



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

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

AVVERTENZA del 06/03/2026

IMPORTANTE PER GLI UTILIZZATORI DEL PRODOTTO:

«HSV1/2 ELITe MGB[®] Kit» Ref. RTK403ING

Questa nuova revisione dell'IFU contiene le seguenti modifiche:

- *Allineamento alla versione in corso della ISO 18113:2022*
- *Aggiornamento dei paragrafi "Legenda dei simboli" e "Avviso per l'acquirente: licenza limitata".*

Composizione, utilizzo e prestazioni del prodotto restano del tutto invariate.

NOTA BENE!



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



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



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



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



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



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



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

Uffici: Tel. 39-011 976 191 Fax 39-011 936 76 11
Email: emd.support@elitechgroup.com
WEB site: ww.elitechgroup.com

HSV 1&2 ELITe MGB® Kit

reagenti per l'amplificazione Real Time del DNA

REF RTK403ING



INDICE

USO PREVISTO	page 1
PRINCIPIO DEL SAGGIO	page 2
DESCRIZIONE DEL KIT	page 3
MATERIALE INCLUSO NEL KIT	page 3
MATERIALE RICHIESTO NON INCLUSO NEL KIT	page 3
ALTRI PRODOTTI RICHIESTI	page 4
AVVERTENZE E PRECAUZIONI	page 4
CAMPIONI E CONTROLLI	page 5
PROCEDURA	page 6
CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI	page 12
BIBLIOGRAFIA	page 22
LIMITI DELLA PROCEDURA	page 23
PROBLEMI E SOLUZIONI	page 24
LEGENDA DEI SIMBOLI	page 25
AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA	page 26

USO PREVISTO

Il prodotto «**HSV 1&2 ELITe MGB® Kit**» è un dispositivo medico diagnostico *in vitro* destinato all'uso da parte degli operatori sanitari come saggio qualitativo di Real-Time PCR degli acidi nucleici per la rilevazione e la differenziazione del DNA di Herpes Simplex Virus 1 e 2 (HSV1 e HSV2) estratto da campioni clinici.

Il saggio è validato in associazione allo strumento **ELITe InGenius®**, sistema integrato e automatizzato per l'estrazione, la Real-Time PCR e l'interpretazione dei risultati, a partire da campioni di tamponi di lesioni cutanee e mucocutanee da pazienti con segni e sintomi da infezione da HSV1 o HSV2

Il prodotto è destinato all'uso diagnostico *in vitro* come ausilio nella diagnosi di infezioni da HSV1 e HSV2 insieme ai dati clinici e ad altri referti di laboratorio del paziente.

I risultati devono essere interpretati insieme a tutte le osservazioni cliniche rilevanti e agli esiti degli esami di laboratorio.

PRINCIPIO DEL SAGGIO

Il saggio prevede l'esecuzione di una reazione di amplificazione Real Time con modalità multiplex con **ELITe InGenius®**, un sistema integrato e automatizzato di estrazione, amplificazione, rilevazione e interpretazione dei risultati.

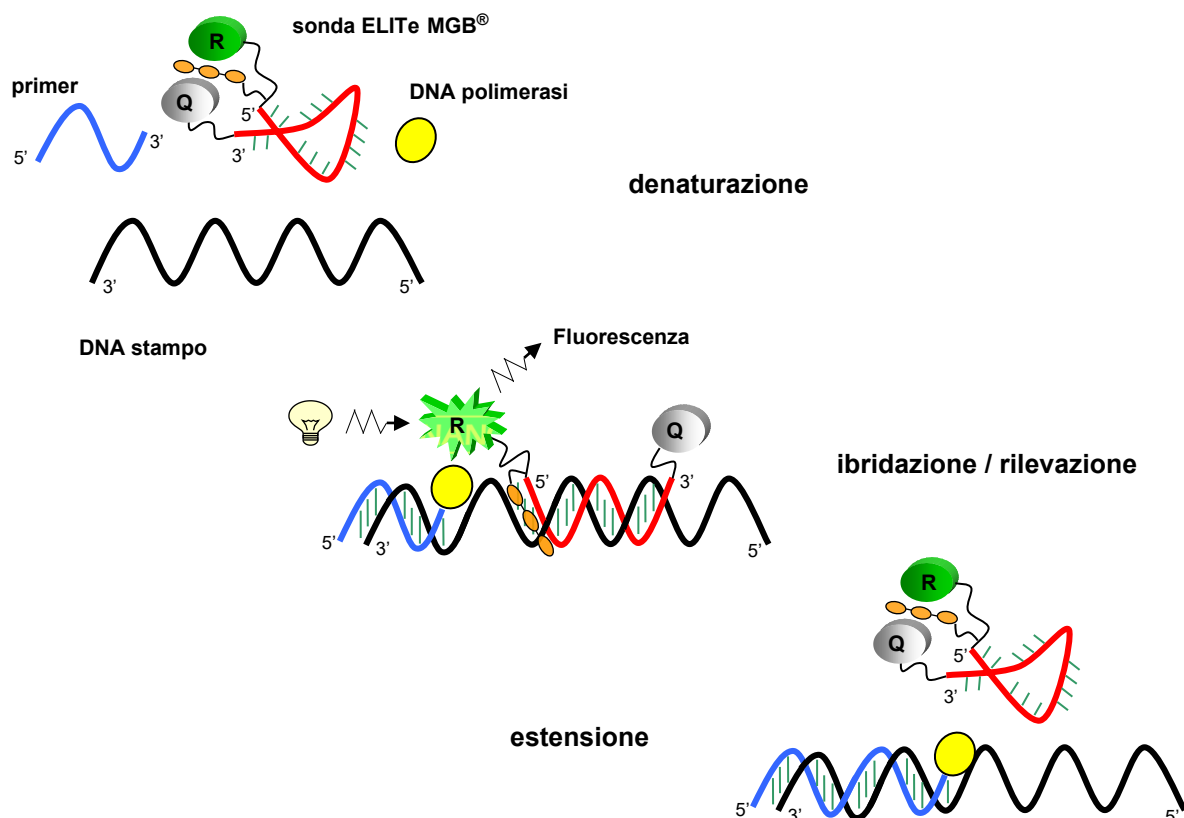
Differenti reazioni di amplificazione si eseguono con la **HSV 1&2 PCR mix** in ciascun pozzetto partendo dal DNA estratto da ciascun campione oggetto di analisi, allo scopo di amplificare i seguenti target:

- **HSV1** (gene della glicoproteina D), rilevato da una sonda specifica nel canale **HSV1** dello strumento ELITe InGenius (Canale 4). La sonda specifica per HSV1 è marcata con il fluoroforo AP593, stabilizzata dal gruppo MGB® e inattivata dal quencher non fluorescente.
- **HSV2** (gene della glicoproteina G), rilevato da una sonda specifica nel canale **HSV2** dello strumento ELITe InGenius (Canale 1). La sonda specifica per HSV2 è marcata con il fluoroforo FAM, stabilizzata dal gruppo MGB® e inattivata dal quencher non fluorescente.
- **Controllo Interno** (sequenza artificiale IC2), rilevato da una sonda specifica nel canale **IC** dello strumento ELITe InGenius (Canale 2). La sonda specifica per CI è marcata con il fluoroforo AP525, stabilizzata dal gruppo MGB® e inattivata dal quencher non fluorescente.

Le sonde con tecnologia ELITe MGB® sono attivate quando ibridano con il prodotto specifico della reazione di amplificazione. L'emissione della fluorescenza aumenta con l'aumentare dei prodotti specifici della reazione di amplificazione ed è misurata e registrata dall'apparecchio. Alla fine del ciclo di amplificazione, i grafici di fluorescenza vengono analizzati per identificare i cicli di soglia (Ct). L'interpretazione del risultato consente di rilevare la presenza dei patogeni di interesse.

Il prodotto è stato validato in associazione a **ELITe InGenius**, un sistema integrato automatizzato per l'estrazione, l'amplificazione e la rilevazione di acidi nucleici.

Nella figura di seguito è illustrato in sintesi il meccanismo di attivazione e di emissione della fluorescenza della sonda con tecnologia ELITe MGB®. Notare come la sonda non è idrolizzata durante il ciclo di amplificazione e può quindi essere utilizzata per l'analisi della curva di dissociazione.



DESCRIZIONE DEL KIT

Il prodotto «**HSV 1&2 ELITE MGB® Kit**» fornisce i seguenti componenti:

- **HSV 1&2 PCR Mix**

Miscela di primer e sonda per l'amplificazione real time in una soluzione stabilizzante, aliquotata in otto provette (tappo GIALLO). Ogni provetta contiene **280 µL** di soluzione, sufficiente per **12 test** (processando almeno 2 campioni per sessione) in associazione al sistema **ELITE InGenius**.

- **HSV 1&2 Negative Control**

Acqua DNase e RNase-free, aliquotata in due provette (tappo BIANCO). Ogni provetta contiene **1800 µL** di acqua, sufficiente per **8 sessioni** (processando 200 µL in una sessione integrata) in associazione al sistema **ELITE InGenius**.

- **HSV 1&2 Positive Control**

Soluzione tampone contenente il DNA plasmidico di HSV1 e HSV2, aliquotata in due provette (tappo ROSSO). Ogni provetta contiene **1800 µL** di soluzione, sufficiente per **8 sessioni** (processando 200 µL in una sessione integrata) in associazione al sistema **ELITE InGenius**.

- **HSV 1&2 Internal Control**

Soluzione tampone contenente il fago ricombinante M13 con la sequenza artificiale IC2 clonata nel genoma del fago, aliquotata in otto provette (tappo NEUTRO). Ogni provetta contiene **160 µL** di soluzione, sufficiente per **12 estrazioni** (processando 10 µL per sessione) in associazione al sistema **ELITE InGenius**.

- **Sample Dilution Buffer**

Il Sample Dilution Buffer deve essere utilizzato per la diluizione dei campioni quando i campioni sono troppo concentrati, come indicato dal software ELITE InGenius (Error 30103). Il Sample Dilution Buffer è una soluzione tampone, aliquotata in otto provette (tappo MARRONE). Ogni provetta contiene **1000 µL** di soluzione.

Il prodotto è sufficiente per **96 test in associazione con «ELITE InGenius»**, inclusi i controlli.

MATERIALE INCLUSO NEL KIT

Scatola	Componente	Descrizione	Quantità	Classificazione dei pericoli
1	HSV 1&2 PCR Mix	Miscela di reazione per HSV1&2 tappo GIALLO	8 x 280 µL	-
	HSV 1&2 Negative Control	Acqua DNase and RNase-free tappo BIANCO	2 x 1800 µL	-
2	HSV 1&2 Internal Control	Soluzione di fago ricombinante tappo NEUTRO	8 x 160 µL	-
3	HSV 1&2 Positive Control	Soluzione di DNA plasmidico tappo ROSSO	2 x 1800 µL	-
	Sample Dilution Buffer	Soluzione tampone tappo MARRONE	8 x 1000 µL	-

MATERIALE RICHiesto NON INCLUSO NEL KIT

- Cappa a flusso laminare.
- Guanti senza polvere monouso in nitrile o simili.
- Agitatore vortex.
- Microcentrifuga da banco (12.000-14.000 giri/minuto).
- Micropipette e puntali sterili con filtro per aerosol o a dispensazione positiva (2-20 µl, 5-50 µl, 50-200 µl, 200-1000 µl).

ALTRI PRODOTTI RICHIESTI

I reagenti per l'estrazione del DNA dai campioni da analizzare e i consumabili **non** sono inclusi in questo prodotto.

Per l'estrazione automatica del DNA, l'amplificazione real-time e l'interpretazione dei risultati dei campioni, si richiedono lo strumento «**ELITE InGenius**» (ELITechGroup S.p.A., cod. INT030 e INT030-K) e i seguenti protocolli analitici specifici (ELITechGroup S.p.A):

- parametri per il controllo positivo di estrazione e di amplificazione «**HSV ELITE_PC**»,
- parametri per il controllo negativo di estrazione e di amplificazione «**HSV ELITE_NC**»,
- parametri per i campioni da analizzare «**HSV ELITE_MCS_200_50**».

Con lo strumento «**ELITE InGenius**» si richiedono i seguenti prodotti generici:

- cartucce di estrazione «**ELITE InGenius® SP 200**» (ELITechGroup S.p.A., cod. INT032SP200),
- materiali di consumo per estrazione ed amplificazione da campioni biologici «**ELITE InGenius® SP 200 Consumable Set**» (ELITechGroup S.p.A, cod. INT032CS),
- cartucce di amplificazione «**ELITE InGenius® PCR Cassette**» (ELITechGroup S.p.A, cod. INT035PCR),
- puntali «**300 µl Filter tips Axygen**» (Axygen BioScience Inc., CA, cod. TF-350-L-R-S),
- contenitori «**ELITE InGenius® Waste Box**» (ELITechGroup S.p.A, cod. F2102-000).

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Questo prodotto è riservato esclusivamente all'uso *in vitro*.

Avvertenze e precauzioni generali

Manipolare e smaltire tutti i campioni biologici come se fossero in grado di trasmettere agenti infettivi. Evitare il contatto diretto con i campioni biologici. Evitare di produrre schizzi o aerosol. Il materiale che viene a contatto con i campioni biologici deve essere trattato con ipoclorito di sodio al 3 % per almeno 30 minuti oppure trattato in autoclave a 121° C per un'ora prima di essere smaltito.

Manipolare e smaltire tutti i reagenti e tutti i materiali usati per effettuare il saggio come se fossero potenzialmente infettivi. Evitare il contatto diretto con i reagenti. Evitare di produrre schizzi o aerosol. I rifiuti devono essere trattati e smaltiti secondo le opportune regole di sicurezza. Il materiale monouso combustibile deve essere incenerito. I rifiuti liquidi contenenti acidi o basi devono essere neutralizzati prima dell'eliminazione.

- Indossare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi / la faccia.
- Non pipettare a bocca alcuna soluzione.
- Non mangiare, bere, fumare o applicare cosmetici nelle aree di lavoro.
- Lavarsi bene le mani dopo avere maneggiato i campioni e i reagenti.
- Eliminare i reagenti avanzati ed i rifiuti secondo le norme vigenti.
- Leggere attentamente tutte le istruzioni fornite nel prodotto prima di eseguire il saggio.
- Attenersi alle istruzioni fornite nel prodotto durante l'esecuzione del saggio.
- Rispettare la data di scadenza del prodotto.
- Utilizzare solo i reagenti presenti nel prodotto e quelli consigliati dal fabbricante.
- Non utilizzare reagenti provenienti da lotti diversi.
- Non utilizzare reagenti di altri fabbricanti.

Avvertenze e precauzioni per la biologia molecolare

Le procedure di biologia molecolare richiedono personale addestrato per evitare il rischio di risultati errati, in particolare a causa della degradazione degli acidi nucleici dei campioni o della contaminazione dei campioni da parte di prodotti di amplificazione.

È necessario disporre di camici, guanti e strumenti dedicati all'allestimento delle sessioni di lavoro.

I campioni devono essere adatti e possibilmente dedicati a questo tipo di analisi. I campioni devono essere manipolati sotto una cappa a flusso laminare. Le pipette utilizzate per manipolare i campioni devono essere dedicate solo a questo uso. Le pipette devono essere del tipo a dispensazione positiva o utilizzare puntali con filtro per aerosol. I puntali utilizzati devono essere sterili, esenti da DNasi ed RNasi, esenti da DNA ed RNA.

Le cartucce di amplificazione devono essere manipolate in modo da non disperdere nell'ambiente i prodotti di amplificazione per evitare la contaminazione di campioni e reagenti.

Avvertenze e precauzioni specifiche per i componenti

- **HSV1 &2 PCR Mix**

La **HSV 1&2 PCR Mix** deve essere conservata a -20° C.

La **HSV 1&2 PCR Mix** può essere congelata e scongelata per un massimo di **cinque volte**: ulteriori cicli di congelamento / scongelamento possono causare un calo delle prestazioni del prodotto.

- **HSV 1&2 Negative Control**

Il **HSV1&2 ELITE Negative Control** deve essere conservato a -20° C.

- **HSV 1&2 Positive Control**

Il **HSV 1&2 Positive Control** deve essere conservato a -20° C.

Il **HSV 1&2 Positive Control** può essere congelato e scongelato per un massimo di **cinque volte**: ulteriori cicli di congelamento / scongelamento possono causare un calo delle prestazioni del prodotto.

- **HSV 1&2 Internal Control**

Il **HSV 1&2 Internal Control** deve essere conservato a -20° C.

Il **HSV 1&2 Internal Control** può essere congelato e scongelato per un massimo di **cinque volte**: ulteriori cicli di congelamento / scongelamento possono causare un calo delle prestazioni del prodotto.

- **Sample Dilution Buffer**

Il **Sample Dilution Buffer** deve essere conservato a -20° C.

CAMPIONI E CONTROLLI

Campioni

Questo prodotto deve essere utilizzato con i seguenti campioni clinici:

Tamponi di lesioni cutanee e mucocutanee

I campioni di tampone della lesione cutanea e mucocutanea per l'estrazione del DNA devono essere raccolti e conservati in mezzi di trasporto virale UTM, M4, M4RT, M5 o M6 e identificati secondo le linee guida di laboratorio. I campioni devono essere trasportati e conservati in frigorifero (+2 / +8 ° C) per un massimo di 7 giorni o a -70 ° C per un massimo di 3 mesi.

Si consiglia di suddividere in più aliquote i campioni da conservare congelati in modo da non sottoporli a cicli di congelamento / scongelamento ripetuti.

Conservare gli acidi nucleici purificati a +2 / +8 ° C se saranno utilizzati lo stesso giorno in cui sono stati estratti o a -20 ° C per la conservazione a lungo termine.

Nota bene: per eseguire l'estrazione del DNA dai campioni di lesioni cutanee o mucocutanee con lo strumento **ELITE InGenius** e l'**ELITE InGenius Software** versione **1.3** (o successive), utilizzare il protocollo **HSV ELITE_MCS_200_50**. Questo protocollo processa 200 µL di campione, aggiungendo 10 µL di **HSV 1&2 Internal Control** per estrazione ed eluisce gli acidi nucleici in 50 µL.

I campioni forniti in una provetta primaria compatibile con ELITE InGenius (provetta a vite 12 × 80 mm o 13x100 mm con forma conica interna, Copan Italia SpA o simili) con un volume di almeno 2,2 mL possono essere inseriti direttamente nel rack per i campioni primari di ELITE InGenius. I campioni forniti in una provetta non compatibile con ELITE InGenius o con un volume del campione inferiore a 2,2 mL richiedono un'aliquota da 200 µL per essere trasferiti in una provetta di sonicazione posizionata nel rack per provette di sonicazione di ELITE InGenius. Fare riferimento al Manuale dell'operatore ELITE InGenius (SCH mINT030_en) per ulteriori informazioni.

Controlli di estrazione e di amplificazione

Prima di analizzare qualunque campione, è assolutamente indispensabile generare e i controlli di estrazione e di amplificazione per il lotto del reagente di amplificazione che sarà impiegato nella prova:

come Controllo Positivo, utilizzare il prodotto **HSV 1&2 Positive Control** fornito con questo kit, in associazione con il protocollo **HSV ELITE_PC**,

come Controllo Negativo, utilizzare il prodotto **HSV 1&2 Negative Control** fornito con questo kit, in associazione con il protocollo **HSV ELITE_NC**.

Nota bene: Il sistema **ELITe InGenius** richiede risultati approvati e validi della curva di calibrazione e dei controlli di amplificazione per ciascun lotto di reagente di amplificazione inserito nel database.

I risultati dei controlli di amplificazione, approvati e inseriti nel database, scadranno **dopo 15 giorni**. Alla data di scadenza, sarà necessario ripetere i controlli positivi e negativi in associazione con il lotto in uso del reagente di amplificazione.

Inoltre, i calibratori e i controlli di amplificazione devono essere ripetuti nei seguenti casi:

- quando si inizia un nuovo lotto di reagenti di amplificazione,
- quando i risultati dei controlli di qualità (vedi paragrafo successivo) non rientrano nelle specifiche, è stato effettuato un intervento di manutenzione importante sullo strumento **ELITe InGenius**.

Controlli di qualità

Si consiglia la validazione programmata della procedura di estrazione e amplificazione. A tale scopo si possono utilizzare campioni già testati o materiale di riferimento certificato.

PROCEDURA

La procedura di utilizzo del prodotto **HSV 1&2 ELITe MGB® Kit** con il sistema **ELITe InGenius** si compone di tre fasi:

- verifica che il sistema sia pronto,
- impostazione della sessione,
- lettura e approvazione dei risultati.

Verifica che il sistema sia pronto

Prima di iniziare la sessione, riferendosi alla documentazione dello strumento, è necessario:

- accendere lo strumento **ELITe InGenius** e selezionare la modalità "**CLOSED**",
- verificare che controlli di estrazione e di amplificazione (Controlli, HSV 1&2 Positive Control, HSV 1&2 Negative Control) siano stati eseguiti in associazione con il lotto di reagente di amplificazione previsto e che i risultati siano approvati e validi (Status). In assenza di risultati dei controlli di estrazione e di amplificazione approvati o validi, generare gli stessi come descritto nei paragrafi seguenti,
- scegliere il tipo di sessione, seguendo le istruzioni riportate dall'Interfaccia Grafica (GUI) per la preparazione della sessione e utilizzando i protocolli di estrazione forniti da ELITechGroup S.p.A. Questi protocolli IVD sono stati specificamente validati con il prodotto **ELITe MGB Kit**, lo strumento **ELITe InGenius** e la matrice indicata.

Gli Assay Protocol disponibili con il prodotto **HSV 1&2 ELITe MGB® Kit** sono descritti nelle tabelle seguenti:

Assay Protocol per il prodotto HSV 1&2 ELITe MGB® Kit			
Nome	Matrice	Esito	Caratteristiche
HSV ELITe_MCS_200_50	Tamponi da lesioni cutanee e mucocutanee	Positivo / Negativo	Volume estrazione in ingresso: 200 µL Volume eluizione estratto: 50 µL Controllo Interno: 10 µL Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1 Volume PCR Mix: 20 µL Volume iniziale PCR del campione: 10 µL

Se l'Assay Protocol d'interesse non è presente nel sistema, contattare il Servizio Clienti di ELITechGroup S.p.A..

Impostazione della sessione

Il prodotto **HSV 1&2 ELITe MGB® Kit** può essere utilizzato insieme con il sistema **ELITe InGenius** per eseguire:

- Corsa integrata (Extract + PCR),
- Corsa di amplificazione (PCR only),
- Corsa integrata per il Controllo Positivo e il Controllo Negativo (Extract + PCR).

Tutti i parametri necessari per la sessione sono inclusi nell'Assay Protocol disponibile sullo strumento e sono richiamati automaticamente quando lo si seleziona.

Nota bene: il sistema **ELITe InGenius** può essere collegato al "Laboratory Information Server" (LIS) tramite il quale è possibile caricare le informazioni della sessione di lavoro. Consultare il manuale di istruzioni dello strumento per maggiori dettagli.

Le principali operazioni per l'impostazione dei tre tipi di sessione sono descritte di seguito.

A. Corsa integrata

Per impostare una sessione integrata con estrazione e amplificazione del campione, procedere come segue, come indicato dalla GUI:

1. Scongelare le provette contenenti la HSV 1&2 PCR Mix tube for the session. Ogni provetta è sufficiente per 12 reazioni in condizioni ottimali di consumo del reagente (almeno 2 campioni per sessione). Mescolare delicatamente, centrifugare le provette per 5 secondi.

Nota bene: Scongelare le provette contenenti la HSV 1&2 PCR Mix al riparo dalla luce perché i reagenti sono fotosensibili.

2. Scongelare le provette di HSV 1&2 Internal Control per la sessione. Ogni provetta è sufficiente per 12 estrazioni. Mescolare delicatamente, centrifugare le provette per 5 secondi.
3. Selezionare "Perform Run" dalla schermata "Home".
4. Assicurarsi che "Extraction Input Volume" sia impostato a 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia impostato a 50 µL.
5. Per ogni "Track" di interesse compilare il "SampleID" (SID) digitando o scansionando il codice a barre del campione.
6. Selezionare l'Assay protocol da utilizzare nella colonna "Assay" (i.e. HSV ELITe_MCS_200_50).
7. Assicurarsi che il "Protocol" visualizzato sia: "Extract + PCR".
8. Selezionare la posizione di caricamento del campione nella colonna "Sample Position":
 - se un tubo primario è utilizzato, selezionare "Primary Tube",
 - se un tubo secondario è utilizzato, selezionare "Sonication Tube".Fare clic su "Next" per procedere con l'operazione successiva.
9. Nell'"Inventory Block" selezionato caricare la HSV 1&2 PCR Mix e il HSV 1&2 Internal Control seguendo le istruzioni visualizzate sulla GUI.
10. Nell'"Inventory Area" selezionata caricare e controllare i Rack dei puntali seguendo le istruzioni visualizzate sulla GUI. Fare clic su "Next" per proseguire la preparazione.
11. Caricare le PCR Cassette, le cartucce di estrazione "ELITe InGenius SP 200", tutti i consumabili e i campioni da estrarre, seguendo le istruzioni visualizzate sulla GUI. Fare clic su "Next" per proseguire la preparazione.
12. Chiudere lo sportello dello strumento.
13. Premere "Start" per avviare la corsa.

Dopo il completamento della procedura, il sistema **ELITe InGenius** permette di visualizzare, approvare, memorizzare i risultati e di stampare e salvare il rapporto.

Nota bene: Alla fine della corsa, il campione non estratto rimanente nel "Primary Tube" deve essere rimosso dallo strumento, tappato e conservato. Evitare di versare il campione non estratto.

Nota bene: Alla fine della corsa il campione estratto rimasto nell'"Elution Tube" deve essere prelevato dallo strumento, chiuso con il tappo, identificato e può essere conservato a -20 °C per un mese. Evitare la fuoriuscita del campione estratto.

Nota bene: Alla fine della corsa le "PCR Cassette" con i prodotti di reazione e i consumabili devono essere rimossi dallo strumento ed eliminati senza produrre contaminazioni ambientali. Evitare la dispersione dei prodotti di reazione.

Nota bene: La PCR Mix può essere conservata nel blocco refrigerato per un massimo di 2 sessioni di lavoro da 3 ore ciascuna e per il tempo richiesto per impostare una terza sessione di lavoro.

B. Corsa di amplificazione

Per preparare la sessione di amplificazione partendo dagli acidi nucleici estratti, procedere come segue, come indicato dalla GUI:

1. Scongelare le provette contenenti la HSV 1&2 PCR Mix per la sessione. Ogni provetta è sufficiente per 12 reazioni in condizioni ottimali di consumo del reagente (almeno 2 test per sessione). Mescolare delicatamente, centrifugare le provette per 5 secondi.

Nota bene: Scongelare le provette contenenti la HSV 1&2 PCR Mix al riparo dalla luce perché i reagenti sono fotosensibili.

2. Selezionare "Perform Run" dalla schermata "Home".
3. Anche se l'estrazione non sarà eseguita, assicurarsi che "Extraction Input Volume" sia impostato a 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia impostato a 50 µL.
4. Per ogni Track di interesse compilare il SID digitando o scansionando il codice a barre del campione.
5. Selezionare l'Assay protocol da utilizzare nella colonna "Assay" (i.e. HSV ELITe_MCS_200_50).
6. Selezionare "PCR Only" nella colonna "Protocol".
7. Assicurarsi che la posizione di caricamento del campione nella colonna "Sample Position" sia "Elution Tube (bottom row)". Fare clic su "Next" per procedere con l'operazione successiva.
8. Nell'"Inventory Block" selezionato caricare la HSV 1&2 PCR Mix seguendo le istruzioni visualizzate sulla GUI. Fare clic su "Next" per proseguire la preparazione.
9. Nell'"Inventory Area" selezionata caricare e controllare i Rack dei puntali seguendo le istruzioni visualizzate sulla GUI. Fare clic su "Next" per proseguire la preparazione.
10. Caricare le PCR Cassette e i campioni di acidi nucleici estratti seguendo le istruzioni visualizzate sulla GUI. Fare clic su "Next" per proseguire la preparazione.
11. Chiudere lo sportello dello strumento.
12. Premere "Start" per avviare la sessione.

After process completion, the **ELITe InGenius** system allows users to view, approve and store the results and to print and save the report.

Nota bene: Alla fine della corsa il campione estratto rimasto nell'"Elution Tube" deve essere prelevato dallo strumento, chiuso con il tappo, identificato e può essere conservato a -20 °C per un mese. Evitare la fuoriuscita del campione estratto.

Nota bene: Alla fine della corsa le "PCR Cassette" con i prodotti di reazione e i consumabili devono essere rimossi dallo strumento ed eliminati senza produrre contaminazioni ambientali. Evitare la dispersione dei prodotti di reazione.

Nota bene: La PCR Mix può essere conservata nel blocco refrigerato per un massimo di 2 sessioni di lavoro da 3 ore ciascuna e per il tempo richiesto per impostare una terza sessione di lavoro.

C. Corsa integrata per il Controllo Positivo e il Controllo Negativo

Per impostare la corsa integrata per il Controllo Positivo e il Controllo Negativo di estrazione e di amplificazione, procedere come segue, come indicato dalla GUI:

1. Scongelare le provette contenenti la HSV 1&2 PCR Mix tube per la sessione. Ogni provetta contiene un volume sufficiente per preparare 12 reazioni in condizioni ottimali di consumo del reagente (almeno 2 test per sessione). Mescolare delicatamente, centrifugare le provette per 5 secondi.

Nota bene: Scongelare le provette contenenti la HSV 1&2 PCR Mix al riparo dalla luce perché i reagenti sono fotosensibili.

2. Scongelare le provette contenenti il HSV 1&2 Internal Control per la sessione. Ogni provetta è sufficiente per 12 estrazioni. Mescolare delicatamente, centrifugare le provette per 5 secondi.
3. Scongelare le provette contenenti il HSV 1&2 Positive Control per la sessione. Ogni provetta è sufficiente per 8 sessioni. Mescolare delicatamente, centrifugare le provette per 5 secondi e trasferire 200 µL di HSV 1&2 Positive Control in un "Sonication tube".
4. Scongelare le provette contenenti il HSV 1&2 Negative Control tube per la sessione. Ogni provetta è sufficiente per 8 sessioni. Mescolare delicatamente, centrifugare le provette per 5 secondi e trasferire 200 µL di HSV 1&2 Negative Control in un "Sonication tube".
5. Selezionare "Perform Run" dalla schermata "Home".
6. Assicurarsi che "Extraction Input Volume" sia impostato a 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia impostato a 50 µL.
7. Nelle "Track" di interesse, selezionare l'Assay protocol da utilizzare nella colonna "Assay".
8. Per il Controllo Positivo selezionare nella colonna "Assay" HSV ELITE_PC, in the "Assay" e digitare il numero di lotto e la data di scadenza di HSV1&2 Positive Control.
9. Per il Controllo Negativo selezionare nella colonna "Assay" HSV ELITE_NC, in the "Assay" e digitare il numero di lotto e la data di scadenza di HSV1&2 Negative Control.
10. Assicurarsi che il "Protocol" selezionato sia "Extract + PCR".
11. Assicurarsi che il "Sample Position" selezionato sia "Sonication Tube". Fare clic su "Next" per proseguire la preparazione.
12. Nell'"Inventory Block" selezionato caricare la HSV 1&2 PCR Mix e il HSV 1&2 Internal Control seguendo le istruzioni visualizzate sulla GUI. Fare clic su "Next" per proseguire la preparazione.
13. Nell'"Inventory Area" selezionata caricare e controllare i Rack dei puntali seguendo le istruzioni visualizzate sulla GUI. Fare clic su "Next" per proseguire la preparazione.
14. Nei "Track" specificati nel punto 7 caricare le "PCR Cassettes", le cartucce di estrazione "ELITE InGenius SP 200", tutti i consumabili richiesti e il HSV 1&2 Positive Control e 200 µL del HSV 1&2 Negative Control che deve essere estratto, seguendo le istruzioni visualizzate sulla GUI. Fare clic su "Next" per proseguire la preparazione.
15. Chiudere lo sportello dello strumento.
16. Premere "Start" per avviare la sessione.

Dopo il completamento della procedura, il sistema **ELITE InGenius** permette di visualizzare, approvare, memorizzare i risultati e di stampare e salvare il rapporto.

Nota bene: Alla fine della corsa il controllo positivo e il controllo negativo rimasto nell'"Elution Tube" deve essere prelevato dallo strumento, chiuso con il tappo e può essere conservato a -20 °C per un mese. Evitare la fuoriuscita del controllo positivo.

Nota bene: Alla fine della corsa le "PCR Cassette" con i prodotti di reazione e i consumabili devono essere rimossi dallo strumento ed eliminati senza produrre contaminazioni ambientali. Evitare la dispersione dei prodotti di reazione.

Nota bene: La PCR Mix può essere conservata nel blocco refrigerato per un massimo di 2 sessioni di lavoro da 3 ore ciascuna e per il tempo richiesto per impostare una terza sessione di lavoro.

Letture e approvazione dei risultati

Al termine della corsa, è visualizzata automaticamente la schermata "Results Display", nella quale sono riportati i risultati relativi a campione/controllo e le informazioni riguardanti la sessione. Da questa schermata è possibile approvare il risultato, stampare o salvare i rapporti ("Sample Report" o "Track Report"). Consultare il manuale d'istruzioni dello strumento per maggiori dettagli.

Nota bene: Il sistema **ELITe InGenius** può essere collegato al "Laboratory Information Server" (LIS) tramite il quale è possibile inviare i risultati approvati della sessione di lavoro al centro elaborazione dati del laboratorio. Consultare il manuale d'istruzioni dello strumento per maggiori dettagli.

Il sistema **ELITe InGenius** genera i risultati con il prodotto **HSV 1&2 ELITe MGB® Kit** tramite la seguente procedura:

- A. Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo,
- B. Validazione dei risultati del campione,
- C. Refertazione dei risultati del campione.

A. Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo

I segnali di fluorescenza emessi dalle sonde per I target (Canali **HSV1** e **HSV2**) nelle reazioni di amplificazione per il Controllo Positivo e il Controllo Negativo sono analizzati automaticamente e interpretati mediante il software dello strumento con i parametri inclusi negli Assay Protocol "HSV ELITe_PC" e "HSV ELITe_NC".

I risultati dell'amplificazione per il Controllo Positivo e il Controllo Negativo, specifici per il lotto del reagente di amplificazione, sono memorizzati nel database (Controls) e possono essere consultati e approvati dal personale qualificato come "Administrator" o "Analyst", seguendo le istruzioni della GUI.

I risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo, specifici per il lotto di reagente di amplificazione, scadranno **dopo 15 giorni**.

I risultati delle sessioni di amplificazione per Controllo Positivo e Controllo Negativo sono utilizzati dal software dello strumento per impostare le Carte di Controllo ("Control Charts") per monitorare le prestazioni della fase di amplificazione. Consultare il manuale d'istruzioni dello strumento per maggiori dettagli.

Nota bene: Se il risultato della reazione di amplificazione del Controllo Positivo o del Controllo Negativo non soddisfa i criteri di accettazione, sulla schermata "Controls" appare il messaggio "Failed" che ne impedisce l'approvazione. In tal caso, la reazione di amplificazione del Controllo Positivo o del Controllo Negativo deve essere ripetuta.

Nota bene: Se il Controllo Positivo o il Controllo Negativo sono analizzati insieme ai campioni da testare e il risultato non è valido, l'intera sessione non è valida. In tal caso, anche l'amplificazione di tutti i campioni deve essere ripetuta.

B. Validazione dei risultati del campione

I segnali di fluorescenza emessi dalle sonde specifiche per HSV1 e HSV2 (Canali **HSV1** e **HSV2**) e dalla sonda specifica per il Controllo Interno (Canale **IC**) nelle reazioni di amplificazione del campione sono analizzati automaticamente e interpretati mediante il software dello strumento con i parametri inclusi nell'Assay Protocol HSV 1&2 ELITe_MCS_200_50.

I risultati sono mostrati nei rapporti generati dallo strumento ("Result Display").

La corsa del campione può essere approvata quando si verificano le due condizioni riportate nella tabella sottostante.

1) Controllo Positivo	Status
HSV 1&2 Positive Control	APPROVATO
2) Controllo Negativo	Status
HSV 1&2 Negative Control	APPROVATO

Per ciascun campione il risultato del saggio è interpretato automaticamente dal sistema come stabilito dall'algoritmo **dell'ELITe InGenius software** e dai parametri dell'Assay Protocol.

La tabella sottostante riporta i possibili messaggi relativi ai risultati. Per ciascun campione il sistema riporta una combinazione dei seguenti messaggi che specifica se i DNA patogeni vengono rilevati o non rilevati.

Risultato di una sessione sul campione		Interpretazione
Risultato per HSV1	Risultato per HSV2	
HSV1:DNA Not detected or below the LoD	HSV2:DNA Not detected or below the LoD	Il DNA di HSV1 e HSV2 non è stato rilevato nel campione. Il campione è valido e negativo per questi patogeni o le loro concentrazioni sono inferiori al Limite di Rilevazione del saggio.
HSV1:DNA Not detected or below the LoD	HSV2:DNA Detected	Il DNA di HSV1 non è stato rilevato nel campione. Il DNA di HSV2 è stato rilevato nel campione.
HSV1:DNA Detected	HSV2:DNA Not detected or below the LoD	Il DNA di HSV1 è stato rilevato nel campione. Il DNA di HSV2 non è stato rilevato nel campione.
HSV1:DNA Detected	HSV2: DNA Detected	Il DNA di HSV1 e HSV2 è stato rilevato nel campione.
Invalid - Retest Sample.		Risultato del saggio non valido per problemi con il Controllo Interno (estrazione errata o carry-over di inibitori). Il test deve essere ripetuto.

I campioni segnalati con "Invalid - Retest Sample" dal programma **ELITe InGenius software** non sono idonei ai fini dell'interpretazione del risultato. In tal caso, il DNA del Controllo Interno non è stato rilevato in modo efficiente per problemi nella fase di amplificazione o di estrazione (degradazione del DNA, perdita di DNA durante l'estrazione o carry-over di inibitori nell'eluato) che possono causare risultati errati.

Quando il volume di eluato è sufficiente, il campione estratto può essere ritestato mediante una sessione di amplificazione in modalità "PCR Only". In caso di un secondo risultato non valido, il campione deve essere ritestato a partire dall'estrazione di una nuova aliquota in modalità "Extraction + PCR".

I campioni segnalati come "HSV1 DNA Not Detected or below the LoD" e "HSV2 DNA Not Detected or below the LoD" sono idonei per l'analisi, ma non è stato possibile rilevare i DNA target. In tal caso non si può escludere che i DNA target siano presenti in una concentrazione inferiore al limite di rilevazione del saggio (vedi "Caratteristiche delle prestazioni").

Nota bene: i risultati ottenuti con questo saggio devono essere interpretati tenendo conto di tutti i dati clinici e di altri referti di laboratorio riguardanti il paziente.

I risultati della sessione analitica del campione sono memorizzati nel database e, se validi, possono essere approvati (Result Display) da personale avente la qualifica di "Amministratore" o "Analista", seguendo le istruzioni della GUI. Dalla finestra "Result Display" è possibile stampare e salvare i risultati della sessione analitica del campione sotto forma di "Sample Report" e "Track Report".

C. Refertazione dei risultati del campione

I risultati della sessione analitica sono memorizzati nel database e possono essere esportati sotto forma di "Sample Report" e "Track Report".

Il "Sample Report" mostra i dettagli di una sessione di lavoro per campione selezionato (SID).

Il "Track Report" mostra i dettagli di una sessione di lavoro per track selezionato.

Entrambi i rapporti possono essere stampati e firmati da personale autorizzato.

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Riproducibilità

La riproducibilità del prodotto HSV 1&2 ELITE MGB® Kit è stata valutata in un'indagine multi-sito utilizzando campioni positivizzati. I pannelli di HSV da testare sono stati preparati aggiungendo il virus di HSV1 (ceppo MacIntyre) o di HSV2 (ceppo MS) in terreno UTM (Universal Transport Media) ad una concentrazione pari a $1 \times \text{LoD}$, $1 \times \text{LoD}$ e $3 \times \text{LoD}$. Campioni negativi per HSV1 e HSV2 sono stati inclusi nel pannello come controlli. La composizione del pannello utilizzato per il test di riproducibilità è mostrata nella tabella seguente:

Pannello per Riproducibilità

Nome	Descrizione del Contenuto	Carica Virale	Tasso di positività atteso
M1	HSV1 C ₅₀ in UTM (Alto Negativo)	<math><1 \times \text{LoD}</math>	20-80% positivo
M2	HSV1 C ₉₅ in UTM (Basso Positivo)	$1 \times \text{LoD}$	≥95% positivo
M3	HSV1 C ₁₀₀ in UTM (Positivo Moderato)	$2-3 \times \text{LoD}$	100% positivo
M4	HSV2 C ₅₀ in UTM (Alto Negativo)	<math><1 \times \text{LoD}</math>	20-80% positivo
M5	HSV2 C ₉₅ in UTM (Basso Positivo)	$1 \times \text{LoD}$	≥95% positivo
M6	HSV2 C ₁₀₀ in UTM (Positivo moderato)	$2-3 \times \text{LoD}$	100% positivo
M7	HSV-Negativo in UTM	Negativo	100% negativo

Il pannello è stato testato in 3 siti diversi, da due operatori in ciascun sito con una sessione per operatore per giorno, per 10 giorni non consecutivi utilizzando un unico lotto di HSV 1&2 ELITE MGB® Kit. Il test è stato effettuato su un minimo di 90 replicati (30 per ogni sito) per ogni campione del pannello. La variabilità da lotto a lotto è stata valutata solo presso ELITechGroup Inc. MDx (sito interno) utilizzando 3 lotti di HSV 1&2 ELITE MGB® Kit. I controlli sono stati eseguiti quotidianamente e inclusi nella prima sessione della giornata.

La % di Concordanza, i valori di Ct medi e la % CV per ciascun campione del pannello e per ciascun sito sono presentati nella tabella seguente.

Risultati di Riproducibilità per HSV 1&2 ELITE MGB® Kit

Target	Campione	Sito - 1			Sito - 2			Sito - 3			% Concord. con Risultati Attesi	95% CI
		% Concord. con Risultati Attesi	Ct medio	%CV totale	% Concord. con Risultati Attesi	Ct Medio	%CV totale	% Concord. con Risultati Attesi	Ct medio	%CV totale		
Risultato per HSV1	HSV1 basso pos	100,0% (30/30)	38,9	1,70%	100,0% (30/30)	38,3	2,10%	100,0% (30/30)	38,0	2,00%	100,0% (90/90)	95,9 - 100,0%
	HSV1 pos mod	100,0% (30/30)	36,4	1,30%	100,0% (30/30)	35,5	5,20%	100,0% (30/30)	35,6	1,50%	100,0% (90/90)	95,9 - 100,0%
	HSV2 basso pos	100,0% (30/30) ^a	NA	NA	100,0% (29/29) ^a	NA	NA	100,0% (30/30) ^a	NA	NA	100,0% (89/89)	95,6 - 100,0%
	HSV2 pos mod	100,0% (30/30) ^a	NA	NA	100,0% (30/30) ^a	NA	NA	100,0% (30/30) ^a	NA	NA	100,0% (90/90)	95,9 - 100,0%
	HSV Neg	100,0% (60/60) ^a	NA	NA	100,0% (38/38) ^a	41,4	2,50%	100,0% (40/40) ^a	NA	NA	100,0% (138/138)	97,3 - 100,0%
	Contr Positivo	100,0% (30/30)	27,5	1,30%	100,0% (5/5)	27,5	1,20%	100,0% (5/5)	27,0	0,80%	100,0% (40/40)	91,2 - 100,0%
	Concord. Totale		100,0% (210/210)			100,0% (162/162)			100,0% (165/165)			100,0% (537/537)

^a Risultati Attesi di HSV2 Basso Positivo, HSV2 Positivo Moderato e campioni negativi per HSV sono "Negativi" per HSV1.

Continua alla pagina successiva.

Target	Campione	Sito – 1			Sito – 2			Sito – 3			% Concord. con Risultati Attesi	95% CI
		% Concord. con Risultati Attesi	Ct medio	%CV totale	% Concord. con Risultati Attesi	Ct medio	%CV totale	% Concord. con Risultati Attesi	Ct medio	%CV totale		
Risultato per HSV2	HSV1 basso pos	100,0% (30/30) ^b	NA	NA	100,0% (30/30) ^b	NA	NA	100,0% (30/30) ^b	NA	NA	100,0% (90/90)	95,9 - 100,0%
	HSV1 pos mod	100,0% (30/30) ^b	NA	NA	100,0% (30/30) ^b	NA	NA	100,0% (30/30) ^b	NA	NA	100,0% (90/90)	95,9 - 100,0%
	HSV2 basso pos	100,0% (30/30)	36,8	3,10%	100,0% (29/29)	37,8	2,30%	100,0% (30/30)	36,6	1,90%	100,0% (89/89)	95,9 - 100,0%
	HSV2 mod pos	100,0% (30/30)	35,2	1,30%	100,0% (30/30)	35,95	1,60%	100,0% (30/30)	34,6	2,30%	100,0% (90/90)	95,9 - 100,0%
	HSV Neg	100,0% (60/60) ^b	NA	NA	100,0% (38/38) ^b	NA	NA	100,0% (40/40) ^b	NA	NA	100,0% (138/138)	95,9 - 100,0%
	Contr positivo	100,0% (30/30)	27,0	1,30%	100,0% (5/5)	27,4	1,50%	100,0% (5/5)	26,8	1,40%	100,0% (40/40)	95,9 - 100,0%
	Concord. Totale		100,0% (210/210)			100,0% (162/162)			100,0% (165/165)			100,0% (537/537)

^b Risultati Attesi di HSV1 Basso Positivo, HSV1 Positivo Moderato e campioni negativi per HSV sono "Negativi" per HSV2.

Target	Campione	Sito – 1			Sito – 2			Sito – 3			% Concord. con Risultati Attesi	95% CI
		% Concord. con Risultati Attesi	Ct medio	%CV totale	% Concord. con Risultati Attesi	Ct medio	%CV totale	% Concord. con Risultati Attesi	Ct medio	%CV totale		
Risultato per CI	HSV1 basso pos	100,0% (30/30)	30,4	3,80%	100,0% (30/30)	30,3	2,00%	100,0% (30/30)	30,2	1,70%	100,0% (90/90)	95,9 - 100,0%
	HSV1 pos mod	100,0% (30/30)	30,2	2,30%	100,0% (30/30)	30,4	2,80%	100,0% (30/30)	30,1	0,90%	100,0% (90/90)	95,9 - 100,0%
	HSV2 basso pos	100,0% (30/30)	29,9	0,50%	100,0% (29/29)	30,4	2,20%	100,0% (30/30)	30,2	0,60%	100,0% (89/89)	95,9 - 100,0%
	HSV2 pos mod	100,0% (30/30)	29,7	0,80%	100,0% (30/30)	30,4	1,20%	100,0% (30/30)	30,1	0,60%	100,0% (90/90)	95,9 - 100,0%
	HSV Neg	100,0% (60/60)	30,2	1,10%	100,0% (40/40)	30,2	1,90%	100,0% (38/38)	30,1	0,90%	100,0% (138/138)	97,3 - 100,0%
	Contr positivo	100,0% (30/30)	29,3	1,40%	100,0% (5/5)	30,2	2,10%	100,0% (5/5)	29,4	0,90%	100,0% (40/40)	91,2 - 100,0%
	Concord. Totale		100,0% (210/210)			100,0% (164/164)			100,0% (163/163)			100,0% (537/537)

La massima variabilità da sito a sito del prodotto HSV 1&2 ELITe MGB® Kit (misurata in% CV in base ai valori di Ct) è del 2,19%; la massima variabilità da lotto a lotto è dello 0,23% e la più alta variabilità da operatore a operatore è dello 0,93% per i campioni positivi moderati del pannello.

Limite di Rilevabilità / Sensibilità Analitica

Il Limite di Rilevabilità per il prodotto HSV 1&2 ELITe MGB® Kit è stato valutato utilizzando degli isolati positivi e quantificati di HSV (due HSV1 e due HSV2) disponibili in commercio, come riportato nella tabella sottostante. Gli isolati sono stati diluiti in UTM ad una concentrazione di 100 TCID₅₀/mL e diluiti nuovamente con diluizioni 1:3 in UTM. I risultati di LoD sono stati determinati attraverso il Logit Data Analysis software (Analyse-it per Microsoft Excel v4.80.2, modello Logistic Function). Il LoD è stato determinato come la più bassa concentrazione del target HSV che può essere costantemente rilevata in ≥95% dei campioni testati in normali condizioni di laboratorio nei campioni di tampone mucocutaneo. Il LoD è stato confermato testando venti (20) replicati aggiuntivi alla concentrazione di LoD e dimostrando che il virus è stato rilevato il 95% delle volte.

Lista degli Isolati di HSV& Risultati utilizzati per il test di LoD

Organismo	Isolato/Ceppo	Linea cell.	Risultati qualitativi #rilevati/Totale	C _T medio ±SD replicati rilevati	1×LoD TCID ₅₀ /mL
HSV1	Ceppo MacIntyre	Vero	20/20	37,91 ± 0,69	59,0 TCID ₅₀ /mL
HSV1	Isolato #15 (ZeptoMetrix)	Vero	20/20	39,94 ± 0,95	1,5 TCID ₅₀ /mL
HSV2	Ceppo MS	Vero	20/20	37,90 ± 0,92	5,4 TCID ₅₀ /mL
HSV2	Isolato #2 (ZeptoMetrix)	Vero	20/20	38,67 ± 1,03	0,3 TCID ₅₀ /mL

Il LoB (Limit of Blank) è stato confermato essere 0 sia per HSV1 sia per HSV2, utilizzando 60 replicati di un pool di campioni derivanti dalla mucosa di guancia umana e negativi per HSV.

L'efficienza di eluizione del tampone floccato regolare di Copan nelle unità TCID₅₀ / tampone è stata determinata essere ~ 100% e direttamente proporzionale al TCID₅₀ / mL dipendendo solamente dal volume del terreno contenuto nel dispositivo di raccolta.

Cut Off del Saggio

L'analisi di cut-off del saggio è stata eseguita su un set separato di 141 campioni clinici raccolti da 3 siti clinici. Ogni campione clinico è stato valutato utilizzando il prodotto HSV 1&2 ELITe MGB® Kit in associazione con lo strumento ELITe InGenius e un metodo di riferimento composito (test di real time PCR approvato dall'FDA combinato con amplificazione PCR e sequenziamento bidirezionale). Entrambi i target nei campioni clinici sono stati rilevati fino al ciclo 45. Pertanto, un Ct di 45 è stato stabilito come cut-off del test diagnostico per entrambi i target HSV1 e HSV2.

Reattività Analitica (Inclusività)

La reattività analitica (inclusività) è stata valutata preparando 44 isolati quantificati per HSV1 o HSV2 disponibili in commercio (22 HSV1 e 22 HSV2), come indicato nella Tabella sottostante. Ogni isolato è stato diluito in UTM ad una concentrazione pari a 3 × LoD (177 TCID₅₀ / mL per HSV1 e 16,2 TCID₅₀ / mL per HSV2) e quindi valutato utilizzando il prodotto HSV 1&2 ELITe MGB® Kit in associazione con lo strumento ELITe InGenius. Tutti gli isolati testati di HSV1 e HSV2 riportati nella tabella seguente sono stati rilevati dal prodotto HSV 1&2 ELITe MGB® Kit a concentrazioni di 16,2 - 354 TCID₅₀ / mL

Sintesi dei risultati di Reattività Analitica (Inclusività) per HSV

#	Isolato	Valore previsto 1×LoD (TCID ₅₀ /mL)	×LoD Testato	Conc. Finale testata. (TCID ₅₀ /mL)	Positività
1	HSV1 Ceppo MacIntyre	59	3×	177	3/3
2	HSV1 Isolato #1	59	3×	177	3/3
3	HSV1 Isolato #2	59	3×	177	3/3
4	HSV1 Isolato #3	59	3×	177	3/3
5	HSV1 Isolato #4	59	3×	177	3/3
6	HSV1 Isolato #5	59	3×	177	3/3
7	HSV1 Isolato #6	59	3×	177	0/3
		59	6×	354	3/3
8	HSV1 Isolato #7	59	3×	177	3/3
9	HSV1 Isolato #8	59	3×	177	3/3
10	HSV1 Isolato #9	59	3×	177	3/3
11	HSV1 Isolato #10	59	3×	177	3/3
12	HSV1 Isolato #11	59	3×	177	3/3
13	HSV1 Isolato #12	59	3×	177	3/3
14	HSV1 Isolato #13	59	3×	177	3/3
15	HSV1 Isolato #14	59	3×	177	3/3
16	HSV1 Isolato #15	59	3×	177	3/3
17	HSV1 Isolato #16	59	3×	177	3/3
18	HSV1 Isolato #17	59	3×	177	3/3
19	HSV1 Isolato #18	59	3×	177	3/3
20	HSV1 Isolato #19	59	3×	177	3/3
21	HSV1 Isolato #20	59	3×	177	0/3
		59	6×	354	3/3
22	HSV1 Isolato #21	59	3×	177	3/3

HSV 1&2 ELITE MGB® Kit

reagenti per l'amplificazione Real Time del DNA

REF RTK403ING

#	Isolato	Valore previsto 1×LoD (TCID ₅₀ /mL)	×LoD Testato	Conc. Finale testata. (TCID ₅₀ /mL)	Positività
23	HSV2 Ceppo MS	5,4	3×	16,2	3/3
24	HSV2 Isolato #1	5,4	3×	16,2	3/3
25	HSV2 Isolato #2	5,4	3×	16,2	3/3
26	HSV2 Isolato #3	5,4	3×	16,2	3/3
27	HSV2 Isolato #4	5,4	3×	16,2	3/3
28	HSV2 Isolato #5	5,4	3×	16,2	3/3
29	HSV2 Isolato #6	5,4	3×	16,2	3/3
30	HSV2 Isolato #7	5,4	3×	16,2	3/3
31	HSV2 Isolato #8	5,4	3×	16,2	2/3
		5,4	3×	16,2	3/3
32	HSV2 Isolato #9	5,4	3×	16,2	3/3
33	HSV2 Isolato #10	5,4	3×	16,2	3/3
34	HSV2 Isolato #11	5,4	3×	16,2	2/3
		5,4	6×	32,4	3/3
35	HSV2 Isolato #12	5,4	3×	16,2	1/3
		5,4	6×	32,4	3/3
36	HSV2 Isolato #13	5,4	3×	16,2	0/3
		5,4	6×	32,4	2/3
		5,4	12×	64,8	2/3
		5,4	24×	129,6	3/3
37	HSV2 Isolato #14	5,4	3×	16,2	1/3
		5,4	6×	32,4	3/3
38	HSV2 Isolato #15	5,4	3×	16,2	0/3
		5,4	6×	32,4	3/3
39	HSV2 Isolato #16	5,4	3×	16,2	1/3
		5,4	6×	32,4	3/3
40	HSV2 Isolato #17	5,4	3×	16,2	1/3
		5,4	6×	32,4	1/3
		5,4	12×	64,8	3/3
41	HSV2 Isolato #18	5,4	3×	16,2	3/3
42	HSV2 Isolato #19	5,4	3×	16,2	2/3
		5,4	6×	32,4	1/3
		5,4	12×	64,8	3/3
43	HSV2 Isolato #20	5,4	3×	16,2	0/3
		5,4	6×	32,4	1/3
		5,4	12×	64,8	3/3
44	HSV2 Isolato #21	5,4	3×	16,2	3/3

Specificità Analitica (Cross-Reattività)

La potenziale cross-reattività del prodotto HSV 1&2 ELITE MGB® Kit è stata valutata testando organismi strettamente correlati all'HSV o che causano sintomi clinici simili o che possono essere presenti nei siti cutanei e mucocutanei anogenitali e orali testati da questo dispositivo. Sono stati valutati 49 organismi potenziali cross-reattivi. Per ciascun organismo, il campione da testare è stato preparato da uno stock quantificato diluito alla concentrazione richiesta in UTM (Universal Transport Media). Gli organismi potenzialmente cross-reattivi, le concentrazioni valutate e i risultati sono presentati nella tabella sottostante.

Risultati del Test di Cross-Reattività

No.	Organismi potenzialmente cross-reattivi	Concentrazione testata	Risultato Qualitativo (#Rilevati/#Totale)	
			HSV1	HSV2
1	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
2	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
3	Adenovirus type 2	1×10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3
4	<i>Bacteroides fragilis</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
5	<i>Candida albicans</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
6	<i>Candida glabrata</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3

No.	Organismi potenzialmente cross-reattivi	Concentrazione testata	Risultato Qualitativo (#Rilevati/#Totale)	
			HSV1	HSV2
7	<i>Candida guilliermondii</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
8	<i>Candida krusei</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
9	<i>Candida lusitanae</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
10	<i>Candida parapsilosis</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
11	<i>Candida tropicalis</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
12	<i>Chlamydia trachomatis</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
13	Cytomegalovirus	1×10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3
14	<i>Enterobacter cloacae</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
15	Enterovirus	1×10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3
16	Epstein-Barr Virus	1×10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3
17	<i>Escherichia coli</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
18	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
19	<i>Gardnerella vaginalis</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
20	<i>Haemophilus ducreyi</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
21	Human Genomic DNA	500 ng/swab	0/3	0/3
22	Human Herpes Virus 6	1×10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3
23	Human Herpes Virus 7	1×10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3
24	Human papilloma virus 16	1×10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3
25	Human papilloma virus 18	1×10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3
26	Herpes Simplex Virus 1 (HSV1), isolato 20, ZMC	1×10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	3/3	0/3
27	Herpes Simplex Virus 2 (HSV2), isolato 20, ZMC	1×10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	3/3
28	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
29	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
30	<i>Mobiluncus curtisii</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
31	<i>Mobiluncus mulieris</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
32	<i>Moraxella catarrhalis</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
33	<i>Mycoplasma hominis</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
34	<i>Neisseria gonorrhoea</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
35	<i>Neisseria meningitidis</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
36	<i>Prevotella melaninogenica</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
37	Rubella Virus	1×10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3
38	<i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA)	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
39	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (MRSE)	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
44	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
41	<i>Streptococcus mitis</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
42	<i>Streptococcus mutans</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
43	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
44	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
45	<i>Streptococcus salivarius</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
46	<i>Toxoplasma gondii</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
47	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
48	Varicella-Zoster Virus (VZV)	1×10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3
49	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1×10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3

Interferenza Microbica

L'interferenza microbica è stata valutata in presenza di HSV1 o HSV2 addizionati ad una concentrazione pari a 3 × LoD in UTM e dei 49 organismi indicati nella tabella sopra. Ogni microrganismo è stato testato ad una concentrazione di 1 × 10⁶ CFU / mL o superiore per gli isolati batterici, oppure a 1 × 10⁵ TCID₅₀ / mL o superiore per i virus. Nessuno degli organismi non target che si ritiene possano essere trovati in campioni di tampone cutaneo e mucocutaneo tipici ha interferito con il rilevamento di specie HSV1 o HSV2.

Interferenza Competitiva di HSV1 e HSV2

L'interferenza competitiva è stata studiata utilizzando il prodotto HSV 1&2 ELITE MGB® Kit per valutare gli effetti di eventuali co-infezioni di HSV1 e HSV2 clinicamente rilevanti.

Lo studio ha valutato se un'alta concentrazione di un virus nel campione potrebbe potenzialmente influire sulle prestazioni del prodotto HSV 1&2 ELITE MGB® Kit per l'altro target presente a livelli bassi. Un campione a bassa positività è stato ideato a circa 3 × LoD per ciascun target (ceppo HSV1 MacIntyre e ceppo HSV2 MS), e un Ct basale è stato determinato per ciascun campione. Ogni potenziale virus concomitante di infezione è stato aggiunto al campione di basso livello e testato in triplicato. Sono state osservate interferenze competitive di HSV2 a livelli 1 × 10⁵, 1 × 10⁴ e 1 × 10³ HSV2. Non è stata osservata alcuna interferenza competitiva di HSV1 a tutti i livelli. I risultati del test sono mostrati nella tabella seguente.

Interferenza Competitiva dei target HSV1 e HSV2 in concentrazioni diverse

Baseline (basso livello)		Interferente Competitivo (Alta concentrazione)		Risultati Qualitativi (#Rilevati/#Totale)	
Ceppo	Concentrazione (TCID ₅₀ /mL)	Ceppo	Concentrazione (TCID ₅₀ /mL)	HSV1	HSV2
HSV1 MacIntyre	177	HSV2 MS	1×10 ⁵	0/3	3/3
HSV1 MacIntyre	177	HSV2 MS	1×10 ⁴	1/3	3/3
HSV1 MacIntyre	177	HSV2 MS	1×10 ³	1/3	3/3
HSV1 MacIntyre	177	HSV2 MS	1×10 ²	3/3	3/3
HSV1 MacIntyre	177	HSV2 MS	0	3/3	0/3
HSV2 MS	16.2	HSV1 MacIntyre	1×10 ⁵	3/3	3/3
HSV2 MS	16.2	HSV1 MacIntyre	1×10 ⁴	3/3	3/3
HSV2 MS	16.2	HSV1 MacIntyre	1×10 ³	3/3	3/3
HSV2 MS	16.2	HSV1 MacIntyre	1×10 ²	3/3	3/3
HSV2 MS	16.2	HSV1 MacIntyre	0	0/3	3/3

Inoltre, in uno studio separato entrambi i ceppi sono stati testati ad una concentrazione simile o uguale a of 3×LoD, 1×10³ e 1×10⁵, e nessuna interferenza competitiva è stata osservata.

Interferenza Competitiva dei target HSV1 e HSV2 in concentrazioni uguali

Concentrazione HSV1		Concentrazione HSV2		Risultati Qualitativi (#Rilevati/#Totale)		Risultati Quantitativi (%CV)	
Ceppo	Concentrazione (TCID ₅₀ /mL)	Ceppo	Concentrazione (TCID ₅₀ /mL)	HSV1	HSV2	HSV1	HSV2
HSV1 MacIntyre	1×10 ⁵	HSV2 MS	1×10 ⁵	5/5	5/5	3,02 %	1,64 %
HSV1 MacIntyre	1×10 ³	HSV2 MS	1×10 ³	5/5	5/5	1,09 %	2,95 %
HSV1 MacIntyre	177 (3×LoD)	HSV2 MS	16.2 (3×LoD)	5/5	5/5	1,74 %	1,88 %

Sostanze Interferenti

Le prestazioni del prodotto HSV 1&2 ELITE MGB® Kit sono state valutate in presenza di sostanze potenzialmente interferenti che potrebbero essere presenti nei tamponi delle lesioni ottenuti da superfici cutanee e mucocutanee. 33 sostanze potenzialmente interferenti alle concentrazioni indicate nella tabella sottostante sono state valutate in presenza del virus HSV1 o HSV2 aggiunto a ad una concentrazione pari a 3×LoD in UTM. Ogni membro del pannello è stato testato in triplicato. Nessuna interferenza per la rilevazione di HSV1 o HSV2 è stata osservata.

Pannello di Sostanze Interferenti

Potenziati Interferenti	Concentrazion e Interferente	#Rilevati/#Totale		
		HSV1	HSV2	IC
Sangue intero con EDTA	5% v/v	3/3	3/3	3/3
Buffy coat	5% v/v	3/3	3/3	3/3
Acyclovir	2.5 mg/mL	3/3	3/3	3/3
Albumian	5 mg/mL	3/3	3/3	3/3
Caseina	7 mg/mL	3/3	3/3	3/3
Urina femminile	10% v/v	3/3	3/3	3/3

Urina maschile	10% v/v	3/3	3/3	3/3
K-Y Brand jelly (lubrificante)	5% w/v	3/3	3/3	3/3
Lavanda vaginale	10% v/v	3/3	3/3	3/3
Spermicida	5% w/v	3/3	3/3	3/3
Yeast-Gard (trattamento omeopatico vaginale)	1% w/v	3/3	3/3	3/3
Monistat 1	5% w/v	3/3	3/3	3/3
Monistat 3	5% w/v	3/3	3/3	3/3
Crema Vagisil	1% w/v	3/3	3/3	3/3
Tioconazolo 1	5% w/v	3/3	3/3	3/3
Detergente femminile, pelle sensibile	10% v/v	3/3	3/3	3/3
Crema vaginale Clotrimazole-7	1% w/v	3/3	3/3	3/3
Gel Analgesico orale	5% w/v	3/3	3/3	3/3
Collutorio Listerine	10% v/v	3/3	3/3	3/3
Abreva	10% v/v	3/3	3/3	3/3
Balsamo labbra Carmex	1% w/v	3/3	3/3	3/3
Releev cold sore treatment (trattamento sintomi influenzali)	1% v/v	3/3	3/3	3/3
Trattamento herpes labiale	1% w/v	3/3	3/3	3/3
Dentifricio	5% w/v	3/3	3/3	3/3
Acetaminophen	5 mg/mL	3/3	3/3	3/3
Wal-Finate (antistaminico)	5 mg/mL	3/3	3/3	3/3
Cold-Eeze (trattamento sintomi influenzali)	7% w/v	3/3	3/3	3/3
Amido di mais non OGM	1,25 mg/mL	3/3	3/3	3/3
Unguento all'ossido di zinco	7% w/v	3/3	3/3	3/3
Sciroppo per la tosse	10mg/mL	3/3	3/3	3/3
Crema anti-prurito	7% w/v	3/3	3/3	3/3
Fluido seminale	7% v/v	3/3	3/3	3/3
Foscarnet sodium (anti-virale)	5% v/v	3/3	3/3	3/3

Carry-Over e Contaminazione crociata

Il carry-over e la contaminazione crociata sono stati valutati con il prodotto HSV 1&2 ELITE MGB® Kit in associazione con lo strumento ELITE InGenius testando campioni HSV1 altamente positivi e HSV1 e HSV2 negativi. Nessuna contaminazione crociata è stata osservata durante lo studio

Risultati di Carry-Over e Contaminazione crociata

Descrizione della corsa	Campioni positivi		Campioni negativi	
	# Neg	% Neg.	# Pos.	% Pos.
Run #1, BLANK	0 / 0	NA	0 / 10	0 %
Run #2, Checkerboard	0 / 5	0 %	0 / 6	0 %
Run #3, Checkerboard	0 / 6	0 %	0 / 6	0 %
Run #4, BLANK	0 / 0	NA	0 / 10	0 %
Run #5, Checkerboard	0 / 6	0 %	0 / 6	0 %
Run #6, Checkerboard	0 / 6	0 %	0 / 6	0 %
Run #7, Checkerboard	0 / 6	0 %	0 / 6	0 %
Tutte le corse	0 / 29	0 %	0 / 50	0 %

Stabilità dei campioni

Questo studio ha valutato sia la stabilità dei campioni sia la stabilità del campione sottoposto a cicli di congelamento / scongelamento. I campioni per la valutazione della stabilità sono stati preparati aggiungendo degli stock quantificati di virus HSV1 o HSV2 (ceppo HSV1 MacIntyre e ceppo HSV2 MS) in terreni UTM, M4, M4RT, M5 e M6. Ogni set di campioni per la valutazione della stabilità consisteva in:

- 5 replicati positivizzati ad una concentrazione pari a $3 \times \text{LoD}$,
- 5 replicati positivizzati ad una concentrazione pari a $1 \times 10^3 \text{ TCID}_{50}/\text{mL}$, e
- 5 replicati positivizzati ad una concentrazione pari a $1 \times 10^5 \text{ TCID}_{50}/\text{mL}$ (15 replicati totali per ogni set di campioni).

La stabilità per ogni set di campione è stata valutata e confermata a seguito di un'incubazione a ~+4 °C per una settimana. Tutti i campioni di HSV1 e HSV2 sono risultati essere stabili in terreno UTM, M4, M4RT, M5 e M6 per una settimana a ~+4 °C.

Le condizioni di conservazione sono state inoltre validate riesaminando campioni clinici precedentemente analizzati che sono stati conservati in un congelatore da -80 °C (\leq -70 °C) per un minimo di 4 mesi. Le concentrazioni dei campioni variavano all'interno del range clinico per HSV. Sono stati testati dieci campioni positivi per HSV1 o HSV2 per ciascun terreno (tranne M6 per i quali erano disponibili solo 7 campioni positivi per HSV). La positività di tutti i campioni è stata confermata dopo 4 mesi di conservazione in un congelatore -80 °C (\leq -70 °C).

5 serie di campioni preparati come riportato sopra in terreno UTM, M4, M4RT, M5 e M6 sono stati sottoposti a 3 cicli di congelamento / scongelamento. Tutti i campioni sono stati testati con il prodotto HSV 1&2 ELITe MGB® Kit su ELITe InGenius. I dati ottenuti mostrano che i virus HSV1 e HSV2 sono stabili dopo 3 cicli di congelamento-scongelamento in terreno UTM, M4, M4RT, M5 e M6.

Sommario dei dati di stabilità

Terreno\ Condizioni	+4 °C (1 settimana)	-70 °C (4 mesi)	3 cicli cong/scong
UTM	+	+	+
M4	+	+	+
M4RT	+	+	+
M5	+	+	+
M6	+	+	+

Studio di Confronto tra Matrici

Poiché tutti gli studi analitici sono stati condotti in terreno UTM (Universal Transport Media) e gli studi clinici sono stati condotti utilizzando terreno UTM, M4, M4RT, M5 e M6, è stato condotto uno studio di confronto tra matrici

Lo studio di confronto tra matrici è stato condotto utilizzando un pannello di campioni positivizzati composto da campioni addizionati di ceppi quantificati di virus HSV1 o HSV2 in ogni terreno raccomandato: UTM, M4, M4RT, M5 e M6. Ogni set di campioni consisteva di 3 replicati addizionati a $3 \times \text{LoD}$, 3 replicati addizionati a $1 \times 10^3 \text{ TCID}_{50} / \text{mL}$ e 3 replicati addizionati a $1 \times 10^5 \text{ TCID}_{50} / \text{mL}$ (9 replicati totali per ciascun set di campioni). Ogni campione è stato processato su ELITe InGenius utilizzando il prodotto HSV 1&2 ELITe MGB® Kit. Tutti i replicati in tutti i terreni sono stati rilevati e hanno mostrato risultati comparabili. I risultati del confronto tra terreni sono mostrati nella tabella di seguito:

Risultati dello Studio di Confronto tra Matrici

Target/ Canale	Titolo del Campione TCID ₅₀ /mL	Sample Matrix					Tutti i terreni C _T medio	Tutti i terreni StDev	Tutti i terreni %CV
		UTM, C _T medio	M4, C _T medio	M4RT, C _T medio	M5, C _T medio	M6, C _T medio			
HSV2 CH1, FAM	1,00E+05	27,15	26,76	26,42	26,82	27,23	26,88	0,33	1,21%
	1,00E+03	33,86	33,59	33,76	33,51	34,15	33,77	0,25	0,74%
	3×LoD	36,32	35,56	35,96	35,54	36,14	35,91	0,35	0,97%
HSV1 CH4, AP593	1,00E+05	22,02	21,13	20,82	20,77	20,63	21,08	0,56	2,66%
	1,00E+03	28,01	28,47	27,97	28,58	26,72	27,95	0,74	2,64%
	3×LoD	35,84	36,07	37,02	35,43	34,69	35,81	0,86	2,39%

Tutti i terreni testati hanno mostrato prestazioni comparabili e possono essere raccomandati per la raccolta e il test dei campioni con il prodotto HSV 1&2 ELITe MGB® Kit.

Valutazione Clinica

Descrizione dello Studio

Per valutare le prestazioni cliniche del prodotto HSV 1&2 ELITe MGB® Kit, le prestazioni del dispositivo sono state confrontate con un metodo di riferimento composito che consisteva in un test approvato dall'FDA e in una PCR validata per HSV 1&2 seguita da sequenziamento bidirezionale di campioni positivi all'elettroforesi su gel. Un risultato positivo ottenuto con il metodo di riferimento composito è definito positivo dalla PCR approvata dall'FDA o dal sequenziamento validato. Sono necessari due risultati negativi per confermare un negativo.

Nello studio sono stati raccolti e valutati un totale di 1.174 campioni di tampone archiviati e raccolti in modo prospettico da lesioni cutanee (546) e mucocutanee (628) da pazienti sintomatici.

I campioni sono stati testati con il prodotto HSV 1&2 ELITe MGB® Kit e con il metodo di riferimento composito. Dei 1.174 campioni testati, 2 campioni sono risultati essere non validi a seguito dell'analisi con il prodotto HSV 1&2 ELITe MGB® Kit e non sono stati inclusi nelle tabelle di analisi delle prestazioni.

Dei 1.172 campioni rimanenti, un altro campione è risultato non valido o per HSV1 e altri due campioni sono risultati essere non validi per HSV2 con il metodo di riferimento composito e non sono stati inclusi nelle tabelle di analisi delle prestazioni.

Pertanto, sono stati analizzati 1.171 per HSV1 e 1.170 campioni per HSV2.

Risultati: Valori Attesi/Range di Riferimento

Prevalenza per HSV 1&2

I valori attesi osservati per HSV1 e HSV2 nella popolazione di questo studio che ha previsto l'utilizzo del prodotto HSV 1&2 ELITe MGB® Kit, sono stati calcolati per campioni cutanei e mucocutanee e sono riassunti per il set di campioni combinato per gruppo di età, per genere e per fonte di campione nelle tabelle seguenti. Un numero totale di 6 doppi positivi per HSV1 e HSV2 sono stati rilevati dal prodotto HSV 1&2 ELITe MGB® Kit e uno dei campioni è stato confermato positivo con il metodo di riferimento composito.

Prevalenza di HSV 1&2 in lesioni cutanee e mucocutanee per età e genere

Genere	Gruppo di età	Totale	HSV 1&2 ELITe MGB® Kit risultati per HSV1		HSV 1&2 ELITe MGB® Kit risultati per HSV2	
			Positivo	Prevalenza	Positivo	Prevalenza
Femmina	<20	42	18	42,9%	12	28,6%
	20-29	244	68	27,9%	70	28,7%
	30-39	143	24	16,8%	45	31,5%
	40-49	97	14	14,4%	25	25,8%
	50-59	88	18	20,5%	24	27,3%
	≥60	123	21	17,1%	30	24,4%
	All	737	163	22,1%	206	28,0%
Maschio	<20	20	4	20,0%	2	10,0%
	20-29	144	25	17,4%	33	22,9%
	30-39	117	15	12,8%	25	21,4%
	40-49	48	5	10,4%	15	31,3%
	50-59	44	6	13,6%	9	20,5%
	≥60	61	5	8,2%	13	21,3%
	All	434	60	13,8%	97	22,4%
Genere non identificato		1	0	0%	0	0%
Totale		1172	223	19,0%	303	25,9%

Prevalenza di HSV 1&2 in lesioni cutanee per fonte della lesione

Fonte della lesione	Totale	HSV 1&2 ELITe MGB® Kit risultati per HSV1		HSV 1&2 ELITe MGB® Kit risultati per HSV2	
		Positivo	Prevalenza	Positivo	Prevalenza
Genitale/Anogenitale	248	38	15,3%	78	31,5%
Lesione della pelle	297	47	15,8%	53	17,8%
Totale	545	85	15,6%	131	24,0%

Prevalenza di HSV 1&2 in lesioni mucocutanee per fonte della lesione

Fonte della lesione	Totale	HSV 1&2 ELITe MGB® Kit risultati per HSV1		HSV 1&2 ELITe MGB® Kit risultati per HSV2	
		Positivo	Prevalenza	Positivo	Prevalenza
Genitale/Vaginale/ Cervicale	501	109	21,8%	163	32,5%
Orale	74	21	28,4%	2	2,7%
Altro	27	5	18,5%	2	7,4 %
Anoretale	12	2	16,7%	5	41,7%
Uretrale	6	0	0 %	0	0 %
Oculare	5	0	0 %	0	0 %
Nasale	2	1	50,0 %	0	0 %
Totale	627	138	22,0%	172	27,4%

Risultati: Prestazioni Cliniche

HSV1 Positive/Negative Percent Agreements (PPA/NPA) (percentuale di concordanza di campioni HSV1 positivi e negativi) – Sintesi dei Risultati:

La Percentuale di Concordanza Positiva e la Percentuale di Concordanza Negativa (PPA/NPA) del prodotto HSV 1&2 ELITe MGB® Kit in confronto al metodo di riferimento composito nella rilevazione del DNA di HSV1 in lesioni cutanee e mucocutanee è sintetizzato nella tabella seguente:

Riepilogo dei risultati di HSV1 per campioni validi di lesione cutanea (N=545)

HSV 1&2 ELITe MGB® Kit	Metodo di Riferimento Composito		
	Positivi	Negativi	Totale
Positivi	78	7	85
Negativi	1	459	460
Totale	79	466	545
	Risultati	95% IC	
PPA	98,7% (78/79)	93,2-99,8%	
NPA	98,5% (459/466)	96,9-99,3%	

Riepilogo dei risultati di HSV1 per campioni validi di lesione mucocutanea (N=626)

HSV 1&2 ELITe MGB® Kit	Metodo di Riferimento Composito		
	Positivi	Positivi	Positivi
Positivi	126	12	138
Negativi	1	487	488
Totale	127	499	626
	Risultati	95% IC	
PPA	99,2% (126/127)	95,7-99,9%	
NPA	97,6% (487/499)	95,8-98,6%	

HSV2 PPA/NPA - Sintesi dei Risultati:

La Percentuale di Concordanza Positiva e la Percentuale di Concordanza Negativa (PPA/NPA) del prodotto HSV 1&2 ELITe MGB® Kit in confronto al metodo di riferimento composito per la rilevazione del DNA di HSV2 in lesioni cutanee e mucocutanee è sintetizzata nella tabella seguente:

Riepilogo dei risultati di HSV2 per campioni validi di lesione cutanea (N=545)

HSV 1&2 ELITe MGB® Kit	Metodo di Riferimento Composito		
	Positivi	Positivi	Positivi
Positivi	125	6	131
Negativi	5	409	414
Totale	130	415	545
	Risultati	95% IC	
PPA	96,2% (125/130)	91,3-98,3%	
NPA	98,6% (409/415)	96,9-99,3%	

Riepilogo dei risultati di HSV2 per campioni validi di lesione mucocutanea (N=625)

HSV 1&2 ELITE MGB® Kit	Metodo di Riferimento Composito		
	Positivi	Positivi	Positivi
Positivi	164	8	172
Negativi	4	449	453
Totale	168	457	625
	Risultati	95% IC	
PPA	97,6% (164/168)	94,0-99,1%	
NPA	98,2% (449/457)	96,6-99,1%	

Studio di un pannello orale positivizzato per HSV2

A causa della difficoltà di ottenere un numero di campioni orali positivi per HSV2 sufficiente, i test per HSV2 sono stati integrati utilizzando un pannello positivizzato. Il pannello risultava composto da 75 campioni di tampone da guancia negativi e raccolti in Universal Transport Media (UTM) e addizionati con HSV1 e HSV2 a varie concentrazioni (come mostrato nella tabella seguente).

pannello orale positivizzato per HSV

Livello	Campione #	Titolo campione positivizzato	× LoD
Livello 1	10	HSV2 Positivo @ 5.400 TCID ₅₀ /mL	1,000×LoD
Livello 2	10	HSV2 Positivo @ 1.080 TCID ₅₀ /mL	200×LoD
Livello 3	10	HSV2 Positivo @ 216 TCID ₅₀ /mL	40×LoD
Livello 4	10	HSV2 Positivo @ 43,2 TCID ₅₀ /mL	8×LoD
Livello 5	10	HSV2 Positivo @ 16,2 TCID ₅₀ /mL	3×LoD
Livello 6	10	HSV1 Positivo @ 590 TCID ₅₀ /mL	10×LoD
Livello 7	15	Campione orale negativo per HSV1/HSV2	
Totale	75		

Tutti i membri del pannello sono stati randomizzati, testati anonimizzati dall'operatore e testati con il prodotto HSV 1&2 ELITE MGB® Kit in associazione allo strumento ELITE InGenius secondo il protocollo di studio clinico.

Lo studio pannello di campioni orali positivizzati per HSV2 ha rivelato che 49 campioni su 50 risultavano positivi usando il prodotto HSV 1&2 ELITE MGB® Kit (rilevazione del 98%).

Nota bene: I dati e i risultati completi delle prove eseguite per la valutazione delle caratteristiche prestazionali del prodotto con le matrici e gli strumenti sono registrati nel Fascicolo Tecnico di Prodotto di "HSV1&2 ELITE MGB® Kit", FTP RTK403ING.

BIBLIOGRAFIA

- J Schiffer et al. (2015) *Principles and Practice of Infectious Diseases* 2: 1713-30
 S. Vanjeri et al. (2012) *J Glob Infect Dis.* 4(3): 139-40
 E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e30

LIMITI DELLA PROCEDURA

Utilizzare questo prodotto soltanto con i seguenti campioni clinici: campioni di tampone di lesione dei pazienti conservati in UTM e M4, M4RT, M5 o M6.

Al momento, non sono disponibili dati riguardanti le prestazioni del prodotto con i seguenti campioni clinici: liquido cefalorachidiano (CSF), campioni provenienti da lesioni uretrali, oculari e nasali mucocutanee.

I risultati ottenuti con questo prodotto dipendono dalla corretta identificazione, raccolta, trasporto, conservazione e preparazione dei campioni. Per evitare risultati errati è quindi necessario procedere con cura durante queste fasi e seguire attentamente le istruzioni fornite con i prodotti per l'estrazione degli acidi nucleici.

La metodica di amplificazione real time utilizzata in questo prodotto ha un'elevata sensibilità analitica che la rende soggetta a cross-contaminazioni da parte di campioni clinici positivi, di controlli positivi e degli stessi prodotti della reazione di amplificazione. Le cross-contaminazioni possono produrre risultati falsi positivi. Il formato del prodotto è in grado di limitare le cross-contaminazioni; tuttavia questi fenomeni possono essere evitati solo attenendosi alle buone prassi di laboratorio e seguendo attentamente le istruzioni riportate nel presente manuale.

Questo prodotto deve essere utilizzato da personale qualificato e addestrato alla manipolazione di campioni biologici potenzialmente in grado di trasmettere agenti infettivi e di preparati chimici classificati come pericolosi al fine di evitare incidenti con conseguenze potenzialmente gravi per l'utilizzatore o altre persone.

Questo prodotto richiede l'uso di abbigliamento da lavoro e la disponibilità di aree idonee alla lavorazione di campioni biologici potenzialmente in grado di trasmettere agenti infettivi e di preparati chimici classificati come pericolosi al fine di evitare incidenti con conseguenze potenzialmente gravi per l'utilizzatore o altre persone.

Questo prodotto richiede indumenti di lavoro e strumenti dedicati alla preparazione delle sessioni di lavoro per evitare risultati falsi positivi.

A causa di differenze intrinseche tra tecnologie, si raccomanda agli utilizzatori di eseguire studi di correlazione al fine di valutare le differenze a livello tecnologico prima di cambiare prodotto.

È stato scoperto che il rilevamento di HSV1 è inibito in presenza di titoli di DNA HSV2 di 1×10^3 TCID₅₀ / mL o superiore nello studio analitico sulle interferenze.

Un risultato negativo ottenuto con questo prodotto indica che il DNA target non è stato rilevato nel DNA estratto dal campione, tuttavia non si può escludere che il DNA target abbia un titolo più basso del limite di rilevazione del prodotto (vedi "Caratteristiche delle prestazioni"). In questo caso il risultato potrebbe essere un falso negativo.

Potenziati interferenze causate da particolari condizioni del paziente potrebbero causare risultati errati.

Talvolta, i risultati ottenuti con questo prodotto possono non essere validi a causa di problemi con il controllo interno. In questo caso il campione dovrà essere analizzato di nuovo, a cominciare dall'estrazione, con conseguente possibile ritardo nel conseguimento dei risultati finali.

Possibili polimorfismi nella regione del DNA target coperta dai primer e dalle sonde del prodotto potrebbero compromettere la rilevazione dei DNA virali di HSV1 e/o HSV2.

Come per qualunque altro dispositivo diagnostico, i risultati ottenuti con questo prodotto devono essere interpretati tenendo conto di tutti i dati clinici e di altri esami di laboratorio eseguiti sul paziente.

Come per qualunque altro dispositivo medico diagnostico, vi è un rischio residuo di ottenere con questo prodotto risultati non validi, falsi positivi e falsi negativi. Tale rischio residuo non può essere eliminato né ulteriormente ridotto. In taluni casi, potrebbe indurre decisioni sbagliate con effetti potenzialmente pericolosi per il paziente.

PROBLEMI E SOLUZIONI

Reazione del Controllo Positivo non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errore nella preparazione della sessione.	Controllare la posizione della PCR Mix e del Controllo Positivo. Controllare i volumi della PCR Mix e del Controllo Positivo.
Degradazione del Controllo Positivo.	Utilizzare una nuova aliquota del Controllo Positivo.
Degradazione della PCR Mix.	Utilizzare una nuova aliquota della PCR Mix.
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup.

Reazione del Controllo Negativo non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errore nella preparazione della sessione.	Controllare la posizione della PCR Mix e del Controllo Negativo. Controllare i volumi della PCR Mix e del Controllo Negativo.
Contaminazione del Controllo Negativo	Utilizzare una nuova aliquota del Controllo Negativo.
Contaminazione della PCR Mix.	Utilizzare una nuova aliquota della PCR Mix.
Contaminazione dell'area di estrazione, dei rack e degli inventory block.	Pulire le superfici con detergenti acquosi, lavare i camici, sostituire provette e puntali in uso.
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup.

Reazione del Campione non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errore nella preparazione della sessione.	Controllare la posizione della PCR Mix e del campione. Controllare i volumi della PCR Mix e del campione.
Degradazione del Controllo Interno.	Utilizzare nuove aliquote di Controllo Interno.
Inibizione dovuta a sostanze interferenti con il campione.	Ripetere l'amplificazione con una diluizione 1:2 in acqua per biologia molecolare del campione eluito in una sessione in modalità "PCR only". Ripetere l'estrazione e l'amplificazione del campione con una diluizione 1:2 in acqua per biologia molecolare del campione primario in una sessione in modalità "Extract + PCR".
Degradazione della PCR Mix.	Utilizzare una nuova aliquota della PCR Mix.
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup.

Error 30103	
Possibili cause	Soluzioni
Concentrazione troppo elevata del target nel campione.	Se nel PCR plot appare un'amplificazione significativa: - selezionare il track relativo al campione e approvare manualmente il risultato. Se è richiesto un valore di Ct: - ripetere l'amplificazione con una diluizione 1:10 in acqua per biologia molecolare del campione eluito in una sessione in modalità "PCR only" oppure - ripetere l'estrazione con una diluizione 1:10 in acqua per biologia molecolare del campione primario in una sessione in modalità "Extract + PCR".

LEGENDA DEI SIMBOLI

REF

Numero di catalogo.



Limite superiore di temperatura.

LOT

Codice del lotto.



Da utilizzarsi entro (ultimo giorno del mese).

IVD

Dispositivo Medico *In vitro*.



Conforme ai requisiti della Direttiva Europea 98\79\CE relativa ai dispositivi medici diagnostici *in vitro*.



Contenuto sufficiente per "N" test.



Consultare le istruzioni per l'uso.

CONT

Contenuto.

CONTROL

Controllo

CONTROL+

Controllo Positivo

CONTROL-

Controllo Negativo



Conservare al riparo dalla luce del sole.



Fabbricante.



Paese di fabbricazione

AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA

I reagenti di rilevazione ELITe MGB ® sono coperti da uno o più brevetti USA con numero di brevetto 7319022, 7348146, 7541454, 7671218, 7723038, 7767834, 8163910, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529 e da brevetti EP numero di brevetto 2689031, 2714939, 2736916, 2997161 inoltre sono state presentate domande di brevetto attualmente in attesa di approvazione.

La tecnologia ELITe InGenius® è coperta da brevetti e richieste di brevetti.

Questa licenza limitata permette all'individuo o alla persona giuridica alla quale il prodotto è stato fornito di utilizzarlo unitamente ai dati generati dal suo utilizzo solo per la diagnostica umana. Né ELITechGroup S.p.A. né i suoi licenziatari concedono altre licenze, esplicite o implicite per altri scopi.