss (Sarstedt Art.-Nr. 72.694.005).
- Hochreines Wasser für die Molekularbiologie.

SONSTIGE BENÖTIGTE PRODUKTE

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

Für die automatische RNA-Extraktion, reverse Transkription, Echtzeit-Amplifikation und Ergebnisinterpretation werden das Gerät „**ELITE InGenius®**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT030) und die folgenden spezifischen Assay Protocols (ELITechGroup S.p.A.) benötigt:

- Parameter für die Amplifikation der Positivkontrolle „**RV PLUS ELITE_PC**“,
- Parameter für die Amplifikation der Negativkontrolle „**RV PLUS ELITE_NC**“,
- Parameter für zu analysierende Nasen-/Rachenabstrichproben „**RV PLUS ELITE_RsS_200_100**“,
- Parameter für zu analysierende BAL-Proben „**RV PLUS ELITE_BAL_200_100**“,

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

- Extraktionskartuschen „**ELITE InGenius® SP 200**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT032SP200),
- Verbrauchsmaterialien für die Extraktion „**ELITE InGenius® SP 200 Consumable Set**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT032CS),
- Amplifikationskassetten „**ELITE InGenius® PCR Cassette**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. INT035PCR),
- Spitzen „**300 µl Filter Tips Axygen**“ (Axygen BioScience Inc., CA, Art.-Nr. TF-350-L-R-S),
- Abfallboxen „**ELITE InGenius® Waste Box**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. F2102-000).

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

Als Vorlage für die Amplifikations-Positivkontrolle wird das Produkt „**Respiratory Viral PLUS - ELITE Positive Control**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. CTR160ING), benötigt. Dabei handelt es sich um eine stabilisierte Lösung, die Plasmid-DNAs enthält.

Als Entnahmeverrichtung für Nasen-/Rachenabstrichproben wird das generische Produkt „**UTM® kit**“ (COPAN Italia S.p.A., Art.-Nr. 360C oder 305C) oder eine entsprechende Vorrichtung benötigt.

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

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

Allgemeine Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

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

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

Geeignete Schutzkleidung und Schutzhandschuhe sowie Augen-/Gesichtsschutz tragen.

Lösungen niemals mit dem Mund pipettieren.

Essen, Trinken, Rauchen und Schminken sind in den Arbeitsbereichen verboten.

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

Restliche Reagenzien und Abfälle gemäß den geltenden Vorschriften entsorgen.

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

Bei der Durchführung des Tests die dem Produkt beiliegenden Anweisungen befolgen.

Das Produkt nicht nach dem angegebenen Ablaufdatum verwenden.

Nur die mit dem Produkt mitgelieferten bzw. von den Herstellern 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 qualifiziertem und geschultem Personal durchgeführt werden, um das Risiko von fehlerhaften Ergebnissen zu vermeiden. Dies gilt insbesondere angesichts des Abbaus von in den Proben enthaltenden Nukleinsäuren sowie der Kontamination der Proben durch Amplifikationsprodukte.

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

Die Bereiche für molekularbiologische Tests und für Tests von mikrobiologischen Kulturen müssen räumlich getrennt sein. Flüssiges oder festes Kulturmedium niemals in dem für Extraktions-/Amplifikationsreaktionen vorbehaltenen Bereich handhaben.

Die Proben müssen für diese Analyseart geeignet und, falls möglich, dafür vorgesehen sein. Proben müssen unter einer Laminar-Flow-Haube gehandhabt werden. Pipetten, die für die Handhabung von Proben verwendet werden, dürfen nur für diesen spezifischen 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 Reagenzien müssen unter einer Laminar-Flow-Haube gehandhabt werden. Die für die reverse Transkription und Amplifikation benötigten Reagenzien müssen so vorbereitet werden, dass sie in einem einzelnen Lauf verwendet werden können. Die Pipetten, die für die Handhabung der Reagenzien verwendet werden, dürfen nur 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-Kassetten müssen so gehandhabt werden, dass eine Verbreitung des Amplifikationsprodukts in die Umgebung weitestgehend reduziert wird, um eine Proben- und Reagenzienkontamination zu vermeiden.

Komponentenspezifische Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Der **RV PLUS PCR Mix** muss bei -20 °C dunkel aufbewahrt werden.

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

RT EnzymeMix

Der **RT EnzymeMix** muss bei -20 °C aufbewahrt werden.

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

Nasen-/Rachenabstrich

Die Nasen-/Rachenabstrichproben für die Nukleinsäureextraktion müssen gemäß den Laborrichtlinien in UTM entnommen werden. Außerdem dürfen sie maximal 24 Stunden bei Raumtemperatur (+18 bis +25 °C) bzw. maximal fünf Tage bei +2 bis +8 °C transportiert und aufbewahrt werden; anderenfalls müssen sie tiefgefroren bei -20 °C für maximal einen Monat oder bei -70 °C für längere Zeit aufbewahrt werden. Die 200 µl Medium müssen in das im „ELITE InGenius SP 200 Consumable Set“ enthaltene Ultraschallröhrchen überführt werden.

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

Hinweis: Das Pipettieren aus dem Abstrich-Primärröhrchen in das Ultraschallröhrchen kann **Kontamination verursachen**. Die geeigneten Pipetten verwenden und alle im Abschnitt „Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen“ aufgeführten Empfehlungen befolgen.

Hinweis: Für die Durchführung der RNA-Extraktion aus Nasen-/Rachenabstrichen mit dem ELITE InGenius System und ELITE InGenius Software Version 1.3 (oder spätere Versionen) das Assay Protocol **RV PLUS ELITE_RsS_200_100** verwenden. Dieses Protokoll verarbeitet 200 µl Probe, fügt den **CPE** (interne Kontrolle) bei 10 µl pro Extraktion hinzu und eluiert die Nukleinsäuren in 100 µl.

Bronchoalveoläre Lavage (BAL)

Proben aus bronchoalveolären Lavagen (BAL) müssen gemäß den Laborrichtlinien in steriler physiologischer Lösung oder steriler PBS entnommen werden. Außerdem dürfen sie maximal 24 Stunden bei Raumtemperatur (+18 bis +25 °C) bzw. maximal fünf Tage bei +2 bis +8 °C transportiert und aufbewahrt werden; anderenfalls müssen sie tiefgefroren bei -20 °C für maximal einen Monat oder bei -70 °C für längere Zeit aufbewahrt werden. Die 200 µl Medium müssen in das im „ELITE InGenius SP 200 Consumable Set“ enthaltene Ultraschallröhrchen überführt 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: Das Pipettieren aus dem Abstrich-Primärröhrchen in das Extraktionsröhrchen kann **Kontamination verursachen**. Die geeigneten Pipetten verwenden und alle im Abschnitt „Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen“ aufgeführten Empfehlungen befolgen.

Hinweis: Für die Durchführung der RNA-Extraktion aus BAL mit dem **ELITE InGenius** System und der **ELITE InGenius Software** Version 1.3 (oder spätere Versionen) das Assay Protocol **RV PLUS ELITE_BAL_200_100** verwenden. Dieses Protokoll verarbeitet 200 µl Probe, fügt den **CPE** (interne Kontrolle) bei 10 µl pro Extraktion hinzu und eluiert die Nukleinsäuren in 100 µl.

Störende Substanzen

Bei humaner genomischer DNA und/oder RNA in Mengen von über 1 µg pro Reaktion können die reverse Transkriptionsreaktion und die Echtzeit-Amplifikation gehemmt werden.

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

Amplifikationskontrollen

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

- als Amplifikations-Positivkontrolle ist das Reagenz **Respiratory Viral PLUS – ELITE Positive Control** (nicht im Lieferumfang dieses Kits enthalten) zusammen mit dem Assay Protocol **RV PLUS ELITE_PC** zu verwenden,
- als Amplifikations-Negativkontrolle ist hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) zusammen mit dem Assay Protocol „**RV PLUS 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 verwendeten Amplifikationsreagenzcharge erneut verarbeitet werden.

Darüber hinaus müssen die Amplifikationskontrollen erneut verarbeitet werden, wenn:

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

Qualitätskontrollen

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

VERFAHREN

Das beim Gebrauch des **Respiratory Viral PLUS ELITE MGB® Kit** mit dem System **ELITE InGenius** anzuwendende Verfahren besteht aus drei Schritten:

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

Prüfung der Systembereitschaft

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

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

Die für das Testen von Proben mit dem Produkt **Respiratory Viral PLUS ELITE MGB® Kit** verfügbaren Assay Protocols sind in der nachfolgenden Tabelle beschrieben.

Assay Protocol für Respiratory Viral ELITE MGB® Kit			
Name	Matrix	Bericht	Eigenschaften
RV PLUS ELITE_RsS_200_100	Nasen- /Rachenabstrich	Positiv/ negativ	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Eluatvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 10 µl
RV PLUS ELITE_BAL_200_100	BAL	Positiv/ negativ	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Eluatvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 10 µl

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

Einrichtung des Laufs

Das Produkt **Respiratory Viral PLUS ELITE MGB® Kit** kann mit dem System **ELITE InGenius** für die Durchführung der folgenden Läufe verwendet werden:

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

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

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

Vor Beginn des Laufs ist es unbedingt notwendig, Folgendes durchzuführen:

1. Falls erforderlich die Teströhrchen mit den zu analysierenden Proben auf Raumtemperatur (+18 bis 25 °C) auftauen. Durch Vortexen bei niedriger Drehzahl 10 Sekunden lang mischen, den Röhrcheninhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und die Röhrchen auf Eis lagern,
2. Die für den Lauf benötigten **RV PLUS PCR Mix** Teströhrchen (WEISSER Verschluss) 30 Minuten bei Raumtemperatur (+18 bis 25 °C) auftauen und daran denken, dass der Inhalt jedes Röhrchens für **24 Tests** ausreicht. Durch Vortexen dreimal bei niedriger Drehzahl 10 Sekunden lang mischen, den Röhrcheninhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und die Röhrchen in einem Kühlblock aufbewahren,
3. Die für den Lauf benötigten **RT EnzymeMix** Röhrchen (SCHWARZER Verschluss) herausnehmen und daran denken, dass der Inhalt jedes Röhrchens für die Einrichtung von **48 Tests** ausreicht. Die Röhrchen vorsichtig schütteln, Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren Röhrchen und in einem Kühlblock aufbewahren.

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

4. Ein 2-ml-Röhrchen mit Schraubverschluss (Sarstedt Art.-Nr. 72.694.005, nicht im Lieferumfang des Kits enthalten) für das **komplette Reaktionsgemisch** zubereiten und erkennbar mit einem Permanentmarker kennzeichnen.
5. Die Volumina der zwei im Kit enthaltenen Komponenten, die für die Zubereitung des **kompletten Reaktionsgemischs** benötigt werden, auf Grundlage der Anzahl an zu analysierenden Proben berechnen, wie in der folgenden Tabelle beschrieben.

Hinweis: Zur Berechnung der Volumina der für die Zubereitung des **kompletten Reaktionsgemischs** zu verwendenden zwei Komponenten müssen die Anzahl der im Lauf zu testenden Proben (N) definiert und die nachfolgende Tabelle beachtet werden.

Probenanzahl (N)	RV PLUS PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{l}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{l}$
$6 \leq N \leq 12$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{l}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{l}$

6. Das **komplette Reaktionsgemisch** zubereiten: dazu die errechneten Volumina der zwei Komponenten in das dafür vorgesehene 2-ml-Röhrchen geben.
7. Dreimal durch **Vortexen bei niedriger Drehzahl** 10 Sekunden lang mischen, das Röhrchen 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und die Röhrchen auf Eis lagern.

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

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

A. Integrierter Lauf

Zur Einrichtung eines integrierten Laufs mit Probenextraktion und -amplifikation führen Sie die folgenden Schritte durch, wie auf der grafischen Benutzeroberfläche angegeben:

1. Die CPE-Röhrchen für den Lauf auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Extraktionen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren.
2. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
3. Sicherstellen, dass das Extraktionseingangsvolumen („Extraction Input Volume“) 200 µl und das extrahierte Eluatvolumen 100 µl beträgt.
4. Für jede relevante Spur unter „Sample ID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.
5. Das zu verwendende Assay Protocol in der Spalte „Assay“ auswählen (z. B. RV PLUS ELITE_RsS_200_100).
6. Sicherstellen, dass unter „Protocol“ (Protokoll) das Protokoll „Extract + PCR“ angezeigt wird.
7. „Sonication Tube“ (Ultraschallröhrchen) als Proben-Ladepositionen in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) auswählen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
8. CPE und **komplettes Reaktionsgemisch** 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.
9. Die Spitzenstände in den unter „Inventory Area“ (Bestandsbereich) ausgewählten Bestandsbereich laden und kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf die Schaltfläche „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
10. Die PCR-Kassetten („PCR Cassettes“), die Extraktionskartuschen „ELITE InGenius SP 200“, alle benötigten Verbrauchsmaterialien und die zu extrahierenden Proben in die unter Schritt 7 angegebenen Positionen laden; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
11. Die Gerätetür schließen.
12. Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

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

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

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

Hinweis: Das komplette Reaktionsgemisch darf am Ende des Laufs **nicht** wiederverwendet oder aufbewahrt werden.

B. Amplifikationslauf

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

1. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
2. Selbst wenn keine Extraktion durchgeführt wird, sicherstellen, dass das Extraktionseingangsvolumen („Extraction Input Volume“) 200 µl und das extrahierte Eluatvolumen 100 µl beträgt.
3. Für jede relevante Spur die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.
4. Das zu verwendende Assay Protocol in der Spalte „Assay“ auswählen (z. B. RV PLUS ELITE_RsS_200_100).
5. In der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) auswählen.
6. Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr. (untere Reihe)) lautet. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
7. Das **komplette Reaktionsgemisch** 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.
8. Die Spitzenstände in den unter „Inventory Area“ (Bestandsbereich) ausgewählten Bestandsbereich laden und kontrollieren; hierzu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche befolgen. Auf „Next“ (Weiter) klicken, um mit der Einrichtung fortzufahren.
9. 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.
10. Die Gerätetür schließen.
11. Auf „Start“ drücken, um den Lauf zu starten.

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

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

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

Hinweis: Das komplette Reaktionsgemisch darf am Ende des Laufs **nicht** wiederverwendet oder aufbewahrt werden.

C. Amplifikationslauf für Positivkontrolle und Negativkontrolle

Zur Einrichtung des Amplifikationslaufs für die Positiv- und Negativkontrolle führen Sie die folgenden Schritte durch, wie auf der grafischen Benutzeroberfläche angegeben:

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

Nach Beendigung des Vorgangs ermöglicht 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 Positivkontrolle aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen, gekennzeichnet und bei -20 °C gelagert werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden. Die übrige Negativkontrolle muss entsorgt werden.

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

Hinweis: Das komplette Reaktionsgemisch darf am Ende des Laufs **nicht** wiederverwendet oder aufbewahrt werden.

Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

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

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

Das System **ELITE InGenius** generiert Ergebnisse mithilfe des Produkts **Respiratory Viral PLUS ELITE MGB® Kit** und geht dabei folgendermaßen vor:

- A. Validierung der Ergebnisse des Amplifikationslaufs für die Positiv- und die Negativkontrolle,
- B. Validierung der Probenergebnisse,
- C. Ausgabe des Probenergebnisberichts.

A. Validierung der Ergebnisse des Amplifikationslaufs für die Positiv- und die Negativkontrolle

Die von den Sonden von Pathogen-Genen (Kanäle **FluA**, **FluB**, **RSV** und **hMPV**) in der Amplifikationsreaktion der Positiv- und Negativkontrolle ausgesendeten Fluoreszenzsignale werden automatisch analysiert und von der Gerätesoftware mit den in den Assay Protocols „RV PLUS ELITE_PC“ und „RV PLUS ELITE_NC“ enthaltenen Parametern interpretiert.

Die Ergebnisse des Amplifikationslaufs für die Positiv- und die Negativkontrolle, 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 Positiv- und die Negativkontrolle laufen **nach 15 Tagen** ab.

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

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

Hinweis: Wird die Positiv- bzw. Negativkontrolle 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 von Pathogen-Genen (Kanäle **FluA**, **FluB**, **RSV** und **hMPV**) und von der Sonde der internen Kontrolle (Kanal **IC**) in den Amplifikationsreaktionen der Probe ausgesendeten Fluoreszenzsignale werden automatisch analysiert und von der Gerätesoftware mit den in den Assay Protocols „RV PLUS ELITE_RsS_200_100“ und „RV PLUS ELITE_BAL_200_100“ enthaltenen Parametern interpretiert.

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

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

1) Positivkontrolle	Status
RV PLUS Positive Control	APPROVED (Genehmigt)
2) Negativkontrolle	Status
RV PLUS Negative Control	APPROVED (Genehmigt)

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

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

Ergebnis des Probenlaufs	Interpretation
FluA: RNA detected (FluA: RNA nachgewiesen).	In der Probe wurde die RNA von FluA nachgewiesen .
FluB: RNA detected (FluB: RNA nachgewiesen).	In der Probe wurde die RNA von FluB nachgewiesen .
RSV: RNA detected (RSV: RNA nachgewiesen).	In der Probe wurde die RNA von RSV nachgewiesen .
hMPV: RNA detected (hMPV: RNA nachgewiesen).	In der Probe wurde die RNA von hMPV nachgewiesen .
FluA: RNA not detected or below LoD (FluA: RNA nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze).	In der Probe wurde die RNA von FluA nicht nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf dieses Pathogen getestet oder seine Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
FluB: RNA not detected or below LoD (FluB: RNA nicht nachgewiesen oder unter Nachweisgrenze).	In der Probe wurde die RNA von FluB nicht nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf dieses Pathogen getestet oder seine Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
RSV: RNA not detected or below LoD (RSV: RNA nicht nachgewiesen oder unter Nachweisgrenze).	In der Probe wurde die RNA von RSV nicht nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf dieses Pathogen getestet oder seine Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
hMPV: RNA not detected or below LoD (hMPV: RNA nicht nachgewiesen oder unter Nachweisgrenze).	In der Probe wurde die RNA von hMPV nicht nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf dieses Pathogen getestet oder seine Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
Invalid - Retest Sample (Ungültig - Probe erneut testen).	Ungültiges Testergebnis aufgrund von fehlerhafter interner Kontrolle wegen falscher Extraktion oder Verschleppung des Inhibitors. Der Test sollte wiederholt werden.

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

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

Proben, die als „FluA: RNA not detected or below LoD“ (FluA: RNA nicht nachgewiesen oder unter Nachweisgrenze), „FluB: RNA not detected or below LoD“, „RSV: RNA not detected or below LoD“ (FluB: RNA nicht nachgewiesen oder unter Nachweisgrenze) und „hMPV: RNA not detected or below LoD“ (hMPV: RNA nicht nachgewiesen oder unter Nachweisgrenze) ausgegeben werden, sind für die Analyse geeignet, es war jedoch nicht möglich, die Ziel-RNA nachzuweisen. In diesem Fall kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Ziel-RNAs bei einer Konzentration unter der Nachweisgrenze des Tests vorhanden sind (siehe „Leistungsmerkmale“).

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

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

C. Export des Probenergebnisberichts

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

Analytische Sensitivität: Nachweisgrenze (LoD)

Die Nachweisgrenze (LoD) des Respiratory Viral PLUS ELITE MGB Kit wurde in Kombination mit Nasen-/Rachenabstrichen in UTM, bronchoalveolären Lavagen (BAL) und dem System ELITE InGenius definiert.

Die Nachweisgrenze wurde durch Testen einer Reihe von in UTM (COPAN Italia S.p.A.) entnommenen Nasen-/Rachenabstrichproben, die mit Referenzmaterial für Influenza-A-Virus (FluA), Influenza-B-Virus (FluB), Respiratorisches Synzytialvirus (RSV) und humanes Metapneumovirus (hMPV) (von Qnostics und Vircell) mit bekanntem Titer dotiert waren, definiert. Beginnend mit einer Konzentration über dem erwarteten LoD-Wert wurden sechs Verdünnungsstufen zubereitet. Jede Verdünnungsstufe wurde in 12 Wiederholungen mit dem ELITE InGenius-System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet. Die LoD wurde mittels Probit-Regressionsanalyse der Daten als die Konzentration geschätzt, bei der eine 95 %ige Wahrscheinlichkeit eines positiven Ergebnisses vorliegt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Nachweisgrenze (Kopien/ml) bei Nasen-/Rachenabstrichproben und ELITE InGenius			
Ziel	LoD	95 % Konfidenzintervall	
		Untergrenze	Obergrenze
FluA	433	318	837
FluB	409	317	725
RSV	359	267	688
hMPV	333	288	496

Der berechnete LoD-Wert wurde durch Testen von 20 Replikaten von Nasen-/Rachenabstrich- und BAL-Proben, die mit den FluA-, FluB-, RSV- und hMPV-Referenzmaterialien (Qnostics und Vircell) in den behaupteten Konzentrationen dotiert waren, verifiziert. Bei den Nasen-/Rachenabstrichproben stützen die erhaltenen Ergebnisse die behaupteten Konzentrationen in Bezug auf FluA, FluB, RSV und hMPV. Bei den BAL-Proben wurde der LoD-Wert für FluB, RSV und hMPV bestätigt, für FluA wurde er bei 500 Kopien/ml verifiziert.

Nachweiseffizienz (Inklusivität)

Die Nachweiseffizienz verschiedener Stämme oder Isolate von FluA, FluB, RSV und hMPV des Produkts Respiratory Viral PLUS ELITE MGB Kit wurde mittels In-silico-Analyse von in der EBI ENA Nukleotid-Datenbank verfügbaren Sequenzen bewertet. Die für die Hybridisierung der Primer ausgewählten Regionen und die Fluoreszenzmarker wurden bei der Anordnung der Sequenzen für das Matrix-Gen (FluA, FluB und RSV) und das Nukleoprotein-Gen (hMPV) überprüft. Die Hybridisierungsregionen wiesen eine Sequenzkonservierung und Abwesenheit signifikanter Mutationen auf, sodass eine effiziente Amplifikation aller analysierten Organismen zu erwarten ist.

Die Nachweiseffizienz verschiedener Stämme oder Isolate von FluA, FluB, RSV und hMPV wurde ebenfalls durch die Analyse einer Reihe zertifizierter, bei niedriger Konzentration (etwa 100 Kopien/Reaktion) getesteter Materialien bewertet.

Zertifizierte Proben von genomischer RNA von der ATCC (USA) und von Zeptomatrix (USA) wurden verdünnt und mit dem System ELITE InGenius im Modus „PCR Only“ (nur PCR) in Dreifachbestimmung analysiert.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Inklusivität				
Proben	Anbieter	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	Ergebnis
FluA H1N1	ATCC	3/3	33,65	Positiv
FluA H3N2	ATCC	3/3	33,49	Positiv
FluA H1N1 (2009)	Zeptomatrix	3/3	30,78	Positiv
FluB Florida (Yamagata)	ATCC	3/3	35,92	Positiv
FluB Wisconsin (Yamagata)	ATCC	3/3	36,22	Positiv
FluB Victoria	Qnostics	3/3	31,07	Positiv
RSVA2	ATCC	3/3	35,84	Positiv
RSVA	Vircell	3/3	36,12	Positiv
RSVB	Vircell	3/3	31,12	Positiv
hMPVA	Zeptomatrix	3/3	33,39	Positiv
hMPVB	Zeptomatrix	3/3	32,46	Positiv

Alle getesteten Proben wurden mit dem Respiratory Viral PLUS ELITE MGB® Kit positiv auf das richtige Pathogen getestet.

Potenziell interferierende Marker (Kreuzreaktivität)

Die potenzielle Kreuzreaktivität mit anderen ungewollten Organismen des Assays wurde durch den *In-silico*-Vergleich von in den Nukleotid-Datenbanken vorhandenen Sequenzen bewertet.

Die für die Hybridisierung der Primer ausgewählten Regionen und die Fluoreszenzmarker wurden bei der Anordnung der Sequenzen anderer Organismen überprüft. Die Analyse der Hybridisierungsregionen ergab die Abwesenheit signifikanter Homologien und deutete auf keine potenzielle Kreuzreaktivität hin.

Die Abwesenheit von Kreuzreaktivität mit anderen Organismen, die in klinischen Nasen-/Rachenabstrichproben zu finden sind, wurde ebenfalls durch das Testen einer Reihe zertifizierter Referenzmaterialien verifiziert.

Proben von genomischer DNA oder RNA von verschiedenen potenziell interferierenden Markern (ATCC, ZeptoMetrix) wurden mit dem System ELITE InGenius im Modus „PCR Only“ (nur PCR) in drei Wiederholungen analysiert. Zur Nachahmung der extrahierten klinischen Probe wurden die DNAs und RNAs der einzelnen Organismen mit 500 ng humaner genomischer DNA (Promega) pro Reaktion ergänzt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Potenziell interferierende Marker: Kreuzreaktivität		
Organismen	Stamm	Ergebnis
<i>Aspergillus fumigatus</i>	ATCC, 118	Negativ, keine Kreuzreaktivität
<i>Candida albicans</i>	ATCC, 3147	Negativ, keine Kreuzreaktivität
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC, Rosenbach	Negativ, keine Kreuzreaktivität
<i>Escherichia coli</i>	ATCC, H10407	Negativ, keine Kreuzreaktivität
<i>Bordetella pertussis</i>	Tohama I	Negativ, keine Kreuzreaktivität
<i>Bordetella parapertussis</i>	12822	Negativ, keine Kreuzreaktivität
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC, Rd	Negativ, keine Kreuzreaktivität
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC, R6	Negativ, keine Kreuzreaktivität
<i>Legionella pneumophila</i>	ATCC, Philadelphia-1	Negativ, keine Kreuzreaktivität
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	ATCC, FH	Negativ, keine Kreuzreaktivität
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	ATCC, AR-39	Negativ, keine Kreuzreaktivität
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	klinisches Isolat	Negativ, keine Kreuzreaktivität
CMV	ATCC, AD-169	Negativ, keine Kreuzreaktivität
Echovirus 4	ATCC, Pesascek	Negativ, keine Kreuzreaktivität
ADV	ATCC, Adenoid 6	Negativ, keine Kreuzreaktivität
<i>P. jirovecii</i>	klinisches Isolat	Negativ, keine Kreuzreaktivität
SARS-Coronavirus	Zeptomatrix	Negativ, keine Kreuzreaktivität
Coronavirus OC43	Zeptomatrix, OC43	Negativ, keine Kreuzreaktivität
Coronavirus E229	Zeptomatrix, E229	Negativ, keine Kreuzreaktivität
SARS-CoV-2	Zeptomatrix	Negativ, keine Kreuzreaktivität
Rhinovirus 1A	Zeptomatrix, 1A	Negativ, keine Kreuzreaktivität
Parainfluenza Virus 1	Zeptomatrix, Type 1	Negativ, keine Kreuzreaktivität
Parainfluenza Virus 2	Zeptomatrix, Type 2	Negativ, keine Kreuzreaktivität
Parainfluenza Virus 3	Zeptomatrix, Type 3	Negativ, keine Kreuzreaktivität
Coxsackievirus A9	ATCC, A9	Negativ, keine Kreuzreaktivität

Alle getesteten Proben wurden mit dem Respiratory Viral PLUS ELITE MGB Kit positiv auf das richtige Pathogen getestet.

Potenziell interferierende Marker (Interferenz)

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

Hochkonzentrierte Proben mit genomischer DNA und RNA wurden mit niedrigkonzentrierter genomischer DNA von FluA, FluB, RSV, hMPV in geringer Konzentration (etwa 100 Kopien pro Reaktion) dotiert und in Dreifachbestimmung für jeden potenziell interferierenden Marker mit dem System ELITE InGenius im Modus „PCR Only“ (nur PCR) analysiert.

Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Potenziell interferierende Marker: Interferenz		
Organismen	Stamm	Ergebnis
SARS-Coronavirus	Zeptomatrix	Positiv, keine Inhibition
Coronavirus OC43	Zeptomatrix, OC43	Positiv, keine Inhibition
Coronavirus E229	Zeptomatrix, E229	Positiv, keine Inhibition
SARS-CoV-2	Zeptomatrix, USA-WA1/2020	Positiv, keine Inhibition
Rhinovirus 1A	Zeptomatrix, 1A	Positiv, keine Inhibition
Parainfluenza Virus 1	Zeptomatrix, Type 1	Positiv, keine Inhibition
Parainfluenza Virus 2	Zeptomatrix, Type 2	Positiv, keine Inhibition
Parainfluenza Virus 3	Zeptomatrix, Type 3	Positiv, keine Inhibition
Coxsackievirus A9	ATCC, A9	Positiv, keine Inhibition

Im Test mit dem Respiratory Viral PLUS ELITE MGB Kit wurden alle gesuchten Pathogene bei Vorhandensein der oben aufgeführten, potenziell interferierenden Organismen richtig erkannt.

Störende Substanzen

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

Die Substanzen wurden einzeln zu den Nasen-/Rachenabstrichproben hinzugegeben, die mit den Referenzmaterialien von FluA, FluB, RSV und hMPV in einer Konzentration von 3 x LoD dotiert waren. Die Proben wurden in 3 Wiederholungen mit dem ELITE InGenius®-System im Modus „Extraction + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Test von interferierenden Substanzen, VK % für die Zielsequenzen						
Substanz	Konzentration	Pos. / Wiederh.	FluA	FluB	RSV	hMPV
Vollblut	10 Vol.-%	3/3	2,56	1,92	1,14	3,88
Mucin	1 Gew.-% (10 mg/ml)	3/3	3,94	0,83	0,76	1,17
Azithromycin	0,2 µg/mL	3/3	2,93	1,29	2,17	1,31
Ambroxol	0,6 µg/mL	3/3	2,01	0,62	2,17	0,75
Beclometason	64 ng/mL	3/3	3,85	1,36	2,22	1,46
Ebastin	0,4 µg/mL	3/3	3,96	0,89	3,20	2,92

Alle Proben fielen in Bezug auf die relevante Zielsequenz wie erwartet positiv aus. Die prozentualen Variationskoeffizienten (VK %) der Ct-Werte lagen unter 4 %.

Wiederholpräzision

Die Wiederholpräzision der mit dem Produkt Respiratory Viral PLUS ELITE MGB Kit in Kombination mit dem System ELITE InGenius erhaltenen Ergebnisse wurde durch Analyse einer Reihe von Nasen-/Rachenabstrichproben getestet. Die Reihe umfasste in einer Konzentration von etwa 3 x LoD mit FluA-, FluB-, RSV- und hMPV-Referenzmaterialien (Qnostics und Vircell) dotierte Proben.

Die Wiederholpräzision wurde mittels Analyse von Panel-Proben in drei Wiederholungen, in zwei Läufen pro Tag und mit derselben Produktcharge bestimmt. Drei Produktchargen wurden an drei verschiedenen Tagen auf ein und demselben Gerät durch ein und denselben Bediener verwendet. Die Proben wurden mit dem ELITE InGenius-System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet. Die Ct-Werte der Zielsequenzen und der internen Kontrolle wurden zur Berechnung des VK % herangezogen, um die Wiederholpräzision als Ungenauigkeit zu bewerten.

Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabellen zusammengefasst.

Chargenübergreifende Wiederholpräzision					
Probe	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% positiv
3 x LoD FluA	18/18	33,22	0,59	1,79	100 %
3 x LoD FluB	18/18	31,98	0,51	1,60	100 %
3 x LoD RSV	18/18	32,84	0,60	1,84	100 %
3 x LoD hMPV	18/18	32,38	0,69	2,12	100 %
„IC“	72/72	29,27	0,34	1,17	100 %

Beim Test der Wiederholpräzision erkannte der Assay die Zielsequenzen wie erwartet und wies niedrige VK % der Ct-Werte aus, die 3 % nicht überstiegen.

Vergleichspräzision

Die Vergleichspräzision der mit dem Produkt Respiratory Viral PLUS ELITE MGB Kit in Kombination mit dem System ELITE InGenius erhaltenen Ergebnisse wurde durch Analyse einer Reihe von Nasen-/Rachenabstrichproben getestet. Die Reihe umfasste in einer Konzentration von etwa 3 x LoD mit FluA-, FluB-, RSV- und hMPV-Referenzmaterialien (Qnostics und Vircell) dotierte Proben.

Die Vergleichspräzision wurde mittels Analyse von Panel-Proben in drei Wiederholungen, in zwei Läufen pro Tag erzielt. Drei verschiedenen Produktchargen wurden an drei verschiedenen Tagen auf drei verschiedenen Geräten durch drei Bediener verwendet. Die Proben wurden mit dem ELITE InGenius-System im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) verarbeitet. Die Ct-Werte der Zielsequenzen und der internen Kontrolle wurden zur Berechnung des VK % herangezogen, um die Vergleichspräzision als Ungenauigkeit zu bewerten.

Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabellen zusammengefasst.

Vergleichspräzision					
Probe	Pos. / Wiederh.	Mittlerer Ct-Wert	SD	VK %	% positiv
3 x LoD FluA	18/18	32,49	1,06	3,26	100 %
3 x LoD FluB	18/18	31,64	0,56	1,76	100 %
3 x LoD RSV	18/18	32,11	0,31	0,95	100 %
3 x LoD hMPV	17/17	33,64	1,06	3,16	100 %
„IC“	72/72	28,83	0,39	1,36	100 %

Beim Test der Vergleichspräzision erkannte der Assay die Zielsequenzen wie erwartet und wies niedrige VK % der Ct-Werte aus, die 4 % nicht überstiegen.

Diagnostische Spezifität: Bestätigung negativer Proben

Die diagnostische Spezifität des Assays als die Bestätigung negativer klinischer Proben wurde mittels Analyse von in UTM (COPAN Italia S.p.A.) entnommenen, klinischen Nasen-/Rachenabstrichproben und von BAL-Proben, die mit einem CE/IVD-gezeichneten Assay negativ getestet wurden.

Die Proben wurden mit dem Assay in Kombination mit dem System ELITE InGenius getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Proben	Anzahl	Positiv	Negativ	Diagnostische Spezifität
In UTM entnommener negativer Nasen-/Rachenabstrich	41	0	41	100 %
Negative BAL	40	0	40	100 %

Diagnostische Sensitivität: Bestätigung positiver Proben

Die diagnostische Sensitivität des Assays als die Bestätigung positiver klinischer Proben wurde mittels Analyse von in UTM (COPAN Italia S.p.A.) entnommenen, klinischen Nasen-/Rachenabstrichproben und von BAL-Proben, die mit einem CE/IVD-gezeichneten Test positiv auf FluA, FluB, RSV bzw. hMPV getestet wurden.

Die diagnostische Sensitivität des Assays wurde durch Analyse positiver klinischer Proben und negativer klinischer Proben, die mit zertifiziertem FluA-, FluB-, RSV- und hMPV-Material dotiert waren, bewertet. Künstliche hergestellte Proben auf FluA, FluB, RSV und hMPV wurden mit einer Konzentration von 3 x, 5 x und 10 x LoD dotiert.

Die Proben wurden mit dem Assay in Kombination mit dem System ELITE InGenius getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

In UTM entnommene Nasen-/Rachenabstrichproben	Anzahl	Positiv	Negativ	Diagnostische Sensitivität
FluA-positiv	31	28	3	95,6%
FluA-dotiert	59	58	1	
FluB-positiv	30	30	0	100 %
FluB-dotiert	29	29	0	
RSV-positiv	34	33	1	98,4%
RSV-dotiert	30	30	0	
hMPV-positiv	17	17	0	100 %
hMPV-dotiert	27	27	0	

Respiratory Viral PLUS ELITE MGB® Kit
 Reagenzien für die reverse RNA-Transkription
 und die cDNA-Echtzeit-Amplifikation

REF RTS160ING

BAL-Proben	Anzahl	Positiv	Negativ	Diagnostische Sensitivität
FluA-positiv	28	28	0	96,5%
FluA-dotiert	29	27	2	
FluB-positiv	13	12	1	97,7%
FluB-dotiert	30	30	0	
RSV-positiv	18	18	0	100 %
RSV-dotiert	30	30	0	
hMPV-positiv	3	3	0	100 %
hMPV-dotiert	28	28	0	

Hinweis: Die vollständigen Daten und Ergebnisse der Tests, die zur Bewertung der Leistungsmerkmale des Produkts mit Matrix und Gerät durchgeführt wurden, sind in der technischen Dokumentation „Respiratory Viral PLUS ELITE MGB Kit“, FTP 160ING, aufgeführt.

QUELLENANGABEN

W. Zhang et al. (1991) *J. Virol. Methods* 33: 165 - 189
 J. Stockton et al. (1998) *J. Clin. Microbiol.* 36: 2990 - 2995
 E. J. Kuypers et al. (2005) *J. Clin. Virology* 33: 299 -305
 E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e30

GRENZEN DES VERFAHRENS

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

Dieses Produkt darf nur mit klinischen Nasen-/Rachenabstrich- und BAL-Proben verwendet werden.

Es liegen keine Daten zur Produktleistung mit den folgenden klinischen Proben vor: Sputum, Gurgelproben, Nasopharyngealaspirate und Zellkulturüberstand.

Dieses Produkt nicht mit Mengen extrahierter DNA oder RNA verwenden, die 1 µg übersteigen: Eine große Menge an Nukleinsäuren kann die reverse Transkription und die Amplifikationsreaktionen hemmen und zu ungültigen Ergebnissen führen.

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

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

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

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

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

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

Ein mit diesem Produkt erhaltenes negatives Ergebnis bedeutet, dass die Ziel-RNA nicht in der aus der Probe extrahierten RNA nachzuweisen ist. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass der Titer der Ziel-RNA unter der Nachweisgrenze des Produkts (siehe „Leistungsmerkmale“) liegt. In diesem Fall kann das Ergebnis falsch-negativ sein.

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

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

Etwaige Polymorphismen in der Primer- oder Sondenbindungsregion der Ziel-RNA können den Nachweis der Ziel-RNA 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 kompletten Reaktionsgemischs und der Positivkontrolle kontrollieren. Volumina des kompletten Reaktionsgemischs und der Positivkontrolle 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 für mehr als einen Lauf verwenden (3 Stunden im Bestandsbereich). Das komplette Reaktionsgemisch nicht länger als 30 Minuten bei Raumtemperatur aufbewahren. Das komplette Reaktionsgemisch erneut zubereiten. Ein neues Aliquot Komponenten verwenden.
Abbau der Positivkontrolle.	Ein neues Aliquot der Positivkontrolle verwenden.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

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

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

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

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

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

SYMBOLE



Katalognummer.



Temperaturobergrenze.



Chargenbezeichnung.



Verwendbar bis (letzter Tag des Monats).



In-vitro-Diagnostikum.



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



Genügend für „n“ Tests.



Gebrauchsanweisung beachten.



Inhalt.



Vor Sonneneinstrahlung schützen.



Hersteller.

HINWEIS AN DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ

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

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

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

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

UTM® ist eine eingetragene Marke von COPAN Italia S.p.A.



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

A. Intended use

The «**Respiratory Viral PLUS ELITE MGB® Kit**» product is part of a qualitative multiplex nucleic acids reverse transcription and amplification assay for the detection and identification of the RNA of **Influenza A Virus (FluA)**, **Influenza B Virus (FluB)**, **Respiratory Syncytial Virus (RSV)** and **human Metapneumovirus (hMPV)** in clinical samples.

The assay is validated in association with ELITE InGenius® system and with Respiratory swabs and Broncho-Alveolar Lavage (BAL) samples.

The product is intended for use as an aid in the diagnosis of respiratory infections, in conjunction with the patient's clinical data and other laboratory test results.

B. Amplified sequence

Target	Gene	Fluorophore
FluA	Matrix protein gene sequence of FluA	AP639
FluB	Matrix protein gene sequence of FluB	FAM
RSV	Matrix protein gene sequence of RSV	AP593
hMPV	Fusion protein gene sequence of hMPV	AP680
IC	genomic RNA of MS2 phage	AP525

C. Validated matrix

› Respiratory Swab

› BAL

D. Kit content

RV PLUS PCR Mix	RT EnzymeMix
 X 4	 X 2
4 tubes of 600 µL 96 reactions per kit 5 freeze-thaw cycles per tube	2 tubes of 20 µL 96 reactions per kit 10 freeze-thaw cycles per tube
› Maximum shelf-life: 18 months › Storage temperature: - 20°C	› Maximum shelf-life: 18 months › Storage temperature: - 20°C

E. Material required not provided in the kit

- | | |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> › ELITE InGenius instrument: INT030 › ELITE InGenius SP 200 extraction cartridges: INT032SP200 › ELITE InGenius PCR Cassette amplification cartridges: INT035PCR › ELITE InGenius SP 200 Consumable Set consumables for extraction: INT032CS | <ul style="list-style-type: none"> › Respiratory Viral PLUS - ELITE Positive Control: CTR170ING › CPE – Internal Control: CTCPE › ELITE InGenius Waste Box: F2102-000 › 300 µL Filter Tips Axygen: TF-350-L-R-S › 2 ml tube Sarstedt: 72.694.005 › Copan UTM® kit: 360C or 305C |
|---|---|

F. ELITE InGenius protocol

- | | |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> › Sample volume 200 µL › CPE Internal Control volume 10 µL › Total eluate volume 100 µL › PCR eluate input volume 10 µL › RV PLUS PCR Mix volume 20 µL | <ul style="list-style-type: none"> › Unit of qualitative result cp/mL › Frequency of controls 15 days |
|--|---|

G. Performance

Matrix	Limit of Detection	Diagnostic Sensitivity	Diagnostic Specificity
Respiratory Swab	FLUA: 433 cp/mL FLUB: 409 cp/mL	98.5% 252/257*	100% 41/41*
BAL	RSV: 359 cp/mL hMPV: 333 cp/mL	98.6% 176/179*	100% 40/40*

*confirmed samples/ tested samples

H. Master Mix Preparation preparation

Reagent	1 Test	Samples N.	Total reactions
RV PLUS PCR Mix	20 µL	1 to 5	N + 1 rxn
RT Enzyme Mix	0.3 µL	6 to 12	N + 2 rxn

I. Procedures

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

Before analysis

1. Switch on ELITE InGenius Identification with username and password Select the mode "Closed"	2. Verify controls: RV PLUS pos. and neg. controls in the "Control menu" NB: Both have been run, approved and not expired	3. Thaw the CoV-2 PCR Mix, RT EnzymeMix tubes and the CPE Internal Control tubes Vortex gently Spin down 5 sec
---	--	--

Procedure 1 - Complete run: Extraction + PCR

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", eluate: "100 µL"	3. Scan the sample barcodes with hand-held barcode reader or type the sample ID
4. Select the "Assay protocol" of interest	5. Select the sample position: Extraction tube	6. Load the complete mix and the Internal Control in the inventory block
7. Load: PCR cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip and Extraction tube racks	8. Close the door Start the run	9. View, approve and store the results

Procedure 2 - PCR only

1 to 4: Follow the Complete Run procedure described above	5. Select the protocol "PCR only" and set the sample position "Extra tube"	6. Load the extracted nucleic acid tubes in the Elution tubes rack
7. Load the PCR cassette rack Load the PCR Mix in the inventory block	8. Close the door Start the run	9. View, approve and store the results

Procedure 3 - Extraction only

1 to 4: Follow the Complete Run procedure described above	5. Select the protocol "Extraction Only" and set the sample position: Secondary tube	6. Load the Internal Control in the inventory block
7. Load: Extraction cartridge, Elution tube, Tip cassette and Extraction tube	8. Close the door Start the run	9. Archive the eluate sample