ELITechGroup
EMPOWERING IVD

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

GI Parasitic PLUS ELITe MGB® Kit

Reagenzien für die DNA-Real-Time-PCR

REF RTS503ING

CE 0123 IVD

-20 °C

UDI 08033891487461

INHALTSVERZEICHNIS

VERWENDUNGSZWECK	Seite 1
TESTPRINZIP	Seite 2
PRODUKTBESCHREIBUNG	Seite 2
IM LIEFERUMFANG DES PRODUKTS ENTHALTENE MATERIALIEN	Seite 2
BENÖTIGTE MATERIALIEN (NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN)	Seite 3
SONSTIGE BENÖTIGTE PRODUKTE	Seite 3
WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN	Seite 4
PROBEN UND KONTROLLEN	Seite 5
VERFAHREN BEI ELITe InGenius	Seite 7
VERFAHREN BEI ELITe BeGenius	Seite 11
LEISTUNGSMERKMALE	Seite 15
QUELLENANGABEN	Seite 25
GRENZEN DES VERFAHRENS	Seite 25
FEHLERBEHEBUNG	Seite 27
SYMBOLE	Seite 29
ANWENDERHINWEISE	Seite 30
HINWEIS AN DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ	Seite 30
ANHANG: KURZANLEITUNG	Seite A

VERWENDUNGSZWECK

Das Produkt **GI Parasitic PLUS ELITe MGB® Kit** ist ein *In-vitro*-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal als qualitativer Multiplex-Nukleinsäure-Real-Time-PCR-Assay zum Nachweis und zur Identifizierung der genomischen DNA von *Giardia lamblia* (**Gla**) (alias *Giardia intestinalis*), *Cryptosporidium* spp. (**Cry**), *Entamoeba histolytica* (**Ehis**), *Encephalitozoon* spp (**Enc**), *Enterocytozoon bieneusi* (**Ent**), 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, Real-Time-PCR und Ergebnisinterpretation mit humanen Stuhlproben, validiert.

Das Produkt ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Diagnose von parasitären Magen-Darm-Infektionen bei Patienten mit Verdacht auf *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* spp., *Entamoeba histolytica*, *Enterocytozoon bieneusi*, *Encephalitozoon* spp. bestimmt.

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

TESTPRINZIP

Der Assay ist eine qualitative Echtzeit-PCR für den Nachweis der DNA von *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* spp., *Entamoeba histolytica*, *Enterocytozoon bieneusi*, *Encephalitozoon* spp, die aus Proben isoliert und mit dem Testreagenz **GI-P PCR Mix**, das Primer und Sonden mit ELITe MGB-Technologie enthält, amplifiziert wurde.

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).

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

PRODUKTBESCHREIBUNG

Das **GI Parasitic PLUS ELITe MGB Kit** enthält das Assay-Reagenz **GI-P PCR Mix**, ein optimiertes und stabilisiertes PCR-Gemisch, das die spezifischen Primer und Sonden enthält für:

- das *Giardia lamblia* **16s-ähnliche** rRNA-Gen, nachgewiesen in Kanal **Gla**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher® gequencht und mit einem FAM-Farbstoff markiert,
- *Cryptosporidium* spp**. 18s**rRNA-Gen, nachgewiesen in Kanal**Cry;** die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor® 593 (AP593) markiert,
- das *Entamoeba histolytica* **18s**-rRNA-Gen, nachgewiesen in Kanal **Ehis***;* die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 639 (AP639) markiert,
- *Encephalitozoon* spp**. 16s**-rRNA-Gen, nachgewiesen in Kanal **Enc***;* die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 690 (AP690) markiert,
- die *Enterocytozoon bieneusi* **ITS**-Region, nachgewiesen in Kanal **Ent***;* die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 559 (AP559) markiert,
- die Internal Control (**IC**), die für die künstliche Sequenz **IC2** spezifisch ist, nachgewiesen in Kanal **IC**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequencht und mit dem Farbstoff AquaPhluor 525 (AP525) markiert.

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

Das **GI Parasitic PLUS ELITe MGB Kit** enthält ausreichend Reagenzien für **96 Tests** auf dem **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius (12 Tests pro Röhrchen)**, wobei 20 µl pro Reaktion verwendet werden.

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

IM LIEFERUMFANG DES PRODUKTS ENTHALTENE MATERIALIEN

Komponente	Beschreibung	Menge	Gefahrenklasse
GI-P PCR Mix Art.-Nr. RTS503ING	Gemisch aus Reagenzien für Real-Time-PCR mit Röhrchen**WEISSEM Verschluss**	**8 x 280 µl**	-

BENÖTIGTE MATERIALIEN (NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN)

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

SONSTIGE BENÖTIGTE PRODUKTE

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

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

Geräte und Software	Produkte und Reagenzien
ELITe InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, Art.-Nr. INT030). **ELITe InGenius Software**, Version 1.3.0.17 (oder später). **GI Parasitic PLUS ELITe_PC**, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Positive Control-Analyse. **GI Parasitic PLUS ELITe_NC**, Assay-Protokoll mit Parametern für die Negative Control-Analyse. **GI Parasitic PLUS ELITe_ST_200_100**, Assay-Protokoll mit Parametern für die Stuhlprobenanalyse.	**ELITe InGenius SP200** (EG SpA., Art.-Nr. INT032SP200). **ELITe InGenius SP 200 Consumable Set** (EG SpA, Art.-Nr. INT032CS). **ELITe InGenius PCR Cassette** (EG SpA, Art.-Nr. INT035PCR). **ELITe InGenius Waste Box** (EG SpA, Art.-Nr. F2102-000). **300 µL Filter Tips Axygen** (Corning Life Sciences Inc., Art.-Nr. TF-350-L-R-S), nur mit ELITe InGenius. **1000 µL Filter Tips Tecan** (Tecan, Schweiz, Art.-Nr. 30180118) nur mit ELITe BeGenius. **CPE - Internal Control** (EG SpA, Art.-Nr. CTRCPE). **GI Parasitic PLUS - ELITe Positive Control** (EG SpA, Art-Nr. CTR503ING). **InhibitEX Buffer** (QIAGEN GmbH, Deutschland, Art.-Nr. 19593) oder ein entsprechendes Produkt. **Minitip Flocked Swab®** (COPAN Italia S.p.A., Italien, Art.-Nr. 518CS01) oder eine entsprechende Vorrichtung. **FecalSwab™** (COPAN Italia S.p.A., Italien, Art.-Nr. 470CE) oder eine entsprechende Vorrichtung mit Cary-Blair-Medium.
ELITe BeGenius (EG SpA, Art.-Nr. INT040). **ELITe BeGenius Software**, Version 2.1.0 (oder später). **GI Parasitic PLUS ELITe_Be_PC**, Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Positive Control-Analyse. **GI Parasitic PLUS ELITe_Be_NC**, Assay-Protokoll mit Parametern für die Negative Control-Analyse. **GI Parasitic PLUS ELITe_Be_ST_200_100**, Assay-Protokoll mit Parametern für die Stuhlprobenanalyse.	

GI Parasitic PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die DNA-Real-Time-PCR

REF RTS503ING

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

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

Allgemeine Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

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

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

Geeignete Schutzkleidung und Handschuhe zum Schutz der Augen und des Gesichts tragen.

Lösungen niemals mit dem Mund pipettieren.

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

Die Hände nach der Handhabung von Proben und Reagenzien gründlich waschen.

Übrig gebliebene Reagenzien und Abfälle gemäß den geltenden Vorschriften entsorgen.

Vor der Durchführung des Assays alle bereitgestellten Anweisungen aufmerksam lesen.

Bei der Durchführung des Assays die bereitgestellten Produktanweisungen befolgen.

Das Produkt darf nach Ablauf des angegebenen Ablaufdatums nicht mehr verwendet werden.

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

Reagenzien von anderen Chargen dürfen nicht verwendet werden.

Reagenzien von anderen Herstellern dürfen nicht verwendet werden.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen für molekularbiologische Anwendungen

Molekularbiologische Verfahren dürfen nur von qualifizierten und geschulten Fachkräften durchgeführt werden, um fehlerhafte Ergebnisse zu vermeiden, insbesondere im Hinblick auf den Nukleinsäureabbau in den Proben oder die Probenkontamination durch PCR-Produkte.

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

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

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

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

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

Komponentenspezifische Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Komponente	Umgebungstemperatur bei Lagerung	Haltbarkeit nach Anbruch	Gefrier- und Auftauzyklen	On-Board-Stabilität (ELITe InGenius und ELITe BeGenius)
GI-P PCR Mix	-20°C oder darunter (lichtgeschützt)	einen Monat	bis zu sieben	bis zu sieben separate* Läufe von je drei Stunden oder bis zu 7 aufeinanderfolgende Stunden (2 Läufe von je 3 Stunden und die Zeit, die für den Beginn eines dritten Laufs benötigt wird)

* mit zwischenzeitlichem Gefrierzyklus

PROBEN UND KONTROLLEN

Proben

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

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

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

Die unten beschriebenen Anweisungen für die Vorbehandlung der Probe befolgen.

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

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

Vorbehandlungsverfahren ausgehend von Stuhl, der in FecalSwab gesammelt wurde:

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

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

GI Parasitic PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die DNA-Real-Time-PCR

REF RTS503ING

Assay-Protokolle für GI Parasitic PLUS ELITe MGB Kit				
Probe	**Gerät**	**Name des Assay-Protokolls**	**Bericht**	**Eigenschaften**
Nativer Stuhl oder in FecalSwab entnommener Stuhl	**ELITe InGenius**	**GI Parasitic PLUS ELITe_ST_200_100**	Positiv / negativ	Extraktionseingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Internal Control: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
	ELITe BeGenius	**GI Parasitic PLUS ELITe_Be_ST_200_100**		

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

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

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

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

PCR-Kontrollen

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

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

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

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

Qualitätskontrollen

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

VERFAHREN BEI ELITe InGenius

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

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

SCHRITT 1 – Prüfung der Systembereitschaft

Vor Beginn des Laufs:

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

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

SCHRITT 2 – Einrichtung des Laufs

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

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

Alle benötigten Parameter sind in den auf dem Gerät verfügbaren Assay-Protokollen enthalten und werden bei Auswahl des Assay-Protokolls automatisch geladen.
Hinweis: **ELITe InGenius** kann mit dem „Laboratory Information System“ (Laborinformationssystem – LIS) verbunden werden, worüber die Laufinformationen heruntergeladen werden können. Weitere Informationen finden Sie im Gerätehandbuch.

Vor dem Einrichten eines Laufs:

Die benötigten **GI-P PCR Mix**-Röhrchen 30 Minuten bei Raumtemperatur auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für **12 Tests** unter optimalen Bedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

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

GI Parasitic PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die DNA-Real-Time-PCR

REF **RTS503ING**

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

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])	C. Lauf für Positive und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
1	**Proben identifizieren** und, falls erforderlich, auf Raumtemperatur auftauen. Die Proben gemäß dem im Abschnitt „Proben und Kontrollen“ beschriebenen Verfahren vorbehandeln. Für diesen Assay müssen **200 µl Probe** in ein zuvor etikettiertes Extraktionsröhrchen überführt werden.	Elutionsröhrchen mit den extrahierten Nukleinsäuren auf Raumtemperatur auftauen. Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.	Positive Control-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur auftauen. Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. (Jedes Röhrchen reicht aus für 4 Reaktionen.)
2	Die benötigten **CPE-Röhrchen** 30 Minuten auf Raumtemperatur **auftauen**. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Extraktionen.	-	Die **Negative Control vorbereiten**: dazu mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie in ein Elutionsröhrchen überführen, das im Lieferumfang des ELITe InGenius SP 200 Consumable Set enthalten ist.
3	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen.
4	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktionseingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Eluatvolumen) 100 µl beträgt.	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktionseingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Eluatvolumen) 100 µl beträgt.	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktionseingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Eluatvolumen) 100 µl beträgt.
5	Für jede Probe eine Spur zuweisen und unter „SampleID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.	Für jede Probe eine Spur zuweisen und unter „SampleID“ (SID) die Proben-ID eingeben oder den Proben-Barcode einscannen.	-
6	**Das Assay-Protokoll** in der Spalte „Assay“ **auswählen** (siehe „Proben und Kontrollen“).	**Das Assay-Protokoll** in der Spalte „Assay“ **auswählen** (siehe „Proben und Kontrollen“).	**Das Assay-Protokoll** in der Spalte „Assay“ **auswählen** (siehe „Proben und Kontrollen“). Die Chargennummer und das Ablaufdatum der Positive Control und des hochreinen Wassers für die Molekularbiologie eingeben.
7	Sicherstellen, dass unter „Protocol“ (Protokoll) Folgendes angezeigt wird: „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR).	In der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) auswählen.	Sicherstellen, dass in der Spalte „Protocol“ (Protokoll) „PCR Only“ (nur PCR) ausgewählt ist.
8	Als Proben-Ladeposition „Extraction Tube“ (Extraktionsröhrchen) in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) auswählen.	Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr. (untere Reihe)) lautet.	Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhr. (untere Reihe)) lautet.
9	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
10	**CPE und PCR Mix** gemäß der „Load List“ (Ladeliste) auf den „Inventory Block“ (Bestandsblock) **laden** und die Chargennummer und das Ablaufdatum des CPE und PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.	**PCR Mix** gemäß der „Load List“ (Ladeliste) auf den „Inventory Block“ (Bestandsblock) **laden** und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.	**PCR Mix** gemäß der „Load List“ (Ladeliste) auf den „Inventory Block“ (Bestandsblock) **laden** und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.
11	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
12	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Bestandsbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Bestandsbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Bestandsbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])	C. Lauf für Positive und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
13	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
14	PCR-Kassette, ELITe InGenius SP 200 Extraktionskartuschen und alle benötigten Verbrauchsmaterialien und zu extrahierenden Proben **laden**.	PCR-Kassette und Elutionsröhrchen mit extrahierten Proben **laden**.	PCR-Kassette und Röhrchen für die Positive Control und Negative Control **laden**.
15	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
16	Die Gerätetür schließen.	Die Gerätetür schließen.	Die Gerätetür schließen.
17	„Start“ drücken.	„Start“ drücken.	„Start“ drücken.

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

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

Hinweis: Am Ende des Laufs kann der **PCR Mix** aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und bei -20 °C oder darunter gelagert oder bis zu 7 Stunden (2 Läufe von jeweils 3 Stunden sowie die zum Starten eines dritten Laufs nötige Zeit) im gekühlten Block aufbewahrt werden; vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

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

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

Hinweis: Am Ende des Laufs müssen die **PCR-Kassette** und die Verbrauchsmaterialien gemäß den gesetzlichen Umweltbestimmungen entsorgt werden. Ein Verschütten der Reaktionsprodukte vermeiden.

SCHRITT 3 – Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

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

Am Ende des Laufs wird der Bildschirm „Results Display“ (Ergebnisanzeige) automatisch angezeigt. Auf diesem Bildschirm werden die Ergebnisse und 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 mit dem **GI Parasitic PLUS ELITe MGB Kit** und geht dabei folgendermaßen vor:

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

A. Validierung der Ergebnisse des Amplifikationslaufs für die Positive Control und Negative Control

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

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

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

GI Parasitic PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die DNA-Real-Time-PCR

REF RTS503ING

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

Hinweis: 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.

B. Validierung der Probenergebnisse

Die **ELITe InGenius Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse für die Zielgene (Kanäle **Gla**, **Cry**, **Ehis**, **Enc** und **Ent**) und die Internal Control (Kanal **IC**) mit den Assay-Protokoll-Parametern **GI Parasitic PLUS ELITe_ST_200_100**.

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

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

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

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

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

Ergebnis des Probenlaufs	Interpretation
„Gla:DNA Detected“ (Gla: DNA nachgewiesen)	In der Probe wurde die **DNA von *Giardia lamblia* nachgewiesen**.
„Cry:DNA Detected“ (Cry: DNA nachgewiesen)	In der Probe wurde die **DNA von *Cryptosporidium* spp. nachgewiesen**.
„Ehis:DNA Detected“ (Ehis: DNA nachgewiesen)	In der Probe wurde die **DNA von *Entamoeba histolytica* nachgewiesen**.
„Enc:DNA Detected“ (Enc: DNA nachgewiesen)	In der Probe wurde die **DNA von *Encephalitozoon* spp. nachgewiesen**.
„Ent:DNA Detected“ (Ent: DNA nachgewiesen)	In der Probe wurde die **DNA von *Enterocytozoon bieneusi* nachgewiesen**.
„Gla:DNA Not Detected or below the LoD“ (Gla: DNA nicht nachgewiesen oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde **keine *Giardia lamblia*-DNA nachgewiesen**. Die Probe wurde negativ auf *Giardia lamblia*-DNA getestet oder die Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
„Cry:DNA Not Detected or below the LoD“ (Cry:DNA nicht nachgewiesen oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde **keine DNA von *Cryptosporidium* spp. nachgewiesen**. Die Probe wurde negativ auf *Cryptosporidium spp.*-DNA getestet oder die Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
„Ehis:DNA Not Detected or below the LoD“ (Ehis:DNA nicht nachgewiesen oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde **keine DNA von *Entamoeba histolytica* nachgewiesen**. Die Probe wurde negativ auf *Entamoeba histolytica*-DNA getestet oder die Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
„Enc:DNA Not Detected or below the LoD“ (Enc:DNA nicht nachgewiesen oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde **keine DNA von *Encephalitozoon* spp. nachgewiesen**. Die Probe wurde negativ auf *Encephalitozoon* spp.-DNA getestet oder die Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
„Ent:DNA Not Detected or below the LoD“ (Ent:DNA nicht nachgewiesen oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde **keine DNA von *Enterocytozoon bieneusi* nachgewiesen**. Die Probe wurde negativ auf *Enterocytozoon bieneusi*-DNA getestet oder die Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.

Ergebnis des Probenlaufs	Interpretation
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-DNA möglicherweise aufgrund von Problemen beim Probenentnahme-, Vorbehandlungs-, Extraktions- oder PCR-Schritt nicht effizient erkannt (z. B. falsche Probenahme, Abbau oder Verlust von DNA während der Extraktion oder Inhibitoren im Eluat), was zu falschen Ergebnissen führen kann.

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

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

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

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

C. Ausgabe des Probenergebnisberichts

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

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

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

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

VERFAHREN BEI ELITe BeGenius

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

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

SCHRITT 1 – Prüfung der Systembereitschaft

Vor Beginn des Laufs:

- **ELITe BeGenius** einschalten und den Modus „**CLOSED**“ (geschlossen) auswählen,
- auf der Startseite im Menü „Controls“ (Kontrollen) bestätigen, dass die PCR-Kontrollen (**GI-P Positive Control**, **GI-P Negative Control**) für die zu verwendende Charge des **PCR Mix** genehmigt und gültig (Status) sind. Wenn keine gültigen PCR-Kontrollen für die Charge **GI-P PCR Mix** verfügbar sind, die PCR-Kontrollen wie in den folgenden Abschnitten beschrieben durchführen,

GI Parasitic PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die DNA-Real-Time-PCR
REF RTS503ING

- den Typ des Laufs auswählen, dazu die Anweisungen auf der grafischen Benutzeroberfläche zur Einrichtung des Laufs befolgen und die von EG SpA bereitgestellten Assay-Protokolle verwenden (siehe „Proben und Kontrollen“).

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

SCHRITT 2 – Einrichtung des Laufs

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

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

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

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

Vor dem Einrichten eines Laufs:

Die benötigten **GI-P PCR Mix**-Röhrchen 30 Minuten bei Raumtemperatur auftauen. Jedes Röhrchen reicht aus für **12 Tests** unter optimalen Bedingungen (mindestens 2 Tests pro Lauf). Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.

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

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

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])	C. Lauf für Positive und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
1	**Proben identifizieren** und, falls erforderlich, auf Raumtemperatur auftauen. Die Proben gemäß dem im Abschnitt „Proben und Kontrollen“ beschriebenen Verfahren vorbehandeln. Für diesen Test müssen **200 µl Probe** in ein zuvor etikettiertes 2-ml-Sarstedt-Röhrchen überführt werden.	Falls erforderlich, die **Elutionsröhrchen** mit den extrahierten Nukleinsäuren auf Raumtemperatur **auftauen**. Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.	**Positive Control**-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur **auftauen**. Jedes Röhrchen reicht aus für 4 Reaktionen. Vorsichtig mischen, danach den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern.
2	Die benötigten **CPE**-Röhrchen 30 Minuten auf Raumtemperatur **auftauen**. Vorsichtig mischen, den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren und Röhrchen auf Eis oder in einem Kühlblock lagern. Jedes Röhrchen reicht aus für 12 Extraktionen.	-	Die **Negative Control vorbereiten**: dazu mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie in ein Elutionsröhrchen überführen, das im Lieferumfang des ELITe InGenius SP 200 Consumable Set enthalten ist.
3	Auf der Startseite „**Perform Run**“ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „**Perform Run**“ (Lauf durchführen) auswählen.	Auf der Startseite „**Perform Run**“ (Lauf durchführen) auswählen.
4	Alle Racks aus der „Kühleinheit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.	Die „Racks“ aus Spur 1, 2 und 3 (L1, L2 und L3) der „Cooler Unit“ (Kühleinheit) entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.	Die „Racks“ aus Spur 1, 2 und 3 (L1, L2 und L3) der „Cooler Unit“ (Kühleinheit) entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.
5	Den Laufmodus („Run mode“) wählen: „**Extract + PCR**“ (Extraktion + PCR).	Den Laufmodus („Run mode“) wählen: „**PCR Only**“ (Nur PCR).	Den Laufmodus („Run mode“) wählen: „**PCR Only**“ (Nur PCR).

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])	C. Lauf für Positive und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
6	**Die Proben** in das „Sample Rack“ (Probenrack) **laden**. Wenn als Sekundärröhrchen „2 mL Tubes“ (2-ml-Röhrchen) geladen werden, verwenden Sie die blauen Adapter für das „Sample Rack“.	**Die Proben** in das „Elution Rack“ (Elutionsrack) **laden**.	Die Röhrchen für die **Positive Control und Negative Control** in das „Elution Rack“ (Elutionsrack) **laden**.
7	Das „Sample Rack“ in die „Cooler Unit“ (Kühleinheit) einsetzen, beginnend mit „Lane 5“ (L5) (Spur 5). Falls erforderlich, unter „Sample ID“ (SID) die Proben-ID für jede verwendete „Position“ eingeben (Beim Laden von Sekundärröhrchen „2 mL Tube“ (2-ml-Röhrchen) angeben). Bei Sekundärröhrchen ohne Barcode die Proben-ID manuell eingeben.	Das „Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ (Kühleinheit) einsetzen, beginnend mit „Lane 3“ (L3) (Spur 3). Falls erforderlich, für jede „Position“ die „Sample ID“ (Proben-ID), die „Sample Matrix“ (Probenmatrix), das „Extraction Kit“ (Extraktionskit) und das „Extracted eluate vol.“ (extrahierte Eluatvolumen) eingeben.	Das „Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ (Kühleinheit) einsetzen, beginnend mit „Lane 3“ (L3) (Spur 3). 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.
8	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
9	Sicherstellen, dass „Extraction Input Volume“ (Extraktionseingangsvolumen) 200 µl und „Extracted Elute Volume“ (extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.	Sicherstellen, dass „Extraction Input Volume“ (Extraktionseingangsvolumen) 200 µl und „Extracted Elute Volume“ (extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.	Sicherstellen, dass „Extraction Input Volume“ (Extraktionseingangsvolumen) 200 µl und „Extracted Elute Volume“ (extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.
10	Das Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“).	Das Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“).	Das Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ auswählen (siehe „Proben und Kontrollen“).
11	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
	Hinweis: Bei Verarbeitung von mehr als 12 Proben das Verfahren ab Punkt 6 wiederholen.		-
12	Die „Elution tubes“ (Elutionsröhrchen) in das „Elution Rack“ (Elutionsrack) laden (Elutionsröhrchen können zur Verbesserung der Rückverfolgbarkeit mit einem Barcode etikettiert werden).	-	-
13	Das „Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ (Kühleinheit) einsetzen, beginnend mit „Lane 3“ (L3) (Spur 3). Bei Verarbeitung von mehr als 12 Proben das Verfahren wiederholen und dabei Spur 2 (L2) verwenden.	-	-
14	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	-	-
15	**CPE und PCR Mix** in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsrack) **laden**.	**Den PCR Mix** in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsrack) **laden**.	**Den PCR Mix** in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsrack) **laden**.
16	Das „Reagent/Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ (Kühleinheit) in Spur 2 (L2), falls verfügbar, oder in Spur 1 (L1) einsetzen. Falls erforderlich, für jeden PCR-Mix-Reagenz und/oder CPE unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.	Das „Reagent/Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ (Kühleinheit) in Spur 2 (L2), falls verfügbar, oder in Spur 1 (L1) einsetzen. Falls erforderlich für jedes PCR-Mix-Reagenz unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.	Das „Reagent/Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ (Kühleinheit) in Spur 2 (L2), falls verfügbar, oder in Spur 1 (L1) einsetzen. Falls erforderlich für jedes PCR-Mix-Reagenz unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.

GI Parasitic PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die DNA-Real-Time-PCR

REF RTS503ING

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR])	C. Lauf für Positive und Negative Control (PCR Only [nur PCR])
17	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
18	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Bestandsbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Bestandsbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Bestandsbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.
19	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
20	Den „**PCR Basket**“ (PCR-Korb) mit „PCR Cassette“(PCR-Kassette) in den Bestandsbereich laden.	Den „**PCR Basket**“ (PCR-Korb) mit „PCR Cassette“(PCR-Kassette) in den Bestandsbereich laden.	Den „**PCR Basket**“ (PCR-Korb) mit „PCR Cassette“(PCR-Kassette) in den Bestandsbereich laden.
21	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
22	Den „Extraction Basket“ (Korb) mit den „ELITe InGenius SP 200“ Extraktionskartuschen und die für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien **laden**.	-	-
23	Die Gerätetür schließen.	Die Gerätetür schließen.	Die Gerätetür schließen.
24	„Start“ drücken.	„Start“ drücken.	„Start“ drücken.

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

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

Hinweis: Am Ende des Laufs kann der **PCR Mix** aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen und bei -20 °C oder darunter gelagert oder bis zu 7 Stunden (2 Läufe von jeweils 3 Stunden sowie die zum Starten eines dritten Laufs nötige Zeit) im gekühlten Block aufbewahrt werden; vorsichtig mischen und den Inhalt 5 Sekunden lang herunterzentrifugieren, bevor der nächste Lauf beginnt.

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

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

Hinweis: Am Ende des Laufs müssen die **PCR-Kassette** und die Verbrauchsmaterialien gemäß den gesetzlichen Umweltbestimmungen entsorgt werden. Ein Verschütten der Reaktionsprodukte vermeiden.

SCHRITT 3 – Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

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

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

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

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

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

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

LEISTUNGSMERKMALE

Nachweisgrenze (LoD)

Die Nachweisgrenze (LoD) des Assays wurde für die Geräte ELITe BeGenius und ELITe InGenius durch Testen von nativen Stuhlproben, die mit Referenzmaterial von *Giardia lamblia, Cryptosporidium* spp., *Entamoeba histolytica, Encephalitozoon* spp. und *Enterocytozoon bieneusi* (Plasmid-DNA von Microbix, ZeptoMetrix und EG SpA) dotiert waren, ermittelt.

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

Hinweis: Der LoD-Wert der E. intestinalis- und E. bieneusi-Zielsequenzen wurde anhand von Plasmid-DNA als Referenzmaterial in Kopien/ml berechnet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Pathogen	LoD	Grenzen des 95%-Konfidenzintervalls	
		Untere Grenze	Obere Grenze
Giardia lamblia	35 Org/ml	22 Org/ml	93 Org/ml
Cryptosporidium parvum	176 Org/ml	135 Org/ml	280 Org/ml
Entamoeba histolytica	390 Org/ml	291 Org/ml	619 Org/ml
Encephalitozoon intestinalis	231 Kopien/ml	153 Kopien/ml	459 Kopien/ml
Enterocytozoon bieneusi	101 Kopien/ml	77 Kopien/ml	175 Kopien/ml

Der berechnete LoD-Wert wurde überprüft, indem auf ELITe BeGenius und ELITe InGenius native Stuhlproben und in FecalSwab gesammelte Stuhlproben, die mit Referenzmaterial von *Giardia lamblia, Cryptosporidium* spp., *Entamoeba histolytica, Encephalitozoon* spp. und *Enterocytozoon bieneusi* in der behaupteten Konzentration dotiert waren, getestet wurden.

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

Inklusivität: Nachweiseffizienz bei verschiedenen Stämmen oder Isolaten

Die Inklusivität des Assays als die Nachweiseffizienz bei verschiedenen Stämmen oder Isolaten von *Giardia lamblia, Cryptosporidium* spp., *Entamoeba histolytica, Encephalitozoon* spp. und *Enterocytozoon bieneusi* wurde mittels *In-silico*-Analyse bewertet. Die Analyse zeigte eine Sequenzerhaltung und ein Nichtvorhandensein signifikanter Mutationen mit dem *E. bieneusi*-Genotyp WR5-ähnlich als einziger Ausnahme. Daher wird ein effizienter Nachweis für die meisten Stämme oder Isolate erwartet.

Die Inklusivität wurde außerdem durch die Analyse von 15 Referenzmaterialien von Parasitenkulturen verschiedener Anbieter (ZeptoMetrix, Vircell, ATCC und Plasmid-DNA) verifiziert.

GI Parasitic PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die DNA-Real-Time-PCR

REF RTS503ING

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Probe	Stamm	Ergebnis
G. lamblia	Portland-1	„Gla DNA detected“ (Gla-DNA nachgewiesen)
	WB Klon C6	„Gla DNA detected“ (Gla-DNA nachgewiesen)
	Stamm H3	„Gla DNA detected“ (Gla-DNA nachgewiesen)
C. parvum	Tyzzer	„Cry DNA detected“ (Cry-DNA nachgewiesen)
	Bovines Isolat	„Cry DNA detected“ (Cry-DNA nachgewiesen)
C. hominis	Morgan-Ryan	„Cry DNA detected“ (Cry-DNA nachgewiesen)
E. histolytica	HM-1:IMSS	„Ehis DNA detected“ (Ehis-DNA nachgewiesen)
	DS4-868	„Ehis DNA detected“ (Ehis-DNA nachgewiesen)
E. intestinalis	CDC:V297	„Enc DNA detected“ (Enc-DNA nachgewiesen)
E. hellem	Didier	„Enc DNA detected“ (Enc-DNA nachgewiesen)
E. cuniculi	Stewart	„Enc DNA detected“ (Enc-DNA nachgewiesen)
E. bieneusi	Genotyp B	„Ent:DNA detected“ (Ent-DNA nachgewiesen)
E. bieneusi	Genotyp S9	„Ent DNA detected“ (Ent-DNA nachgewiesen)
E. bieneusi	Genotyp C	„Ent DNA detected“ (Ent-DNA nachgewiesen)
E. bieneusi	Genotyp WR5	„Ent:DNA not detected“ (Ent-DNA nicht nachgewiesen)

Alle Replikate der getesteten Stämme, Genotypen oder Spezies der fünf Zielsequenzen wurden richtig erkannt, mit Ausnahme des *E. bieneusi*-Genotyps WR5-ähnlich. Der *E. bieneusi*-Genotyp WR5-ähnlich wird hauptsächlich bei Wildtieren nachgewiesen.

Das Produkt „GI Parasitic PLUS ELITe MGB Kit“ ermöglicht die Unterscheidung von *Encephalitozoon intestinalis* von den beiden anderen Spezies (*E. cuniculi* und *E. hellem*) durch Schmelztemperatur-Analyse. Die Tm-Bereiche sind in der folgenden Tabelle aufgeführt:

Probe	Tm-Intervall
E. intestinalis	≥ 64,5
E. hellem	< 64,5
E. cuniculi	

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

Interferenz unter den Zielsequenzen

Die potenzielle Interferenz unter den Zielsequenzen des Assays wurde durch einen Test der Co-Amplifikation von *Giardia lamblia, Cryptosporidium* spp., *Entamoeba histolytica, Encephalitozoon* spp. und *Enterocytozoon bieneusi* (Plasmid-DNA von EG SpA) ermittelt.

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

Getestete Zielsequenz	Interferierende Zielsequenz bei 2.500.000 Kopien/ml				
	Gla	Cry	Ehis	Ent	Enc
Gla	-	12.500 Kopien/ml	12.500 Kopien /ml	2.500 Kopien/ml	2.500 Kopien/ml
Cry	2.500 Kopien/ml	-	12.500 Kopien/ml	2.500 Kopien/ml	2.500 Kopien/ml
Ehis	2.500 Kopien/ml	2.500 Kopien/ml	-	2.500 Kopien/ml	2.500 Kopien/ml
Ent	2.500 Kopien/ml	5.000 Kopien/ml	5.000 Kopien/ml	-	2.500 Kopien/ml
Enc	2.500 Kopien/ml	2.500 Kopien/ml	5.000 Kopien/ml	2.500 Kopien/ml	-

Das GI Parasitic PLUS ELITE MGB Kit zeigt eine minimale Interferenz unter den Zielsequenzen. Alle Zielsequenzen sind selbst dann nachweisbar, wenn sie in etwa 1000-mal geringerer Anzahl als die anderen gesuchten Pathogene vorhanden sind.

Potenziell interferierende Organismen: Kreuzreaktivität

Die potenzielle Kreuzreaktivität mit unbeabsichtigten Organismen, die in klinischen Stuhlproben vorkommen können, wurde für den Assay durch eine *In-silico*-Analyse bewertet. Die Analyse ergab keine signifikante Homologie mit anderen unbeabsichtigten Organismen (Viren, Bakterien, Protozoen und Pilze). Es wird daher keine Kreuzreaktivität erwartet.

Das Fehlen einer Kreuzreaktivität mit potenziell interferierenden Organismen wurde auch durch die

Analyse eines Panels unbeabsichtigter Organismen (ATCC, ZeptoMetrix und DSMZ) überprüft.
Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Organismus	Positiv / Wiederholungen						Ergebnis
	Gla	IC (Interne Kontrolle)	Ent	Cry	Ehis	Enc	
Aeromonas hydrophila	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Bacteroides fragilis	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Helicobacter pylori	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
S. cerevisiae	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Enterovirus	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Plesiomonas shigelloides	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Klebsiella pneumoniae	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Escherichia coli	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Serratia marcescens	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Acinetobacter baumannii	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Bifidobacterium spp	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Candida albicans	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Citrobacter freundii	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Proteus mirabilis	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Plesiomonas aeruginosa	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Enterobacter cloacae	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Clostridium difficile	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Campylobacter spp.	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Salmonella spp.	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Shigella spp.	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Yersinia enterocolitica	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Adenovirus	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Astrovirus I	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Norovirus I	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Rotavirus	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Sapovirus	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Clostridium nexile	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität

Alle getesteten potenziell interferierenden Organismen wiesen für die Zielsequenzen beim Test mit dem GI Parasitic PLUS ELITe MGB Kit keine Kreuzreaktivität auf.

GI Parasitic PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die DNA-Real-Time-PCR

REF RTS503ING

Potenziell interferierende Organismen: Inhibition

Die potenzielle Inhibition unbeabsichtigter Organismen, die in klinischen Stuhlproben vorkommen können, wurde für den Assay durch die Analyse eines Panels unbeabsichtigter Organismen (ATCC, ZeptoMetrix und DSMZ) bewertet, die mit *Giardia lamblia, Cryptosporidium parvum, Entamoeba histolytica, Encephalitozoon intestinalis* und *Enterocytozoon bieneusi* (ATCC und EG SpA) dotiert waren.
Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Organismus	Positiv / Wiederholungen						Ergebnis
	Gla	IC (Interne Kontrolle)	Ent	Cry	Ehis	Enc	
Aeromonas hydrophila	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Bacteroides fragilis	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Helicobacter pylori	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Saccharomyces cerevisiae	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Enterovirus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Plesiomonas shigelloides	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Klebsiella pneumoniae	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Escherichia coli	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Serratia marcescens	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Acinetobacter baumannii	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Bifidobacterium spp	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Candida albicans	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5	5/5	Interferenz
Citrobacter freundii	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Proteus mirabilis	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Pseudomonas aeruginosa	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Enterobacter cloacae	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Clostridium difficile	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Campylobacter spp.	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Salmonella spp.	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Shigella spp.	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz

Organismus	Positiv / Wiederholungen						Ergebnis
	Gla	IC (Interne Kontrolle)	Ent	Cry	Ehis	Enc	
Yersinia enterocolitica	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Adenovirus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Astrovirus I	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Norovirus GI	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Rotavirus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Sapovirus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Clostridium nexile	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz

Die meisten der getesteten potenziell interferierenden Organismen wiesen für die Zielamplifikation mit dem GI Parasitic PLUS ELITe MGB Kit keine Inhibition auf, mit Ausnahme von *Candida albicans*. Die Amplifikation von 30 Genomen der Cry- und Ehis-Zielsequenzen wurde durch die Anwesenheit einer großen Menge von *C. albicans*-Genomen beeinträchtigt. In diesem Fall lieferten die Cry- und Ehis-Zielsequenzen positive Ergebnisse, wenn 200 Genome amplifiziert wurden.

Um die Beeinträchtigung des Nachweises von Cry- und Ehis-Zielsequenzen durch *C. albicans* zu untersuchen, wurden weitere Tests mit klinischen Stuhlproben durchgeführt, die positiv auf *C. albicans* reagierten. Die Ergebnisse zeigten, dass die 5-fache Nachweisgrenze von *C. parvum* (880 Organismen/ml) und die 3-fache Nachweisgrenze von *E. histolytica* (1170 Organismen/ml) die niedrigsten Konzentrationen sind, die mit dem GI Parasitic PLUS ELITe MGB Kit in *C. albicans*-positiven Stuhlproben nachgewiesen werden können.

Potenziell interferierende Substanzen: Kreuzreaktivität

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

Substanz	Positiv / Wiederholungen						Ergebnis
	Gla	IC (Interne Kontrolle)	Ent	Cry	Ehis	Enc	
Vaseline-Öl	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Nonoxynol-9	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Bismutsubsalicylat	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Loperamidhydrochlorid	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Bisacodyl	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Azithromycin	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Vancomycin	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Metronidazol	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Ampicillin	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Cefpodoxim	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Ciprofloxacin	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Hydrocortison	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Calciumcarbonat	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Alginsäure	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Aluminiumhydroxid	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Magnesiumtrisilicat	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Vollblut	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Mucin	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Palmitinsäure	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Stearinsäure	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität

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

Potenziell interferierende Substanzen: Inhibition

Die potenzielle Inhibition interferierender Substanzen (endogen und exogen), die in klinischen Stuhlproben vorkommen können, wurde für den Assay durch die Analyse eines Panels von Substanzen in relevanten Konzentrationen in Proben bewertet, die mit *Giardia lamblia, Cryptosporidium parvum, Entamoeba histolytica, Encephalitozoon intestinalis* und *Enterocytozoon bieneusi* (Microbix, ZeptoMetrix und EG SpA) dotiert waren.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Substanz	Positiv / Wiederholungen						Ergebnis
	Cdif	IC (Interne Kontrolle)	Yen	Shi	Cam	Sal	
Vaseline-Öl	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Nonoxynol-9	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Bismutsubsalicylat	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Loperamidhydrochlorid	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Bisacodyl	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Azithromycin	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Vancomycin	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Metronidazol	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Ampicillin	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Cefpodoxim	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Ciprofloxacin	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Hydrocortison	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Calciumcarbonat	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Alginsäure	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Aluminiumhydroxid	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Magnesiumtrisilicat	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Vollblut	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Mucin	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Palmitinsäure	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz
Stearinsäure	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Interferenz

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

GI Parasitic PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die DNA-Real-Time-PCR

REF RTS503ING

Kreuzkontamination

Zur Bewertung der möglichen Kreuzkontamination während der Analyse wurden für den Assay 60 Wiederholungen einer negativen Stuhlprobe im Wechsel mit 60 Wiederholungen derselben Probe, die mit *Cryptosporidium parvum* (EG SpA) in einer Konzentration von 1.000.000 Kopien/ml dotiert waren, in 5 Läufen getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

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

Bei diesem Test mit dem GI Parasitic PLUS ELITe MGB Kit wurde weder innerhalb der Läufe noch zwischen den Läufen eine Kreuzkontamination festgestellt.

Fehlerrate des Gesamtsystems

Die Fehlerrate des Gesamtsystems für den Assay wurde durch die Analyse von 50 verschiedenen negativen nativen Stuhlproben und 30 Stuhlproben, die in FecalSwab mit *Giardia lamblia* (Microbix) in einer Konzentration von 3 x LoD (105 Organismen/ml) dotiert waren, bewertet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Proben	Anzahl	Positiv	Negativ	Fehlerrate des Gesamtsystems
Nativer Stuhl, dotiert auf 3 x LoD	50	50	0	0 %
Stuhl in FecalSwab, dotiert auf 3 x LoD	30	30	0	0 %

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

Wiederholpräzision

Zur Bewertung der Wiederholpräzision des Assays mit ELITe BeGenius und ELITe InGenius wurde ein Panel nativer Stuhlproben, die negativ oder mit *Giardia lamblia, Cryptosporidium parvum, Entamoeba histolytica, Encephalitozoon intestinalis* und *Enterocytozoon bieneusi* (Microbix, ZeptoMetrix und EG SpA) dotiert waren, analysiert.

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

Probe	Ziel	Anzahl	Mittelwert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	Gla(Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		6	34,37	0,21	0,60	100 %
3xLoD Cry+Ent		6	-	-	-	100 %
3xLoD Ehis		6	-	-	-	100 %
Neg.	Cry (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		6	-	-	-	100 %
3xLoD Cry+Ent		6	35,42	0,75	2,11	100 %
3xLoD Ehis		6	-	-	-	100 %
Neg.	Ehis (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		6	-	-	-	100 %
3xLoD Cry+Ent		6	-	-	-	100 %
3xLoD Ehis		6	29,43	0,25	0,84	100 %
Neg.	Ent (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		6	-	-	-	100 %
3xLoD Cry+Ent		6	34,90	1,20	3,45	100 %
3xLoD Ehis		6	-	-	-	100 %
Neg.	Enc (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		6	33,52	0,26	0,78	100 %
3xLoD Cry+Ent		6	-	-	-	100 %
3xLoD Ehis		6	-	-	-	100 %

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

Probe	Ziel	Anzahl	Mittelwert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	Gla(Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		6	33,88	0,29	0,87	100 %
3xLoD Cry+Ent		6	-	-	-	100 %
3xLoD Ehis		6	-	-	-	100 %
Neg.	Cry (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		6	-	-	-	100 %
3xLoD Cry+Ent		6	34,56	0,27	0,79	100 %
3xLoD Ehis		6	-	-	-	100 %
Neg.	Ehis (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		6	-	-	-	100 %
3xLoD Cry+Ent		6	-	-	-	100 %
3xLoD Ehis		6	29,34	0,08	0,28	100 %
Neg.	Ent (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		6	-	-	-	100 %
3xLoD Cry+Ent		6	35,92	1,21	3,36	100 %
3xLoD Ehis		6	-	-	-	100 %
Neg.	Enc (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		6	33,59	0,17	0,52	100 %
3xLoD Cry+Ent		6	-	-	-	100 %
3xLoD Ehis		6	-	-	-	100 %

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

Probe	Ziel	Anzahl	Mittelwert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	Gla(Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		12	33,90	0,22	0,66	100 %
3xLoD Cry+Ent		12	-	-	-	100 %
3xLoD Ehis		12	-	-	-	100 %
Neg.	Cry (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		12	-	-	-	100 %
3xLoD Cry+Ent		12	35,15	0,57	1,64	100 %
3xLoD Ehis		12	-	-	-	100 %
Neg.	Ehis (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		12	-	-	-	100 %
3xLoD Cry+Ent		12	-	-	-	100 %
3xLoD Ehis		12	29,76	0,23	0,79	100 %
Neg.	Ent (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		12	-	-	-	100 %
3xLoD Cry+Ent		12	34,91	0,59	1,69	100 %
3xLoD Ehis		12	-	-	-	100 %
Neg.	Enc (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		12	33,51	0,30	0,89	100 %
3xLoD Cry+Ent		12	-	-	-	100 %
3xLoD Ehis		12	-	-	-	100 %

GI Parasitic PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die DNA-Real-Time-PCR

REF RTS503ING

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

Probe	Ziel	Anzahl	Mittelwert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	Gla(Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		12	33,68	0,33	0,98	100 %
3xLoD Cry+Ent		12	-	-	-	100 %
3xLoD Ehis		12	-	-	-	100 %
Neg.	Cry (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		12	-	-	-	100 %
3xLoD Cry+Ent		12	36,02	0,55	1,52	100 %
3xLoD Ehis		12	-	-	-	100 %
Neg.	Ehis (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		12	-	-	-	100 %
3xLoD Cry+Ent		12	-	-	-	100 %
3xLoD Ehis		12	29,30	0,17	0,58	100 %
Neg.	Ent (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		12	-	-	-	100 %
3xLoD Cry+Ent		12	34,96	0,51	1,45	100 %
3xLoD Ehis		12	-	-	-	100 %
Neg.	Enc (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		12	33,94	0,29	0,86	100 %
3xLoD Cry+Ent		12	-	-	-	100 %
3xLoD Ehis		12	-	-	-	100 %

Beim Test der Wiederholpräzision erkannte der GI Parasitic PLUS ELITe MGB Kit alle Proben wie erwartet und wies eine maximale Variabilität der Ct-Zielwerte als VK% gleich 3,36 % aus.

Vergleichspräzision

Zur Bewertung der Vergleichspräzision des Assays mit ELITe BeGenius und ELITe InGenius wurde ein Panel nativer Stuhlproben, die negativ oder mit *Giardia lamblia, Cryptosporidium parvum, Entamoeba histolytica, Encephalitozoon intestinalis* und *Enterocytozoon bieneusi* (Microbix, ZeptoMetrix und EG SpA) dotiert waren, analysiert.

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

Probe	Ziel	Anzahl	Mittelwert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	Gla(Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		36	34,33	0,41	1,21	100 %
3xLoD Cry+Ent		36	41,23	-	-	97 %
3xLoD Ehis		36	-	-	-	100 %
Neg.	Cry (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cry+Ent		36	35,39	0,62	1,74	100 %
3xLoD Ehis		36	-	-	-	100 %
Neg.	Ehis (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cry+Ent		36	-	-	-	100 %
3xLoD Ehis		36	29,74	0,26	0,86	100 %
Neg.	Ent (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cry+Ent		36	35,25	0,76	2,15	100 %
3xLoD Ehis		36	-	-	-	100 %
Neg.	Enc (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		36	33,65	0,39	1,16	100 %
3xLoD Cry+Ent		36	-	-	-	100 %
3xLoD Ehis		36	-	-	-	100 %

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

Probe	Ziel	Anzahl	Mittelwert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	Gla(Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		36	33,69	0,31	0,93	100 %
3xLoD Cry+Ent		36	-	-	-	100 %
3xLoD Ehis		36	-	-	-	100 %
Neg.	Cry (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cry+Ent		36	35,97	0,77	2,14	100 %
3xLoD Ehis		36	-	-	-	100 %
Neg.	Ehis (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cry+Ent		36	-	-	-	100 %
3xLoD Ehis		36	29,35	0,21	0,70	100 %
Neg.	Ent (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cry+Ent		36	34,61	0,71	2,04	100 %
3xLoD Ehis		36	-	-	-	100 %
Neg.	Enc (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		36	33,76	0,34	1,00	100 %
3xLoD Cry+Ent		36	-	-	-	100 %
3xLoD Ehis		36	-	-	-	100 %

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

Probe	Ziel	Anzahl	Mittelwert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	Gla(Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		36	34,42	0,50	1,45	100 %
3xLoD Cry+Ent		36	-	-	-	100 %
3xLoD Ehis		36	-	-	-	100 %
Neg.	Cry (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cry+Ent		36	35,75	0,58	1,61	100 %
3xLoD Ehis		36	-	-	-	100 %
Neg.	Ehis (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cry+Ent		36	-	-	-	100 %
3xLoD Ehis		36	29,99	0,32	1,05	100 %
Neg.	Ent (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cry+Ent		36	35,29	1,08	3,07	100 %
3xLoD Ehis		36	-	-	-	100 %
Neg.	Enc (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cry+Ent		36	33,66	0,52	1,55	100 %
3xLoD Ehis		36	-	-	-	100 %

GI Parasitic PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die DNA-Real-Time-PCR

REF RTS503ING

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

Probe	Ziel	Anzahl	Mittelwert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	Gla(Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		36	33,73	0,30	0,90	100 %
3xLoD Cry+Ent		36	-	-	-	100 %
3xLoD Ehis		36	-	-	-	100 %
Neg.	Cry (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cry+Ent		36	35,93	0,65	1,80	100 %
3xLoD Ehis		36	-	-	-	100 %
Neg.	Ehis (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cry+Ent		36	-	-	-	100 %
3xLoD Ehis		36	29,58	0,18	0,59	100 %
Neg.	Ent (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cry+Ent		36	34,27	0,58	1,69	100 %
3xLoD Ehis		36	-	-	-	100 %
Neg.	Enc (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD Gla+Enc		36	33,93	0,38	1,11	100 %
3xLoD Cry+Ent		36	-	-	-	100 %
3xLoD Ehis		36	-	-	-	100 %

Beim Test der Vergleichspräzision erkannte der GI Parasitic PLUS ELITe MGB Kit alle Proben wie erwartet und wies eine maximale Variabilität der Ct-Zielwerte als VK% gleich 3,07 % aus.

Diagnostische Spezifität: Bestätigung negativer Proben

Zur Bewertung der diagnostischen Spezifität des Assays als Bestätigung negativer klinischer Proben wurden in Verbindung mit ELITe InGenius klinische Stuhlproben, die ohne Konservierungsstoffe oder in modifiziertem Cary-Blair-Medium gesammelt worden waren, analysiert und für die einzelnen Zielsequenzen als negativ bestätigt.

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

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

Negativ auf die Zielsequenz getestete Stuhlproben	Anzahl	Positiv	Negativ	Diagnostische Spezifität in %
Giardia lamblia	196	1	195	99,5 %
Cryptosporidium spp.	196	0	196	100 %
Entamoeba histolytica	100	0	100	100 %
Encephalitozoon spp.	100	0	100	100 %
Enterocytozoon bieneusi	100	0	100	100 %

Alle Stuhlproben waren für die Analyse gültig. Die positive Probe hat einen niedrigen Titer, der nahe am LoD-Wert des Systems liegt, und ein erneutes Testen war für sie nicht möglich.

Die diagnostische Spezifität des GI Parasitic PLUS ELITe MGB Kit in Verbindung mit Stuhl in diesem Test betrug 99,5 % bei Gla, 100 % bei Cry, 100 % bei Ehis, 100 % bei Enc und 100 % bei Ent.

Der Ct-Grenzwert für die IC wurde auf 30 festgelegt.

Diagnostische Sensitivität: Bestätigung positiver Proben

Zur Bewertung der diagnostischen Sensitivität des Assays als Bestätigung positiver klinischer Proben wurden in Verbindung mit ELITe InGenius klinische Stuhlproben, die ohne Konservierungsstoffe oder in Cary-Blair-Medium gesammelt worden waren, analysiert und für die einzelnen Zielsequenzen als positiv bestätigt oder mit Referenzmaterial dotiert.

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.

Positive/dotierte Stuhlproben	Anzahl	Positiv	Negativ	Diagnostische Sensitivität in %
Positiv auf *Giardia lamblia*	77	76	1	98,7 %
Positiv auf *Cryptosporidium* spp.	86	83	3	96,5 %
Positiv auf *Entamoeba histolytica*	3	3	0	100 %
Dotiert für *Entamoeba histolytica*	50	50	0	
Positiv auf *Encephalitozoon spp.*	12	12	0	100 %
Dotiert für *Encephalitozoon spp.*	45	45	0	
Positiv auf *Enterocytozoon bieneusi*	46	43	3	95,6 %
Dotiert für *Enterocytozoon bieneusi*	22	22	0	

Die diagnostische Sensitivität des GI Parasitic PLUS ELITe MGB Kit in Verbindung mit Stuhl in diesem Test betrug 98,7 % bei Gla, 96,5 % bei Cry, 100 % bei Ehis, 100 % bei Enc und 95,6 % bei Ent.

Hinweis: Die vollständigen Daten und Ergebnisse der Tests, die zur Bewertung der Leistungsmerkmale des Produkts mit Matrizes und Geräten durchgeführt wurden, sind in der technischen Produktdokumentation „GI Parasitic PLUS ELITe MGB Kit“, FTP 503ING, aufgeführt.

QUELLENANGABEN

J. J. Verweij et al., (2003) Mol. and Cell. Probes 17: 223 - 225

N. Valeix et al. (2020) Microrganisms 8: 1450

N. Jothikumar et al. (2008) J. Medical Microbiology 57: 1099 – 1105

R. Haque et al. (2007) Am. J. Med. Hyg. 76: 713 – 717

Nozhat Zebardast et al. (2014) Iranian J. Parasitol. 9: 466 – 473

J. J. Verweij et al. (2007), Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 57: 163 – 167

A. J. da Silva et al. (1996) J. Clinical Microbiology 34: 986 – 987

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

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

GRENZEN DES VERFAHRENS

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

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

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

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

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

Die Verwendung dieses Produkts erfordert 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, PCR und Nachweis von Nukleinsäuren geschult ist, verwendet werden.

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

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

Bei Koinfektionen kann die Sensitivität für eine Zielsequenz durch die Amplifikation einer zweiten Zielsequenz (siehe „Leistungsmerkmale“) beeinträchtigt werden.

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

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

Der Nachweis von *Cryptosporidium* spp. und *Entamoeba histolytica* könnte durch Candida albicans beeinträchtigt werden, falls in der klinischen Stuhlprobe vorhanden.

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.

FEHLERBEHEBUNG

Ungültige Reaktion der Positive Control	
Mögliche Ursachen	**Abhilfemaßnahmen**
Einstellfehler des Geräts.	Position von PCR Mix und Positive Control kontrollieren. Volumen von PCR Mix und Positive Control kontrollieren.
Abbau des PCR Mix.	Den PCR Mix nicht für mehr als 7 unabhängige Arbeitsläufe verwenden (jeweils 3 Stunden im gekühlten Reagenzienblock oder in der Kühleinheit). Den PCR Mix nicht für mehr als 3 aufeinander folgende Läufe verwenden (7 Stunden im gekühlten Reagenzienblock oder in der Kühleinheit). Den PCR Mix nicht länger als 30 Minuten bei Raumtemperatur aufbewahren. Ein neues Aliquot mit PCR Mix verwenden.
Abbau der Positive Control.	Die Positive Control nicht für mehr als 4 unabhängige Arbeitsläufe verwenden (jeweils 3 Stunden im Extraktionsbereich oder in der Kühleinheit). Ein neues Aliquot der Positive Control verwenden.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Ungültige Reaktion der Negative Control	
Mögliche Ursachen	**Abhilfemaßnahmen**
Einstellfehler des Geräts.	Position des PCR Mix und der Negative Control kontrollieren. Volumina des PCR Mix und der Negative Control 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 PCR Mix.	Ein neues Aliquot mit PCR Mix verwenden.
Kontamination des Extraktionsbereichs, der Racks, des Bestandsblocks oder der Kühleinheit.	Oberflächen mit wässrigen Reinigungsmitteln reinigen, Laborkittel waschen, verwendete Röhrchen und Spitzen austauschen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Ungültige Probenreaktion	
Mögliche Ursachen	**Abhilfemaßnahmen**
Einstellfehler des Geräts.	Position von PCR Mix, Internal Control und Probe kontrollieren. Volumina von PCR Mix, Internal Control und Probe kontrollieren.
Abbau des PCR Mix.	Den PCR Mix nicht für mehr als 7 unabhängige Arbeitsläufe verwenden (jeweils 3 Stunden im gekühlten Reagenzienblock oder in der Kühleinheit). Den PCR Mix nicht für mehr als 3 aufeinander folgende Läufe verwenden (7 Stunden im gekühlten Reagenzienblock oder in der Kühleinheit). Den PCR Mix nicht länger als 30 Minuten bei Raumtemperatur aufbewahren. Ein neues Aliquot mit PCR Mix zubereiten.
Abbau der Vorlage für die Internal Control.	Ein neues Aliquot der Internal Control verwenden.

GI Parasitic PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die DNA-Real-Time-PCR

REF RTS503ING

Inhibition durch Störsubstanzen in der Probe.	Amplifikation der eluierten Probe mit einer 1:2-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „PCR Only“-Lauf (nur PCR) wiederholen. Extraktion mit einer 1:2-Verdünnung der vorbehandelten Probe in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „Extract + PCR“-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

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

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

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

SYMBOLE

REF Katalognummer.

Temperaturobergrenze.

LOT Chargenbezeichnung.

Verwendbar bis (letzter Tag des Monats).

IVD *In-vitro*-Diagnostikum.

CE 0123 Erfüllt die Anforderungen der Verordnung (EU) 2017/746 über *In-vitro*-Diagnostika (IVDR). Zertifizierung ausgestellt von der TÜV SÜD Product Service GmbH, Deutschland.

UDI Unique Device Identification, eindeutige Gerätekennung

Σ Genügend für „n“ Tests.

Vorsicht, Gebrauchsanweisung beachten.

FORT Inhalt.

Vor Sonneneinstrahlung schützen.

Hersteller.

GI Parasitic PLUS ELITe MGB® Kit
Reagenzien für die DNA-Real-Time-PCR

REF RTS503ING

ANWENDERHINWEISE

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

HINWEIS AN DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ

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

ELITe MGB® Nachweisreagenzien sind durch eines oder mehrere der US-Patente mit den Nummern 6972339, 7112684, 7319022, 7348146, 7381818, 7541454, 7582739, 7601851, 7671218, 7718374, 7723038, 7759126, 7767834, 7851606, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8569516, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529 und der EP-Patente mit den Nummern 1430147, 1687609, 1781675, 1789587, 2689031, 2714939, 2736916, 2997161 sowie durch anhängige Patentanmeldungen geschützt.

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

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

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

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

GI Parasitic PLUS ELITe MGB® Kit
used in association with Genius series® platforms
Ref: RTS503ING

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

Intended use

The product **GI Parasitic PLUS ELITe MGB® Kit** is an *in vitro* diagnostic medical device intended to be used by healthcare professionals as qualitative multiplex nucleic acids Real-Time PCR assay for the detection and identification of the genomic DNA of *Giardia lamblia* (Gla) (alias Giardia intestinalis), *Cryptosporidium* spp. (Cry), *Entamoeba histolytica* (Ehis), *Encephalitozoon* spp (Enc), *Enterocytozoon bieneusi* (Ent), extracted from clinical specimens.

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

The product is intended for use as an aid in the diagnosis of gastrointestinal parasitic infections in patients suspected of having *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* spp., *Entamoeba histolytica*, *Enterocytozoon bieneusi*, *Encephalitozoon* spp. infection.

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

Amplified sequence

Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
Target 1	16s like	FAM	Gla
Target 2	18s	AP593	Cry
Target 3	18s	AP639	Ehis
Target 4	16s	AP690	Enc
Target 5	ITS	AP559	Ent
Internal Control	IC2	AP525	IC

Validated matrix

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

Kit content and related products

GI Parasitic PLUS ELITe MGB Kit (RTS503ING)		GI Parasitic PLUS - ELITe Positive Control (CTR503ING)	
X 8		X 3	
GI-P PCR Mix 8 tubes of 280 µL 12 reactions per tube 96 reactions per kit 7 freeze-thaw cycles per tube		**GI-P Positive Control** 3 tubes of 160 µL 4 reactions per tube 12 reactions per kit 4 freeze-thaw cycles	
Maximum shelf-life:	**24 months**	Maximum shelf-life	**24 months**
Storage temperature	**≤ -20°C**	Storage temperature	**≤ -20°C**

Other products required not provided in the kit

- ELITe InGenius instrument: INT030.
- ELITe BeGenius instrument: INT040.
- ELITe InGenius SP 200: INT032SP200.
- ELITe InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS.
- ELITe InGenius PCR Cassette: INT035PCR.
- ELITe InGenius Waste Box: F2102-000.
- 300 µL Filter Tips Axigen: TF-350-L-R-S.
- 1000 µL Filter Tips Tecan: 30180118.
- CPE - Internal Control: CTRCPE
- InhibitEX Buffer (QIAGEN GmbH, Germany, ref. 19593) or an equivalent device.
- Minitip Flocked Swab® (COPAN Italia S.p.A., Italy, ref. 518CS01) or an equivalent device.
- FecalSwab™ (COPAN Italia S.p.A., Italy, ref. 470CE,) or an equivalent device.

ELITe InGenius and ELITe BeGenius Protocol

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

ELITe InGenius and ELITe BeGenius Performances

Matrix	Target	Limit of Detection	Sensitivity	Specificity
Native Stool / Stool collected in FecalSwab	Gla	**35 org. / mL**	**98.7%** (76/77)	**99.5%** (195/196)
	Cry	**176 org. / mL**	**96.5%** (83/86)	**100%** (196/196)
	Ehis	**390 org. / mL**	**100%** (53/53)	**100%** (100/100)
	Enc	**231 copies / mL**	**100%** (57/57)	**100%** (100/100)
	Ent	**101 copies / mL**	**95.6%** (65/68)	**100%** (100/100)

Sample preparation

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

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

ELITe InGenius Procedures

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

Before analysis

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

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen	**2.** Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", elution: "100 µL"	**3.** Scan the sample barcodes with hand-barcode reader or type the sample ID
4. Select the "Assay Protocol" of interest: GI Parasitic PLUS ELITe_ST_200_100	**5.** Select the method "Extract + PCR" and the sample position: Extraction Tube	**6.** Load the PCR Mix and the Internal Control in the Inventory Block
7. Load: PCR cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip Cassette, Extraction Tube racks	**8.** Close the door. Start the run	**9.** View, approve and store the results

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

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

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

ELITe BeGenius Procedures

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

Before analysis

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

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

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

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

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