

RIDA® GENE Adenovirus

REF PG1005



1. Zweckbestimmung

Für die *in-vitro* Diagnostik. RIDA[®]GENE Adenovirus ist eine multiplex real-time PCR zum direkten qualitativen Nachweis von Adenovirus aus humanen Stuhlproben, Rachenspülwasser, Sputum sowie bronchoalveolärer Lavage (BAL).

Die RIDA[®]GENE Adenovirus multiplex real-time PCR soll die Diagnose einer durch Adenovirus verursachten respiratorischen Infektion unterstützen.

2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Adenoviren sind unbehüllte ikosaedrische doppelsträngige DNA (dsDNA) Viren und gehören zur Familie der *Adenoviridae*. Sie wurden aus humanen Rachenmandeln (Adenoiden) isoliert, woher auch ihr Name stammt.¹ **Man unterscheidet 56 humanpathogene Adenovirus-Serotypen, die in sieben Gruppen (A - G) unterteilt werden.**^{4,5} Adenoviren verursachen eine Reihe von sehr unterschiedlichen Krankheitsbildern, in den meisten Fällen handelt es sich aber neben okularen und gastrointestinalen Infektionen überwiegend um Erkrankungen der Atemwege. Hierbei sind Kinder unter vier Jahren durch das Fehlen eines humoralen Immunsystems häufiger betroffen, jedoch werden 1 – 7 % der respiratorischen Infektionen von Erwachsenen durch Adenoviren verursacht.¹ Die Symptome einer Adenovirus-Infektion reichen von Erkältung, über akute Bronchitis bis hin zu Pneumonien und in immunsupprimierten Patienten kann es auch zum Acute Respiratory Distress-Syndrom (ARDS) kommen. Akute respiratorische Erkrankungen werden hauptsächlich durch die Serotypen 1, 2, 3, 4, 6, 7, 14 und 21 hervorgerufen, während die Serotypen 1, 2, 3, 4 und 7 die häufigste Ursache von Pneumonien sind. Einige Adenovirus-Serotypen sind endemisch, wobei Adenovirus-Ausbrüche vor allem in militärischen Einrichtungen beschrieben sind.² Eine neuere Variante des Serotyps 14 hat 2006/2007 in den USA zu einem Ausbruch einer schweren respiratorischen Erkrankung mit einer Mortalitätsrate von 5 % geführt.³ Das klinische Spektrum einer Adenovirus-Infektion ist unter anderem auch von seiner Eintrittspforte abhängig. Zum Beispiel führt eine Inhalation von Adenovirus 7 zu einer schweren Erkrankung der unteren Atemwege, während eine orale Aufnahme dieses Serotyps zu keiner oder einer milden Infektion führt. **Der RIDA[®]GENE Adenovirus Test wurde zur Unterstützung der Diagnose von respiratorischen Infektionen entwickelt, es können aber auch Adenovirus-Serotypen, welche primär gastrointestinale Infektionen hervorrufen (Serotyp 40 und 41) aus Stuhlproben nachgewiesen werden.**

3. Testprinzip

RIDA[®]GENE Adenovirus ist eine multiplex real-time PCR zum direkten qualitativen Nachweis von Adenovirus aus humanen Stuhlproben, Rachenspülwasser, Sputum sowie bronchoalveolarer Lavage (BAL).

Nach der DNA-Isolierung werden (falls vorhanden) die spezifischen Genfragmente

für Adenovirus (Hexon) amplifiziert. Die amplifizierten Zielsequenzen von Adenovirus werden mit Hydrolyse-Sonden, die an einem Ende mit dem Quencher und am anderen Ende mit einem Reporter-Fluoreszenzfarbstoff (Fluorophor) markiert sind, nachgewiesen. In Gegenwart einer Zielsequenz hybridisieren die Sonden mit den Amplikons. Während der Extension trennt die **Taq-Polymerase** den Reporter vom Quencher. Der Reporter emittiert ein Fluoreszenzsignal, das durch die optische Einheit eines real-time PCR-Gerätes detektiert wird. Das Fluoreszenzsignal steigt mit der Menge der gebildeten Amplikons an. Der RIDA[®]GENE Adenovirus Test enthält eine **Internal Control DNA** (ICD), um die Probenpräparation und/oder eine potentielle PCR Inhibition kontrollieren zu können.

4. Packungsinhalt

Tab. 1: Packungsinhalt (Die Reagenzien einer Packung reichen für 100 Bestimmungen)

Kit Code	Reagenz	Menge		Deckelfarbe
1	Reaction Mix	2x	1050 µl	gelb
2	Taq-Polymerase	1x	80 µl	rot
D	Internal Control DNA	2x	1700 µl	orange
N	No Template Control	1x	450 µl	weiß
P	Positive Control	1x	200 µl	blau

5. Reagenzien und ihre Lagerung

- Alle Reagenzien müssen lichtgeschützt bei -20 °C gelagert werden und können bis zum aufgedruckten Verfallsdatum verwendet werden. Nach Erreichen des Verfallsdatums kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden.
- Vor dem Gebrauch sollten die Reagenzien schonend aufgetaut werden (z.B. im Kühlschrank bei 2 - 8 °C).
- Ein wiederholtes Einfrieren/Auftauen bis zu 20 Mal beeinträchtigt die Testeigenschaft nicht (ggf. Aliquots nach dem ersten Auftauen herstellen und die Reagenzien sofort wieder einfrieren).
- Alle Reagenzien während der PCR-Vorbereitung geeignet kühlen (2 - 8 °C).

6. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

Der RIDA[®]GENE Adenovirus multiplex real-time PCR Test ist geeignet für die Verwendung mit folgenden Extraktionsplattformen und real-time PCR-Geräten:

Tab.2: Benötigtes Zubehör

Extraktionsplattformen	
R-Biopharm	RIDA [®] Xtract
Promega	Maxwell [®] RSC
Roche	MagNA Pure 96
Real-time PCR-Geräte	
Roche	LightCycler [®] 2.0, LightCycler [®] 480II
Agilent Technologies	Mx3005P
Applied Biosystems	ABI 7500
Bio-Rad	CFX96 [™]
QIAGEN	Rotor-Gene Q

Hinweis: Bei Verwendung des Rotor-Gene Q (QIAGEN) nur 0,1 ml Reaktionsgefäße verwenden.

Sollten Sie weitere Extraktionsverfahren oder real-time PCR Geräte verwenden wollen, kontaktieren Sie bitte R-Biopharm zur Überprüfung der Kompatibilität unter mdx@r-biopharm.de.

- RIDA[®] GENE Color Compensation Kit II (PG0002) bei Verwendung des LightCycler[®] 2.0
- RIDA[®] GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) bei Verwendung des LightCycler[®] 480II
- Real-time PCR Verbrauchsmaterialien (Platten, Reaktionsgefäße, Folien)
- Zentrifuge mit Rotor für Reaktionsgefäße oder Platten
- Vortexer
- Pipetten (0,5 – 20 µl, 20 – 200 µl, 100 – 1000 µl)
- Pipettenspitzen mit Filtern
- Puderfreie Einmalhandschuhe
- PCR-Wasser (BioScience-Grade, Nuklease-frei)

7. Vorsichtsmaßnahmen

Nur für die *in-vitro* Diagnostik.

Dieser Test ist nur von geschultem Laborpersonal durchzuführen. Die Richtlinien zur Arbeit in medizinischen Laboratorien sind zu beachten. Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten. Proben oder Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren. Kontakt mit verletzter Haut oder Schleimhäuten vermeiden.

Während des Umgangs mit Reagenzien und Proben, persönliche Schutzausrüstung (geeignetes Handschuhmaterial, Kittel, Schutzbrille) tragen und nach Abschluss des Tests die Hände waschen. In Bereichen, in denen mit Proben gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken.

- Eine räumliche Trennung von Extraktion, PCR-Ansatz und PCR ist zu beachten, um Querkontaminationen zu vermeiden.
- Klinische Proben müssen als potentiell infektiös angesehen werden und müssen wie sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit potentiell infektiösen Proben zusammenkommen entsprechend entsorgt werden.
- Testkit nach Erreichen des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.

Alle Reagenzien und Materialien müssen nach Gebrauch sachgerecht und eigenverantwortlich entsorgt werden. Bitte beachten Sie bei der Entsorgung die jeweils national geltenden Vorschriften.

Weitere Details siehe Safety Data Sheets (SDS) unter www.r-biopharm.com.

8. Sammlung und Lagerung der Proben

8.1 DNA-Präparation aus Stuhlproben

Für die DNA-Präparation aus Stuhlproben wird ein kommerziell erhältliches DNA-Extraktionskit (z.B. RIDA[®] Xtract (R-Biopharm)) oder DNA-Extraktionssystem (z.B. Maxwell[®] RSC (Promega)). Die Angaben des Herstellers sind zu beachten. Es wird empfohlen die Stuhlproben vor der Extraktion 1:3 mit Wasser (bzw. bei Verwendung des MagNA Pure 96 mit S.T.A.R. Buffer) zu verdünnen, stark zu vortexen und 30 sec bei 1.000 x g zentrifugieren. Aus dem Überstand das entsprechende Volumen nach Angaben des Herstellers verwenden.

Der RIDA[®] GENE Adenovirus Test enthält eine Internal Control DNA, die eine mögliche PCR-Inhibition anzeigt, die Integrität der Reagenzien überprüft und eine erfolgreiche Nukleinsäureextraktion bestätigt. Die Internal Control DNA kann entweder nur als Inhibitionskontrolle oder als Extraktionskontrolle für die Probenpräparation und als Inhibitionskontrolle verwendet werden.

Wird die Internal Control DNA nur als Inhibitionskontrolle verwendet, muss 1 µl der Internal Control DNA dem Master-Mix hinzugefügt werden (s. Tab.4).

Wird die Internal Control DNA als Extraktionskontrolle für die Probenpräparation **und** als Inhibitionskontrolle verwendet, müssen 20 µl der Internal Control DNA während

der Extraktion eingesetzt werden. Die **Internal Control DNA** soll dem Proben-Lysispuffer Mix und **nicht** direkt dem Probenmaterial zugefügt werden. Wir empfehlen je 1 µl der **Internal Control DNA** zum PCR-Mix der Negativkontrolle und der Positivkontrolle zu pipettieren.

8.2 DNA-Präparation aus Rachenspülwasser, Sputum und bronchoalveolärer Lavage (BAL)

Für die DNA-Präparation aus Rachenspülwasser, Sputum und bronchoalveolärer Lavage (BAL) wird ein kommerziell erhältliches DNA-Extraktionskit (z.B. RIDA[®] Xtract (R-Biopharm)) oder DNA-Extraktionssystem (z.B. Maxwell[®] RSC (Promega)) empfohlen. Die Angaben des Herstellers sind zu beachten.

Der RIDA[®]GENE Adenovirus Test enthält eine **Internal Control DNA**, die eine mögliche PCR-Inhibition anzeigt, die Integrität der Reagenzien überprüft und eine erfolgreiche Nukleinsäureextraktion bestätigt. Die **Internal Control DNA** kann entweder nur als Inhibitionskontrolle oder als Extraktionskontrolle für die Probenpräparation und als Inhibitionskontrolle verwendet werden.

Wird die **Internal Control DNA** nur als Inhibitionskontrolle verwendet, muss 1 µl der **Internal Control DNA** dem Master-Mix hinzugefügt werden (s. Tab.4).

Wird die **Internal Control DNA** als Extraktionskontrolle für die Probenpräparation **und** als Inhibitionskontrolle verwendet, müssen 20 µl der **Internal Control DNA** während der Extraktion eingesetzt werden. Die **Internal Control DNA** soll dem Proben-Lysispuffer Mix und **nicht** direkt dem Probenmaterial zugefügt werden. Wir empfehlen je 1 µl der **Internal Control DNA** zum PCR-Mix der Negativkontrolle und der Positivkontrolle zu pipettieren.

9. Testdurchführung

9.1 Herstellung des Master-Mix

Die Gesamtzahl der für die PCR benötigten Reaktionen (Proben und Kontrollreaktionen) ist zu berechnen. Bei jedem Testlauf muss eine Positivkontrolle und eine Negativkontrolle mitgeführt werden.

Es wird empfohlen den Master-Mix mit 10 % zusätzlichem Volumen anzusetzen, um einen Pipettierverlust auszugleichen (s. Tab.3, Tab.4). Vor der Benutzung den Reaction Mix, die Taq-Polymerase, die Positive Control, die No Template Control und die Internal Control DNA auftauen, durchmischen und kurz zentrifugieren. Reagenzien während der Arbeitsschritte stets geeignet kühlen (2 - 8 °C).

Tab. 3: Beispiel für die Berechnung und Herstellung des Master-Mix für 10 Reaktionen (ICD als Extraktions- und Inhibitionskontrolle)

Kit Code	Komponenten des Master-Mix	Menge pro Reaktion	10 Reaktionen (zusätzlich 10 %)
1	<u>Reaction Mix</u>	19,3 µl	212,3 µl
2	<u>Taq-Polymerase</u>	0,7 µl	7,7 µl
	Gesamt	20 µl	220 µl

Master-Mix mischen und anschließend kurz zentrifugieren.

Tab. 4: Beispiel für die Berechnung und Herstellung des Master-Mix für 10 Reaktionen (ICD nur als Inhibitionskontrolle)

Kit Code	Komponenten des Master-Mix	Menge pro Reaktion	10 Reaktionen (zusätzlich 10 %)
1	Reaction Mix	19,3 µl	212,3 µl
2	Taq-Polymerase	0,7 µl	7,7 µl
D	Internal Control DNA	1,0 µl	11 µl
	Gesamt	21,0 µl	231,0 µl

Master-Mix mischen und anschließend kurz zentrifugieren

9.2 Herstellung des PCR-Mix

Je 20 µl des Master-Mix in die jeweiligen Reaktionsgefäße (Gefäße/Platten) pipettieren.

Negativkontrolle: Je 5 µl **No Template Control** zum vorgelegten Master-Mix pipettieren.

Hinweis: Wir empfehlen bei Verwendung der **Internal Control DNA** als Extraktionskontrolle für die Probenpräparation und als Inhibitionskontrolle je 1 µl der **Internal Control DNA** zum PCR-Mix der Negativkontrolle zu pipettieren.

Proben: Je 5 µl DNA-Extrakt zum vorgelegten Master-Mix pipettieren.

Positivkontrolle: Je 5 µl **Positive Control** zum vorgelegten Master-Mix pipettieren.

Hinweis: Wir empfehlen bei Verwendung der **Internal Control DNA** als Extraktionskontrolle für die Probenpräparation und als Inhibitionskontrolle je 1 µl der **Internal Control DNA** zum PCR-Mix der Positivkontrolle zu pipettieren.

Reaktionsgefäße bzw. Platte verschließen, mit wenigen Umdrehungen pro Minute kurz zentrifugieren und in das real-time PCR-Gerät überführen. Die PCR entsprechend der Geräteeinstellung starten (s. Tab. 5, Tab. 6, Tab. 7, Tab. 8).

9.3 Geräteeinstellungen

9.3.1 DNA real-time PCR-Profil

Tab. 5: DNA real-time PCR-Profil für LightCycler® Serie und Rotor-Gene Q

Initiale Denaturierung	1 min, 95 °C
Zyklen	45 Zyklen
<u>PCR</u> Denaturierung	10 sec, 95 °C
Annealing/Extension	15 sec, 60 °C
Temperature Transition Rate / Ramp Rate	Maximum

Hinweis: Das Annealing und die Extension finden im selben Schritt statt.

Tab. 6: DNA real-time PCR-Profil für Mx3005P, ABI 7500, CFX96™

Initiale Denaturierung	1 min, 95 °C
Zyklen	45 Zyklen
<u>PCR</u> Denaturierung	15 sec, 95 °C
Annealing/Extension	30 sec, 60 °C
Temperature Transition Rate / Ramp Rate	Maximum

Hinweis: Das Annealing und die Extension finden im selben Schritt statt.

9.3.2 Universal real-time PCR-Profil

Hinweis: Das Universal real-time PCR-Profil für DNA Tests sollte nur verwendet werden, wenn RIDA® GENE DNA und RIDA® GENE RNA real-time PCR Tests in einem Lauf kombiniert werden.

Tab. 7: Universal real-time PCR-Profil für LightCycler® Serie

<u>Reverse Transkription</u>	10 min, 58 °C
Initiale Denaturierung	1 min, 95 °C
Zyklen	45 Zyklen
<u>PCR</u> Denaturierung	10 sec, 95 °C
Annealing/Extension	15 sec, 60 °C
Temperature Transition Rate / Ramp Rate	Maximum

Hinweis: Das Annealing und die Extension finden im selben Schritt statt.

Tab. 8: Universal real-time PCR-Profil für Mx3005P, ABI 7500, CFX96™ und Rotor-Gene Q

<u>Reverse Transkription</u>	10 min, 58 °C
Initiale Denaturierung	1 min, 95 °C
Zyklen	45 Zyklen
<u>PCR</u> Denaturierung	15 sec, 95 °C
Annealing/Extension	30 sec, 60 °C
Temperature Transition Rate / Ramp Rate	Maximum

Hinweis: Das Annealing und die Extension finden im selben Schritt statt.

9.4 Detektionskanaleinstellung

Tab. 9: Auswahl der geeigneten Detektionskanäle

Real-time PCR-Gerät	Nachweis	Detektionskanal	Hinweis
Roche LightCycler® 2.0	Adenovirus	530	RIDA® GENE Color Compensation Kit II (PG0002) wird benötigt
	ICD	560	
Roche LightCycler® 480II	Adenovirus	465/510	RIDA® GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) wird benötigt
	ICD	533/580	
Agilent Techn. Mx3005P	Adenovirus	FAM	Stellen Sie den Referenzfarbstoff auf none
	ICD	HEX	
ABI 7500	Adenovirus	FAM	Stellen Sie den passiven Referenzfarbstoff ROX auf none
	ICD	VIC	
Bio-Rad CFX96™	Adenovirus	FAM	-
	ICD	VIC	
Qiagen Rotor-Gene Q	Adenovirus	Green	Die Gain-Einstellungen müssen für alle Kanäle auf 5 (Werkseinstellung) eingestellt sein
	ICD	Yellow	

10. Qualitätskontrolle

Die Auswertung der Proben erfolgt über die Analyse-Software des jeweiligen real-time PCR-Gerätes nach den Angaben des Herstellers. Negativkontrolle und Positivkontrolle müssen die korrekten Ergebnisse zeigen (s. Tab. 10, Abb. 1).

Die **Positive Control** liegt in einer Konzentration von 10^3 Kopien/ μl vor. Sie wird in einer Gesamtmenge von 5×10^3 Kopien in jedem PCR-Lauf eingesetzt.

Tab. 10: Ein valider PCR-Lauf muss die folgenden Bedingungen erfüllen

Probe	Ergebnis	ICD Ct	Zielgen Ct
Positivkontrolle	Positiv	NA * ¹	Siehe Quality Assurance Certificate
Negativkontrolle	Negativ	Ct > 20	0

*¹ Ein Ct-Wert für die ICD ist nicht erforderlich um ein positives Ergebnis der Positivkontrolle zu erhalten.

Wenn die Positivkontrolle in dem angegebenen Ct-Bereich nicht positiv ist, die Negativkontrolle jedoch valide ist, müssen alle Reaktionen inklusive der Kontrollen neu angesetzt werden.

Wenn die Negativkontrolle nicht negativ ist, die Positivkontrolle jedoch valide ist, müssen alle Reaktionen inklusive der Kontrollen neu angesetzt werden.

Sollten die vorgegebenen Werte nicht erfüllt sein, ist vor einer Testwiederholung Folgendes zu überprüfen:

- Haltbarkeit der verwendeten Reagenzien
- Funktionsfähigkeit der eingesetzten Geräte
- Korrekte Testdurchführung

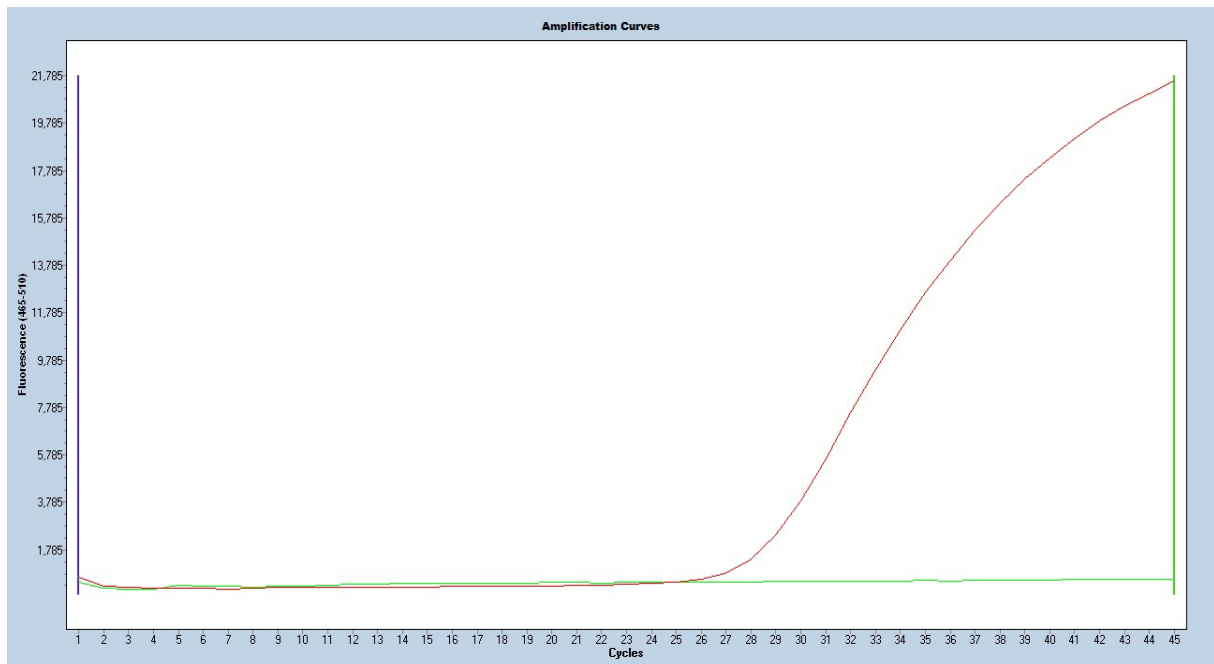


Abb. 1: Korrekter Verlauf der Positivkontrolle und Negativkontrolle (Adenovirus) auf dem LightCycler® 480II

11. Interpretation der Ergebnisse

Die Probenauswertung der Ergebnisse erfolgt nach Tabelle 11.

Tab. 11: Interpretation der Ergebnisse

Zielgene		
Adenovirus	ICD	Ergebnis
positiv	positiv/negativ	Adenovirus nachweisbar
negativ	positiv	Zielgene nicht nachweisbar
negativ	negativ	Ungültig

Adenovirus ist nachweisbar, wenn die Proben-DNA und die Internal Control DNA eine Amplifikation im Nachweissystem zeigen.

Adenovirus ist ebenfalls nachweisbar, wenn die Proben-DNA eine Amplifikation zeigt, für die Internal Control DNA jedoch keine Amplifikation im Nachweissystem zu sehen ist. Der Nachweis der Internal Control DNA ist in diesem Fall nicht notwendig, da hohe Konzentrationen des Amplikons zu einem schwachen oder fehlenden Signal der Internal Control DNA führen können.

Adenovirus ist nicht nachweisbar, wenn die Proben-DNA keine Amplifikation zeigt, für die Internal Control DNA jedoch eine Amplifikation im Nachweissystem zu sehen ist. Eine Inhibierung der PCR-Reaktion kann durch die Detektion der Internal Control DNA ausgeschlossen werden.

Eine Probe ist ungültig, wenn die Proben-DNA und die **Internal Control DNA** keine Amplifikation im Nachweissystem zeigen. In der Probe sind PCR-Inhibitoren vorhanden bzw. es trat ein Fehler im Extraktionsverfahren auf. Die extrahierte Probe sollte 1:10 mit PCR-Wasser verdünnt und erneut amplifiziert werden oder es sollte die Isolierung und Reinigung der Probe verbessert werden.

12. Grenzen der Methode

1. Das Ergebnis der molekularbiologischen Untersuchung sollte nicht allein zur Diagnose führen, sondern immer im Zusammenhang mit der Anamnese und Symptomatik des Patienten betrachtet werden.
2. Dieser Test ist nur für humane Stuhlproben, Rachenspülwasser, Sputum und bronchoalveoläre Lavage (BAL) geeignet.
3. Unsachgemäße Probenentnahme, -transport, -lagerung und -handhabung oder eine Erregerlast unterhalb der analytischen Sensitivität des Tests können zu falsch negativen Ergebnissen führen.
4. Die Anwesenheit von PCR-Inhibitoren kann zu nicht auswertbaren Ergebnissen führen.
5. Mutationen oder Polymorphismen in den Primer- oder Sondenbindungsregionen können den Nachweis neuer oder unbekannter Varianten beeinträchtigen und mit RIDA® GENE Adenovirus zu falsch negativen Ergebnissen führen.
6. Wie bei allen auf PCR basierenden *in-vitro*-diagnostischen Tests können äußerst niedrige Konzentrationen der Zielsequenzen, die unter dem Detektionslimit (LoD) liegen, nachgewiesen werden. Die erhaltenen Ergebnisse sind nicht immer reproduzierbar.
7. Ein positives Testergebnis zeigt nicht notwendigerweise die Anwesenheit lebensfähiger Organismen an. Ein positives Ergebnis deutet darauf hin, dass das Zielgen (Hexon) vorhanden ist.

13. Leistungsmerkmale

13.1 Klinische Leistungsmerkmale

In einer retrospektiven klinischen Validierungsstudie wurden 118 extrahierte respiratorische Proben mit dem RIDA[®]GENE Adenovirus Test und einer in-house real-time PCR in einem Institut in Deutschland untersucht.

Tab. 12: Korrelation der Adenovirus-Ergebnisse mit der RIDA[®]GENE Adenovirus real-time PCR und Referenz in-house real-time PCR.

		In-house real-time PCR			
		Positiv	Negativ	Insgesamt	
RIDA [®] GENE Adenovirus	Positiv	16	0	16	PPV: 100 %
	Negativ	0	102	102	NPV: 100%
	Insgesamt	16	102	118	

13.2 Analytische Sensitivität

Die RIDA[®]GENE Adenovirus multiplex real-time PCR hat eine Nachweisgrenze von ≥ 10 DNA-Kopien/Reaktion für Adenovirus.

Die folgende Abbildung 2 zeigt eine Verdünnungsreihe von Adenovirus ($10^5 - 10^1$ DNA Kopien/ μl) auf dem LightCycler[®] 480II.

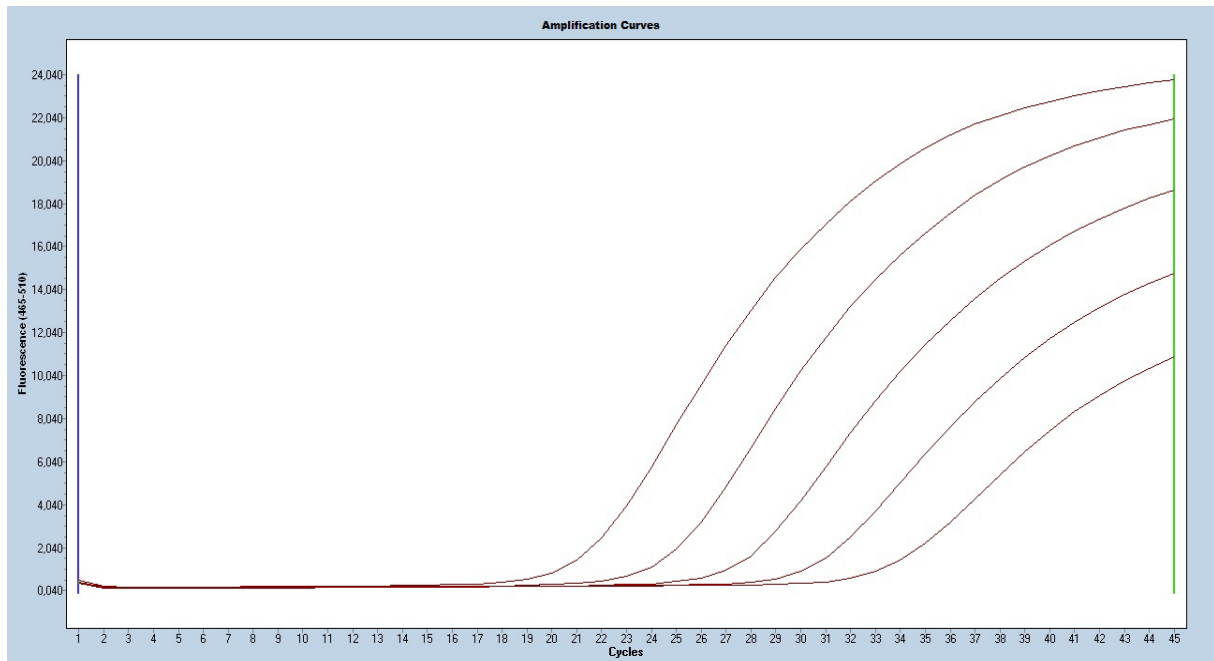


Abb. 2: Verdünnungsreihe Adenovirus ($10^5 - 10^1$ DNA Kopien/ μl) auf dem LightCycler[®] 480II

Die Nachweisgrenze des Gesamtverfahrens ist abhängig von der Probenmatrix, der DNA-Extraktion und dem DNA-Gehalt.

13.3 Analytische Spezifität

Die RIDA® GENE Adenovirus multiplex real-time PCR ist spezifisch für Adenovirus. Es wurden keine Kreuzreaktivitäten zu den folgenden Spezies festgestellt (s. Tab. 13):

Tab. 13: Kreuzreaktivitätstestung

<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	Coronavirus 229E, human	-	Norovirus GGII	-
<i>Arcobacter butzleri</i>	-	Coxsackie virus B4, human	-	Parainfluenza virus 1 strain C35, human	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	Cytomegalovirus, human	-	Parainfluenza virus 2 strain Greer, human	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	<i>E. coli</i> (O157:H7)	-	Parainfluenza virus, serotype 3	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	<i>E. coli</i> (O26:H-)	-	Parainfluenza virus 4b strain CH19503, human	-
<i>Bordetella parapertussis</i>	-	<i>E. coli</i> (O6)	-	<i>Proteus vulgaris</i>	-
<i>Bordetella pertussis</i>	-	<i>Entamoeba histolytica</i>	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
<i>Campylobacter coli</i>	-	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	Respiratory syncytial virus, human, strain Long	-
<i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>Fetus</i>	-	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	Respiratory syncytial virus, human, strain 9320	-
<i>Campylobacter lari</i> subsp. <i>Lari</i>	-	Epstein-Barr-Virus B95-8 strain	-	Rhinovirus, human, Genogruppe A	-
<i>Campylobacter jejuni</i>	-	<i>Giardia intestinalis</i> Portland 1	-	Rotavirus	-
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	-	<i>Giardia intestinalis</i> WB Clone C6	-	<i>Salmonella enteritidis</i>	-
<i>Candida albicans</i>	-	<i>Haemophilus influenzae</i> Rd	-	<i>Salmonella typhimurium</i>	-
<i>Citrobacter freundii</i>	-	Herpes simplex virus 1 strain McIntyre	-	<i>Serratia liquefaciens</i>	-
<i>Clostridium bifermentans</i>	-	Herpes simplex virus 2 strain MS	-	<i>Shigella flexneri</i>	-
<i>Clostridium difficile</i>	-	Influenza virus A/PR/8/34	-	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
<i>Clostridium novyi</i>	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
<i>Clostridium perfringens</i>	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	-
<i>Clostridium septicum</i>	-	<i>Legionella pneumophila</i> subsp. <i>pneumophila</i>	-	<i>Staphylococcus hominis</i> subsp. <i>novobiosepticus</i> R22	-
<i>Clostridium sordellii</i>	-	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
<i>Clostridium sporogenes</i>	-	Metapneumovirus, human	-	Varicella Zoster Virus (Type B)	-
<i>Cryptosporidium muris</i>	-	<i>Neisseria meningitides</i>	-	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-
<i>Cryptosporidium parvum</i>	-	Norovirus GGI	-	<i>Yersinia enterocolitica</i>	-

13.4 Analytische Reaktivität

Die Reaktivität der RIDA[®]GENE Adenovirus multiplex real-time PCR wurde mit jeweils einem Serotyp exemplarisch für jede Serogruppe der Adenoviren untersucht (s. Tab. 14). Alle Adenoviren des Probenpanels wurden mit der RIDA[®]GENE Adenovirus multiplex real-time PCR nachgewiesen.

Tab. 14: Analytische Reaktivitätstestung










Adenovirus					
Serogruppe A					
Serotyp 31	+				
Serogruppe B					
Serotyp 7A	+	Serotyp 11	+		
Serogruppe C					
Serotyp 1	+	Serotyp 5	+		
Serogruppe D					
Serotyp 37	+				
Serogruppe E					
Serotyp 4	+				
Serogruppe F					
Serotyp 40	+	Serotyp 41	+		

14. Versionsübersicht

Versionsnummer	Kapitel und Bezeichnung
2014-08-14	Freigabeversion
2018-10-30	Generelle Überarbeitung 2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests 4. Packungsinhalt 6. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör 8. Sammlung und Lagerung der Proben 9. Testdurchführung 10. Qualitätskontrolle 13. Leistungsmerkmale 14. Versionsübersicht 15. Symbolerklärung

15. Symbolerklärung

Allgemeine Symbole

	In-vitro-Diagnostikum
	Gebrauchsanweisung beachten
	Chargennummer
	verwendbar bis
	Lagertemperatur
	Artikelnummer
	Anzahl Tests
	Herstelldatum
	Hersteller

Testspezifische Symbole

Nicht zutreffend

16. Literatur

1. Cesario T. Viruses associated with pneumonia in adults. *Clin Infect Diseases* 2012, 55:107–113.
2. Sanchez J, *et al.* Epidemic of adenovirus-induced respiratory illness among US military recruits-epidemiologic and immunologic risk factors in healthy young adults. *J Med Virol* 2001, 65:710–718.
3. Tate J, *et al.* Outbreak of severe disease associated with emergent human adenovirus serotype 14 at a US Air Force training facility. *J Infect Dis* 2009, 199:1419–1426.
4. Robert Koch Institut. Keratoconjunctivitis epidemica und andere Konjunktivitidendurch Adenoviren. RKI-Ratgeber Infektionskrankheiten – Merkblätter für Ärzte 2010.
5. Robinson CM, *et al.* Molecular evolution of human species D adenoviruses. *Infection, Genetics and Evolution* 2011, 11: 1208-1217.