

Instructions for use

GI Bacterial PLUS ELITe MGB® Kit

Reagenzien für die DNA-Real-Time-PCR



REF RTS502ING

UDI 08033891487447

0123

IVD

ÄNDERUNGSVERLAUF

Rev.	Änderungsvermerk	Datum (TT.MM.JJ)
02	<p>Hinzufügung eines erläuternden Satzes zum Yen-Zielgen, der speziell die Unterscheidung von <i>Yersinia</i>-DNA von potenziell interferierenden Organismen (außer <i>Y. enterocolitica</i>) ermöglicht.</p> <p>Ersetzung von 2-ml-Röhrchen 953-217 und weißer Verschluss 953-223 durch 2-ml-Röhrchen 953-065 in Bezug auf Röhrchen der PCR Mix-Komponente</p> <p>Haltbarkeit nach Anbruch auf 60 Tage verlängert</p> <p>Aktualisierung des Abschnitts „Quellenangaben“</p> <p>Aktualisierung der Verpackung des PCR Mix-Röhrchens (Abschnitt „Mit dem Produkt bereitgestellte Materialien“)</p> <p>Aktualisierung des Abschnitts „Benötigte Materialien (nicht im Lieferumfang enthalten)“</p> <p>Aktualisierung des Abschnitts „Sonstige benötigte Produkte“</p> <p>Aktualisierung des Abschnitts „Hinweis an die Benutzer“</p> <p>Aktualisierung des Abschnitts „Hinweis an den Käufer: eingeschränkte Lizenz“</p>	14/10/25
01	<p>Aktualisierung des Abschnitts „Symbole“ mit dem Symbol „Gebrauchsanweisung beachten“</p> <p>Aktualisierung der Artikelnummer des Minitip Flocked Swab</p> <p>Aktualisierung der Abschnitte 11.5 und 11.7: Inhibition</p> <p>Neue grafische und inhaltliche Gestaltung der Gebrauchsanweisung.</p>	29/11/24
00	Neuproduktentwicklung	13/05/24

HINWEIS!

Die Revision dieser Gebrauchsanweisung ist auch mit der vorangehenden Version des Kits kompatibel

INHALTSVERZEICHNIS

1 VERWENDUNGSZWECK.....	4
2 TESTPRINZIP.....	4
3 BESCHREIBUNG DES PRODUKTS.....	4
4 MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN.....	5
5 ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN.....	5
6 ANDERE ERFORDERLICHE PRODUKTE.....	5
7 WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN.....	6
8 PROBEN UND KONTROLLEN.....	7
9 ELITe InGenius VERFAHREN.....	9
10 ELITe BeGenius VERFAHREN.....	15
11 LEISTUNGSMERKMALE.....	20
12 REFERENZEN.....	37
13 GRENZEN DES VERFAHRENS.....	37
14 FEHLERBEHEBUNG.....	38
15 SYMBOLE.....	40
16 ANWENDERHINWEISE.....	41
17 HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ.....	41
Appendix A QUICK START GUIDE.....	42

1 VERWENDUNGSZWECK

Das Produkt **GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit** <keyword keyref="product" translate="no">UroGen ELITe MGB Kit</keyword> ist ein In-vitro-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal in qualitativen Multiplex-Nukleinsäure-Real-Time-PCR-Assays zum Nachweis und zur Identifizierung der genomischen DNA von *Campylobacter* spp. (**Cam**), *Clostridium difficile* (auch bekannt als *Clostridioides difficile*, **Cdif**), einschließlich der Unterscheidung des Ribotyps 027, *Salmonella* spp. (**Sal**), *Shigella* spp. (**Shi**), *Yersinia enterocolitica* (**Yen**), die aus klinischen Proben extrahiert wurde, bestimmt ist.

Dieser Assay ist in Verbindung mit den **ELITe InGenius® ELITe BeGenius®** Geräten, 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 bakteriellen Magen-Darm-Infektionen bei Patienten mit Verdacht auf eine Infektion mit *Campylobacter* spp., *Clostridium difficile*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. und *Yersinia enterocolitica* bestimmt.

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

Das Produkt ist nicht zur Verwendung als Hilfsmittel für die Diagnose von Typhus und nicht zur Verwendung als Hilfsmittel für die Identifizierung von *Salmonella enterica* serovar *Typhi* (auch bekannt als *Salmonella typhi*) zur Beurteilung des Trägerstatus von Patienten bestimmt.

2 TESTPRINZIP

Der Assay ist eine qualitative Echtzeit-PCR für den Nachweis der DNA von *Campylobacter* spp., *Clostridioides difficile*, einschließlich der Unterscheidung des Ribotyps 027, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. und *Yersinia enterocolitica*, die aus Proben isoliert und mit dem Testreagenz **GI-B PCR Mix**, das Primer und ELITe MGB-Technologie-Sonden enthält, amplifiziert wurde.

Die ELITe MGB-Sonden werden aktiviert, wenn sie mit den jeweiligen PCR-Produkten hybridisieren. **ELITe InGenius** **ELITe InGenius** und **ELITe BeGenius** überwachen den Fluoreszenzanstieg und berechnen die Schwellenwertzyklen (Ct) sowie die Schmelztemperaturen (Tm).

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

3 BESCHREIBUNG DES PRODUKTS

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

- *Campylobacter* spp. **16s rRNA**-Gen, nachgewiesen in Kanal **Cam**. Die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit Eclipse Dark Quencher® gequenched und mit dem Farbstoff AquaPhluor® 639 (AP639) markiert,
- das *Clostridioides difficile* **tcdB**-Gen, nachgewiesen in Kanal **Cdif**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequenched und mit einem FAM-Farbstoff markiert,
- *Salmonella* spp. **invA**-Gen, nachgewiesen in Kanal **Sal**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequenched und mit dem Farbstoff AquaPhluor 690 (AP690) markiert.
- *Shigella* spp. **ipaH**-Gen, nachgewiesen in Kanal **Shi**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequenched und mit dem Farbstoff AquaPhluor 593 (AP593) markiert.
- *Yersinia enterocolitica* **foxA**-Gen, nachgewiesen in Kanal **Yen**; die Sonde ist durch den MGB stabilisiert, mit dem Eclipse Dark Quencher gequenched 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 gequenched und mit dem Farbstoff AquaPhluor 525 (AP525) markiert.

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

Das **GI Bacterial 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.

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

4 MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN

Tabelle 1

Komponente	Beschreibung	Menge	Gefahrenklasse
GI-B PCR Mix Art.-Nr. RTS502ING	Gemisch aus Reagenzien für Real-Time-PCR-Röhrchen mit NATURFARBENEM Verschluss	8 x 280 µl	-

5 ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN

- Sicherheitswerkbank.
- Puderfreie Einweghandschuhe aus Nitril oder einem ähnlichen Material.
- Vortex-Mixer.
- Tischzentrifuge (~5.000 U/min).
- Tisch-Mikrozentrifuge (~13.000 U/min).
- Thermomixer.
- Mikropipetten und sterile Spitzen mit Aerosolfilter oder sterile Direktverdrängerspitzen (Volumenbereich: 0,5–1000 µl).
- Sterile 2,0-ml-Röhrchen mit Schraubverschluss (Sarstedt, Deutschland, Art.-Nr. 72.694.005).
- Sterile 0,5-ml-Röhrchen mit Schraubverschluss (Sarstedt, Deutschland, Art.-Nr. 72.730.005).
- Hochreines Wasser für die Molekularbiologie.

6 ANDERE ERFORDERLICHE 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.

Tabelle 2

Geräte und Software	Produkte und Reagenzien
ELITe InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, Art.-Nr. INT030). ELITe InGenius Software Version 1.3.0.19 (oder später). GI Bacterial PLUS ELITe_PC , Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Positive Control-Analyse GI Bacterial PLUS ELITe_NC , Assay-Protokoll mit Parametern für die Negative Control-Analyse GI Bacterial PLUS ELITe_ST_200_100 , Assay-Protokoll mit Parametern für die Stuhlprobenanalyse.	GI Bacterial PLUS - ELITe Positive Control (EG SpA, Art.-Nr. CTR502ING). CPE - Internal Control (EG SpA, Art.-Nr. CTRCPE). ELITe InGenius SP200 (EG SpA, Art.-Nr. INT032SP200). ELITe InGenius und ELITe BeGenius Verbrauchsmaterialien (siehe ELITe InGenius und ELITe BeGenius Gebrauchsanweisung) InhibitEX Buffer (QIAGEN GmbH, Deutschland, Art.-Nr. 19593) oder ein entsprechendes Produkt.
ELITe BeGenius (EG SpA, Art.-Nr. INT040). ELITe BeGenius Software Version 2.3.0 (oder später). GI Bacterial PLUS ELITe_Be_PC , Assay-Protokoll (Assay Protocol) mit Parametern für die Positive Control-Analyse GI Bacterial PLUS ELITe_Be_NC , Assay-Protokoll mit Parametern für die Negative Control-Analyse. GI Bacterial PLUS ELITe_Be_ST_200_100 , Assay-Protokoll mit Parametern für die Stuhlprobenanalyse.	Minitip Flocked Swab® (COPAN Italia S.p.A., Italien, Art.-Nr. 501CS01) oder eine entsprechende Vorrichtung. FecalSwab™ (COPAN Italia S.p.A., Italien Art.-Nr. 470CE) oder eine entsprechende Vorrichtung mit Cary-Blair-Medium.

7 **WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN**

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

7.1 Allgemeine Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

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

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

Geeignete Schutzkleidung und Schutzhandschuhe sowie Augen-/Gesichtsschutz tragen.

Lösungen niemals mit dem Mund pipettieren.

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

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

Restliche Reagenzien und Abfälle gemäß den geltenden Vorschriften entsorgen.

Vor der Durchführung des Assays alle bereitgestellten Anweisungen aufmerksam lesen.

Bei der Durchführung des Tests die bereitgestellten Produktanweisungen befolgen.

Das Produkt nicht nach dem angegebenen Ablaufdatum verwenden.

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

Keine Reagenzien aus unterschiedlichen Chargen verwenden.

Keine Reagenzien anderer Hersteller verwenden.

7.2 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen für die Molekularbiologie

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

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

Die Proben müssen geeignet und möglichst für diese Art der Analyse bestimmt sein. Proben müssen unter einer Laminar-Flow-Haube gehandhabt werden. Die zur Verarbeitung der Proben verwendeten Pipetten dürfen ausschließlich für diesen Zweck verwendet werden. Die Pipetten müssen entweder Direktverdrängungspipetten sein oder zusammen mit 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 Sicherheitswerkbank 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 verhindert und eine Kontamination des Arbeitsbereichs des Geräts vermieden wird.

Die PCR-Kassette (PCR Cassette) muss vorsichtig behandelt werden und darf niemals geöffnet werden, um eine Diffusion von PCR-Produkten in die Umgebung und eine Verschleppungskontamination zu verhindern.

7.3 Komponentenspezifische Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Tabelle 3

Komponente	Umgebungs-temperatur bei Lagerung	Haltbarkeit nach Anbruch	Gefrier- und Auftauzyklen	On-Board-Stabilität (ELITe InGenius und ELITe BeGenius)
GI-B PCR Mix,	-20°C oder darunter (lichtgeschützt)	60 Tage	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

8 PROBEN UND KONTROLLEN

8.1 Proben

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

Tabelle 4

Probe	Anforderungen an die Entnahme	Transport-/Lagerbedingungen			
		+16 / +26 °C (Raumtemperatur)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Stuhl	ohne Konservierungsmittel entnommen	≤ 24 Stunden	≤ 48 Stunden	≤ 1 Monat	≤ 2 Monate
	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. 1 ml InhibitEX Buffer in ein 2-ml-Sarstedt-Röhrchen übertragen,
2. 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,
3. den Tupfer in das 2-ml-Sarstedt-Röhrchen mit dem InhibitEX Buffer einführen und mindestens 10 Mal drehen; dabei an der Röhrchenwand entlangstreifen,
4. den Tupfer entsorgen und den Röhrchenverschluss schließen,
5. durch Vortexen ~60 Sek. mischen,
6. in einem Thermomixer 10 Min. bei ~+80 °C und ~800 U/min inkubieren,
7. 15 Sek. bei 10.000 xg (RZB) zentrifugieren,
8. 200 µl des geklärten Stuhlüberstands vorsichtig in ein Extraktionsröhrenchen (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:

1. 500 µl InhibitEX Buffer in ein 2-ml-Sarstedt-Röhrchen überführen,
2. 500 µl der Probensuspension aus dem FecalSwab in das 2-ml-Sarstedt-Röhrchen mit dem InhibitEX Buffer überführen,
3. das Röhrchen dicht verschließen und ~60. Sek. durch Vortexen mischen,
4. in einem Thermomixer 10 Min. bei ~+80 °C und ~800 U/min inkubieren,
5. 15 Sek. bei 10.000 xg (RZB) zentrifugieren,
6. 200 µl des geklärten Stuhlüberstands vorsichtig in ein Extraktionsröhrenchen (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 dem **ELITe BeGenius** müssen die folgenden Assay-Protokolle (Assay Protocol) verwendet werden. Diese IVD-Protokolle wurden speziell mit ELITe MGB Kits und **ELITe InGenius** bzw. **ELITe BeGenius** mit den angegebenen Matrices validiert.

Tabelle 5 Assay-Protokolle für GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit

Probe	Gerät	Name des Assay-Protokolls	Bericht	Eigenschaften
Nativer Stuhl oder in FecalSwab entnommener Stuhl	ELITe InGenius	GI Bacterial PLUS ELITe_ ST_200_100	Positiv/ negativ	Extraktion Eingangsvolumen: 200 µl Extrahiertes Elutionsvolumen: 100 µl Interne Kontrolle: 10 µl Beschallung: KEINE Verdünnungsfaktor: 1 Volumen PCR-Mix: 20 µl Eingangsvolumen Proben-PCR: 20 µl
	ELITe BeGenius	GI Bacterial PLUS ELITe_ Be_ST_200_100		

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

HINWEIS!

Das Pipettieren in das **Extraction Tube (Extraktionsröhrcchen)** oder das **2-ml-Sarstedt-Röhrchen** kann **Kontamination verursachen**. Die geeigneten Pipetten verwenden und alle im entsprechenden Abschnitt aufgeführten Empfehlungen befolgen. 7 **WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN** page 6

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

Daten zu störenden Substanzen sind unter „Potenziell interferierende Substanzen“ in **11 LEISTUNGSMERKMALE** page 20 aufgeführt.

8.2 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 Bacterial PLUS - ELITe Positive Control** (nicht in diesem Kit enthalten) mit den Assay-Protokollen **GI Bacterial PLUS ELITe _PC** oder **GI Bacterial PLUS ELITe _Be_PC** verwenden.
- Für die Negative Control hochreines Wasser für die Molekularbiologie (nicht in diesem Kit enthalten) mit den Assay-Protokollen **GI Bacterial PLUS ELITe _ NC** oder **GI Bacterial 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 wird verwendet,
- die Ergebnisse der Qualitätskontrollanalyse (siehe nächster Abschnitt) liegen außerhalb der Spezifikation,
- eine größere Wartungs- oder Instandhaltungsmaßnahme am **ELITE InGenius** oder **ELITE BeGenius** durchgeführt wird.

8.3 Qualitätskontrollen

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

9 ELITe InGenius VERFAHREN

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

Tabelle 6

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

9.1 SCHRITT 1 - Prüfung der Systembereitschaft

Vor Beginn des Laufs:

- **ELITe InGenius** einschalten und den Modus „**CLOSED**“ (geschlossen) auswählen,
- auf der Startseite im Menü „Controls“ (Kontrollen) bestätigen, dass die PCR-Kontrollen (**Positive Control, GI-B Negative Control**) für die zu verwendende Charge des **GI-B PCR Mix** genehmigt und gültig (Status) sind.

Wenn keine gültigen PCR-Kontrollen für die Charge **GI-B PCR Mix** verfügbar sind, die PCR-Kontrollen wie in den folgenden Abschnitten beschrieben durchführen,

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

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

9.2 SCHRITT 2 - Einrichtung des Laufs

Das **GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit** kann auf **ELITe InGenius** für die folgenden Läufe verwendet werden:

- A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR]),
- B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR]),
- C. Positive Control und Negative Control-Laufen (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-B PCR Mix**-Röhrchen 30 Minuten auf 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:

Tabelle 7 Verfahren bei ELITe InGenius

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluierte 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 vorbehandelte Probe in ein zuvor etikettiertes Extraktionsröhren überführt werden.	Elutionsröhren 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.	Nicht anwendbar	Die Negative Control vorbereiten: dazu mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie in ein „Elution Tube“ (Elutionsröhre) 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“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes 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.	Nicht anwendbar
6	Das Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „ 8 PROBEN UND KONTROLLEN page 7 “).	Das Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „ 8 PROBEN UND KONTROLLEN page 7 “).	Das Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „ 8 PROBEN UND KONTROLLEN page 7 “). 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“ (Extraktionsröhren) in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) auswählen.	Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhre [untere Reihe]) lautet.	Sicherstellen, dass die Ladeposition der Probe in der Spalte „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube (bottom row)“ (Elutionsröhre [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“ (Liste Laden) auf den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden und die Chargennummer und das Ablaufdatum des PCR Mix sowie die Anzahl der Reaktionen für jedes Röhrchen eingeben.	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.

Tabelle 7 Verfahren bei ELITe InGenius (continued)

	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])
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“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.
13	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
14	PCR Cassette, ELITe InGenius SP 200 Extraktionskartuschen und alle benötigten Verbrauchsmaterialien und zu extrahierenden Proben laden	PCR Cassette und Elution Tube (Elutionsröhrchen) mit extrahierten Proben laden	PCR Cassette, Positive Control- und Negative Control-Röhrchen laden.
15	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
16	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.
17	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.

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

HINWEIS!

Am Ende des Laufs muss die übrige extrahierte Probe im **Elution Tube** (Elutionsröhr.) aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen, gekennzeichnet und maximal einen Monat bei $-20 \pm 10^{\circ}\text{C}$ 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 aufbewahrt oder für 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 aufbewahrt werden. Ein Verschütten der **Positive Control** vermeiden. Die übrige **Negative Control** muss entsorgt werden.

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

9.3 SCHRITT 3 - Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

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

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

HINWEIS!

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

ELITE InGenius generiert Ergebnisse mithilfe des **GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit** und geht dabei folgendermaßen vor:

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

9.3.1 Validierung der Ergebnisse des Amplifikationslaufs für die Positive Control und Negative Control

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

Die für die PCR-Reagenziencharge spezifischen Ergebnisse der Positive Control und Negative Control 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 Positive Control- und Negative Control-Ergebnisse laufen **nach 15 Tagen** ab.

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) auf dem Bildschirm „Controls“ (Kontrollen) angezeigt. In diesem Fall können die Ergebnisse nicht genehmigt werden und die Positive Control- bzw. Negative Control-Läufe müssen wiederholt werden.

HINWEIS!

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

9.3.2 Validierung der Probenergebnisse

Die **ELITE InGenius Software** interpretiert die PCR-Ergebnisse für die Zielgene (Kanäle **Cam**, **Cdif**, **Sal**, **Shi** und **Yen**) und die Internal Control (Kanal **IC**) mit den Parametern des Assay-Protokolls **GI Bacterial 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.

Tabelle 8

1) Positive Control	„Status“
GI-B Positive Control,	APPROVED (Genehmigt)
2) Negative Control	„Status“
GI-B 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.

Tabelle 9

Ergebnis des Probenlaufs	Interpretation
Cam:DNA Detected (Cam:DNA Erkannt).	In der Probe wurde die DNA von <i>Campylobacter</i> spp. nachgewiesen .
Cdif:DNA Detected (Cdif:DNA Erkannt).	In der Probe wurde die DNA von <i>Clostridioides difficile</i> nachgewiesen .
Cdif:DNA Detected Possible Ribotype 027 (Cdif:DNA Erkannt Möglicher Ribotyp 027).	In der Probe wurde die DNA von <i>Clostridioides difficile</i>, möglicherweise vom Ribotyp 027, nachgewiesen .
Sal:DNA Detected (Sal:DNA Erkannt).	In der Probe wurde die DNA von <i>Salmonella</i> spp. nachgewiesen .
Shi:DNA Detected (Shi:DNA Erkannt).	In der Probe wurde die DNA von <i>Shigella</i> spp. nachgewiesen .
Yen:DNA Detected Yenterocolitica (Yen:DNA Erkannt Yenterocolitica).	In der Probe wurde die DNA von <i>Yersinia enterocolitica</i> nachgewiesen .
Yen:DNA Detected species not determined (Yen:DNA Erkannt art nicht bestimmt)	DNA von einer Yersinia-Spezies (außer <i>Y. enterocolitica</i>) wurde in der Probe nachgewiesen . Das Vorhandensein von <i>Y. enterocolitica</i> in geringen Kopienzahlen kann nicht ausgeschlossen werden.
Cam:DNA Not detected or below the LoD (Cam:DNA Nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze).	In der Probe wurde die DNA von <i>Campylobacter</i> spp. nicht nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf <i>Campylobacter</i> spp. -DNA getestet oder die Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
Cdif:DNA Not detected or below the LoD (Cdif:DNA Nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze).	In der Probe wurde die DNA von <i>Clostridioides difficile</i> nicht nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf <i>Clostridioides difficile</i> -DNA getestet oder die Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
Sal:DNA Not detected or below the LoD (Sal:DNA Nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze).	In der Probe wurde die DNA von <i>Salmonella</i> spp. nicht nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf <i>Salmonella</i> spp.-DNA getestet oder die Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
Shi:DNA Not detected or below the LoD (Shi:DNA Nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze)	In der Probe wurde die DNA von <i>Shigella</i> spp. nicht nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf <i>Shigella</i> spp.-DNA getestet oder die Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
Yen:DNA Not detected or below the LoD (Yen:DNA Nicht erkannt oder unter Nachweisgrenze).	In der Probe wurde die DNA von <i>Yersinia enterocolitica</i> nicht nachgewiesen . Die Probe wurde negativ auf <i>Yersinia enterocolitica</i> -DNA getestet oder die Konzentration liegt unter der Nachweisgrenze des Assays.
Invalid-Retest Sample (Ungültig - Probe erneut testen).	Ungültiges Testergebnis durch fehlerhafte Internal Control (z. B. aufgrund von falscher Extraktion, Verschleppung von Inhibitoren). Der Test sollte wiederholt werden.

Als „Invalid-Retest Sample“ (Ungültig - Probe erneut testen) ausgegebene Proben. In diesem Fall wurde die Internal-Control-DNA möglicherweise aufgrund von Problemen beim Probenentnahme-, Extraktions- oder PCR-Schritt nicht effizient erkannt (z. B. falsche Probenahme, Vorbehandlung, 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 „[14 FEHLERBEHEBUNG page 38](#)“).

Als „Yen:DNA Detected species not determined“ (Yen: DNA Erkannt art nicht bestimmt) ausgegebene Proben sind für die Analyse geeignet und in der Probe wurde *Yersinia*-DNA eines unbeabsichtigten Organismus (nicht *Y. enterocolitica*) nachgewiesen. In diesem Fall kann nicht ausgeschlossen werden, dass *Y. enterocolitica* in geringer Konzentration vorhanden ist.

Als „Xxx:DNA Not Detected or below the LoD“ (Xxx:DNA Nicht erkannt oder unter 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 „[11 LEISTUNGSMERKMALE page 20](#)“).

HINWEIS!

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

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

9.3.3 Ausgabe des Probenergebnisberichts

- Die Probenergebnisse werden in der Datenbank gespeichert, und Berichte können als „Sample Report“ (Probenbericht) und „Track Report“ (Spurbericht) exportiert werden.
- Der „Sample Report“ zeigt die Ergebnisdetails sortiert nach ausgewählter Probe (SID, „Sample ID“) an.
- Der „Track Report“ zeigt die Ergebnisdetails nach ausgewählter Spur an.
- Der „Sample Report“ und der „Track Report“ können ausgedruckt und von autorisiertem Personal unterschrieben werden.

10 ELITe BeGenius VERFAHREN

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

Tabelle 10

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

10.1 SCHRITT 1 - Prüfung der Systembereitschaft

Vor Beginn des Laufs:

- **ELITe BeGenius** einschalten und den Modus „**CLOSED**“ (geschlossen) auswählen,
- auf der Startseite im Menü „Controls“ (Kontrollen) bestätigen, dass die PCR-Kontrollen (**Positive Control, GI-B Negative Control**) für die zu verwendende Charge des **PCR Mix** genehmigt und gültig (Status) sind. Wenn keine gültigen PCR-Kontrollen für die Charge **GI-B 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 „[8 PROBEN UND KONTROLLEN page 7](#)“).

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

10.2 SCHRITT 2 - Einrichtung des Laufs

Das **GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit** kann auf **ELITe BeGenius** für die folgenden Läufe verwendet werden:

- A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR]),
- B. Lauf mit eluierter Probe (PCR Only [nur PCR]),
- C. Positive Control und Negative Control-Lauff (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-B PCR Mix**-Röhrchen 30 Minuten auf 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:

Tabelle 11 Verfahren bei ELITe BeGenius

	A. Probenlauf (Extract + PCR [Extraktion + PCR])	B. Lauf mit eluiertter 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 vorbehandelte Probe in ein zuvor etikettiertes 2-ml-Sarstedt-Röhrchen überführt werden.	Falls erforderlich, die Elutionsröhren 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.	Nicht anwendbar	Die Negative Control vorbereiten: dazu mindestens 50 µl hochreines Wasser für die Molekularbiologie in ein „Elution Tube“ (Elutionsröhre.) 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 „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.	Die „Racks“ aus „Lane 1, 2 und 3 (L1, L2 und L3) der „Cooler Unit“ entnehmen und auf den Zubereitungstisch stellen.	Die „Racks“ aus „Lane 1, 2 und 3 (L1, L2 und L3) der „Cooler Unit“ 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).
6	Die Proben in das Probenrack („Sample Rack“) 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“ (Elutionsablage) laden .	Die Positive Control- und Negative Control-Röhrchen in das „Elution Rack“ (Elutionsablage) laden .
7	Das „ Sample Rack “ in die „Cooler Unit“ einsetzen , beginnend mit „Lane 5“ (L5). 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“ einsetzen , beginnend mit „Lane 3“ (L3). Falls erforderlich, für jede „Position“ die Proben-ID („Sample ID“), die Probenmatrix („Sample Matrix“), das Extraktionskit („Extraction Kit“) und das extrahierte Eluatvolumen („Extracted eluate vol.“) und die Internal Control eingeben.	Das „ Elution Rack “ in die „Cooler Unit“ einsetzen , beginnend mit „Lane 3“ (L3). Falls erforderlich, für jede „Position“ unter „Reagent name“ den Reagenznamen, unter „S/N“ die Seriennummer, unter „Lot No.“ die Chargennummer, unter „Exp. Date“ das Verfallsdatum und unter „T/R“ die Anzahl der Reaktionen eingeben.
8	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
9	Sicherstellen, dass das „Extraction Input Volume“ (Extraktion Eingangsvolumen) 200 µl und das extrahierte „Extracted Elute Volume“ (Extrahiertes Eluatvolumen) 100 µl beträgt.	Nicht anwendbar.	Nicht anwendbar.

Tabelle 11 Verfahren bei ELITe BeGenius (continued)

	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])
10	Das Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „ 8 PROBEN UND KONTROLLEN page 7“).	Das Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „ 8 PROBEN UND KONTROLLEN page 7“).	Das Assay-Protokoll in der Spalte „Assay“ (Prüfung) auswählen (siehe „ 8 PROBEN UND KONTROLLEN page 7“).
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“ (Elutionsröhre) in das „Elution Rack“ (Elutionsablage) laden (Elutionsrörchen können zur Verbesserung der Rückverfolgbarkeit mit einem Barcode etikettiert werden).	Nicht anwendbar	Nicht anwendbar
13	Das „Elution Rack“ in die „Cooler Unit“ einsetzen, beginnend mit „Lane 3“ (L3). Bei Verarbeitung von mehr als 12 Proben das Verfahren wiederholen und dabei „Lane 2“ (L2) verwenden.	Nicht anwendbar	Nicht anwendbar
14	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Nicht anwendbar	Nicht anwendbar
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“ in „Lane 2“ (L2), falls verfügbar, oder in „Lane 1“ (L1) einsetzen. Falls erforderlich, für jedes 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“ in „Lane 2“ (L2), falls verfügbar, oder in „Lane 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“ in „Lane 2“ (L2), falls verfügbar, oder in „Lane 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.
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“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.	Die Spitzen in den „Tip Racks“ (Spitzenständer) im „Inventory Area“ (Inventarbereich) prüfen und Spitzenständer ggf. ersetzen.
19	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.
20	Das „ PCR Rack “ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) laden.	Das „ PCR Rack “ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) laden.	Das „ PCR Rack “ mit „PCR Cassette“ (PCR-Kassette) in den Inventory Area (Inventarbereich) laden.
21	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.	Auf „Next“ (Weiter) klicken, um fortzufahren.

Tabelle 11 Verfahren bei ELITe BeGenius (continued)

	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])
22	Das „Extraction Rack“ (Extraktionsrack) mit den „ELITe InGenius SP 200“ Extraktionskartuschen und die für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden.	Nicht anwendbar	Nicht anwendbar
23	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.	Schließen Sie die Gerätetür.
24	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.	„Start“ (Starten) drücken.

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

HINWEIS!

Am Ende des Laufs muss die übrige extrahierte Probe im **Elution Tube** (Elutionsröhre) aus dem Gerät herausgenommen, verschlossen, gekennzeichnet und maximal einen Monat bei $-20 \pm 10^{\circ}\text{C}$ 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 aufbewahrt oder bis zu 7 Stunden (2 Läufe von jeweils 3 Stunden sowie die zum Starten eines dritten Laufs nötige Zeit) in der Cooler Unit 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 aufbewahrt werden. Ein Verschütten der **Positive Control** vermeiden. Die übrige **Negative Control** muss entsorgt werden.

HINWEIS!

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

HINWEIS!

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

10.3 SCHRITT 3 - Überprüfung und Genehmigung der Ergebnisse

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

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

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

HINWEIS!

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

11 LEISTUNGSMERKMALE

11.1 Nachweisgrenze (LoD)

Die Nachweisgrenze (LoD) des Assays wurde für die Geräte ELITe BeGenius und ELITe InGenius durch Testen von nativen Stuhlproben, die mit Referenzmaterial von *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* und *Yersinia enterocolitica* (DSMZ und ZeptoMetrix) 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.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 12 Nachweisgrenze

Pathogen	LoD	Grenzen des 95%-Konfidenzintervalls	
		Untere Grenze	Obere Grenze
<i>Campylobacter jejuni</i>	72 KbE/ml	56 KbE/ml	115 KbE/ml
<i>Clostridioides difficile</i>	172 KbE/ml	129 KbE/ml	273 KbE/ml
<i>Salmonella enterica</i>	372 KbE/ml	268 KbE/ml	615 KbE/ml
<i>Shigella flexneri</i>	337 KbE/ml	239 KbE/ml	573 KbE/ml
<i>Yersinia enterocolitica</i>	363 KbE/ml	255 KbE/ml	637 KbE/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 *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* und *Yersinia enterocolitica* in der behaupteten Konzentration dotiert waren, getestet wurden.

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

11.2 Inklusivität: Nachweiseffizienz bei verschiedenen Stämmen oder Isolaten

Die Inklusivität des Assays als die Nachweiseffizienz bei verschiedenen Stämmen oder Isolaten von *Campylobacter spp.*, *Clostridium difficile*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* und *Yersinia enterocolitica* wurde mittels *In-silico*-Analyse bewertet. Die Analyse zeigte eine Sequenzerhaltung und ein Nichtvorhandensein signifikanter Mutationen. Daher wird ein effizienter Nachweis für die verschiedenen Stämme oder Isolate erwartet.

Die Inklusivität wurde außerdem durch die Analyse von 15 Referenzmaterialien von Bakterienkulturen verschiedener Anbieter (DSMZ und ZeptoMetrix) verifiziert.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 13 Inklusivitäts-Testergebnisse

Probe	Pos. / Wiederh.	Ergebnis
<i>Campylobacter jejuni</i>	6/6	„Cam:DNA Detected“ (Cam: DNA nachgewiesen)
<i>Campylobacter coli</i>	6/6	„Cam:DNA Detected“ (Cam: DNA nachgewiesen)
<i>Campylobacter lari</i>	6/6	„Cam:DNA Detected“ (Cam: DNA nachgewiesen)
<i>C. difficile</i> 002	6/6	„Cdiff:DNA Detected“ (Cdiff: DNA nachgewiesen)
<i>C. difficile</i> 078	6/6	„Cdiff:DNA Detected“ (Cdiff: DNA nachgewiesen)
<i>C. difficile</i> 017	6/6	„Cdiff:DNA Detected“ (Cdiff: DNA nachgewiesen)
<i>C. difficile</i> 027-1	6/6	„Cdif:DNA Detected Possible Ribotype 027“ (Cdiff: DNA Erkannt, möglicherweise vom Ribotyp 027).
<i>C. difficile</i> 027-2	6/6	„Cdif:DNA Detected Possible Ribotype 027“ (Cdiff: DNA Erkannt, möglicherweise vom Ribotyp 027).
<i>Salmonella enterica</i>	6/6	„Sal:DNA Detected“ (Sal: DNA nachgewiesen)
<i>Salmonella bongori</i>	6/6	„Sal:DNA Detected“ (Sal: DNA nachgewiesen)
<i>Shigella flexneri</i>	6/6	„Shi:DNA Detected“ (Shi: DNA nachgewiesen)
<i>Shigella boydii</i>	6/6	„Shi:DNA Detected“ (Shi: DNA nachgewiesen)
<i>Shigella sonnei</i>	6/6	„Shi:DNA Detected“ (Shi: DNA nachgewiesen)
<i>Yersinia enterocolitica</i> subsp. <i>enterocolitica</i>	6/6	Yen:DNA Detected Yenterocolitica (Yen:Y. enterocolitica-DNA erkannt)
<i>Yersinia enterocolitica</i> subsp. <i>palearctica</i>	6/6	Yen:DNA Detected Yenterocolitic (Yen:Y. enterocolitica-DNA erkannt)

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

11.3 Interferenz unter den Zielsequenzen

Die potenzielle Interferenz unter den Zielsequenzen des Assays wurde durch einen Test der Co-Amplifikation von *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* und *Yersinia enterocolitica* (DSMZ und ZeptoMetrix) bewertet.

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

Tabelle 14 Testergebnisse zur Interferenz unter den Zielsequenzen

Getestete Zielsequenz (niedrige Kopienzahl)	Interferierende Zielsequenz bei 2.500.000 KbE/ml				
	Campylobacter	C. difficile	Salmonella	Shigella	Yersinia
Campylobacter	-	5.000 KbE/ml	5.000 KbE/ml	5.000 KbE/ml	2.500 KbE/ml
C. difficile	2.500 KbE/ml	-	2.500 KbE/ml	5.000 KbE/ml	2.500 KbE/ml
Salmonella	2.500 KbE/ml	5.000 KbE/ml	-	5.000 KbE/ml	2.500 KbE/ml
Shigella	2.500 KbE/ml	2.500 KbE/ml	2.500 KbE/ml	-	2.500 KbE/ml
Yersinia	2.500 KbE/ml	2.500 KbE/ml	2.500 KbE/ml	2.500 KbE/ml	-

Das GI Bacterial 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.

11.4 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 den meisten unbeabsichtigten Organismen (Viren, Bakterien, Protozoen und Pilze), so dass keine Kreuzreaktivität zu erwarten ist, mit Ausnahme von enteroinvasiven *Escherichia coli* (EIEC) und bestimmten *Yersinia*-Spezies. Die amplifizierte Region des ipaH-Gens, die Zielregion für die *Shigella*-Spezies, ist dieselbe wie bei den enteroinvasiven *Escherichia coli* (EIEC), die genetisch mit *Shigella* verwandt sind und von diesem Produkt als positiv für *Shigella* nachgewiesen werden. Darüber hinaus wurden einige Homologien im foxA-Gen, das für den *Yersinia enterocolitica*-Nachweis verwendet wird, mit anderen *Yersinia*-Spezies beobachtet, darunter *Yersinia frederiksenii*, *Yersinia intermedia*, *Yersinia mollaretii* und *Yersinia kristensenii*.

Das Fehlen einer Kreuzreaktivität mit potenziell interferierenden Organismen wurde auch durch die Analyse eines Panels unbeabsichtigter Organismen (ATCC, ZeptoMetrix, DSMZ und Plasmid-DNAs) überprüft.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 15 Testergebnisse zur Kreuzreaktivität mit Organismen

Organismus	Positiv / Replikate						Ergebnis
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
<i>Aeromonas hydrophila</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
<i>Bacteroides fragilis</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
<i>Vibrio cholerae</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
<i>Helicobacter pylori</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
<i>Escherichia coli</i> 92.0147	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
<i>Serratia marcescens</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität

Tabelle 15 Testergebnisse zur Kreuzreakтивität mit Organismen (continued)

Organismus	Positiv / Replikate						Ergebnis
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
<i>Candida albicans</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
<i>Citrobacter freundii</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
<i>Clostridium nexile</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
<i>Proteus mirabilis</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
<i>Enterobacter cloacae</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
<i>Giardia lamblia</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
<i>Cryptosporidium parvum</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
<i>Entamoeba histolytica</i>	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
Adenovirus	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Astrovirus	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
Norovirus G1	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
<i>Clostridium disporicum</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
<i>Yersinia frederiksenii</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität*
<i>Yersinia intermedia</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität*
<i>Yersinia mollaretii</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität*
<i>Yersinia kristensenii</i> (Stamm CDC 1459-81)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität
<i>Yersinia kristensenii</i> (Stamm 2012N-4030)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität*

Alle getesteten potenziell interferierenden Organismen wiesen für die Zielamplifikation mit dem GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit keine Kreuzreaktivität auf.

Einige *Yersinia*-Spezies (*) waren für das Yen-Zielgen positiv. Aufgrund der unterschiedlichen Schmelztemperaturen (Tm) zwischen *Y. enterocolitica* und anderen *Yersinia*-Spezies gibt das Assay-Protokoll das korrekte Ergebnis „Yen: DNA Detected species not determined“ (Yen: DNA nachgewiesen Spezies nicht bestimmt) aus.

11.5 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 *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* und *Yersinia enterocolitica* DSMZ und ZeptoMetrix dotiert waren.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 16 Testergebnisse zur Inhibition mit Organismen

Organismus	Positiv / Replikate						Ergebnis
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
<i>Aeromonas hydrophila</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
<i>Bacteroides fragilis</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
<i>Vibrio cholerae</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
<i>Helicobacter pylori</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
<i>Escherichia coli</i> 92.0147	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
<i>Serratia marcescens</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
<i>Acinetobacter baumannii</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
<i>Candida albicans</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
<i>Citrobacter freundii</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
<i>Clostridium nexile</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
<i>Proteus mirabilis</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
<i>Enterobacter cloacae</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
<i>Giardia lamblia</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
<i>Cryptosporidium parvum</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
<i>Entamoeba histolytica</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Enterovirus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Adenovirus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Astrovirus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Norovirus G1	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Rotavirus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Sapovirus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
<i>Clostridium disporicum</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
<i>Yersinia frederiksenii</i>	5/5	5/5	0/5	5/5	5/5	5/5	Inhibition des Yen-Zielgens
<i>Yersinia intermedia</i>	5/5	5/5	0/5	5/5	5/5	5/5	Inhibition des Yen-Zielgens
<i>Yersinia mollaretii</i>	5/5	5/5	0/5	5/5	5/5	5/5	Inhibition des Yen-Zielgens

Tabelle 16 Testergebnisse zur Inhibition mit Organismen (continued)

Organismus	Positiv / Replikate						Ergebnis
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
Yersinia kristensenii (Stamm CDC 1459-81)	5/5	5/5	0/5	5/5	5/5	5/5	Inhibition des Yen-Zielgens
Yersinia kristensenii (Stamm 2012N-4030)	5/5	5/5	0/5	5/5	5/5	5/5	Inhibition des Yen-Zielgens

Die meisten der getesteten potenziell interferierenden Organismen wiesen für die Zielamplifikation mit dem GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit keine Inhibition auf. In Co-Amplifikationstests mit *Y. enterocolitica* bei geringen Konzentrationen und hohen Konzentrationen von *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia*, *Y. mollaertii* und *Y. kristensenii* wurde eine Inhibition beobachtet.

In diesem Fall gibt das Assay-Protokoll das Ergebnis als „Yen:DNA detected species not determined“ (Yen:DNA nachgewiesen Spezies nicht bestimmt) aus, selbst wenn *Y. enterocolitica* in geringen Konzentrationen vorhanden ist.

11.6 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.

Tabelle 17 Testergebnisse zur Kreuzreaktivität mit Substanzen

Substanz	Positiv / Replikate						Ergebnis
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
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
Magnesiumtrisilikat	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Keine Kreuzreaktivität

Tabelle 17 Testergebnisse zur Kreuzreakтивität mit Substanzen (continued)

Substanz	Positiv / Replikate						Ergebnis
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
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 Bacterial PLUS ELITe MGB Kit keine der getesteten Substanzen mit den Zielsequenzen kreuzreagiert.

11.7 Potenziell interferierende Substanzen: Inhibition

Die potenzielle Inhibition interferierender (endogener und exogener) Substanzen, 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 *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* und *Yersinia enterocolitica* dotiert waren (DSMZ und ZeptoMetrix).

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 18 Testergebnisse zur Inhibition mit Substanzen

Substanz	Positiv / Replikate						Ergebnis
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
Vaseline-Öl	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Nonoxynol-9	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Bismutsubsalicylat	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Loperamidhydrochlorid	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Bisacodyl	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Azithromycin	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Vancomycin	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Metronidazol	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Ampicillin	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Cefpodoxim	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Ciprofloxacin	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Hydrocortison	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Calciumcarbonat	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Alginsäure	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Aluminiumhydroxid	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Magnesiumtrisilikat	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Vollblut	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition

Tabelle 18 Testergebnisse zur Inhibition mit Substanzen (continued)

Substanz	Positiv / Replikate						Ergebnis
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
Mucin	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Palmitinsäure	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition
Stearinsäure	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Keine Inhibition

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

11.8 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 *Campylobacter jejuni* (DSMZ) in einer Konzentration von 1.000.000 KbE/ml dotiert waren, in 5 Läufen getestet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 19 Testergebnisse zur Kreuzkontamination

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

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

11.9 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 *Campylobacter jejuni* (DSMZ) in einer Konzentration von 3 x LoD (216 KbE/ml) dotiert waren, bewertet.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 20 Testergebnisse zur Fehlerrate des Gesamtsystems

Proben	Anzahl	Positiv	Negativ	Fehlerrate des Gesamtsystems
Nativer Stuhl, dotiert auf 3 x LoD	50	49	1	2 %
Stuhl in FecalSwab, dotiert auf 3 x LoD	30	30	0	0 %

In diesem Test mit dem GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit wurden 98 % der nativen Stuhlproben und 100 % der in FecalSwab gesammelten Stuhlproben als positiv bestätigt. In diesem Test betrug die Fehlerrate des Gesamtsystems 2 % bei nativen Stuhlproben und 0 % bei Stuhlproben, die mit FecalSwab gesammelt wurden.

11.10 Wiederholpräzision

Zur Bewertung der Wiederholpräzision des Assays mit ELITE BeGenius und ELITE InGenius wurde ein Panel nativer Stuhlproben, die negativ oder mit *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* und *Yersinia enterocolitica* (DSMZ und ZeptoMetrix) dotiert waren, analysiert.

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

Tabelle 21 Beispiel für Testergebnisse der Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs (BeGenius, an einem Tag)

Probe	Zielsequenz	Anzahl	Mittelwert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	Cdif (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD CY		6	-	-	-	100 %
3xLoD SS		6	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		6	35,30	0,55	1,55	100 %
	Cdif (Tm)	6	58,8	0,19	0,32	100 %
Neg.	Cam (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD CY		6	32,01	0,39	1,20	100 %
3xLoD SS		6	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		6	-	-	-	100 %
Neg.	Yen (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD CY		6	35,28	0,46	1,30	100 %
3xLoD SS		6	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		6	-	-	-	100 %
Neg.	Sal (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD CY		6	-	-	-	100 %
3xLoD SS		6	35,95	1,19	3,31	100 %
3xLoD Cdif		6	-	-	-	100 %
Neg.	Shi (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD CY		6	-	-	-	100 %
3xLoD SS		6	35,41	0,24	0,67	100 %
3xLoD Cdif		6	-	-	-	100 %

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

Tabelle 22 Beispiel für Testergebnisse der Wiederholpräzision innerhalb eines Laufs (InGenius, an einem Tag)

Probe	Zielsequenz	Anzahl	Mittelwert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	Cdif (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD CY		6	-	-	-	100 %
3xLoD SS		6	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		6	34,81	0,25	0,71	100 %
	Cdif (Tm)	6	60,0	0,16	0,27	100 %
Neg.	Cam (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD CY		6	31,34	0,11	0,34	100 %
3xLoD SS		6	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		6	-	-	-	100 %
Neg.	Yen (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD CY		6	35,71	0,30	0,85	100 %
3xLoD SS		6	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		6	-	-	-	100 %
Neg.	Sal (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD CY		6	-	-	-	100 %
3xLoD SS		6	35,51	0,59	1,65	100 %
3xLoD Cdif		6	-	-	-	100 %
Neg.	Shi (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD CY		6	-	-	-	100 %
3xLoD SS		6	33,49	0,96	2,87	100 %
3xLoD Cdif		6	-	-	-	100 %

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

Tabelle 23 Beispiel für Testergebnisse der laufübergreifenden Wiederholpräzision (BeGenius, an zwei Tagen)

Probe	Zielsequenz	Anzahl	Mittelwert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	Cdif (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD CY		12	-	-	-	100 %
3xLoD SS		12	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		12	35,22	0,21	0,60	100 %
	Cdif (Tm)	12	59,3	0,26	0,45	100 %
Neg.	Cam (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD CY		12	32,59	0,38	1,15	100 %
3xLoD SS		12	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		12	-	-	-	100 %
Neg.	Yen (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD CY		12	34,88	0,40	1,15	100 %
3xLoD SS		12	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		12	-	-	-	100 %
Neg.	Sal (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD CY		12	-	-	-	100 %
3xLoD SS		12	35,69	0,93	2,61	100 %
3xLoD Cdif		12	-	-	-	100 %
Neg.	Shi (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD CY		12	-	-	-	100 %
3xLoD SS		12	34,47	1,01	2,94	100 %
3xLoD Cdif		12	-	-	-	100 %

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

Tabelle 24 Beispiel für Testergebnisse der laufübergreifenden Wiederholpräzision (InGenius, an zwei Tagen)

Probe	Zielsequenz	Anzahl	Mittelwert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	Cdif (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD CY		12	-	-	-	100 %
3xLoD SS		12	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		12	34,81	0,22	0,63	100 %
	Cdif (Tm)	12	60,0	0,20	0,33	100 %
Neg.	Cam (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD CY		12	31,35	0,13	0,42	100 %
3xLoD SS		12	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		12	-	-	-	100 %
Neg.	Yen (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD CY		12	35,79	0,31	0,87	100 %
3xLoD SS		12	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		12	-	-	-	100 %
Neg.	Sal (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD CY		12	-	-	-	100 %
3xLoD SS		12	35,52	0,63	1,78	100 %
3xLoD Cdif		12	-	-	-	100 %
Neg.	Shi (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD CY		12	-	-	-	100 %
3xLoD SS		12	33,61	0,79	2,35	100 %
3xLoD Cdif		12	-	-	-	100 %

Beim Test der Wiederholpräzision erkannte der GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit alle Proben wie erwartet und wies eine maximale Variabilität der Ct-Zielwerte als VK% gleich 3,31 % aus.

11.11 Vergleichspräzision

Zur Bewertung der Vergleichspräzision des Assays mit ELITE BeGenius und ELITE InGenius wurde ein Panel nativer Stuhlproben, die negativ oder mit *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* und *Yersinia enterocolitica* (DSMZ und ZeptoMetrix) dotiert waren, analysiert.

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

Tabelle 25 Testergebnisse der chargeübergreifenden Vergleichspräzision (BeGenius, an sechs Tagen und drei Chargen)

Probe	Zielsequenz	Anzahl	Mittelwert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	Cdif (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		36	35,08	0,35	1,01	100 %
		Cdif (Tm)	36	59,2	0,33	0,56
Neg.	Cam (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	31,92	0,60	1,87	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Neg.	Yen (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	34,94	0,47	1,35	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Neg.	Sal (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	35,71	0,85	2,37	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Neg.	Shi (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	34,61	0,82	2,38	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %

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

Tabelle 26 Testergebnisse der chargeübergreifenden Vergleichspräzision (InGenius, an sechs Tagen und drei Chargen)

Probe	Zielsequenz	Anzahl	Mittelwert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	Cdif (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		36	34,83	0,32	0,92	100 %
		Cdif (Tm)	36	59,8	0,27	0,45
Neg.	Cam (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	31,75	0,66	2,07	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Neg.	Yen (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	35,73	0,39	1,10	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Neg.	Sal (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	35,46	0,54	1,51	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Neg.	Shi (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	33,99	0,80	2,36	100 %
3xLoD Cdif		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.

Tabelle 27 Testergebnisse der geräteübergreifenden Vergleichspräzision (BeGenius, an sechs Tagen, mit drei Chargen und drei Geräten)

Probe	Zielsequenz	Anzahl	Mittelwert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	Cdif (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		36	34,97	0,33	0,95	100 %
		Cdif (Tm)	36	59,1	0,28	0,48
Neg.	Cam (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	32,29	0,44	1,36	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Neg.	Yen (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	35,91	0,59	1,64	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Neg.	Sal (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	36,05	0,81	2,24	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Neg.	Shi (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	34,75	1,29	3,71	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %

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

Tabelle 28 Testergebnisse der geräteübergreifenden Vergleichspräzision (InGenius, an sechs Tagen, mit drei Chargen und drei Geräten)

Probe	Zielsequenz	Anzahl	Mittelwert	SD	VK %	% Übereinstimmung
Neg.	Cdif (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		36	34,68	0,37	1,06	100 %
		Cdif (Tm)	36	59,9	0,26	0,44
Neg.	Cam (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	31,82	0,38	1,18	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Neg.	Yen (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	35,67	0,97	2,71	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Neg.	Sal (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	36,19	1,49	4,11	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Neg.	Shi (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	34,46	0,76	2,21	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %

Beim Test der Vergleichspräzision erkannte der GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit alle Proben wie erwartet und wies eine maximale Variabilität der Ct-Zielwerte als VK% gleich 4,11 % aus.

11.12 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 oder vermutlich negativ bestätigt.

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

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 29 Diagnostische Spezifität

Negativ auf die Zielsequenz getestete Stuhlproben	Anzahl	Positiv	Negativ	Diagnostische Spezifität in %
<i>Campylobacter</i> spp.	267	1	266	99,6 %
<i>Clostridium difficile</i>	293	2	291	99,3 %
<i>Salmonella</i> spp.	314	2	312	99,4 %
<i>Shigella</i> spp.	338	0	338	100 %
<i>Yersinia enterocolitica</i>	332	2	330	99,4 %

Alle Stuhlproben waren für die Analyse gültig. Positive Proben haben einen sehr niedrigen Titer, der nahe am LoD-Wert des Systems liegt, oder Proben, bei denen ein erneutes Testen nicht möglich war.

Die diagnostische Spezifität des GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit in Verbindung mit Stuhl in diesem Test betrug 99,6 % bei Cam, 99,3 % bei Cdif, 99,4 % bei Sal, 100 % bei Shi und 99,7 % bei Yen.

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

11.13 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 Geräten durchgeführten Tests ebenfalls als gleichwertig anzusehen. Daher gilt die mit ELITE InGenius erhaltene diagnostische Sensitivität des Assays auch für ELITE BeGenius.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 30 Diagnostische Sensitivität

Positive/dotierte Stuhlproben	Anzahl	Positiv	Negativ	Diagnostische Sensitivität in %
Positiv auf <i>Campylobacter</i> spp.	100	100	0	100 %
Positiv auf <i>Clostridium difficile</i>	51	49	2	96,3 %
Dotiert für <i>Clostridium difficile</i> 027	3	3	0	
Positiv auf <i>Salmonella</i> spp.	56	56	0	100 %
Positiv auf <i>Shigella</i> spp.	31	31	0	100 %
Dotiert für <i>Shigella</i>	22	22	0	
Positiv auf <i>Yersinia enterocolitica</i>	39	39	0	100 %
Dotiert für <i>Yersinia enterocolitica</i>	12	12	0	

Die diagnostische Sensitivität des GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit in Verbindung mit Stuhl betrug 100 % bei Cam, 96,3 % bei Cdif, 100 % bei Sal, 100 % bei Shi und 100 % bei Yen.

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 Bacterial PLUS ELITE MGB Kit“, FTP 502ING, aufgeführt.

12 REFERENZEN

- K. Sen et al. (2018) Appl. Environ. Microbiol. 84
- E. J. Kuijper et al. (2006) Clin Microbiol Infect: 12 (Suppl. 6), 2–18
- U. Gross et al (2018) BMC Genomics 19(1):1-1
- T. Kellner et al. (2019) J. Clin. Microbiol. 57
- V. D. Thiem et al. (2004) J. Clin. Microbiol. 42
- J. Z. Wang et al. (2014) J. Clin. Microbiol. 52
- E. A. Lukhtanov et al. (2007) Nucleic Acids Res. 35: e30

13 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.

Das Produkt ist nicht zur Verwendung als Hilfsmittel für die Diagnose von Typhus und die Identifizierung von *Salmonella enterica* serovar Typhi zur Beurteilung des Trägerstatus von Patienten bestimmt.

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

Aufgrund ihrer hohen analytischen Sensitivität ist die bei diesem Produkt verwendete Real-Time-PCR-Methode empfindlich für Kontaminationen durch positive klinische Proben, Positive Controls 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 Instrumenten 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 der Nachweigrenze des Produkts liegt (siehe „[11 LEISTUNGSMERKMALE page 20](#)“). In diesem Fall kann das Ergebnis falsch-negativ sein.

Bei Koinfektionen kann die Sensitivität für eine Zielsequenz durch die Amplifikation einer zweiten Zielsequenz beeinträchtigt werden (siehe [11 LEISTUNGSMERKMALE page 20](#)).

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.

Die amplifizierte Region des ipaH-Gens ist spezifisch für die *Shigella*-Spezies mit Ausnahme der enteroinvasiven *Escherichia coli* (EIEC), die genetisch mit *Shigella* verwandt sind und von diesem Produkt als positiv für *Shigella* nachgewiesen werden.

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

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

14 FEHLERBEHEBUNG

Tabelle 31

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

Tabelle 32

Ungültige Negative Control-Reaktion	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Einstellfehler des Geräts.	Position von PCR Mix und Negative Control kontrollieren. Volumina von PCR Mix und 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 der PCR Mix.	Ein neues Aliquot des PCR Mix verwenden.

Tabelle 32 (continued)

Ungültige Negative Control-Reaktion	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Kontamination des Extraktionsbereichs, der Racks, des Bestandsmanager oder der Cooler Unit.	Oberflächen mit wässrigen Reinigungsmitteln reinigen, Laborkittel waschen, verwendete Röhrchen und Spitzen austauschen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Tabelle 33

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 Läufe verwenden (jeweils 3 Stunden im Inventory Area (Inventarbereich) oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix nicht für mehr als 3 aufeinander folgende Läufe verwenden (7 Stunden im gekühlten Reagenzienblock oder in der Cooler Unit). Den PCR Mix nicht länger als 30 Minuten bei Raumtemperatur aufbewahren. Ein neues Aliquot PCR Mix vorbereiten.
Abbau der Vorlage für die Internal Control.	Ein neues Aliquot der Internal Control verwenden.
Inhibition durch Störsubstanzen in der Probe.	Amplifikation der eluierten Probe mit einer 1:2-Verdünnung in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „PCR Only“-Lauf (nur PCR) wiederholen. Extraktion mit einer 1:2-Verdünnung der vorbehandelten Probe in hochreinem Wasser für die Molekularbiologie in einem „Extract + PCR“-Lauf (Extraktion + PCR) wiederholen.
Gerätefehler.	Technischen Kundendienst der ELITechGroup kontaktieren.

Tabelle 34

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.

Tabelle 35

Fehler bei der Berechnung des Ct-Werts	
Mögliche Ursachen	Abhilfemaßnahmen
Zu hohe Konzentration von Ziel-DNA in der Probe oder Probe mit anomalem Fluoreszenzsignal.	<p>Wenn im PCR-Diagramm eine signifikante Amplifikation zu beobachten ist, entsprechende Spur für die Probe auswählen und Ergebnis manuell als positiv bestätigen.</p> <p>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.</p> <p>Wenn ein Ct-Wert benötigt wird:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 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.

Tabelle 36

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

15 SYMBOLE



Katalognummer.



Temperaturobergrenze.



Chargenbezeichnung.



Verfallsdatum (letzter Tag des Monats).



In-vitro-Diagnostikum.



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



Unique Device Identification, eindeutige Gerätekennung



Ausreichend für „N“ Tests



Gebrauchsanweisung beachten.



Inhalt.



Vor Sonneneinstrahlung schützen.



Hersteller.

16 ANWENDERHINWEISE

Jeder schwerwiegende Zwischenfall, der im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetreten ist, muss dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedsstaates, in dem der Anwender und/oder der Patient ansässig ist, gemeldet werden. Um den Hersteller dieses Geräts zu informieren, verwenden Sie sie bitte die folgende E-Mail-Adresse: egspa.vigilance@elitechgroup.com..

17 HINWEIS FÜR DEN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ

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

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

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 eingetragene Marke von COPAN Italia S.p.A.

Appendix A GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit zur Verwendung mit Plattformen der Genius-Reihe



VORSICHT

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

Verwendungszweck

Das Produkt **GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit** <keyword keyref="product" translate="no">UroGen ELITe MGB Kit</keyword> ist ein In-vitro-Diagnostikum, das für die Anwendung durch medizinisches Fachpersonal in qualitativen Multiplex-Nukleinsäure-Real-Time-PCR-Assays zum Nachweis und zur Identifizierung der genomischen DNA von *Campylobacter* spp. (**Cam**), *Clostridium difficile* (auch bekannt als *Clostridioides difficile*, **Cdif**), einschließlich der Unterscheidung des Ribotyps 027, *Salmonella* spp. (**Sal**), *Shigella* spp. (**Shi**), *Yersinia enterocolitica* (**Yen**), die aus klinischen Proben extrahiert wurde, bestimmt ist.

Dieser Assay ist in Verbindung mit den **ELITe InGenius® ELITe BeGenius®** Geräten, 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 bakteriellen Magen-Darm-Infektionen bei Patienten mit Verdacht auf eine Infektion mit *Campylobacter* spp., *Clostridium difficile*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. und *Yersinia enterocolitica* bestimmt.

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

Das Produkt ist nicht zur Verwendung als Hilfsmittel für die Diagnose von Typhus und nicht zur Verwendung als Hilfsmittel für die Identifizierung von *Salmonella enterica* serovar *Typhi* (auch bekannt als *Salmonella typhi*) zur Beurteilung des Trägerstatus von Patienten bestimmt.

Amplifizierte Sequenz

Sequenz	Gen	Fluorophor	Kanal
Zielsequenz 1	16s rRNA	AP639	Cam
Zielsequenz 2	tcdB	FAM	Cdif
Zielsequenz 3	invA	AP690	Sal
Zielsequenz 4	ipaH	AP593	Shi
Zielsequenz 5	foxA	AP559	Yen
Internal Control	IC2	AP525	IC

Validierte Matrix

- Nativer Stuhl, der ohne Konservierungsmittel gesammelt wurde
- In FecalSwab entnommener Stuhl (modifiziertes Cary-Blair-Medium)

Kit-Inhalt und zugehörige Produkte

GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit (RTS502ING)	GI Bacterial PLUS – ELITe Positive Control (CTR502ING)
 X 8	 X 3
GI-B PCR Mix 8 Röhrchen mit 280 µl 12 Reaktionen pro Röhrchen 96 Reaktionen pro Kit 7 Einfrier- und Auftau-Zyklen pro Röhrchen	GI-B Positive Control, 3 Röhrchen mit 160 µl 4 Reaktionen pro Röhrchen 12 Reaktionen pro Kit 4 Gefrier- und Auftauzyklen
Maximale Haltbarkeitsdauer:	24 Monate
Umgebungstemperatur bei Lagerung	≤ -20°C
Maximale Haltbarkeitsdauer:	24 Monate
Umgebungstemperatur bei Lagerung	≤ -20°C

Weitere benötigte, nicht im Kit enthaltene Produkte

<ul style="list-style-type: none"> ELITe InGenius-Gerät: INT030. ELITe BeGenius-Gerät: INT040. ELITe InGenius SP 200: INT032SP200. 	<ul style="list-style-type: none"> CPE – Internal Control: CTRCPE InhibitEX Buffer (QIAGEN GmbH, Deutschland, Art.-Nr. 19593) oder ein entsprechendes Produkt. Minitip Flocked Swab® (COPAN Italia S.p.A., Italien, Art.-Nr. 501CS01) oder eine entsprechende Vorrichtung. FecalSwab™ (COPAN Italia S. p. A., Italien, Art.-Nr. 470CE) oder eine entsprechende Vorrichtung. ELITe InGenius und ELITe BeGenius Verbrauchsmaterialien (siehe ELITe InGenius und ELITe BeGenius Gebrauchsanweisung)
---	---

ELITe InGenius- und ELITe BeGenius-Protokoll

<ul style="list-style-type: none"> Probenvolumen CPE-Volumen Gesamtes Elutionsvolumen 	200 µl 10 µl 100 µl	<ul style="list-style-type: none"> PCR-Eingangsvolumen für die Elution Volumen PCR-Mix Häufigkeit der Kontrollen 	20 µl 20 µl 15 Tage
--	---------------------------	---	---------------------------

Leistungsdaten für ELITe InGenius und ELITe BeGenius

Matrix	Zielsequenz	Nachweisgrenze	Sensitivität	Spezifität
Nativer Stuhl / in FecalSwab entnommener Stuhl	Cam	72 KbE/ml	100 % (100/100)	99,6 % (266/267)
	Cdif	172 KbE/ml	96,3 % (52/54)	99,3 % (291/293)
	Sal	372 KbE/ml	100 % (56/56)	99,4 % (312/314)
	Shi	337 KbE/ml	100 % (53/53)	100 % (338/338)
	Yen	363 KbE/ml	100 % (51/51)	99,4 % (330/332)

Probenvorbereitung

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

Probentyp	Transport-/Lagerbedingungen			
	+16 / +26 °C (Raumtemperatur)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Nativer Stuhl, der ohne Konservierungsmittel gesammelt wurde	≤ 24 Stunden	≤ 48 Stunden	≤ 1 Monat	≤ 2 Monate
In FecalSwab entnommener Stuhl (modifiziertes Cary-Blair-Medium)	≤ 48 Stunden	≤ 5 Tage	≤ 1 Monat	≤ 2 Monate

ELITe InGenius-Verfahren

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

Vor der Analyse

1. ELITe InGenius einschalten. Mit dem Benutzernamen und Passwort anmelden. Den Modus „CLOSED“ (Geschlossen) wählen.	2. Kontrollen überprüfen: Positive Control sowie Negative Control im Menü „Controls“ (Kontrollen). Hinweis: Beide müssen ausgeführt und genehmigt worden sein und dürfen nicht abgelaufen sein.	3. Den PCR Mix und die CTRCPE -Röhrchen auftauen. Vorsichtig vortixen. 5 Sek. herunterzentrifugieren.
---	--	---

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

1. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen	2. Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingang: „200 µL“, Elutionsvolumen: „100 µL“	3. Die Proben-Barcodes mit dem tragbaren Barcodeleser scannen oder die Proben-ID eingeben
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: GI Bacterial PLUS ELITe_ST_200_100	5. Die Methode „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) und die „Sample Position“ (Probenposition) auswählen: Extraction Tube (Extraktionsröhrenchen)	6. Den PCR Mix und die Internal-Control in den Inventory Block (Bestandsmanager) laden
7. Folgendes laden: PCR Cassette, Extraktionskartusche, Elution tube (Elutionsröhrenchen), Spitzenkassette, Extraction Tube (Extraktionsröhrenchen)-Rack	8. Tür schließen. Analyselauf starten	9. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern

HINWEIS!

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

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

1. Auf der Startseite „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen	2. Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingang: „200 µL“, Elutionsvolumen: „100 µL“	3. Die Proben-Barcodes mit dem tragbaren Barcodeleser scannen oder die Proben-ID eingeben
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: GI Bacterial PLUS ELITe_ST_200_100 oder GI Bacterial PLUS ELITe_PC oder GI Bacterial PLUS ELITe_NC	5. Die Methode „PCR Only“ (Nur PCR) und die „Sample Position“ (Probenposition) „Elution Tube“ (Elutionsröhrenchen) auswählen	6. Den PCR Mix in den „Inventory Block“ (Bestandsmanager) laden
7. Folgendes laden: PCR Cassette-Rack und Elution tube (Elutionsröhrenchen)-Rack mit der extrahierten Nukleinsäure	8. Tür schließen. Analyselauf starten	9. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern

ELITe BeGenius-Verfahren

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

Vor der Analyse

1. ELITe BeGenius einschalten. Mit dem Benutzernamen und Passwort anmelden. Den Modus „CLOSED“ (Geschlossen) wählen.	2. Kontrollen überprüfen: UroGen Positive Control sowie UroGen Negative Control im Menü „Controls“ (Kontrollen). Hinweis: Beide müssen ausgeführt und genehmigt worden sein und dürfen nicht abgelaufen sein.	3. UroGen PCR Mix und CTR CPE- Röhrchen (falls benötigt) auftauen. Vorsichtig vortexten. 5 Sek. herunterzentrifugieren.
---	---	---

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

1. Auf dem Touchscreen „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen und anschließend auf den Laufmodus „Extract + PCR“ (Extraktion + PCR) klicken.	2. Das Sample Rack (Probenständer) mit den barcodierten Proben in die Cooler Unit einsetzen. Der Barcode-Scan ist bereits aktiv	3. Die Extraktionsvolumina überprüfen: Eingang: „200 µL“, Elutionsvolumen: „100 µL“
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: GI Bacterial PLUS ELITe_Be_ST_200_100 Hinweis: Bei Durchführung einer zweiten Extraktion die Schritte 2 bis 4 wiederholen	5. Die Etiketten ausdrucken, um die leeren Elution Tubes (Elutionsröhrchen) mit einem Barcode zu versehen. Die Röhrchen in das Elution Rack (Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen	6. Den PCR Mix und die Internal Control in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen
7. Das „PCR Rack“ mit der „PCR Cassette“ und den „Extraction Basket“ (Korb) mit den „ELITe InGenius SP 200“ Extraktionskartuschen und die für die Extraktion erforderlichen Verbrauchsmaterialien laden	8. Tür schließen. Analyselauf starten	9. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern

HINWEIS!

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

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

1. Auf dem Touchscreen „Perform Run“ (Lauf durchführen) auswählen und anschließend auf den Run mode „PCR Only“ (Nur PCR) klicken	2. Die barcodierten Röhrchen mit der extrahierten Nukleinsäure oder den Kontrollen in das Elution Rack (Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen	3. Bei Kontrollen: 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. Bei Elutaten: Für jede „Position“ die Proben-ID („Sample ID“), die Probenmatrix („Sample Matrix“), das Extraktionskit („Extraction Kit“) und das extrahierte Eluatvolumen („Extracted eluate vol.“) eingeben.
4. Das gewünschte Assay-Protokoll auswählen: GI Bacterial PLUS ELITe_Be_ST_200_100 oder GI Bacterial PLUS ELITe_Be_PC oder GI Bacterial PLUS ELITe_Be_NC	5. Den PCR-Mix in das „Reagent/Elution Rack“ (Reagenz-/Elutionsablage) laden und in die Cooler Unit einsetzen	6. „PCR Rack“ mit „PCR Cassette“ laden
7. Tür schließen. Analyselauf starten	8. Ergebnisse anzeigen, genehmigen und speichern	

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