

Instructions for use

ENTEROVIRUS ELITe MGB® Kit

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



REF RTS076PLD

UDI 08033891485399

CE
0123

IVD

ÄNDERUNGSVERLAUF

| Rev. | Änderungsvermerk | Datum (TT. MM.JJJJ) | | | | | | | | | | | | |
|--------------------|--|------------------------|----------------------|----------------------|-----------|-----------|------------|-----------|-----------|------------|-----------|-----------|------------|------------|
| 07 | Einführung der Unsicherheit der Standardkurve, Abschnitt 11.3 Aktualisierung der Kreuzreaktivität, Abschnitt 11.5 Aktualisierung der Inhibition, Abschnitt 11.8 | 26/11/24 | | | | | | | | | | | | |
| 06 | <p>Dieses Produkt erfüllt die Anforderungen der IVD-Verordnung (EU) 2017/746 über In-vitro-Diagnostika.</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p style="text-align: center; background-color: #0056b3; color: white; margin: -5px -5px 5px -5px;">HINWEIS!</p> <p>Die folgenden Produktchargen werden gemäß Artikel 110 der IVD-Verordnung bis zu ihrem Verfallsdatum weiterhin gemäß IVDD auf dem Markt angeboten. Wenn Sie diese Produktchargen haben, kontaktieren Sie bitte die Mitarbeiter der ELITechGroup, um die entsprechende Vorgängerversion der Gebrauchsanweisungen anzufordern.</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;"><u>PRODUKTREF.</u></th><th style="text-align: center;"><u>Chargennummer</u></th><th style="text-align: center;"><u>Verfallsdatum</u></th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">RTS076PLD</td><td style="text-align: center;">U0624-154</td><td style="text-align: center;">31/12/2025</td></tr> <tr> <td style="text-align: center;">RTS076PLD</td><td style="text-align: center;">U1123-101</td><td style="text-align: center;">31/05/2025</td></tr> <tr> <td style="text-align: center;">RTS076PLD</td><td style="text-align: center;">U0823-002</td><td style="text-align: center;">28/02/2025</td></tr> </tbody> </table> </div> <p>Änderung der Formulierung/Verpackung des PCR-Mix zur Verbesserung der Produktverwendbarkeit: Umstellung von drei Komponenten auf nur zwei Komponenten (RT-Enzym und PCR-Mix). Erweiterung der Verwendung des Produkts in Verbindung mit dem Gerät ELITe BeGenius®, mit Plasma- und Liquormatrizes. Abschnitt „LEISTUNGSMERKMALE“ aktualisiert. Es wurden neue Bewertungsstudien durchgeführt. Die folgenden Leistungsdaten wurden aktualisiert: Stabilität klinischer Proben, Nachweisgrenze, linearer Messbereich, Kreuzreaktivität, hemmende Organismen und Substanzen, Wiederholpräzision und Vergleichspräzision.</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p style="text-align: center; background-color: #0056b3; color: white; margin: -5px -5px 5px -5px;">HINWEIS!</p> <p>Die Ergebnisse zur diagnostischen Spezifität und diagnostischen Sensitivität der neuen Studie wurden bestätigt.</p> </div> <p>Neue grafische und inhaltliche Gestaltung der Gebrauchsanweisung</p> | <u>PRODUKTREF.</u> | <u>Chargennummer</u> | <u>Verfallsdatum</u> | RTS076PLD | U0624-154 | 31/12/2025 | RTS076PLD | U1123-101 | 31/05/2025 | RTS076PLD | U0823-002 | 28/02/2025 | 18/10/2024 |
| <u>PRODUKTREF.</u> | <u>Chargennummer</u> | <u>Verfallsdatum</u> | | | | | | | | | | | | |
| RTS076PLD | U0624-154 | 31/12/2025 | | | | | | | | | | | | |
| RTS076PLD | U1123-101 | 31/05/2025 | | | | | | | | | | | | |
| RTS076PLD | U0823-002 | 28/02/2025 | | | | | | | | | | | | |
| 05 | Die Anzahl der in Zusammenhang mit dem System „ELITe InGenius“ durchzuführenden Analyseläufe wurde geändert. | 10/05/2022 | | | | | | | | | | | | |
| 04 | Die Anzahl der Reaktionen, die in Zusammenhang mit dem System „ELITe InGenius“ durchgeführt werden können, wurde geändert. | 26/02/2020 | | | | | | | | | | | | |
| 03 | Formale Korrekturen | 07/09/2018 | | | | | | | | | | | | |
| 02 | Erweiterung der Verwendung des Produkts in Verbindung mit dem Gerät ELITe InGenius®, mit Plasma- und Liquormatrizes. Neue Verpackung: Kunststoffbox statt Karton | 09/05/2016 | | | | | | | | | | | | |
| 00 — 01 | Neuproduktentwicklung und nachfolgende Änderungen | — | | | | | | | | | | | | |

INHALTSVERZEICHNIS

1 VERWENDUNGSZWECK..... 4

2 TESTPRINZIP 4

3 BESCHREIBUNG DES PRODUKTS 4

4 MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN..... 5

5 ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN 5

6 ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE 5

7 WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN 6

8 PROBEN UND KONTROLLEN..... 7

9 VERFAHREN BEI ELITe InGenius 10

10 VERFAHREN BEI ELITe BeGenius 18

11 LEISTUNGSMERKMALE 24

12 REFERENZEN 34

13 GRENZEN DES VERFAHRENS 34

14 FEHLERBEHEBUNG 35

15 SYMBOLE 38

16 ANWENDERHINWEISE..... 39

17 HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ..... 39

Appendix A QUICK START GUIDE..... 40

1 VERWENDUNGSZWECK

Das Produkt **ENTEROVIRUS ELITE MGB® Kit** ist ein *In-vitro*-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal als quantitativer Nukleinsäure-RT- (reverse Transkription) und Real-Time-PCR-Assay zum Nachweis und zur Quantifizierung der RNA von humanem Enterovirus (A, B, C, D), die aus klinischen Proben extrahiert wurde, bestimmt ist.

Dieser Assay ist in Verbindung mit den Geräten **ELITE InGenius®** und **ELITE BeGenius®**, automatisierten und integrierten Systemen zur Extraktion, reversen Transkription, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation mit menschlichen Plasmaproben, die in EDTA und Liquor entnommen wurden, validiert.

Das Produkt ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Diagnose und Überwachung von Infektionen mit humanen Enteroviren (EV) bei Patienten bestimmt, bei denen Verdacht auf eine EV-Infektion besteht oder die auf eine EV-Infektion überwacht werden.

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

2 TESTPRINZIP

Bei dem Assay handelt es sich um eine quantitative Ein-Schritt-Real-Time-PCR mit reverser Transkription, mit der aus Proben isolierte Enterovirus-RNA nachgewiesen, revers transkribiert und dann unter Verwendung eines kompletten Reaktionsgemischs amplifiziert wird, das Primer und Sonden mit ELITE MGB-Technologie enthält.

Die ELITE MGB-Sonden werden aktiviert, wenn sie mit den jeweiligen PCR-Produkten hybridisieren. **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius** überwachen den Fluoreszenzanstieg und berechnen die Schwellenwertzyklen (Ct) sowie die Schmelztemperaturen (Tm). Die Berechnung der EV-RNA-Menge erfolgt auf der Grundlage einer gespeicherten Kalibrationskurve.

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

3 BESCHREIBUNG DES PRODUKTS

Das **ENTEROVIRUS ELITE MGB Kit** umfasst die folgenden Komponenten:

- **EV PCR Mix**, ein optimiertes und stabilisiertes PCR-Gemisch, das die spezifischen Primer und Sonden enthält für:
 - die **ENTEROVIRUS, 5' UTR**-Region, nachgewiesen in Kanal **ENTEROVIRUS**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher® gequencht und mit einem FAM-Farbstoff markiert.
 - die Internal Control (IC), die für eine Region der genomischen RNA des Phagen MS2 spezifisch ist, nachgewiesen in Kanal **IC**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor® 525 (AP525) markiert.

Der **EV PCR Mix** enthält außerdem Puffer, Magnesiumchlorid, Nukleotidtriphosphate und „Hot-start“-DNA-Polymerase. Jedes Röhrchen enthält **600 µl** Lösung, die für **24 Tests** ausreicht, sofern mindestens 5 Proben pro Lauf verarbeitet werden.

- **RT EnzymeMix**, ein optimiertes und stabilisiertes Gemisch aus Enzymen zur reversen Transkription. Jedes Röhrchen enthält **20 µl** Lösung, die für **48 Tests** ausreicht, sofern mindestens 5 Proben pro Lauf verarbeitet werden.

Das **ENTEROVIRUS ELITE MGB Kit** enthält ausreichend Reagenzien für **96 Tests auf dem ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius**, wobei 20 µl **EV PCR Mix** und 0,3 µl **RT EnzymeMix** pro Reaktion verwendet werden.

Der **ENTEROVIRUS ELITE MGB Kit** kann auch in Verbindung mit gleichwertigen Geräten verwendet werden.

4 MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN

Tabelle 1

| Komponente | Beschreibung | Menge | Gefahrenklasse |
|---|--|------------|----------------|
| EV PCR Mix Art.-Nr. RTS076PLD | Gemisch aus Reagenzien für die reverse Transkription und Real-Time-PCR in Röhrchen mit WEISSEM Verschluss | 4 x 600 µl | - |
| RT EnzymeMix Art.-Nr. RTS003-RT | Enzyme zur reversen Transkriptase in Röhrchen mit Verschluss mit SCHWARZEM Einsatz | 2 x 20 µl | - |

5 ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN

- Laminar-Flow-Haube.
- Puderfreie Einweghandschuhe aus Nitril oder einem ähnlichen Material.
- Vortex-Mixer.
- Tischzentrifuge (~5.000 U/min).
- Tisch-Mikrozentrifuge (~13.000 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).
- sterile 2,0-ml-Röhrchen mit Schraubverschluss (Sarstedt, Deutschland, Art.-Nr. 72.694.005).
- Hochreines Wasser für die Molekularbiologie.

6 ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE

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

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

Tabelle 2

| Geräte und Software | Produkte und Reagenzien |
|---|--|
| ELITe InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA Art.-Nr. INT030) ELITe InGenius Software , Version 1.3.0.19 (oder später) EV ELITe _STD , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Kalibratorenanalyse EV ELITe _PC , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Positive Control-Analyse EV ELITe _NC , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Negative Control-Analyse EV ELITe _PL_200_100 , Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Plasmaproben-Analyse EV ELITe _CSF_200_100 , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Liquorproben-Analyse | ELITe InGenius SP200 (EG SpA., Art.-Nr. INT032SP200) ELITe InGenius SP 200 Consumable Set (EG SpA, Art.-Nr. INT032CS) ELITe InGenius PCR Cassette (EG SpA, Art.-Nr. INT035PCR) ELITe InGenius Waste Box (EG SpA, Art.-Nr. F2102-000) 300 µL Filter Tips Axygen (Corning Life Sciences Inc., Art.-Nr. TF-350-L-R-S), nur mit ELITe InGenius 1000 µL Filter Tips Tecan (Tecan, Schweiz, Art.-Nr. 30180118) nur mit ELITe BeGenius CPE - Internal Control (EG SpA, Art.-Nr. CTCPE) ENTEROVIRUS ELITe Standard (EG SpA, Art.-Nr. STD076PLD) ENTEROVIRUS - ELITe Positive Control (EG SpA, Art.-Nr. CTR076PLD) |
| ELITe BeGenius (EG SpA, Art.-Nr. INT040) ELITe BeGenius Software , Version 2.2.1. (oder später) EV ELITe _Be_STD , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Kalibratorenanalyse EV ELITe _Be_PC , Assay Protocol (Assay-Protokoll) mit Parametern für die Positive Control-Analyse EV ELITe _Be_NC , Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Negative Control-Analyse EV ELITe _Be_PL_200_100 , Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Plasmaproben-Analyse EV ELITe _Be_CSF_200_100 , Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Analyse von Liquorproben | |

7 WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

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

7.1 Allgemeine Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

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

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

Geeignete Schutzkleidung und 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.

Vor der Durchführung des Assays alle bereitgestellten Anweisungen aufmerksam lesen.

Bei der Durchführung des Tests die bereitgestellten Produktanweisungen befolgen.

Das Produkt nicht nach dem angegebenen Ablaufdatum verwenden.

Es dürfen nur mit dem Produkt bereitgestellte und vom Hersteller empfohlene Reagenzien verwendet werden.

Keine Reagenzien aus unterschiedlichen Chargen verwenden.

Keine Reagenzien anderer Hersteller verwenden.

7.2 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 den Nukleinsäureabbau in den Proben oder die Probenkontamination durch PCR-Produkte.

Es werden Laborkittel, Handschuhe und Werkzeuge benötigt, die speziell für den jeweiligen Arbeitslauf vorgesehen sind.

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 und sowohl DNase- und RNase-frei als auch DNA- und RNA-frei sein.

Die Reagenzien müssen unter einer Sicherheitswerkbank gehandhabt werden. 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 und sowohl DNase- und RNase-frei als auch DNA- und RNA-frei sein.

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

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

7.3 Komponentenspezifische Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Tabelle 3

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

8 PROBEN UND KONTROLLEN

8.1 Proben

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

Tabelle 4

| Probe | Anforderungen an die Entnahme | Transport-/Lagerbedingungen | | | |
|--------|-------------------------------|----------------------------------|--------------|-------------|-------------|
| | | +16 / +26 °C (Raumtemperatur) | +2 / +8 °C | -20 ± 10 °C | -70 ± 15 °C |
| Plasma | EDTA | ≤ 24 Stunden | ≤ 3 Tage | ≤ 1 Monat | ≤ 1 Monat |
| Liquor | - | n. e. | ≤ 24 Stunden | ≤ 1 Monat | ≤ 1 Monat |

n. e.: nicht empfohlen

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

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

Tabelle 5 Assay-Protokolle (Assay Protocol) für ENTEROVIRUS ELITE MGB Kit

| Probe | Gerät | Proben-transfer | Name des Assay-Protokolls | Bericht | Eigenschaften |
|--------|-----------------------|--|--------------------------------|-----------|---|
| Plasma | ELITE InGenius | nicht erforderlich | EV ELITE_PL_200_100 | Kopien/ml | Extraktion Eingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 10 µl |
| | ELITE BeGenius | nicht erforderlich | EV ELITE_Be_PL_200_100 | Kopien/ml | Extraktion Eingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 10 µl |
| Liquor | ELITE InGenius | benötigt, in Extraction Tube (Extraktionsröhrchen) | EV ELITE_CSF_200_100 | Kopien/ml | Extraktion Eingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 10 µl |
| | ELITE BeGenius | benötigt, in 2-ml-Sarstedt-Röhrchen | EV ELITE_Be_CSF_200_100 | Kopien/ml | Extraktion Eingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 10 µl |

Falls erforderlich, müssen 200 µl Probe in ein Extraction Tube (Extraktionsröhrchen) (bei ELITE InGenius) bzw. ein 2-ml-Sarstedt-Röhrchen (bei ELITE BeGenius) überführt werden.

HINWEIS!

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

Das Volumen der Probe in einem Primärröhrchen variiert je nach Art des geladenen Röhrchens. Weitere Informationen zum Einrichten und Durchführen des Extraktionsverfahrens sind der Gebrauchsanweisung des Extraktionskits oder dem Handbuch zu **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius** zu entnehmen.

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

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

Verwenden Sie kein Plasma, das in Heparin entnommen wurde, da dieses bekanntlich die reverse Transkription und PCR hemmt.

8.2 PCR-Kalibratoren und -Kontrollen

Für jede Charge des PCR-Reagenzes muss die Kalibrationskurve erstellt und genehmigt werden.

- Für die Kalibrationskurve die vier Konzentrationen des **ENTEROVIRUS ELITE Standard** (nicht im Lieferumfang dieses Kits enthalten) mit dem Assay-Protokoll **EV ELITE_STD** oder **EV ELITE_Be_STD** verwenden.

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

- Für die Positive Control das Produkt **ENTEROVIRUS – ELITE Positive Control** (nicht in diesem Kit enthalten) mit dem Assay-Protokoll **EV ELITE_PC** oder **EV ELITE_Be_PC** verwenden,
- Für die Negative Control hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) mit dem Assay-Protokoll **EV ELITE_NC** oder **EV ELITE_Be_NC** verwenden.

HINWEIS!

ELITE InGenius und **ELITE BeGenius** ermöglichen die Erstellung und Speicherung der Kalibrationskurve und die Validierung der PCR-Kontrollen für jede PCR-Reagenziencharge.

Kalibrierungskurven verfallen nach **60 Tagen**, danach muss die Kalibration erneut durchgeführt werden.

Die Ergebnisse der PCR-Kontrollen verfallen nach **15 Tagen**, danach müssen die Positive Control und die Negative Control erneut durchgeführt werden.

Die Kalibratoren und PCR-Kontrollen müssen erneut generiert werden, wenn eines der folgenden Ereignisse eintritt:

- eine neue Reagenziencharge wird verwendet,
- die Ergebnisse der Qualitätskontrollanalyse (siehe nächster Abschnitt) liegen außerhalb der Spezifikation,
- eine größere Wartungs- oder Instandhaltungsmaßnahme am **ELITE InGenius** oder **ELITE BeGenius** durchgeführt wird.

8.3 Qualitätskontrollen

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

9 VERFAHREN BEI ELITE InGenius

Das beim Gebrauch des **ENTEROVIRUS ELITE MGB Kit** mit dem **ELITE InGenius** anzuwendende Verfahren besteht aus drei Schritten:

Tabelle 6

| | | | |
|-----------|--------------------------------|--|--|
| SCHRITT 1 | Prüfung der Systembereitschaft | | |
| SCHRITT 2 | Einrichtung des Laufs | A) Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR]) | |
| | | B) Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR]) | |
| | | C) Kalibrationslauf (PCR Only [nur PCR]) | |
| | | D) Lauf für die Positive Control und Negative Control (PCR Only [nur PCR]) | |

Tabelle 6 (continued)

| | | |
|--------------|--|---|
| SCHRITT 3 | Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse | 1) Validierung der Kalibrationskurve |
| | | 2) Validierung der Ergebnisse der Positive Control und Negative Control |
| | | 3) Validierung der Probenergebnisse |
| | | 4) Ausgabe des Probenergebnisberichts |

9.1 SCHRITT 1 – Prüfung der Systembereitschaft

Vor Beginn des Laufs:

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

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

9.2 SCHRITT 2 – Einrichtung des Laufs

Das **ENTEROVIRUS ELiTe MGB Kit** kann mit **ELiTe InGenius** für die Durchführung der folgenden Läufe verwendet werden:

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

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

HINWEIS!

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

Vor dem Einrichten eines Laufs:

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

HINWEIS!

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

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

HINWEIS!

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

3. Ein 2-ml-Röhrchen (Sarstedt Art.-Nr. 72.694.005, nicht im Lieferumfang des Kits enthalten) für das **komplette Reaktionsgemisch** zubereiten und mit einem Permanentmarker beschriften.
4. Die benötigten Volumina von **EV PCR Mix** und **RT EnzymeMix** für die Zubereitung des **kompletten Reaktionsgemischs** auf Grundlage der Anzahl (N) an zu analysierenden Proben berechnen, wie in der nachstehenden Tabelle beschrieben.

Tabelle 7

| Probenanzahl (N) | EV PCR Mix | RT EnzymeMix |
|--------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| $1 \leq N \leq 5$ | $(N + 1) \times 20 \mu\text{l}$ | $(N + 1) \times 0,3 \mu\text{l}$ |
| $6 \leq N \leq 11$ | $(N + 2) \times 20 \mu\text{l}$ | $(N + 2) \times 0,3 \mu\text{l}$ |
| $N = 12$ | 290 μl | 4,4 μl |

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

HINWEIS!

Das **komplette Reaktionsgemisch** kann innerhalb von 7 Stunden verwendet werden, wenn es in einem gekühlten Block aufbewahrt wird (für 2 Läufe von je 3 Stunden und für die Zeit, die zum Starten eines dritten Laufs benötigt wird). Das komplette Reaktionsgemisch **darf nicht** zur Wiederverwendung aufbewahrt werden.

HINWEIS!

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

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

Tabelle 8

| | A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR]) | B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR]) |
|---|--|--|
| 1 | <p>Proben identifizieren und, falls erforderlich, auf Raumtemperatur auftauen, vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.</p> <p>Falls erforderlich, 200 μl Probe in ein zuvor etikettiertes Extraction Tube (Extraktionsröhrchen) überführen.</p> <p>Die benötigten CPE-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Extraktionen.</p> | <p>Elution Tube (Elutionsröhrchen) mit den extrahierten Nukleinsäuren auf Raumtemperatur auftauen. Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.</p> |
| 2 | Auf der Startseite „ Perform Run “ (Lauf durchführen) auswählen. | Auf der Startseite „ Perform Run “ (Lauf durchführen) auswählen. |

Tabelle 8 (continued)

| | A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR]) | B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR]) |
|----|--|---|
| 3 | Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt. | Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt. |
| 4 | Für jede Probe eine Spur zuweisen und unter „SampleID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen. | Für jede Probe eine Spur zuweisen und unter „SampleID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen. |
| 5 | Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“). | Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“). |
| 6 | Sicherstellen, dass unter „Protocol“ (Protokoll) Folgendes angezeigt wird: „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR). | In der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) auswählen. |
| 7 | Als Proben-Ladeposition „Primary Tube“ (Primärröhrchen) oder „Extraction Tube“ (Extraktionsröhrchen) in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) auswählen. Sicherstellen, dass der Verdünnungsfaktor (Dilution factor) „1“ beträgt. | Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr [untere Reihe]) lautet. Sicherstellen, dass der Verdünnungsfaktor (Dilution factor) „1“ beträgt. |
| 8 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 9 | CPE und das komplette Reaktionsgemisch gemäß der „Load List“ (Liste Laden) auf den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden und die Chargennummer und das Ablaufdatum des CPE und PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben. | Das komplette Reaktionsgemisch gemäß der „Load List“ (Liste Laden) auf den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben. |
| 10 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 11 | Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen. | Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen. |
| 12 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 13 | PCR-Kassette, ELITe InGenius SP 200 Extraktionskartuschen und alle benötigten Verbrauchsmaterialien und zu extrahierenden Proben laden . | PCR-Kassette und Elution Tube (Elutionsröhr) mit extrahierten Proben laden . |
| 14 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 15 | Schließen Sie die Gerätetür. | Schließen Sie die Gerätetür. |
| 16 | „Start“ (Starten) drücken. | „Start“ (Starten) drücken. |

Tabelle 9

| | C. Kalibrationslauf (PCR Only [nur PCR]) | D. Lauf für die Positive Control und Negative Control (PCR Only [nur PCR]) |
|----|---|--|
| 1 | Die Q-PCR Standard-Röhrchen auftauen (Cal1: Q-PCR Standard 10^2 , Cal2: Q-PCR Standard 10^3 , Cal3: Q-PCR Standard 10^4 , Cal4: Q-PCR Standard 10^5) 30 Minuten bei Raumtemperatur. Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. | Positive Control-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen . Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Die Negative Control vorbereiten: dazu mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie in ein Elutionsröhrchen überführen, das im Lieferumfang des ELITE InGenius SP 200 Consumable Set enthalten ist. |
| 2 | Auf der Startseite „ Perform Run “ (Lauf durchführen) auswählen. | Auf der Startseite „ Perform Run “ (Lauf durchführen) auswählen. |
| 3 | Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt. | Sicherstellen, dass „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt. |
| 4 | Für den Q-PCR Standard die Spur („Track“) zuweisen, das Assay Protocol (Assay-Protokoll) (siehe „Proben und Kontrollen“) in der Spalte „Assay“ auswählen und die Reagenzien-Chargennummer und das Verfallsdatum eingeben. | Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“). Die Chargennummer und das Ablaufdatum der Positive Control und des hochreinen Wassers für die Molekularbiologie eingeben. |
| 5 | Sicherstellen, dass in der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) ausgewählt ist. | Sicherstellen, dass in der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) ausgewählt ist. |
| 6 | Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr [untere Reihe]) lautet. | Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr [untere Reihe]) lautet. |
| 7 | Das komplette Reaktionsgemisch gemäß der „Load List“ (Liste Laden) auf den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben. | Das komplette Reaktionsgemisch gemäß der „Load List“ (Liste Laden) auf den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben. |
| 8 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 9 | Die Spitzen in den „ Tip Racks “ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen. | Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen. |
| 10 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 11 | Die PCR-Kassette und die Q-PCR-Standard-Röhrchen laden . | PCR-Kassette, Positive Control und Negative Control laden . |
| 12 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 13 | Schließen Sie die Gerätetür. | Schließen Sie die Gerätetür. |
| 14 | „Start“ (Starten) drücken. | „Start“ (Starten) drücken. |

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

HINWEIS!

Am Ende des Laufs muss die übrige extrahierte Probe im **Elution Tube** (Elutionsröhr.) aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen, gekennzeichnet und maximal einen Monat bei -20 ± 10 °C aufbewahrt werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

HINWEIS!

Das **komplette Reaktionsgemisch** kann bis zu 7 Stunden (für 2 Läufe von jeweils 3 Stunden und für die Zeit, die zum Starten eines dritten Laufs benötigt wird) im gekühlten Block des Geräts verbleiben. Vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt. Das komplette Reaktionsgemisch **darf nicht** zur Wiederverwendung aufbewahrt werden.

HINWEIS!

Am Ende des Laufs kann der übrige **Q - PCR Standard** aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und bei -20 °C oder darunter aufbewahrt werden. Verschütten des Q - PCR Standard vermeiden.

HINWEIS!

Der **EV Q-PCR Standard** kann für 4 separate Läufe von jeweils 2 Stunden verwendet werden.

HINWEIS!

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

HINWEIS!

Die **EV Positive Control** kann für 4 separate Läufe von jeweils 3 Stunden verwendet werden.

HINWEIS!

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

9.3 SCHRITT 3 – Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

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

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

HINWEIS!

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

ELITe InGenius generiert Ergebnisse mithilfe des **ENTEROVIRUS ELITe MGB Kit** und geht dabei folgendermaßen vor:

1. Validierung der Kalibrationskurve,
2. Validierung der Ergebnisse der Positive Control und Negative Control,
3. Validierung der Probenergebnisse,
4. Ausgabe des Probenergebnisberichts.

9.3.1 Validierung der Kalibrationskurve

Die **ELiTe InGenius Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse für die Zielsequenzen der Kalibratorreaktionen mit den **ELiTe_STD** Assay-Protokoll-Parametern. Die Kalibrationskurve ergibt sich aus dem resultierenden Ct-Wert bei der jeweiligen Konzentration.

Die für die PCR-Reagenziencharge spezifischen Kalibrationskurven werden in der Datenbank („Calibration“) aufgezeichnet. Sie können von Benutzern mit der Qualifikation „Administrator“ oder „Analyst“ durch Befolgen der Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche angezeigt oder genehmigt werden.

Die Kalibrationskurve läuft **nach 60 Tagen** ab.

HINWEIS!

Erfüllt die Kalibrationskurve nicht die Annahmekriterien, wird die Meldung „Failed“ (nicht bestanden) auf dem Bildschirm „Calibration“ angezeigt. In diesem Fall können die Ergebnisse nicht genehmigt werden und die Kalibrator-Amplifikationsreaktionen müssen wiederholt werden. Außerdem werden Proben, die nicht in den Lauf einbezogen wurden, nicht quantifiziert und müssen ebenfalls wiederholt werden, um quantitative Ergebnisse zu generieren.

9.3.2 Validierung der Ergebnisse des Amplifikationslaufs für die Positivkontrolle und Negativkontrolle

Die **ELiTe InGenius Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse für die Zielsequenzen der Reaktionen der Positive Control und der Negative Control mit den Parametern der Assay-Protokolle (Assay Protocols) **EV ELiTe_PC** und **EV ELiTe_NC**. Die resultierenden Ct-Werte werden in Konzentrationswerte umgerechnet und zur Überprüfung des Systems (Reagenziencharge und Gerät) herangezogen.

Die für die PCR-Reagenziencharge spezifischen Positive Control- und Negative Control-Ergebnisse werden in der Datenbank (Controls [Kontrollen]) aufgezeichnet. Sie können von Benutzern mit der Qualifikation „Administrator“ oder „Analyst“ durch Befolgen der Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche angezeigt oder genehmigt werden.

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

Die **ELiTe InGenius Software** verarbeitet die Ergebnisse der Positive Control und Negative Control und generiert Kontrollendiagramme („Control Charts“). Zum Einrichten der initialen Regelkarte werden vier genehmigte Ergebnisse der Positive Control und Negative Control verwendet. Für darauf folgende Kontrollen werden die Ergebnisse von der Software analysiert, um sicherzustellen, dass die Systemleistungen innerhalb der Akzeptanzkriterien liegen, die in den Kontrollendiagrammen angezeigt sind. Weitere Informationen finden Sie im Gerätehandbuch.

HINWEIS!

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

HINWEIS!

Ist das Ergebnis der Positive Control bzw. Negative Control ungültig und wurden die Proben in denselben Lauf einbezogen, können die Proben genehmigt werden; ihre Ergebnisse werden jedoch nicht validiert. In diesem Fall müssen alle fehlgeschlagenen Kontrollen und Proben wiederholt werden.

9.3.3 Validierung der Probenergebnisse

Die **ELiTe InGenius Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse für die Zielsequenz (Kanal **EV**) und die Internal Control (Kanal **IC**) mit den Assay-Protokoll-Parametern **EV ELiTe_PL_200_100** und **EV ELiTe_CSF_200_100**. Die resultierenden Ct-Zielwerte werden in Konzentrationswerte umgerechnet.

Die Ergebnisse werden auf dem Bildschirm „Results Display“ (Ergebnisanzeige) angezeigt.

Die Probenergebnisse können genehmigt werden, wenn die drei Bedingungen in der nachfolgenden Tabelle erfüllt sind.

Tabelle 10

| 1) Kalibrationskurve | Status |
|-----------------------|----------------------|
| EV Q - PCR Standard | APPROVED (Genehmigt) |
| 2) Positivkontrolle | Status |
| EV - Positive Control | APPROVED (Genehmigt) |
| 3) Negativkontrolle | Status |
| EV - Negative Control | APPROVED (Genehmigt) |

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

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

Tabelle 11

| Ergebnis des Probenlaufs | Interpretation |
|---|---|
| EV: RNA Detected, quantity equal to "XXX" copies/mL (EV:RNA erkannt, Menge gleich „XXX“ Kopien/ml) | In der Probe wurde EV-RNA innerhalb des Messbereichs des Assays nachgewiesen , ihre Konzentration wird angezeigt. |
| EV RNA Detected, quantity below "LLoQ" copies/mL (EV:RNA erkannt, Menge unter „LLoQ“ Kopien/ml) | In der Probe wurde EV-RNA nachgewiesen , ihre Konzentration liegt unterhalb der unteren Bestimmungsgrenze des Assays. |
| EV RNA Detected, quantity below "LLoQ" copies/mL (EV:RNA erkannt, Menge unter „LLoQ“ Kopien/ml) | In der Probe wurde EV-RNA nachgewiesen , ihre Konzentration liegt oberhalb der oberen Bestimmungsgrenze des Assays. |
| EV:RNA Not detected or below the "LoD" copies/mL (EV: RNA nicht erkannt oder unter „LoQ“ Kopien/ml) | In der Probe wurde keine EV-RNA nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf die Ziel-RNA getestet oder die Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays. |
| Invalid - Retest Sample (Ungültig - Probe erneut testen). | Ungültiges Testergebnis durch fehlerhafte Internal Control (z. B. aufgrund von falscher Extraktion, Verschleppung von Inhibitoren). Der Test sollte wiederholt werden. |

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

Wenn ausreichend Eluatvolumen übrig bleibt, kann das Eluat (verdünnt oder unverdünnt) mithilfe eines Amplifikationslaufs im Modus „PCR Only“ (nur PCR) erneut getestet werden. Ist das zweite Ergebnis ungültig, muss die Probe beginnend mit der Extraktion einer neuen Probe im Modus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) erneut getestet werden (siehe [14 FEHLERBEHEBUNG page 35](#)).

Als „EV: RNA Not detected or below “LoD” copies/mL“ (EV: RNA nicht erkannt oder unter “LoD” Kopien/ml) ausgegebene Proben sind für die Analyse geeignet, EV wurde jedoch nicht nachgewiesen. In diesem Fall kann entweder die Probe für EV-RNA negativ sein oder die EV-RNA ist bei einer Konzentration unter der Nachweisgrenze des Tests vorhanden (siehe [11 LEISTUNGSMERKMALE page 24](#)).

EV-RNA-positive Proben mit einer Konzentration unter der Nachweisgrenze (und der unteren Bestimmungsgrenze) des Assays werden, falls nachgewiesen, als „EV: RNA Detected, quantity below “LLoQ” copies/mL“ (BKV:DNA erkannt, Menge unter „LLoQ“ Kopien/ml) ausgegeben (siehe [11 LEISTUNGSMERKMALE page 24](#)).

EV-RNA-positive Proben innerhalb des linearen Messbereichs (siehe [11 LEISTUNGSMERKMALE page 24](#)) werden erkannt und als „EV:RNA Detected, quantity equal to “XXX” copies/mL“ (JCV:DNA erkannt, Menge gleich „XXX“ Kopien/ml) ausgegeben.

EV-RNA-positive Proben, die oberhalb der oberen Bestimmungsgrenze liegen, werden als „EV: RNA Detected, quantity beyond “ULoQ” copies / mL“ (EV: RNA erkannt, Menge über „ULoQ“ Kopien/ml) ausgegeben und sind nicht zur Quantifizierung geeignet. Falls erforderlich muss die Probe vor der Extraktion oder dem PCR-Test verdünnt und erneut getestet werden, um Ergebnisse innerhalb des linearen Messbereichs des Assays zu erzielen.

HINWEIS!

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

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

9.3.4 Ausgabe des Probenergebnisberichts

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

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

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

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

10 VERFAHREN BEI ELITE BeGenius

Das beim Gebrauch des **ENTEROVIRUS ELITE MGB Kit** mit dem **ELITE BeGenius** anzuwendende Verfahren besteht aus drei Schritten:

Tabelle 12

| | | |
|-----------|--|--|
| SCHRITT 1 | Prüfung der Systembereitschaft | |
| SCHRITT 2 | Einrichtung des Laufs | A) Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR]) |
| | | B) Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR]) |
| | | C) Kalibrationslauf (PCR Only [nur PCR]) |
| | | D) Lauf für die Positive Control und Negative Control (PCR Only [nur PCR]) |
| SCHRITT 3 | Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse | 1) Validierung der Kalibrationskurve |
| | | 2) Validierung der Ergebnisse der Positive Control und Negative Control |
| | | 3) Validierung der Probenergebnisse |
| | | 4) Ausgabe des Probenergebnisberichts |

10.1 SCHRITT 1 – Prüfung der Systembereitschaft

Vor Beginn des Laufs:

- **ELITE BeGenius** einschalten und den Modus „**CLOSED**“ (geschlossen) auswählen,
- auf der Startseite im Menü „Calibrations“ (Kalibrationen) bestätigen, dass die Kalibratoren (**Q - PCR Standard**) für die zu verwendende Charge des **PCR Mix** genehmigt und gültig (Status) sind. Wenn keine gültigen

Kalibratoren für die Charge **PCR Mix** verfügbar sind, Kalibration wie in den folgenden Abschnitten beschrieben durchführen,

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

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

10.2 SCHRITT 2 – Einrichtung des Laufs

Das **ENTEROVIRUS ELITE MGB Kit** kann mit **ELITE BeGenius** für die Durchführung der folgenden Läufe verwendet werden:

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

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

HINWEIS!

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

Vor dem Einrichten eines Laufs:

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

HINWEIS!

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

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

HINWEIS!

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

3. Ein 2-ml-Röhrchen (Sarstedt Art.-Nr. 72.694.005, nicht im Lieferumfang des Kits enthalten) für das **komplette Reaktionsgemisch** zubereiten und mit einem Permanentmarker beschriften.
4. Die benötigten Volumina von **EV PCR Mix** und **RT EnzymeMix** für die Zubereitung des **kompletten Reaktionsgemischs** auf Grundlage der Anzahl (N) an zu analysierenden Proben berechnen, wie in der nachstehenden Tabelle beschrieben.

Tabelle 13

| Probenanzahl (N) | EV PCR Mix | RT EnzymeMix |
|---------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| $1 \leq N \leq 5$ | $(N + 1) \times 20 \mu\text{l}$ | $(N + 1) \times 0,3 \mu\text{l}$ |
| $6 \leq N \leq 11$ | $(N + 2) \times 20 \mu\text{l}$ | $(N + 2) \times 0,3 \mu\text{l}$ |
| $N = 12$ | 290 μl | 4,4 μl |
| $13 \leq N \leq 18$ | $(N + 3) \times 20 \mu\text{l}$ | $(N + 3) \times 0,3 \mu\text{l}$ |
| $19 \leq N \leq 23$ | $(N + 4) \times 20 \mu\text{l}$ | $(N + 4) \times 0,3 \mu\text{l}$ |
| $N = 24$ | 580 μl | 8,7 μl |

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

HINWEIS!

Das **komplette Reaktionsgemisch** kann innerhalb von **7 Stunden** verwendet werden, wenn es in einem gekühlten Block aufbewahrt wird (für 2 Läufe von je 3 Stunden und für die Zeit, die zum Starten eines dritten Laufs benötigt wird). Das komplette Reaktionsgemisch **darf nicht** zur Wiederverwendung aufbewahrt werden.

HINWEIS!

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

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

Tabelle 14

| | A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR]) | B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR]) |
|---|--|---|
| 1 | <p>Proben identifizieren und, falls erforderlich, auf Raumtemperatur auftauen, vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.</p> <p>Fall erforderlich, 200 μl Probe in ein zuvor etikettiertes 2-ml-Sarstedt-Röhrchen (nicht im Lieferumfang enthalten) überführen.</p> <p>Die benötigten CPE-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Extraktionen.</p> | <p>Falls erforderlich, die Elutionsröhrchen mit den extrahierten Nukleinsäuren auf Raumtemperatur auftauen. Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.</p> |
| 2 | Auf der Startseite „ Perform Run “ (Lauf durchführen) auswählen. | Auf der Startseite „ Perform Run “ (Lauf durchführen) auswählen. |
| 3 | Alle Racks aus der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen. | Die „Racks“ aus „Lane 1, 2 und 3 (L1, L2 und L3)“ der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen. |
| 4 | Den Laufmodus („Run mode“) wählen: „ Extract + PCR “ (Extraktion + PCR). | Den Laufmodus („Run mode“) wählen: „ PCR Only “ (Nur PCR). |
| 5 | <p>Die Proben in das Probenrack („Sample Rack“) laden. (Hinweis: Wenn als Sekundärröhrchen „2 mL Tubes“ (2-ml-Röhrchen) geladen werden, verwenden Sie die blauen Adapter für das „Sample Rack“ [Probenständer]).</p> | Die Proben in das Elutionsrack („Elution Rack“) laden . |

Tabelle 14 (continued)

| | A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR]) | B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR]) |
|----|--|---|
| 6 | Das „Sample Rack“ in die „Cooler Unit“ einsetzen, beginnend mit „Lane 5“ (L5). Unter „Sample ID“ (SID) die Proben-ID für jede verwendete „Position“ eingeben. (Beim Laden von Sekundärröhrchen „2-ml-Röhrchen“ angeben. Bei Sekundärröhrchen ohne Barcode die Proben-ID manuell eingeben. | Das „Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ einsetzen, beginnend mit „Lane 3“ (L3). Für jede „Position“ die Proben-ID („Sample ID“), die Probenmatrix („Sample Matrix“), das Extraktionskit („Extraction Kit“) und das extrahierte Eluatvolumen („Extracted eluate vol.“) eingeben. |
| 7 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 8 | Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt. | Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt. |
| 9 | Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“). | Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“). |
| 10 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 11 | Bei Verarbeitung von mehr als 12 Proben das Verfahren ab Punkt 6 wiederholen. | Bei Verarbeitung von mehr als 12 Proben das Verfahren ab Punkt 6 wiederholen. |
| 12 | Die „Elution tubes“ (Elutionsröhr) in das „Elution Rack“ (Elutionsablage) laden (Elutionsröhrchen können zur Verbesserung der Rückverfolgbarkeit mit einem Barcode etikettiert werden). | Nicht anwendbar |
| 13 | Das „Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ einsetzen, beginnend mit „Lane 3“ (L3). Bei Verarbeitung von mehr als 12 Proben das Verfahren wiederholen und dabei „Lane 2“ (L2) verwenden. | Nicht anwendbar |
| 14 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Nicht anwendbar |
| 15 | CPE und das komplette Reaktionsgemisch in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenzrack/Elutionsablage) laden. | Das komplette Reaktionsgemisch in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenzrack/Elutionsablage) laden . |
| 16 | Das „Reagent/Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ in „Lane 2“ (L2), falls verfügbar, oder in „Lane 1“ (L1) einsetzen. Für jeden PCR-Mix und/oder CP unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben. | Das „Reagent/Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ in „Lane 2“ (L2), falls verfügbar, oder in „Lane 1“ (L1) einsetzen. Für jeden PCR-Mix unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben. |
| 17 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 18 | Die Spitzen in dem/den „Tip Rack(s)“ (Spitzenständer/n) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen. | Die Spitzen in dem/den „Tip Rack(s)“ (Spitzenständer/n) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen. |
| 19 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 20 | Das „ PCR Rack “ mit „ PCR Cassette “ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) laden. | Das „ PCR Rack “ mit „ PCR Cassette “ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) laden. |
| 21 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 22 | Den „ Extraction Rack “ (Extraktionsrack) mit den „ELITE InGenius SP 200“ Extraktionskartuschen und die für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden. | Nicht anwendbar |

Tabelle 14 (continued)

| | A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR]) | B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR]) |
|----|--|--|
| 23 | Schließen Sie die Gerätetür. | Schließen Sie die Gerätetür. |
| 24 | „Start“ (Starten) drücken. | „Start“ (Starten) drücken. |

Tabelle 15

| | C. Kalibrationslauf (PCR Only [nur PCR]) | D. Lauf für die Positive Control und Negative Control (PCR Only [nur PCR]) |
|----|--|--|
| 1 | Die Q-PCR Standard-Röhrchen auftauen (Cal1: Q-PCR Standard 10^2 , Cal2: Q-PCR Standard 10^3 , Cal3: Q-PCR Standard 10^4 , Cal4: Q-PCR Standard 10^5) 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen . Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. | Die Positive Control-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen . Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Die Negative Control vorbereiten: dazu mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie in ein Elutionsröhrchen überführen, das im Lieferumfang des ELITe InGenius SP 200 Consumable Set enthalten ist. |
| 2 | Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen. | Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen. |
| 3 | Die „Racks“ aus „Lane 1, 2 und 3 (L1, L2 und L3)“ der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen. | Die „Racks“ aus „Lane 1, 2 und 3 (L1, L2 und L3)“ der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen. |
| 4 | Den Rund Mode („run mode“) wählen: „PCR Only“ (Nur PCR). | Den Laufmodus („Run mode“) wählen: „PCR Only“ (Nur PCR). |
| 5 | Die Q-PCR Standard-Röhrchen in das „Elution Rack“ (Elutionsablage) laden . | Die Röhrchen für die Positive Control und Negative Control in das „Elution Rack“ (Elutionsablage) laden . |
| 6 | Das „ Elution Rack “ in die „Cooler Unit“ einsetzen , beginnend mit „Lane 3“ (L3). Falls erforderlich, für jede „Position“ unter „Reagent name“ den Reagenznamen, unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben. | Das „ Elution Rack “ in die „Cooler Unit“ einsetzen , beginnend mit „Lane 3“ (L3). Falls erforderlich, für jede „Position“ unter „Reagent name“ den Reagenznamen, unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben. |
| 7 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 8 | Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 600 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 50 µl beträgt. | Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 600 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 50 µl beträgt. |
| 9 | Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“). | Das Assay Protocol (Assay-Protokoll) in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“). |
| 10 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 11 | Das komplette Reaktionsgemisch in das „Reagent/ Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) laden . | Das komplette Reaktionsgemisch in das „Reagent/ Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) laden . |
| 12 | Das „ Reagent/Elution Rack “ in die „Cooler Unit“ in „Lane 2“ (L2) einsetzen . Für jeden PCR-Mix unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben. | Das „ Reagent/Elution Rack “ in die „Cooler Unit“ in „Lane 2“ (L2) einsetzen . Für jeden PCR-Mix unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben. |

Tabelle 15 (continued)

| | C. Kalibrationslauf (PCR Only [nur PCR]) | D. Lauf für die Positive Control und Negative Control (PCR Only [nur PCR]) |
|----|---|---|
| 13 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 14 | Die Spitzen in den Spitzenständern („Tip Racks“) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen. | Die Spitzen in den Spitzenständern („Tip Racks“) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen. |
| 15 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 16 | Das „PCR Rack“ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) laden . | Das „PCR Rack“ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) laden . |
| 17 | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. | Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren. |
| 18 | Schließen Sie die Gerätetür. | Schließen Sie die Gerätetür. |
| 19 | „Start“ (Starten) drücken. | „Start“ (Starten) drücken. |

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

HINWEIS!

Am Ende des Laufs muss die übrige extrahierte Probe im **Elution Tube** (Elutionsröhr.) aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen, gekennzeichnet und maximal einen Monat bei -20 ± 10 °C aufbewahrt werden. Ein Verschütten der extrahierten Probe vermeiden.

HINWEIS!

Das **komplette Reaktionsgemisch** kann bis zu 7 Stunden (für 2 Läufe von jeweils 3 Stunden und für die Zeit, die zum Starten eines dritten Laufs benötigt wird) im gekühlten Block des Geräts verbleiben. Vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt. Das komplette Reaktionsgemisch **darf nicht** zur Wiederverwendung aufbewahrt werden.

HINWEIS!

Am Ende des Laufs kann der übrige **Q - PCR Standard** aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und bei -20 °C oder darunter aufbewahrt werden. Verschütten des Q - PCR Standard vermeiden.

HINWEIS!

Der **EV Q-PCR Standard** kann für 4 separate Läufe von jeweils 2 Stunden verwendet werden.

HINWEIS!

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

HINWEIS!

Die **EV Positive Control** kann für 4 separate Läufe von jeweils 3 Stunden verwendet werden.

HINWEIS!

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

10.3 SCHRITT 3 – Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

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

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

HINWEIS!

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

ELITE BeGenius generiert die Ergebnisse mithilfe des **ENTEROVIRUS ELITE MGB Kit** und geht dabei folgendermaßen vor:

1. Validierung der Kalibrationskurve,
2. Validierung der Ergebnisse der Positive Control und Negative Control,
3. Validierung der Probenergebnisse,
4. Ausgabe des Probenergebnisberichts.

HINWEIS!

Einzelheiten sind dem entsprechenden Abschnitt unter **Verfahren bei ELITE InGenius** zu entnehmen.

11 LEISTUNGSMERKMALE

11.1 Nachweisgrenze (LoD)

Die Nachweisgrenze (LoD) des Assays wurde mit in EDTA entnommenen Plasmaproben sowie Liquorproben in Kombination mit den Geräten **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius** verifiziert.

In EDTA entnommenes Plasma:

Die LoD des Assays wurde auf **ELITE InGenius** mit Plasmaproben bestimmt, die mit dem Referenzmaterial von Enterovirus 71 (ZeptoMetrix, USA) dotiert waren; es wurde eine Probit-Regressionsanalyse der Ergebnisse durchgeführt und die LoD als die Konzentration definiert, bei der eine 95 %-ige Wahrscheinlichkeit eines positiven Ergebnisses vorliegt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 16

| Nachweisgrenze (Kopien/ml) bei Plasmaproben und ELITE InGenius | | |
|--|-------------------------|------------|
| LoD | 95 % Konfidenzintervall | |
| | Untergrenze | Obergrenze |
| 141 | 101 | 278 |

Der berechnete LoD-Wert wurde durch Testen eines Pools von in EDTA entnommenen negativen Plasmaproben, die mit zertifiziertem *Enterovirus*-Referenzmaterial in der behaupteten Konzentration dotiert waren, verifiziert. Die erzielten Ergebnisse bestätigten die angegebene Konzentration für die Zielsequenz auf den Geräten **ELITE InGenius** und **ELITE BeGenius**.

Liquor:

Die LoD des Assays wurde auf ELITE InGenius mit Liquorproben bestimmt, die mit dem Referenzmaterial von Enterovirus 71 (ZeptoMetrix, USA) dotiert waren; es wurde eine Probit-Regressionsanalyse der Ergebnisse durchgeführt und die LoD als die Konzentration definiert, bei der eine 95 %-ige Wahrscheinlichkeit eines positiven Ergebnisses vorliegt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 17

| Nachweisgrenze (Kopien/ml) bei Liquorproben und ELITE InGenius | | |
|--|-------------------------|------------|
| LoD | 95 % Konfidenzintervall | |
| | Untergrenze | Obergrenze |
| 490 | 304 | 1185 |

Der berechnete LoD-Wert wurde durch Testen eines Pools von negativen Liquorproben, die mit zertifiziertem Enterovirus-Referenzmaterial in der behaupteten Konzentration dotiert waren, verifiziert. Die erzielten Ergebnisse bestätigten die angegebene Konzentration für die Zielsequenz auf den Geräten ELITE InGenius und ELITE BeGenius.

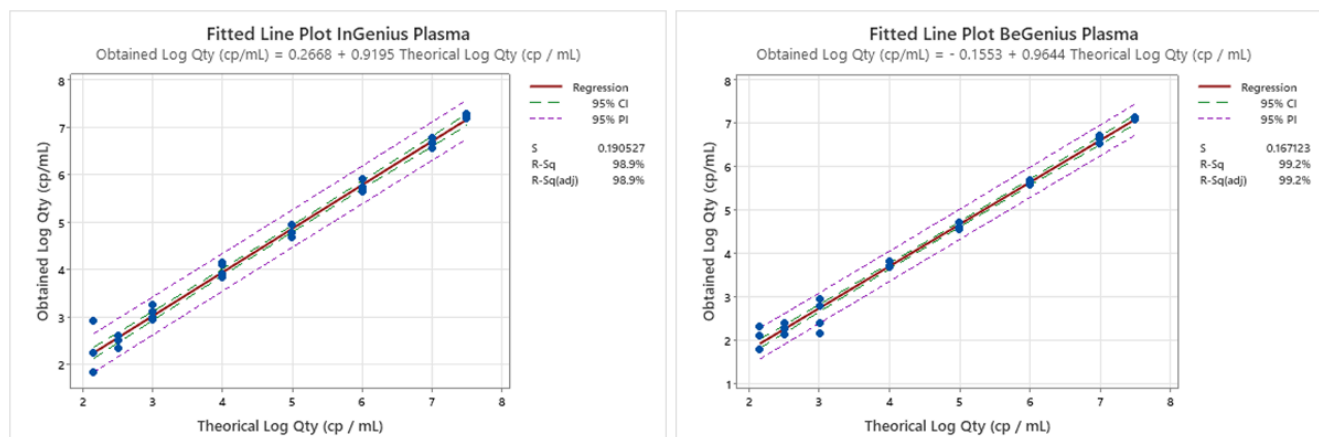
11.2 Linearer Messbereich

Der lineare Messbereich des ENTEROVIRUS ELITE MGB Kit wurde mit Plasma- und Liquorproben auf ELITE InGenius und ELITE BeGenius bestimmt.

In EDTA entnommenes Plasma:

Der lineare Messbereich des ENTEROVIRUS ELITE MGB Kit wurde mit Plasmaproben auf ELITE InGenius und ELITE BeGenius bestimmt, wobei Verdünnungen von „Enterovirus 71 reference material“ (ZeptoMetrix, USA) zum Einsatz kamen; anhand der Ergebnisse wurde eine lineare Regressionsanalyse durchgeführt und der lineare Messbereich definiert.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung aufgeführt.



Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

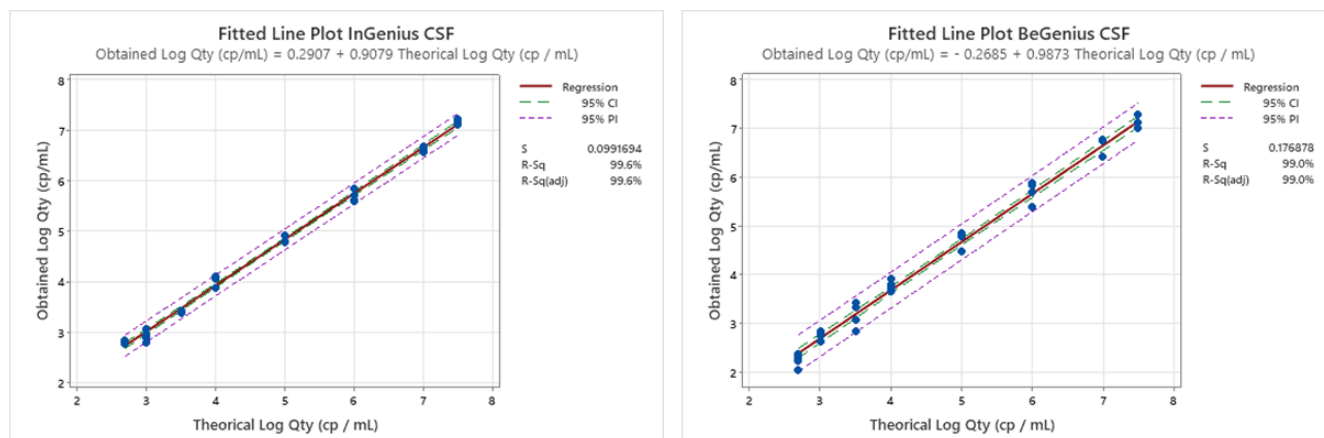
Tabelle 18

| Linearer Messbereich für EDTA-Plasmaproben und ELITE InGenius und ELITE BeGenius | |
|--|----------------------|
| Untere Grenze | Obere Grenze |
| 141 Kopien/ml | 31.622.777 Kopien/ml |

Liquor:

Der lineare Messbereich des ENTEROVIRUS ELITE MGB Kit wurde mit Liquorproben auf ELITE InGenius und ELITE BeGenius bestimmt, wobei Verdünnungen von „Enterovirus 71 reference material“ (ZeptoMetrix, USA) zum Einsatz kamen; anhand der Ergebnisse wurde eine lineare Regressionsanalyse durchgeführt und der lineare Messbereich definiert.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung aufgeführt.



Die endgültigen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 19

| Linearer Messbereich für Liquorproben und ELITE InGenius und ELITE BeGenius | |
|---|----------------------|
| Untere Grenze | Obere Grenze |
| 490 Kopien/ml | 31.622.777 Kopien/ml |

11.3 Unsicherheit der Standardkurve

Der Unsicherheitswert der Standardkurve wurde durch Kombination der zufälligen Fehler (SD) aller Levelquantifizierungen und Multiplikation mit dem Abdeckungsfaktor $k = 2$ (erweiterte kombinierte Unsicherheit) berechnet und beträgt 0,1507 Log Kopien/Reaktion.

Tabelle 20

| Standardkurven-Levels | Theoretisch | Gemessen | SD | Erweiterte kombinierte Unsicherheit |
|----------------------------|---------------------|---------------------|--------|-------------------------------------|
| | Log Kopien/Reaktion | Log Kopien/Reaktion | | |
| EV Q - PCR Standard 10^5 | 5,0000 | 5,0214 | 0,0334 | 0,1507 |
| EV Q - PCR Standard 10^4 | 4,0000 | 3,9727 | 0,0381 | |
| EV Q - PCR Standard 10^3 | 3,0000 | 2,9905 | 0,0264 | |
| EV Q - PCR Standard 10^2 | 2,0000 | 2,0154 | 0,0491 | |

11.4 Inklusivität: Nachweiseffizienz bei verschiedenen Genotypen

Die Inklusivität des Assays als die Nachweiseffizienz für verschiedene Genotypen des Enterovirus wurde mittels *In-silico*-Analyse der in den Nukleotid-Datenbanken verfügbaren Sequenzen bewertet. Die Analyse zeigte eine Sequenzerhaltung und ein Nichtvorhandensein signifikanter Mutationen. Daher ist ein effizienter Nachweis der Genotypen Enterovirus A (Coxsackievirus A2-A8, A10, A12, A14, A16 und Enterovirus EV71, EV76, EV89-EV92), Enterovirus B (Coxsackievirus B1-B6, A9, Enterovirus EV69, EV73, EV74, EV75, EV77, EV79-EV88, EV97, EV98, EV100, EV101, EV107, Echovirus E1-E21, E24-E27, E29-E33), Enterovirus C (Coxsackievirus A1, A11, A13, A15, A17-A22, A24, Poliovirus PV1-PV3, Enterovirus EV96, EV99, EV102, EV109) und Enterovirus D (Enterovirus EV68, EV70, EV94) zu erwarten.

11.5 Potenziell interferierende Marker: Kreuzreaktivität

Die potenzielle Kreuzreaktivität des Assays mit genomischer ENTEROVIRUS-RNA und anderen unbeabsichtigten Organismen, einschließlich phylogenetisch nahestehender Enteroviren (Rhinovirus und Parechovirus), wurde durch die *In-silico*-Analyse von in Nukleotidbanken verfügbaren Sequenzen bewertet.

Die Analyse von Rhinovirus und Parechovirus zeigte eine teilweise Spezifität. Es wurden keine signifikanten Homologien mit den genomischen Sequenzen der humanen Parechoviren A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7 und A8 festgestellt, während das Produkt eine mögliche Kreuzreaktivität mit einem Genotyp des Rhinovirus (mit Ausnahme des Rhinovirus B14) feststellte.

Die Analyse ergab keine signifikante Homologie mit anderen unbeabsichtigten Organismen, so dass keine Kreuzreaktivität zu erwarten ist.

Die potenzielle Kreuzreaktivität mit anderen Organismen, die in klinischen Plasmaproben vorkommen können, wurde ebenfalls durch das Testen einer Reihe zertifizierter Referenzmaterialien (ATCC und NIBSC) in hohem Titer verifiziert. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 21

| Probe | Pos. / Wiederh. | Ergebnis |
|-----------------------|-----------------|------------------------|
| HIV1 | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| EBV | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| HAV | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| HBV | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| HHV6 | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| HSV1 | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| HSV2 | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| HEV | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| RSV | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| VZV | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| Influenza A | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| Influenza B | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| CMV | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| ADV | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| PVB19 | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| HCV | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| Aspergillus fumigatus | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| Staphylococcus aureus | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| Candida albicans | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| BKV | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| Rhinovirus B14 | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| Parechovirus 1 | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |

Alle getesteten potenziell interferierenden Marker wiesen für die EV-Zielamplifikation mit dem ENTEROVIRUS ELITE MGB Kit keine Kreuzreaktivität auf.

11.6 Potenziell interferierende Marker: Inhibition

Die durch andere, in klinischen Plasma- oder Liquorproben möglicherweise vorhandene Organismen verursachte potenzielle Inhibition wurde durch das Testen einer Reihe zertifizierter Referenzmaterialien verifiziert.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 22

| Probe | EV Pos. / Wiederh. | Ergebnis |
|-----------------------|--------------------|-------------------|
| HIV1 | 6/6 | Keine Interferenz |
| EBV | 6/6 | Keine Interferenz |
| HAV | 6/6 | Keine Interferenz |
| HBV | 6/6 | Keine Interferenz |
| HHV6 | 6/6 | Keine Interferenz |
| HSV1 | 6/6 | Keine Interferenz |
| HSV2 | 6/6 | Keine Interferenz |
| HEV | 6/6 | Keine Interferenz |
| RSV | 6/6 | Keine Interferenz |
| VZV | 6/6 | Keine Interferenz |
| Influenza A | 6/6 | Keine Interferenz |
| Influenza B | 6/6 | Keine Interferenz |
| CMV | 6/6 | Keine Interferenz |
| ADV | 6/6 | Keine Interferenz |
| PVB19 | 6/6 | Keine Interferenz |
| HCV | 6/6 | Keine Interferenz |
| Aspergillus fumigatus | 6/6 | Keine Interferenz |
| Staphylococcus aureus | 5/6 * | Keine Interferenz |
| Candida albicans | 6/6 | Keine Interferenz |
| BKV | 6/6 | Keine Interferenz |
| Rhinovirus B14 | 6/6 | Keine Interferenz |
| Parechovirus 1 | 6/6 | Keine Interferenz |

Hinweis: Aufgrund eines Bedienungsfehlers wurde eine Probe in den Analysen nicht berücksichtigt, da sie ungültig war. Die im Test geforderte Mindestprobengröße betrug 5, so dass die Probe nicht erneut getestet wurde.

Bei allen getesteten potenziell interferierenden Organismen wurde im Test mit dem ENTEROVIRUS ELITe MGB Kit keine Inhibition der EV-Zielamplifikation nachgewiesen.

11.7 Potenziell interferierende Substanzen: Kreuzreaktivität

In EDTA entnommenes Plasma:

Die Kreuzreaktivität des Assays mit potenziell interferierenden (endogenen und exogenen) Substanzen, die in klinischen Plasmaproben vorkommen können, wurde durch die Analyse einer Reihe von Substanzen in relevanter Konzentration bewertet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 23

| Probe | EV Pos. / Wiederh. | Ergebnis |
|----------------------------|--------------------|------------------------|
| Ikterisches Plasma | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| Lipämisches Plasma | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| Hämolytisches Blut hoch | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| Hämolytisches Blut mittel | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| Hämolytisches Blut niedrig | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| Heparinisiertes Plasma | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| EDTA-Plasma | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| Ampicillin | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| Cefedoxim | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| Azithromycin | 0/5* | Keine Kreuzreaktivität |
| Ganciclovir | 0/5* | Keine Kreuzreaktivität |
| Ribavirin | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| Abacavir-Sulfat | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| Cidofovir | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| Cyclosporin A | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| Bactrim | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |
| Ciprofloxacin | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |

Hinweis: Aufgrund eines Bedienungsfehlers wurde eine Probe in den Analysen nicht berücksichtigt, da sie ungültig war. Die im Test geforderte Mindestprobengröße betrug 5, so dass die Probe nicht erneut getestet wurde.

Der Test zeigte, dass bei Verwendung des ENTEROVIRUS ELITE MGB Kit keine der Substanzen mit der EV-Zielamplifikation kreuzreagiert.

Liquor:

Die Kreuzreaktivität des Assays mit einer potenziell interferierenden Substanz, die in klinischen Liquorproben vorkommen kann, wurde durch die Analyse einer Reihe von Substanzen in relevanter Konzentration bewertet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 24

| Probe | EV Pos. / Wiederh. | Ergebnis |
|--------------|--------------------|------------------------|
| 5 % Vollblut | 0/6 | Keine Kreuzreaktivität |

Der Test zeigte, dass Vollblut bei Verwendung des ENTEROVIRUS ELITE MGB Kit nicht mit der EV-Zielsequenz kreuzreagiert.

11.8 Potenziell interferierende Substanzen: Inhibition

In EDTA entnommenes Plasma:

Die Inhibition durch potenziell interferierende (endogene und exogene) Substanzen, die in klinischen Plasmaproben vorkommen können, wurde durch die Analyse einer Reihe von Substanzen in relevanter Konzentration bewertet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 25

| Probe | EV Pos. / Wiederh. | Ergebnis |
|----------------------------|--------------------|-------------------|
| Ikterisches Plasma | 6/6 | Keine Interferenz |
| Lipämisches Plasma | 6/6 | Keine Interferenz |
| Hämolytisches Blut hoch | 6/6 | Keine Interferenz |
| Hämolytisches Blut mittel | 6/6 | Keine Interferenz |
| Hämolytisches Blut niedrig | 6/6 | Keine Interferenz |
| Heparinisiertes Plasma | 3/6 | Ungültige Probe |
| EDTA-Plasma | 6/6 | Keine Interferenz |
| Ampicillin | 6/6 | Keine Interferenz |
| Cefedoxim | 6/6 | Keine Interferenz |
| Azithromycin | 6/6 | Keine Interferenz |
| Ganciclovir | 6/6 | Keine Interferenz |
| Ribavirin | 6/6 | Keine Interferenz |
| Abacavir-Sulfat | 6/6 | Keine Interferenz |
| Cidofovir | 6/6 | Keine Interferenz |
| Cyclosporin A | 6/6 | Keine Interferenz |
| Bactrim | 6/6 | Keine Interferenz |
| Ciprofloxacin | 6/6 | Keine Interferenz |

Der Test zeigte, dass keine der Substanzen, mit Ausnahme von Heparin, den Nachweis und die Quantifizierung der EV-Zielsequenz mit dem ENTEROVIRUS ELITE MGB Kit hemmt.

Es wurde bestätigt, dass Heparin in der Lage ist, den Assay zu hemmen. Aufgrund des Versagens der Internal Control (IC Ct > 35) wurden diese Proben jedoch als „ungültig“ und nicht als falsch „negativ“ eingestuft.

Liquor:

Die Inhibition durch eine potenziell interferierende Substanz, die in klinischen Liquorproben vorkommen kann, wurde durch die Analyse einer Reihe von Substanzen in relevanter Konzentration bewertet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 26

| Probe | EV Pos. / Wiederh. | Systematische Messabweichung bei der Quantifizierung | Ergebnis |
|--------------|--------------------|--|-------------------|
| 5 % Vollblut | 6/6 | 0,0653 | Keine Interferenz |

Der Test zeigte, dass Vollblut den Nachweis und die Quantifizierung der EV-Zielsequenz mit dem ENTEROVIRUS ELITE MGB Kit nicht hemmt.

11.9 Wiederholpräzision

Zur Bewertung der Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs und der laufübergreifenden Wiederholpräzision des Assays wurde auf ELITE InGenius und ELITE BeGenius eine Reihe von Plasmaproben analysiert, einschließlich einer negativen Probe und zwei Proben, die mit zertifiziertem EV-Referenzmaterial (Zeptomatrix, USA) dotiert waren.

Ein Beispiel für die Ergebnisse der Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs (an einem Tag) ist in den nachstehenden Tabellen aufgeführt.

Tabelle 27

| Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs, ELITe InGenius (Tag 1) | | | | | | | | |
|--|-------------|----------------------|------|------|----------------------|----------------------|------|------|
| Probe | An- zahl | ENTEROVIRUS | | | Übereinstim- mung | Internal Control | | |
| | | Mittlerer Ct-Wert | SD | VK % | | Mittlerer Ct-Wert | SD | VK % |
| ENTEROVIRUS ELITe MGB Kit | | | | | | | | |
| Negativ | 8 | - | - | - | 100 % | 29,16 | 0,23 | 0,78 |
| 3 x LoD | 8 | 35,44 | 0,20 | 0,57 | 100 % | | | |
| 10 x LoD | 8 | 33,88 | 0,29 | 0,86 | 100 % | | | |
| 10 x LoD | 8 | 33,79 | 0,28 | 0,83 | 100 % | | | |

Tabelle 28

| Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs, ELITe BeGenius (Tag 1) | | | | | | | | |
|--|-------------|----------------------|------|------|----------------------|----------------------|------|------|
| Probe | An- zahl | ENTEROVIRUS | | | Übereinstim- mung | Internal Control | | |
| | | Mittlerer Ct-Wert | SD | VK % | | Mittlerer Ct-Wert | SD | VK % |
| ENTEROVIRUS ELITe MGB Kit U0722-018 (LP1) – Tag 1 | | | | | | | | |
| Negativ | 8 | - | - | - | 100 % | 30,31 | 0,71 | 2,36 |
| 3 x LoD | 8 | 37,75 | 1,44 | 3,82 | 100 % | | | |
| 10 x LoD | 8 | 35,46 | 0,44 | 1,25 | 100 % | | | |

Ein Beispiel für die Ergebnisse der laufübergreifenden Wiederholpräzision (an zwei Tagen) ist in den nachstehenden Tabellen aufgeführt.

Tabelle 29

| Laufübergreifende Wiederholpräzision, ELITe InGenius, (Tag 1 + Tag 2) | | | | | | | | |
|---|-------------|-----------------------|------|------|----------------------|----------------------|------|------|
| Probe | An- zahl | ENTEROVIRUS | | | Übereinstim- mung | Internal Control | | |
| | | Mittlerer Ct- Wert | SD | VK % | | Mittlerer Ct-Wert | SD | VK % |
| ENTEROVIRUS ELITe MGB Kit | | | | | | | | |
| Negativ | 16 | - | - | - | 100 % | 29,21 | 0,21 | 0,73 |
| 3 x LoD | 16 | 35,25 | 0,47 | 1,34 | 100 % | | | |
| 10 x LoD | 16 | 33,92 | 0,43 | 1,26 | 100 % | | | |

Tabelle 30

| Laufübergreifende Wiederholpräzision, ELite BeGenius (Tag 1 + Tag 2) | | | | | | | | |
|--|-------------|-----------------------|------|------|-----------------|----------------------|------|------|
| Probe | An- zahl | ENTEROVIRUS | | | Übereinstimmung | Internal Control | | |
| | | Mittlerer Ct- Wert | SD | VK % | | Mittlerer Ct-Wert | SD | VK % |
| ENTEROVIRUS ELite MGB Kit U0722-018 (LP1) – Tag 1 - 2 | | | | | | | | |
| Negativ | 16 | - | - | - | 100 % | 30,45 | 0,96 | 3,17 |
| 3 x LoD | 16 | 37,46 | 1,31 | 3,49 | 100 % | | | |
| 10 x LoD | 16 | 35,72 | 0,73 | 2,04 | 100 % | | | |

Beim Test der Wiederholpräzision erkannte der ENTEROVIRUS ELITE MGB Kit die Zielsequenz und wies eine maximale Variabilität der Ct-Zielwerte als VK% unter 5 % aus.

11.10 Vergleichspräzision

Zur Bewertung der Wiederholpräzision des Assays wurde auf ELITE InGenius und ELITE BeGenius eine Reihe von Plasmaproben analysiert, einschließlich einer negativen Probe und zwei Proben, die mit zertifiziertem EV-Referenzmaterial (ZeptoMetrix, USA) dotiert waren.

Eine Übersicht der geräteübergreifenden Vergleichspräzision ist in den nachfolgenden Tabellen dargestellt.

Tabelle 31

| Geräteübergreifende Vergleichspräzision bei ELITE InGenius | | | | | | | | |
|--|--------|-------------------|------|------|-----------------|-------------------|------|------|
| Probe | Anzahl | ENTEROVIRUS | | | Übereinstimmung | Internal Control | | |
| | | Mittlerer Ct-Wert | SD | VK % | | Mittlerer Ct-Wert | SD | VK % |
| Negativ | 24 | - | - | - | 100 % | 29,37 | 0,36 | 1,22 |
| 3 x LoD | 24 | 35,62 | 0,55 | 1,55 | 100 % | | | |
| 10 x LoD | 24 | 33,77 | 0,36 | 1,05 | 100 % | | | |

Tabelle 32

| Geräteübergreifende Vergleichspräzision bei ELITE BeGenius | | | | | | | | |
|--|--------|-------------------|------|------|-----------------|-------------------|------|------|
| Probe | Anzahl | ENTEROVIRUS | | | Übereinstimmung | Internal Control | | |
| | | Mittlerer Ct-Wert | SD | VK % | | Mittlerer Ct-Wert | SD | VK % |
| Negativ | 24 | - | - | - | 100 % | 30,48 | 0,49 | 1,62 |
| 3 x LoD | 24 | 37,45 | 1,05 | 2,81 | 100 % | | | |
| 10 x LoD | 24 | 35,24 | 0,63 | 1,78 | 100 % | | | |

Eine Übersicht der chargenübergreifenden Vergleichspräzision (bei drei Chargen) ist in den nachfolgenden Tabellen dargestellt.

Tabelle 33

| Chargenübergreifende Vergleichspräzision bei ELITe InGenius | | | | | | | | |
|---|--------|-------------------|------|------|-----------------|-------------------|------|------|
| Probe | Anzahl | ENTEROVIRUS | | | Übereinstimmung | Internal Control | | |
| | | Mittlerer Ct-Wert | SD | VK % | | Mittlerer Ct-Wert | SD | VK % |
| Negativ | 48 | - | - | - | 100 % | 29,30 | 0,32 | 1,10 |
| 3 x LoD | 48 | 35,55 | 0,35 | 0,99 | 100 % | | | |
| 10 x LoD | 48 | 33,94 | 0,33 | 0,98 | 100 % | | | |

Tabelle 34

| Chargenübergreifende Vergleichspräzision bei ELITe BeGenius | | | | | | | | |
|---|--------|-------------------|------|------|-----------------|-------------------|------|------|
| Probe | Anzahl | ENTEROVIRUS | | | Übereinstimmung | IC | | |
| | | Mittlerer Ct-Wert | SD | VK % | | Mittlerer Ct-Wert | SD | VK % |
| Negativ | 48 | - | - | - | 100 % | 30,44 | 0,91 | 2,99 |
| 3 x LoD | 48 | 37,54 | 1,30 | 3,47 | 100 % | | | |
| 10 x LoD | 48 | 35,47 | 0,84 | 2,37 | 100 % | | | |

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

11.11 Diagnostische Spezifität: Bestätigung negativer Proben

Zur Bewertung der diagnostischen Spezifität des Assays als Bestätigung negativer Proben wurden in Verbindung mit ELITe InGenius klinische EDTA-Plasma- und Liquorproben analysiert und für die Zielsequenz als negativ bestätigt. Da ELITe BeGenius gleichwertige analytische Leistungen wie ELITe InGenius aufweist, ist die diagnostische Güte der auf den beiden Instrumenten durchgeführten Tests ebenfalls als gleichwertig anzusehen. Daher gilt die mit ELITe InGenius erhaltene diagnostische Spezifität des Assays auch für ELITe BeGenius.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 35

| EV-RNA-negativ | Anzahl | Positiv | Negativ | Diagnostische Spezifität in % |
|----------------|--------|---------|---------|-------------------------------|
| EDTA-Plasma | 50 | 0 | 50 | 100 % |
| Liquor | 50 | 0 | 50 | 100 % |

Die diagnostische Spezifität des ENTEROVIRUS ELITe MGB Kit in Verbindung mit EDTA-Plasma- und Liquorproben betrug in diesem Test 100 %.

Der Ct-Grenzwert für die IC wurde auf 35 für beide Matrices festgelegt.

11.12 Diagnostische Sensitivität: Bestätigung positiver Proben

Zur Bewertung der diagnostischen Sensitivität des Assays als Bestätigung positiver klinischer Proben wurden in Verbindung mit ELITE InGenius klinische EDTA-Plasma- und Liquorproben analysiert, die mit verschiedenen Referenzmaterialien dotiert waren. Da ELITE BeGenius gleichwertige analytische Leistungen wie ELITE InGenius aufweist, ist die diagnostische Güte der auf den beiden Instrumenten durchgeführten Tests ebenfalls als gleichwertig anzusehen. Daher gilt die mit ELITE InGenius erhaltene diagnostische Sensitivität des Assays auch für ELITE BeGenius.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 36

| EV-RNA-dotiert | Anzahl | Positiv | Negativ | Diagnostische Sensitivität in % |
|----------------|--------|---------|---------|---------------------------------|
| EDTA-Plasma | 64 | 64 | 0 | 100 % |
| Liquor | 64 | 64 | 0 | 100 % |

Die diagnostische Sensitivität des ENTEROVIRUS ELITE MGB Kit in Verbindung mit EDTA-Plasma- und Liquorproben betrug in diesem Test 100 %.

HINWEIS!

Die vollständigen Daten und Ergebnisse der Tests, die zur Bewertung der Leistungsmerkmale des Produkts mit Matrices und Geräten durchgeführt wurden, sind in der technischen Dokumentation „ENTEROVIRUS ELITE MGB® Kit“, FTP 076PLD, aufgeführt.

12 REFERENZEN

W. A. Verstrepen et al. (2001) J Clin Microbiology 39: 4093 - 4096.

K. Linnet et al. (2004) Clin. Chem. 50: 732 - 740.

A. A. Lukhtanov et al. (2007) Nucleic Acids Res. 35: e30.

C. N. Kotton et al. (2018) Transplantation 02: 900 - 931.

13 GRENZEN DES VERFAHRENS

Dieses Produkt darf nur mit den folgenden klinischen Proben verwendet werden: In EDTA entnommenes Plasma und Liquor.

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

Keine aus heparinisierten Proben extrahierte RNA zusammen mit diesem Produkt verwenden: Heparin hemmt die Amplifikationsreaktion von Nukleinsäuren und führt zu ungültigen Ergebnissen.

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

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

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

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

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

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

Eine räumliche Trennung von Vorbereitung des kompletten Reaktionsgemischs und die Extraktion/Amplifikation/Detektion von Amplifikationsprodukten ist zu beachten, um falsch-positive Ergebnisse zu vermeiden.

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

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

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

Etwaige Polymorphismen, Insertionen oder Deletionen in der Primer- oder Sondenbindungsregion der RNA können den Nachweis und die Quantifizierung der Ziel-RNA beeinträchtigen.

Wie bei allen anderen diagnostischen Produkten müssen die mit diesem Produkt erhaltenen Ergebnisse in Kombination mit allen relevanten klinischen Beobachtungen und Laborbefunden interpretiert werden.

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

14 FEHLERBEHEBUNG

Tabelle 37

| Ungültige Reaktion von Q-PCR Standard, Standardkurve oder Positive Control | |
|--|--|
| Mögliche Ursachen | Abhilfemaßnahmen |
| Einstellfehler des Geräts. | Position von komplettem Reaktionsgemisch, Q-PCR Standards und Positivkontrolle kontrollieren. Volumina von komplettem Reaktionsgemisch, Q-PCR Standards und 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 3 aufeinander folgende Läufe verwenden (7 Stunden im gekühlten Reagenzienblock oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix 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. |

Tabelle 37 (continued)

| Ungültige Reaktion von Q-PCR Standard, Standardkurve oder Positive Control | |
|---|---|
| Mögliche Ursachen | Abhilfemaßnahmen |
| Abbau von Q-PCR Standards oder Positive Control. | Den Q-PCR Standard nicht für mehr als 4 unabhängige Läufe verwenden (jeweils 2 Stunden im Extraktionsbereich oder in der Cooler Unit). Die Positive Control nicht für mehr als 4 unabhängige Arbeitsläufe verwenden (jeweils 3 Stunden im Extraktionsbereich oder in der Cooler Unit). Neue Aliquote von Q-PCR Standards oder Positive Control verwenden. |
| Gerätefehler. | Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren. |

Tabelle 38

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

Tabelle 39

| Ungültige Probenreaktion | |
|---|--|
| Mögliche Ursachen | Abhilfemaßnahmen |
| Einstellfehler des Geräts. | Position von komplettem Reaktionsgemisch, Internal Control und Probe kontrollieren. Volumina von komplettem Reaktionsgemisch, Internal Control und Probe kontrollieren. |
| Fehler bei der Zubereitung des kompletten Reaktionsgemischs. | Volumina der bei der Zubereitung des kompletten Reaktionsgemischs verwendeten Reagenzien kontrollieren. |
| Abbau des kompletten Reaktionsgemischs oder seiner Komponenten. | Das komplette Reaktionsgemisch nicht für mehr als 3 aufeinander folgende Läufe verwenden (7 Stunden im gekühlten Reagenzienblock oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix 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. |

Tabelle 39 (continued)

| Ungültige Probenreaktion | |
|---|---|
| Mögliche Ursachen | Abhilfemaßnahmen |
| Abbau der Vorlage für die Internal Control. | Ein neues Aliquot der Internal Control verwenden. |
| Inhibition durch Störsubstanzen in der Probe. | Amplifikation der eluierten Probe mit einer 1:2-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „PCR Only“-Lauf (nur PCR) wiederholen. Extraktion mit einer 1:2-Verdünnung der Probe in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „Extract + PCR“-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen. |
| Gerätefehler. | Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren. |

Tabelle 40

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

Tabelle 41

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

Tabelle 42

| Ungewöhnlich hoher Anteil positiver Ergebnisse innerhalb ein und desselben Laufs (Reaktionen mit ähnlich späten Ct-Werten) | |
|--|---|
| Mögliche Ursachen | Abhilfemaßnahmen |
| Kontamination von Probe zu Probe bei Präanalyseschritten. | <p>Mikropipette nach dem Pipettieren jeder Probe mit frischer 3%iger Natriumhypochloritlösung (Bleiche) oder DNA/RNA-Cleaner reinigen.</p> <p>Keine Pasteur-Pipetten verwenden. Die Pipetten müssen entweder Direktverdrängungspipetten sein oder zusammen mit Aerosolfilterspitzen verwendet werden.</p> <p>Proben in die letzten Positionen der Geräte einsetzen, wie auf der Benutzeroberfläche angegeben. Die von der Software angegebene Ladefolge beachten.</p> |
| Kontamination der Laborumgebung. | <p>Alle Oberflächen, die mit dem Bediener und den Proben (einschließlich Pipetten) in Kontakt kommen, mit frischer 3%iger Natriumhypochloritlösung (Bleiche) oder DNA/RNA-Cleaner reinigen.</p> <p>Einen UV-Dekontaminationszyklus durchführen.</p> <p>Das komplette Reaktionsgemisch erneut zubereiten und/oder ein neues Aliquot von Reagenzien oder CPE verwenden.</p> |

15 SYMBOLE



Katalognummer.



Temperaturobergrenze.



Chargenbezeichnung.



Verfallsdatum (letzter Tag des Monats).



In-vitro-Diagnostikum.



Erfüllt die Anforderungen der Verordnung (EU) 2017/746 über *In-vitro*-Diagnostika (IVDR). Zertifizierung ausgestellt von der TÜV SÜD Product Service GmbH, Deutschland.



Unique Device Identification, eindeutige Geräteerkennung



Ausreichend für „N“ Tests



Vorsicht, Gebrauchsanweisung beachten.



Inhalt.



Vor Sonneneinstrahlung schützen.



Hersteller.

16 ANWENDERHINWEISE

Jeder schwerwiegende Zwischenfall, der im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetreten ist, muss dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedsstaates, in dem der Anwender und/oder der Patient ansässig ist, gemeldet werden. Zum Zeitpunkt der aktuellen Überarbeitung der Gebrauchsanweisung lag kein schwerwiegender Zwischenfall oder Rückruf mit Auswirkungen auf die Produktleistung und Gerätesicherheit vor.

Eine „Zusammenfassung der Unbedenklichkeit und der Leistung“ wird der Öffentlichkeit über die Europäische Datenbank für Medizinprodukte (Eudamed) zur Verfügung gestellt, sobald dieses Informatiksystem funktionsfähig ist. Vor der Veröffentlichung des Hinweises über die vollständige Funktionsfähigkeit von Eudamed wird die „Zusammenfassung der Sicherheit und Leistung“ der Öffentlichkeit auf Anfrage per E-Mail an emd.support@elitechgroup.com ohne unnötige Verzögerung zur Verfügung gestellt.

17 HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ

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

ELITe MGB® detection reagents are covered by one or more of U. S. Patent numbers 7319022, 7348146, 7381818, 7541454, 7671218, 7718374, 7723038, 7759126, 7767834, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529, and EP patent numbers 1687609, 1781675, 1789587, 2689031, 2714939, 2736916, 2997161 as well as applications that are currently pending.

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

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

Das ELITe MGB®-Gerätelogo sowie ELITe InGenius® und ELITe BeGenius® sind eingetragene Marken der ELITechGroup in der Europäischen Union.

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

Appendix A ENTEROVIRUS ELITE MGB Kit zur Verwendung mit Plattformen der Genius-Reihe®



VORSICHT

Dieses Dokument ist eine vereinfachte Version der offiziellen Gebrauchsanweisung. Bitte lesen Sie vor dem Gebrauch das vollständige Dokument: www.elitechgroup.com

VERWENDUNGSZWECK

Das Produkt **ENTEROVIRUS ELITE MGB® Kit** ist ein *In-vitro*-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal als quantitativer Nukleinsäure-RT- (reverse Transkription) und Real-Time-PCR-Assay zum Nachweis und zur Quantifizierung der RNA von humanem Enterovirus (A, B, C, D), die aus klinischen Proben extrahiert wurde, bestimmt ist.

Dieser Assay ist in Verbindung mit den Geräten **ELITE InGenius®** und **ELITE BeGenius®**, automatisierten und integrierten Systemen zur Extraktion, reversen Transkription, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation mit menschlichen Plasmaproben, die in EDTA und Liquor entnommen wurden, validiert.

Das Produkt ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Diagnose und Überwachung von Infektionen mit humanen Enteroviren (EV) bei Patienten bestimmt, bei denen Verdacht auf eine EV-Infektion besteht oder die auf eine EV-Infektion überwacht werden.

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



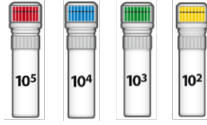

Amplifizierte Sequenz

| Sequenz | Gen | Fluorophor | Kanal |
|------------------|------------------------------|------------|-------|
| Zielorganismus | EV-5'-UTR-Region | FAM | EV |
| Internal Control | Protein-A-Gen des Phagen MS2 | AP525 | IC |

Validierte Matrices

- In EDTA entnommenes Plasma
- Liquor

Kit-Inhalt und zugehörige Produkte

| ENTEROVIRUS ELITe MGB Kit (RTS020PLD) | | ENTEROVIRUS ELITe Standard (STD020PLD) | ENTEROVIRUS - ELITe Positive Control (CTR020PLD) |
|--|--|--|--|
|  X 4 |  x 2 |  X 2 |  X 2 |
| EV PCR Mix 4 Röhrchen mit 600 µl 96 Reaktionen pro Kit 5 Gefrier- und Auftauzyklen | RT EnzymeMix 2 Röhrchen mit 20 µl 96 Reaktionen pro Kit 10 Gefrier- und Auftauzyklen | 4 Konzentrationen (gebrauchsfertig): 10 ⁵ , 10 ⁴ , 10 ³ , 10 ² 2 Sets à 4 Röhrchen mit 160 µl 4 Gefrier- und Auftauzyklen | Gebrauchsfertige Positive Control 2 Röhrchen mit 160 µl 8 Reaktionen pro Kit 4 Gefrier- und Auftauzyklen |
| Maximale Haltbarkeitsdauer: 18 Monate Lagerungstemperatur: -20 °C | | Maximale Haltbarkeitsdauer: 24 Monate Lagerungstemperatur: -20 °C | Maximale Haltbarkeitsdauer: 24 Monate Lagerungstemperatur: -20 °C |

Weitere benötigte, nicht im Kit enthaltene Produkte

| | |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • ELITe InGenius-Gerät: INT030. • ELITe BeGenius-Gerät: INT040. • ELITe InGenius SP 200: INT032SP200. • ELITe InGenius SP 200 Consumable Set: INT032CS. | <ul style="list-style-type: none"> • ELITe InGenius PCR Cassette: INT035PCR. • ELITe InGenius Waste Box: F2102-000. • CPE – Internal Control: CTRCPE • 300 µl Filterspitzen, Axigen: TF-350-L-R-S. • 1000 µl Filterspitzen, Tecan: 30180118. |
|--|---|

ELITe InGenius- und ELITe BeGenius-Protokoll

Tabelle 43

| | | | |
|--------------------------------|--------|---|-----------|
| › Extraktion Eingangsvolumen | 200 µl | › Volumen PCR-Mix | 20 µl |
| › CPE-Volumen | 10 µl | › Häufigkeit der Kontrollen | 15 Tage |
| › Extrahiertes Elutionsvolumen | 100 µl | › Häufigkeit der Kalibrierung | 60 Tage |
| › Eingangsvolumen Proben-PCR | 10 µl | › Einheit des quantitativen Ergebnisses | Kopien/ml |

Leistungsdaten für ELITe InGenius und ELITe BeGenius

| Matrix | Nachweisgrenze | Sensitivität | Spezifität |
|-------------|----------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| EDTA-Plasma | 141 Kopien/ml | 100 % 64 getestete Proben | 100 % 50 getestete Proben |
| Liquor | 490 Kopien/ml | 100 % 64 getestete Proben | 100 % 50 getestete Proben |

Probenvorbereitung

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

| Probe | Anforderungen an die Entnahme | Transport-/Lagerbedingungen | | | |
|--------|-------------------------------|----------------------------------|--------------|-------------|-------------|
| | | +16 / +26 °C (Raumtemperatur) | +2 / +8 °C | -20 ± 10 °C | -70 ± 15 °C |
| Plasma | EDTA | ≤ 24 Stunden | ≤ 3 Tage | ≤ 1 Monat | ≤ 1 Monat |
| Liquor | - | n. e. | ≤ 24 Stunden | ≤ 1 Monat | ≤ 1 Monat |

n. e.: nicht empfohlen

ELITE InGenius-Verfahren

Der Benutzer wird von der ELITE InGenius-Software zur Vorbereitung des Laufs Schritt für Schritt durch die grafische Benutzeroberfläche geführt. Alle Schritte: Extraktion, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation werden automatisch durchgeführt. Es stehen zwei Betriebsmodi zur Verfügung: vollständiger Lauf „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) und „PCR Only“ (Nur PCR).

Vor der Analyse

| | | | |
|--|-----------------|---|---|
| 1. ELITE InGenius einschalten. Mit dem Benutzernamen und Passwort anmelden. Den Modus „ CLOSED “ (Geschlossen) wählen. | | 2. Kalibratoren überprüfen: Q-PCR Standard im Menü „Calibration“ (Kalibrierung). Kontrollen überprüfen: Positive Control sowie Negative Control im Menü „Controls“ (Kontrollen). Hinweis: Beide müssen ausgeführt und genehmigt worden sein und dürfen nicht abgelaufen sein. | 3. Den PCR Mix und die CTRCPE -Röhrchen auftauen. Vorsichtig vortexen. 5 Sek. herunterzentrifugieren. Den RT EnzymeMix auf Eis oder in einem Kühlblock aufbewahren. |
| 4. Das komplette Reaktionsgemisch zubereiten | | | 5. Vorsichtig vortexen 5 Sek. herunterzentrifugieren. Das komplette Reaktionsgemisch auf Eis. Keinem direkten Licht aussetzen. |
| Probenanzahl (N) | PCR Mix | RT EnzymeMix | |
| 1 ≤ N ≤ 5 | (N + 1) x 20 µl | (N + 1) x 0,3 µl | |
| 6 ≤ N ≤ 11 | (N + 2) x 20 µl | (N + 2) x 0,3 µl | |
| N = 12 | 290 µl | 4,4 µl | |

Verfahren 1 – Vollständiger Lauf: „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) (z. B. Proben)

| | | |
|---|--|---|
| 1. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen. | 2. Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingangsvolumen: „200 µL“, Elutionsvolumen: „100 µL“. | 3. Die Proben-Barcodes mit dem tragbaren Barcodeleser scannen oder die Proben-ID eingeben. |
| 4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: EV ELITE_PL_200_100 und EV ELITE_CSF_200_100 | 5. Die Methode „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) und die Probenposition „Extraction Tube“ (Extraktionsröhrchen) auswählen. | 6. Das komplette Reaktionsgemisch in den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden. |
| 7. Folgendes laden: PCR-Kassette, Extraktionskartusche, Elution tube (Elutionsröhrchen), Spitzenkassette, Extraction Tube (Extraktionsröhrchen)-Racks. | 8. Tür schließen. Analyselauf starten. | 9. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern. |

HINWEIS!

Wird der Modus „Extract Only“ (nur Extraktion) benötigt, zum Verfahren das Benutzerhandbuch des Geräts beachten.

Verfahren 2: „PCR Only“ (Nur PCR) (z. B. Eluate, Standards, Kontrollen)

| | | |
|---|---|---|
| 1. bis 4. Das oben beschriebene Verfahren 1 befolgen (die Assay-Protokolle auswählen: EV ELiTe_PC und EV ELiTe_NC oder EV ELiTe_STD) | 5. Die Methode „PCR Only“ (Nur PCR) und die „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube“ (Elutionsröhrchen) auswählen | 6. Das komplette Reaktionsgemisch in den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden |
| 7. Folgendes laden: PCR Cassette-Rack und Elution tube (Elutionsröhrchen)-Rack mit der extrahierten Nukleinsäure | 8. Tür schließen. Analyselauf starten | 9. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern |

ELiTe BeGenius-Verfahren

Der Benutzer wird von der ELiTe BeGenius-Software zur Vorbereitung des Laufs Schritt für Schritt durch die grafische Benutzeroberfläche geführt. Alle Schritte: Extraktion, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation werden automatisch durchgeführt. Es stehen zwei Betriebsmodi zur Verfügung: vollständiger Lauf „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) und „PCR Only“ (Nur PCR).

Vor der Analyse

| | | |
|---|---|---|
| 1. ELiTe BeGenius einschalten. Mit dem Benutzernamen und Passwort anmelden. Den Modus „ CLOSED “ (Geschlossen) wählen. | 2. Kalibratoren überprüfen: Q-PCR Standard im Menü „Calibration“ (Kalibrierung). Kontrollen überprüfen: Positive Control sowie Negative Control im Menü „Controls“ (Kontrollen). Hinweis: Beide müssen ausgeführt und genehmigt worden sein und dürfen nicht abgelaufen sein. | 3. Den PCR Mix und die CTRCPE -Röhrchen auftauen. Vorsichtig vortexen. 5 Sek. herunterzentrifugieren. Den RT EnzymeMix auf Eis oder in einem Kühlblock aufbewahren. |
| 4. Das komplette Reaktionsgemisch zubereiten: | | |
| Probenanzahl (N) | PCR Mix | RT EnzymeMix |
| $1 \leq N \leq 5$ | $(N + 1) \times 20 \mu\text{l}$ | $(N + 1) \times 0,3 \mu\text{l}$ |
| $6 \leq N \leq 11$ | $(N + 2) \times 20 \mu\text{l}$ | $(N + 2) \times 0,3 \mu\text{l}$ |
| $N = 12$ | 290 μl | 4,4 μl |
| $13 \leq N \leq 18$ | $(N + 3) \times 20 \mu\text{l}$ | $(N + 3) \times 0,3 \mu\text{l}$ |
| $19 \leq N \leq 23$ | $(N + 4) \times 20 \mu\text{l}$ | $(N + 4) \times 0,3 \mu\text{l}$ |
| $N = 24$ | 580 μl | 8,7 μl |
| 5. Vorsichtig vortexen 5 Sek. herunterzentrifugieren. Das komplette Reaktionsgemisch auf Eis. Keinem direkten Licht aussetzen. | | |

Verfahren 1 – Vollständiger Lauf: „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) (z. B. Proben)

| | | |
|--|---|---|
| 1. Auf dem Touchscreen „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen und anschließend auf den Laufmodus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) klicken. | 2. Das Sample Rack (Probenständer) mit den barcodierten Proben in die Cooler Unit einsetzen. Der Barcode-Scan ist bereits aktiv | 3. Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingang: „200 µL“, Elutionsvolumen: „100 µL“ |
| 4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: (EV ELITe_Be_PL_200_100 oder EV ELITe_Be_CSF_200_100) Hinweis: Bei Durchführung einer zweiten Extraktion die Schritte 2 bis 4 wiederholen | 5. Die Etiketten ausdrucken, um die leeren Elution Tubes (Elutionsröhrchen) mit einem Barcode zu versehen. Die Röhrchen in das Elution Rack (Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen | 6. Das komplette Reaktionsgemisch und die Internal Control in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen |
| 7. Das „PCR Rack“ mit der „PCR Cassette“ und den „Extraction Rack“ (Extraktionsrack) mit den „ELITe InGenius SP 200“ Extraktionskartuschen und die für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden | 8. Tür schließen. Analyselauf starten | 9. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern |

HINWEIS!

Wird der Modus „Extract Only“ (nur Extraktion) benötigt, zum Verfahren das Benutzerhandbuch des Geräts beachten.

Verfahren 2: „PCR Only“ (Nur PCR) (z. B. Eluate, Standards, Kontrollen)

| | | |
|--|--|---|
| 1. Auf dem Touchscreen „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen und anschließend auf den Run mode „PCR Only“ (Nur PCR) klicken | 2. Die barcodierten Röhrchen mit der extrahierten Nukleinsäure oder den Kontrollen in das Elution Rack (Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen | 3. Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingang: „200 µL“, Elutionsvolumen: „100 µL“ |
| 4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: (EV ELITe_Be_PC and EV ELITe_Be_NC or EV ELITe_Be_STD) | 5. Load the complete reaction mixture in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit | 6. „PCR Rack“ mit „PCR Cassette“ laden |
| 7. Tür schließen. Analyselauf starten | 8. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern | |

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

