

Istruzioni per l'uso

Pneumocystis ELITe MGB® Kit

reagenti per la Real-Time PCR del DNA



REF RTS150ING

UDI 08033891486723



CRONOLOGIA REVISIONI

Revisione	Notifiche dei cambiamenti	Data (gg/mm/aaaa)
03	<p>Sostituzione della provetta da 2 mL 953-217 e del tappo bianco 953-223 con la provetta da 2 mL 953-065 per il componente PCR Mix.</p> <p>Aggiornamento dell'uso previsto.</p> <p>Aggiornamento della confezione della provetta per PCR Mix (paragrafo "Materiali inclusi nel prodotto")</p> <p>Aggiornamento del paragrafo "Altri prodotti richiesti".</p> <p>Aggiornamento del paragrafo "Avviso per l'utilizzatore"</p> <p>Aggiornamento del paragrafo "Avviso per l'acquirente: licenza limitata"</p> <p>Aggiornamento del paragrafo "Simboli" con il simbolo "Consultare le istruzioni per l'uso"</p> <p>Nuova impostazione grafica e del contenuto delle Istruzioni per l'uso (IFU).</p>	09/09/2025
02	<p>Estensione dell'utilizzo del prodotto in associazione con lo strumento «ELiTe BeGenius®» (cod. INT040) e matrice dell'espettorato.</p> <p>Aggiornamento delle CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI:</p> <ul style="list-style-type: none"> — aggiornamento del valore ULoQ per la matrice dell'espettorato — Aggiornamento dell'intervallo di misurazione lineare per l'espettorato eseguito in matrice anziché in PBS. <p>Nuova impostazione grafica e del contenuto delle Istruzioni per l'uso (IFU).</p>	25/07/2024
01	Estensione dell'utilizzo del prodotto sullo strumento «ELiTe BeGenius®» (cod. INT040) e matrice BAL. Valore ULoQ/LLoQ aggiornato calcolato sulla matrice BAL. Descrizione del valore di cut-off dell'IC.	15/05/2023
00	Nuovo sviluppo del prodotto.	09/11/2019

NOTA

La revisione delle presenti istruzioni per l'uso è compatibile anche con le versioni precedenti del kit.

INDICE

1 USO PREVISTO	4
2 PRINCIPIO DEL SAGGIO.....	4
3 DESCRIZIONE DEL PRODOTTO	4
4 MATERIALI INCLUSI NEL PRODOTTO	4
5 MATERIALI RICHIESTI MA NON INCLUSI NEL PRODOTTO	5
6 ALTRI PRODOTTI RICHIESTI	5
7 AVVERTENZE E PRECAUZIONI	5
8 CAMPIONI E CONTROLLI	7
9 PROCEDURA ELITe InGenius.....	9
10 PROCEDURA ELITe BeGenius	15
11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI	20
12 BIBLIOGRAFIA	28
13 LIMITI DELLA PROCEDURA	29
14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI	30
15 LEGENDA DEI SIMBOLI	32
16 AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA.....	33
Appendix A QUICK START GUIDE.....	34

1 USO PREVISTO

Il prodotto **Pneumocystis ELITE MGB Kit** è un dispositivo medico-diagnostico *in vitro* di professionisti sanitari come test quantitativo della Real-Time PCR degli acidi nucleici per la **rilevazione e la quantificazione del DNA di *Pneumocystis jirovecii* (PJ)** in campioni di DNA estratti da campioni clinici.

Il saggio è validato in associazione con gli strumenti **ELITE InGenius®** ed **ELITE BeGenius®**, sistemi automatizzati e integrati per l'estrazione, la Real-Time PCR e l'interpretazione dei risultati, utilizzando campioni di lavaggio broncoalveolare (BAL)/broncoaspirato (BA) ed espettorato liquefatto.

Il prodotto è destinato all'uso diagnostico *in vitro* come ausilio nella diagnosi e nel monitoraggio dell'infezione da *Pneumocystis jirovecii*.

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

2 PRINCIPIO DEL SAGGIO

Il saggio è un test di Real-Time PCR quantitativo per la rilevazione del DNA di *Pneumocystis jirovecii* (**PJ**) isolato da campioni clinici amplificati utilizzando il reagente del saggio **PJ PCR Mix**, che contiene primer e sonde con tecnologia ELITE MGB®.

Le sonde ELITE MGB vengono attivate quando ibridano con il prodotto specifico della PCR. **ELITE InGenius** ed **ELITE BeGenius** monitorano l'incremento di fluorescenza emessa e calcolano i "cicli soglia" (Ct) e le temperature di melting (Tm). La quantità di DNA di PJ è calcolata sulla base di una curva di calibrazione memorizzata.

Nelle sonde ELITE MGB i fluorofori non emettono segnale quando la sonda non ibrida con il prodotto di reazione specifico. Quando la sonda ibrida con il prodotto specifico di amplificazione, il quencher viene separato dal fluoroforo ed emette il segnale di fluorescenza. Da notare che la sonda non viene idrolizzata durante la PCR e può essere utilizzata per l'analisi di dissociazione e il calcolo della temperatura di melting.

3 DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

Il prodotto **Pneumocystis ELITE MGB Kit** fornisce il reagente del saggio **PJ PCR Mix**, ossia una miscela PCR ottimizzata e stabilizzata che contiene i primer e le sonde specifici per:

- la **subunità grande mitocondriale del gene rRNA (mtLSU)** di PJ, rilevata nel Canale **PJ**; la sonda è stabilizzata con MGB, inattivata con Eclipse Dark Quencher® e marcata con il colorante FAM,
- Internal Control, sequenza artificiale **IC2**, rilevata nel Canale **IC**; la sonda è stabilizzata con MGB, inattivata con Eclipse Dark Quencher e marcata con il colorante AquaPhluor 525 (AP525).

La **PJ PCR Mix** contiene anche buffer, magnesio cloruro, trifosfati nucleotidi e DNA polimerasi "hot-start".

Il prodotto **Pneumocystis ELITE MGB Kit** contiene reagenti sufficienti per effettuare **96 test** su **ELITE InGenius** ed **ELITE BeGenius (12 test per ciascun tubo)**, utilizzando 20 µL per reazione.

Il prodotto **Pneumocystis ELITE MGB Kit** può essere utilizzato anche in associazione con strumenti equivalenti.

4 MATERIALI INCLUSI NEL PRODOTTO

Tabella 1

Componente	Descrizione	Quantità	Classificazione dei rischi
PJ PCR Mix cod. RTS150ING	Miscela di reagenti per Real-Time PCR in tubo con tappo NEUTRO	8 x 280 µL	-

5 MATERIALI RICHIESTI MA NON INCLUSI NEL PRODOTTO

- Cappa a flusso laminare.
- Guanti non talcati monouso in nitrile o simili.
- Agitatore Vortex.
- Centrifuga da banco (circa 5.000 giri/minuto).
- Microcentrifuga da banco (circa 13.000 giri/minuto).
- Micropipette e puntali sterili con filtro per aerosol o a spostamento positivo (intervallo di volume: 0,5-1000 µL).
- Tubi sterili da 2,0 mL con tappo a vite (Sarstedt, cod. 72.694.005).
- Tubi sterili da 0,5 mL con tappo a vite (Sarstedt, cod. 72.730.005).
- Acqua per biologia molecolare.

6 ALTRI PRODOTTI RICHIESTI

I reagenti per l'estrazione del DNA del campione, il controllo interno di estrazione e inibizione, i controlli positivi e negativi di amplificazione, gli standard di DNA e i materiali di consumo **non sono** inclusi in questo prodotto.

Per l'estrazione automatica degli acidi nucleici, la Real-Time PCR e l'interpretazione dei risultati dei campioni, sono richiesti i seguenti prodotti:

Tabella 2

Strumenti e software	Prodotti e reagenti
ELiTe InGenius (ELiTechGroup S.p.A., EG SpA cod. INT030) ELiTe InGenius Software versione 1.3.0.19 (o successiva) PJ ELiTe STD , Assay Protocol con parametri per l'analisi dei calibratori PJ ELiTe Be_PC , Assay Protocol con parametri per l'analisi del Positive Control. PJ ELiTe NC , Assay Protocol con parametri per l'analisi del Negative Control PJ ELiTe BAL_200_100 , Assay Protocol con parametri per l'analisi dei campioni BAL/BA PJ ELiTe SP_200_100 , Assay Protocol con parametri per l'analisi dei campioni di espettorato	Pneumocystis - ELiTe Positive Control (EG SpA, cod. CTR150PLD). Pneumocystis ELiTe Standard (EG SpA, cod. STD150PLD) ELiTe InGenius SP200 (EG SpA, cod. INT032SP200) CPE - Internal Control (EG SpA, cod. CTCPE). ELiTe InGenius ed ELiTe BeGenius Consumable Set (vedere le Istruzioni per l'uso di ELiTe InGenius ed ELiTe BeGenius).
ELiTe BeGenius (EG SpA cod. INT040) ELiTe BeGenius Software versione 2.3.0. (o successiva) PJ ELiTe Be STD , Assay Protocol con parametri per l'analisi dei calibratori PJ ELiTe Be_PC , Assay Protocol con parametri per l'analisi del Positive Control PJ ELiTe Be_NC , Assay Protocol con parametri per l'analisi del Negative Control PJ ELiTe Be BAL_200_100 , Assay Protocol con parametri per l'analisi dei campioni BAL/BA PJ ELiTe Be SP_200_100 , Assay Protocol con parametri per l'analisi dei campioni di espettorato	

7 AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Questo prodotto è riservato esclusivamente all'uso in vitro.

7.1 Avvertenze e precauzioni generali

Manipolare e smaltire tutti i campioni biologici come se fossero potenzialmente infettivi. Evitare il contatto diretto con campioni biologici. Evitare di produrre schizzi o aerosol. Provette, puntali e altri materiali che vengono a contatto con i campioni biologici devono essere trattati per almeno 30 minuti con ipoclorito di sodio (candeggina) al 3% o in autoclave a 121 °C per un'ora prima di smaltirli.

Manipolare e smaltire tutti i reagenti e tutti i materiali utilizzati per eseguire il saggio come se fossero potenzialmente infettivi. Evitare il contatto diretto con i reagenti. Evitare di produrre schizzi o aerosol. Trattare e smaltire i rifiuti nel rispetto di norme di sicurezza adeguate. Incenerire il materiale monouso combustibile. Neutralizzare i rifiuti liquidi contenenti acidi o basi prima di smaltirli. Evitare che i reagenti di estrazione entrino in contatto con l'ipoclorito di sodio (candeggina).

- Indossare indumenti protettivi e guanti adatti a proteggersi gli occhi e il viso.
- Non pipettare mai le soluzioni con la bocca.
- Non mangiare, bere, fumare o applicare cosmetici nelle aree di lavoro.
- Lavarsi accuratamente le mani dopo avere maneggiato campioni e reagenti.
- Eliminare i reagenti avanzati e i rifiuti secondo le norme vigenti.
- Prima di eseguire il saggio, leggere attentamente tutte le istruzioni.
- Durante l'esecuzione del saggio attenersi alle istruzioni fornite con il prodotto.
- Non utilizzare il prodotto oltre la data di scadenza indicata.
- Utilizzare solo i reagenti in dotazione con il prodotto e quelli consigliati dal fabbricante.
- Non utilizzare reagenti provenienti da lotti diversi.
- Non utilizzare reagenti di altri fabbricanti.

7.2 Avvertenze e precauzioni per la biologia molecolare

Le procedure di biologia molecolare devono essere eseguite da personale qualificato e addestrato per evitare il rischio di risultati errati, soprattutto a causa della degradazione degli acidi nucleici dei campioni o della contaminazione dei campioni stessi da parte di prodotti della PCR.

Non spostare mai i camici, guanti o strumenti da laboratorio dall'area designata per l'amplificazione/rilevazione dei prodotti della reazione di amplificazione all'area designata per l'estrazione/preparazione delle reazioni di amplificazione.

Utilizzare camici, guanti e strumenti per la preparazione delle sessioni di lavoro.

I campioni devono essere idonei e, se possibile, specifici per questo tipo di analisi. Manipolare i campioni sotto una cappa a flusso laminare. Utilizzare le pipette destinate alla manipolazione dei campioni solo per questo specifico scopo. Utilizzare pipette a spostamento positivo o con puntali con filtro per aerosol. Utilizzare puntali sterili, esenti da DNasi e RNasi, come anche da DNA e RNA.

Manipolare i reagenti sotto una cappa a flusso laminare. Utilizzare le pipette destinate alla manipolazione dei reagenti unicamente per questo scopo. Utilizzare pipette a spostamento positivo o con puntali con filtro per aerosol. Utilizzare puntali sterili, esenti da DNasi e RNasi, come anche da DNA e RNA.

I prodotti per l'estrazione devono essere manipolati in modo da impedirne la dispersione nell'ambiente ed evitare la contaminazione dell'area di lavoro dello strumento.

La cassetta per la PCR deve essere maneggiata con cura e non deve mai essere aperta per evitare la diffusione dei prodotti della PCR e la contaminazione da trasferimento.

7.3 Avvertenze e precauzioni specifiche per i componenti

Tabella 3

Componente	Temperatura di conservazione	Uso dopo la prima apertura	Cicli di congelamento/scongelo	Stabilità sullo strumento (ELiTe InGenius ed ELiTe BeGenius)
PJ— PCR Mix	-20 °C o inferiore (al riparo dalla luce)	Un mese	Fino a sette	Fino a sette sessioni indipendenti* di tre ore ciascuna oppure fino a 7 ore consecutive (2 sessioni di 3 ore ciascuna e il tempo necessario per iniziare una terza sessione)

*con congelamento intermedio.

8 CAMPIONI E CONTROLLI

8.1 Campioni

Questo prodotto deve essere utilizzato su **ELiTe InGenius** ed **ELiTe BeGenius** con i seguenti campioni clinici, identificati e manipolati secondo le linee guida del laboratorio e raccolti, trasportati e conservati nelle condizioni indicate di seguito:

Tabella 4

Campione	Requisiti per la raccolta	Condizioni di trasporto/conservazione		
		+2/+8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Lavaggio bronco-alveolare/ broncoaspirato (BAL/BA)	in soluzione fisiologica sterile o PBS* sterile	≤1 settimana	≤30 giorni	≤1 anno
Espettorato (SP)		≤1 settimana	≤30 giorni	Lungo periodo

*PBS: Soluzione salina tamponata con fosfato

Se i campioni BAL/BA sono particolarmente mucosi, possono essere liquefatti con reagenti a base di ditiotreitolo (ad es. Sputasol, Oxoid, Thermo Fisher Scientific) secondo le linee guida del laboratorio.

I campioni di espettorato devono essere liquefatti con reagenti a base di ditiotreitolo (ad es. Sputasol, Oxoid, Thermo Fisher Scientific) secondo le linee guida di laboratorio.

Si raccomanda di suddividere i campioni in aliquote prima di congelarli, per evitare di ripetere più cicli di congelamento e scongelamento. Se si usano campioni congelati, scongelarli immediatamente prima dell'estrazione in modo da evitare la possibile degradazione degli acidi nucleici.

Per l'analisi di campioni su **ELiTe InGenius** ed **ELiTe BeGenius**, è necessario utilizzare gli Assay Protocol indicati di seguito. Questi protocolli IVD sono stati validati per l'uso specifico dei prodotti ELiTe MGB Kit e gli strumenti **ELiTe InGenius** o **ELiTe BeGenius** con le matrici indicate.

Tabella 5 Protocolli analitici per Pneumocystis ELiTe MGB Kit

Campione	Strumento	Nome Assay Protocol	Referto	Caratteristiche
Lavaggio bronco-alveolare/ broncoaspirato (BAL/ BA)	ELiTe InGenius	PJ ELiTe_BAL_200_100	Copie/mL	Volume di estrazione in ingresso: 200 µL Volume eluizione: 100 µL Controllo interno: 10 µL Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1 Volume PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 20 µL
	ELiTe BeGenius	PJ ELiTe_Be_BAL_200_100		
Espettorato (SP)	ELiTe InGenius	PJ ELiTe_SP_200_100	Copie/mL	Volume di estrazione in ingresso: 200 µL Volume eluizione: 100 µL Controllo interno: 10 µL Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1 Volume PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 20 µL
	ELiTe BeGenius	PJ ELiTe_Be_SP_200_100		

Per tutti i protocolli, si devono trasferire 200 µL di campione in un Extraction tube (per ELiTe InGenius) o in una provetta Sarstedt da 2 mL (per ELiTe BeGenius).

NOTA

Il trasferimento con le pipette dei campioni nell'**Extraction tube** o nella **provetta Sarstedt da 2 mL** potrebbe **generare contaminazione**. Utilizzare le pipette appropriate e seguire tutte le raccomandazioni contenute nella sezione "Avvertenze e Precauzioni".

Gli acidi nucleici purificati possono essere lasciati a temperatura ambiente per 16 ore e conservati a -20 °C o a temperatura inferiore per un periodo non superiore a un mese.

Per controllare i dati relativi alle sostanze interferenti, fare riferimento a "Sostanze potenzialmente interferenti" nella sezione Caratteristiche delle prestazioni.

Quantità di DNA genomico umano superiori a 1 µg estratte dal campione potrebbero inibire l'amplificazione in tempo reale.

8.2 Calibratori e controlli per PCR

La curva di calibrazione deve essere generata e approvata per ogni lotto di reagente per PCR.

- Per la curva di calibrazione, utilizzare i quattro livelli del prodotto **Pneumocystis ELiTe Standard** (non fornito con questo kit) con gli Assay Protocol **PJ ELiTe_STD** o **PJ ELiTe_Be_STD**.

NOTA

La concentrazione dei quattro prodotti Q – PCR Standard è espressa in copie/reazione (10^5 copie/reaz., 10^4 copie/reaz., 10^3 copie/reaz., 10^2 copie/reaz.)

I risultati dei controlli per PCR devono essere generati e approvati per ogni lotto di reagente per PCR.

- Come Positive Control utilizzare il prodotto **Pneumocystis - ELiTe Positive Control** (non fornito in questo kit) con gli Assay Protocol **PJ ELiTe_PC** o **PJ ELiTe_Be_PC**.

- Come Negative Control utilizzare acqua per biologia molecolare (non fornita in dotazione con questo kit) con gli Assay Protocol **PJ ELiTe_NC** o **PJ ELiTe_Be_NC**.

NOTA

Gli strumenti **ELiTe InGenius** ed **ELiTe BeGenius** consentono di generare e memorizzare la curva di calibrazione e la convalida dei controlli della PCR per ogni lotto di reagente per PCR.

Le curve di calibrazione scadono dopo **60 giorni**; trascorso questo termine, è necessario ripetere la calibrazione.

I risultati dei controlli per PCR scadono dopo **15 giorni**; trascorso questo termine, è necessario ri-analizzare il Positive Control e il Negative Control.

I calibratori e i controlli per PCR devono essere rianalizzati ogni volta che si verifica uno degli eventi seguenti:

- si utilizza un nuovo lotto di reagenti;
- i risultati delle analisi di controllo della qualità (vedere paragrafo successivo) non rientrano nelle specifiche;
- lo strumento **ELiTe InGenius** o **ELiTe BeGenius** viene sottoposto a un importante intervento di manutenzione o assistenza.

8.3 Controlli di qualità

Si raccomanda la verifica della procedura di estrazione e della PCR. Si possono utilizzare campioni archiviati o materiale di riferimento certificato. Quando disponibili, utilizzare i controlli esterni in conformità con le linee guida delle organizzazioni di accreditamento locali, statali e federali.

9 PROCEDURA ELiTe InGenius

La procedura per l'uso del prodotto **Pneumocystis ELiTe MGB Kit** con lo strumento **ELiTe InGenius** si articola in due fasi:

Tabella 6

FASE 1	Verifica che il sistema sia pronto	
FASE 2	Impostazione della sessione	A) Corsa dei campioni (Extract + PCR)
		B) Corsa dei campioni estratti (PCR Only)
		C) Corsa di Calibrazione (PCR Only)
		D) Corsa del Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR Only)
FASE 3	Esame ed approvazione dei risultati	1) Validazione della curva di calibrazione
		2) Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo
		3) Validazione dei risultati del campione
		4) Refertazione dei risultati del campione

9.1 FASE 1 - Verifica che il sistema sia pronto

Prima di iniziare la sessione:

- Accendere lo strumento **ELiTe InGenius** e selezionare la modalità "**CLOSED**";
- nel menu "Calibrations" nella home page, verificare che i calibratori (**Q-PCR Standard**) siano approvati e validi (Stato) per il lotto di **PCR Mix** da utilizzare. Se non ci sono calibratori validi disponibili per il lotto di **PCR Mix**, eseguire la calibrazione come descritto nelle sezioni seguenti;

- nel menu “Controls” della home page, verificare che i controlli per PCR (**Positive Control**, **Negative Control**) siano approvati e validi (Stato) per il lotto di PCR Mix da utilizzare. Se non ci sono controlli per PCR validi disponibili per il lotto di **PCR Mix**, eseguire i controlli per PCR come descritto nelle sezioni seguenti;
- selezionare il tipo di sessione analitica, seguendo le istruzioni visualizzate sull'interfaccia grafica utente (GUI) per l'impostazione della sessione e utilizzare gli Assay Protocol forniti da EG SpA (vedere 7 “[Campioni e controlli](#)” pagina 5).

Se l'Assay Protocol d'interesse non è presente nel sistema, rivolgersi al Servizio Clienti ELiTechGroup competente per il proprio paese/la propria area geografica.

9.2 STEP 2 - Impostazione della sessione

Il prodotto **Pneumocystis ELiTe MGB Kit** può essere utilizzato su **ELiTe InGenius** per eseguire:

- Corsa dei campioni (Extract + PCR)
- Corsa dei campioni estratti (PCR Only),
- Sessione di calibrazione (PCR Only)
- Corsa del Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR only)

Tutti i parametri necessari per la sessione sono inclusi negli Assay Protocol disponibili sullo strumento e vengono richiamati automaticamente nel momento in cui li si seleziona.

NOTA

Lo strumento **ELiTe InGenius** può essere collegato al “Laboratory Information System” (LIS) tramite il quale è possibile scaricare i dati della sessione di lavoro. Consultare il manuale d'istruzioni dello strumento per maggiori dettagli.

Prima di impostare una sessione:

Scongelare le provette di **PCR Mix** necessarie a temperatura ambiente per 30 minuti. Ogni tubo contiene un volume sufficiente per **12 test** in condizioni ottimali (2 o più test per sessione). Agitare delicatamente, quindi centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.

NOTA

Proteggere la miscela **PCR Mix** dalla luce durante lo scongelamento perché questo reagente è fotosensibile.

Per impostare uno dei quattro tipi di sessione, procedere come segue facendo riferimento alle istruzioni visualizzate sulla GUI:

	A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)	B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)
1	<p>Identificare i campioni e, ne necessario, scongelare a temperatura ambiente, agitare delicatamente, centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo. Per questo test trasferire 200 µL di campione in un Extraction tube precedentemente etichettato.</p> <p>Scongellare i tubi di CPE necessari a temperatura ambiente per 30 minuti. Agitare delicatamente, quindi centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.</p>	<p>Scongellare a temperatura ambiente l'Elution Tube contenente gli acidi nucleici estratti. Agitare delicatamente la provetta, centrifugarla per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenerla in ghiaccio o in blocco freddo.</p>
2	Nella schermata “Home”, selezionare “ Perform Run ”.	Nella schermata “Home”, selezionare “ Perform Run ”.
3	Verificare che “Extraction Input Volume” sia 200 µL e che “Extracted Elute Volume” sia 100 µL.	Verificare che “Extraction Input Volume” sia 200 µL e che “Extracted Elute Volume” sia 100 µL.
4	Per ogni campione, assegnare un “Track” e compilare il “SampleID” (SID) digitando o scansionando il codice a barre.	Per ogni campione, assegnare un “Track” e compilare il “SampleID” (SID) digitando o scansionando il codice a barre.

	A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)	B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)
5	Nella colonna "Assay" selezionare l'Assay Protocol da utilizzare (vedere "Campioni e controlli").	Nella colonna "Assay" selezionare l'Assay Protocol da utilizzare (vedere "Campioni e controlli").
6	Verificare che il protocollo visualizzato sia: "Extract + PCR".	Nella colonna "Protocol" (protocollo) selezionare "PCR Only".
7	Nella colonna "Sample Position" selezionare "Extraction tube" come posizione da cui caricare il campione. Verificare che " Dilution factor " sia "1".	Verificare che la posizione da cui caricare il campione riportata nella colonna "Sample Position" sia "Elution Tube (bottom row)". Verificare che " Dilution factor " sia "1".
8	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
9	Caricare il CPE e la PCR Mix nell'"Inventory Block" (area reagenti) facendo riferimento alla "Load List" e inserire il numero di lotto di CPE e PCR Mix, la data di scadenza e il numero di reazione per ogni provetta.	Caricare la PCR Mix nell'"Inventory Block" facendo riferimento alla "Load List" e inserire il numero di lotto della PCR Mix, la data di scadenza e il numero di reazione per ogni provetta.
10	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
11	Controllare i puntali negli appositi "Tip Rack" dell'"Inventory Area" e sostituire gli appositi rack se necessario.	Controllare i puntali negli appositi "Tip Rack" dell'"Inventory Area" e sostituire gli appositi rack se necessario.
12	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
13	Caricare la PCR Cassette, le cartucce per estrazione ELiTe InGenius SP 200 e tutti i materiali di consumo richiesti e i campioni da estrarre.	Caricare la PCR Cassette e le provette di eluizione con i campioni estratti.
14	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
15	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.
16	Premere "Start".	Premere "Start".

	C. Corsa di Calibrazione (PCR Only)	D. Corsa del Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR Only)
1	Scongellare le provette di Q-PCR Standard necessarie (Cal1: Q-PCR Standard 10 ² , Cal2: Q-PCR Standard 10 ³ , Cal3: Q-PCR Standard 10 ⁴ , Cal4: Q-PCR Standard 10 ⁵) a temperatura ambiente per 30 minuti. Agitare delicatamente la provetta, centrifugarla per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenerla su ghiaccio o un blocco freddo.	Scongellare le provette di controllo positivo a temperatura ambiente per 30 minuti. Agitare delicatamente la provetta, centrifugarla per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenerla su ghiaccio o un blocco freddo. Preparare il controllo negativo trasferendo almeno 50 µL di acqua per biologia molecolare in una provetta di eluizione, fornita in dotazione con l'ELiTe InGenius SP 200 Consumable Set.
2	Nella schermata "Home", selezionare "Perform Run".	Nella schermata "Home", selezionare "Perform Run".
3	Verificare che "Extraction Input Volume" sia 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia 100 µL.	Verificare che "Extraction Input Volume" sia 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia 100 µL.
4	Per il Q-PCR Standard, assegnare il "Track", selezionare l'Assay Protocol (vedere "Campioni e controlli") nella colonna "Assay" e inserire il numero di lotto reagente e la data di scadenza.	Nella colonna "Assay" selezionare l'Assay Protocol da utilizzare (vedere "Campioni e controlli"). Inserire il numero di lotto e la data di scadenza del controllo positivo e dell'acqua per biologia molecolare.
5	Verificare che nella colonna "Protocol" (Protocollo) sia selezionato "PCR Only".	Verificare che nella colonna "Protocol" (Protocollo) sia selezionato "PCR Only".
6	Verificare che la posizione da cui caricare il campione riportata nella colonna "Sample Position" sia "Elution Tube (bottom row)".	Verificare che la posizione da cui caricare il campione riportata nella colonna "Sample Position" sia "Elution Tube (bottom row)".

	C. Corsa di Calibrazione (PCR Only)	D. Corsa del Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR Only)
7	Caricare la PCR Mix nell'Inventory Block" facendo riferimento alla "Load List" e inserire il numero di lotto della PCR Mix, la data di scadenza e il numero di reazione per ogni provetta.	Caricare la PCR Mix nell'Inventory Block" facendo riferimento alla "Load List" e inserire il numero di lotto della PCR Mix, la data di scadenza e il numero di reazione per ogni provetta.
8	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
9	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'Inventory Area" e sostituire i rack se necessario.	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'Inventory Area" e sostituire i rack se necessario.
10	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
11	Caricare la PCR Cassette e le provette di Q-PCR Standard.	Caricare la PCR Cassette, il Positive Control e il Negative Control.
12	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
13	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.
14	Premere "Start".	Premere "Start".

Una volta completata la sessione, **ELiTe InGenius** consente all'operatore di visualizzare, approvare, salvare i risultati, stampare e salvare il report.

NOTA

Alla fine della sessione, rimuovere dallo strumento il campione estratto residuo presente nella **provetta di eluizione**, tapparlo, identificarlo e conservarlo a $-20 \pm 10^\circ\text{C}$ per non più di un mese. Evitare la fuoriuscita del campione estratto.

NOTA

Alla fine della sessione, rimuovere dallo strumento la **PCR Mix** tapparla e conservarla a -20°C o temperatura inferiore oppure conservarla a bordo nel blocco freddo per un massimo di 7 ore (per 2 sessioni di 3 ore ciascuna e per il tempo necessario per iniziare una terza sessione); mescolare delicatamente le provette e centrifugarle per 5 secondi prima di iniziare una nuova sessione.

NOTA

Alla fine della sessione, rimuovere dallo strumento il **Q-PCR Standard** residuo, tapparlo e conservarlo a -20°C o a temperatura inferiore. Evitare la fuoriuscita del Q-PCR Standard.

NOTA

Il **Q-PCR Standard** può essere utilizzato per 4 sessioni indipendenti da 2 ore ciascuna.

NOTA

Alla fine della sessione, rimuovere dallo strumento il **Positive Control** residuo, tapparlo e conservarlo a -20°C o a temperatura inferiore. Evitare la fuoriuscita del controllo positivo. Smaltire il **Negative Control** residuo.

NOTA

Il **Positive Control** può essere utilizzato per 4 sessioni indipendenti da 3 ore ciascuna.

NOTA

Alla fine della sessione, smaltire la **PCR Cassette** e gli altri materiali di consumo secondo le disposizioni legali e ambientali vigenti. Evitare la fuoriuscita dei prodotti di reazione.

9.3 FASE 3 - Esame e approvazione dei risultati

Lo strumento **ELiTe InGenius** monitora i segnali di fluorescenza del target e del controllo interno per ciascuna reazione e applica automaticamente i parametri dell'Assay Protocol per generare le curve della PCR che vengono poi interpretate ed espresse nei risultati.

Al termine della sessione, viene visualizzata automaticamente la schermata "Results Display". In questa schermata, sono mostrati i risultati e i dati relativi alla sessione analitica. Da questa schermata è possibile approvare i risultati, stampare o salvare i report ("Sample Report" o "Track Report"). Consultare il manuale d'istruzioni dello strumento per maggiori dettagli.

NOTA

Lo strumento **ELiTe InGenius** può essere collegato al "Laboratory Information System" (LIS) che consente di caricare i risultati della sessione nel centro elaborazione dati del laboratorio. Consultare il manuale d'istruzioni dello strumento per maggiori dettagli.

Lo strumento **ELiTe InGenius** utilizza il prodotto **Pneumocystis ELiTe MGB Kit** per generare risultati tramite la seguente procedura:

1. Validazione della curva di calibrazione
2. Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo
3. Validazione dei risultati ottenuti sul campione
4. Refertazione dei risultati del campione

9.3.1 Validazione della curva di calibrazione

L'**ELiTe InGenius software** interpreta i risultati della PCR per il target del calibratore con i parametri dell'Assay Protocol **ELiTe_STD**. Il rapporto tra il Ct risultante e la concentrazione genera la curva di calibrazione.

Le curve di calibrazione, specifiche per il lotto di reagente per PCR, vengono registrate nel database ("Calibration") e possono essere consultati e approvati da personale avente la qualifica di "Administrator" o "Analyst", seguendo le istruzioni visualizzate sulla GUI.

La curva di calibrazione scade **dopo 60 giorni**.

NOTA

se la curva di calibrazione non soddisfa i criteri di accettazione, sulla schermata "Calibration" appare il messaggio "Failed". In questo caso, i risultati non possono essere approvati e si devono ripetere le reazioni di amplificazione del calibratore. Inoltre, se inclusi nella sessione, i campioni non vengono quantificati e devono essere ripetuti per generare risultati quantitativi.

9.3.2 Validazione dei risultati dell'amplificazione per il controllo positivo e il controllo negativo

L'**ELiTe InGenius software** interpreta i risultati della PCR per il target delle reazioni del controllo positivo e del controllo negativo con i parametri degli Assay Protocol **HCV ELiTe_PC** ed **HCV ELiTe_NC**. I valori di Ct risultanti sono convertiti in concentrazione e devono essere usati per verificare il sistema (lotto di reagenti e strumento).

I risultati del controllo positivo e del controllo negativo, specifici per il lotto dei reagenti per PCR, sono memorizzati nel database (Controls) e possono essere consultati e approvati da personale avente la qualifica di "Administrator" o "Analyst", seguendo le istruzioni visualizzate sulla GUI.

I risultati del Positive Control e del Negative Control scadono **dopo 15 giorni**.

L'**ELiTe InGenius software** elabora i risultati del controllo positivo e del controllo negativo e genera i grafici dei controlli. Per impostare il grafico dei controlli iniziali si utilizzano quattro risultati approvati del controllo positivo e del controllo negativo. Per i controlli successivi, il software analizza i risultati al fine di assicurare che le prestazioni del sistema rientrino nei criteri di accettazione, mostrati nei tracciati dei grafici dei controlli. Consultare il manuale d'istruzioni dello strumento per maggiori dettagli.

NOTA

Se il risultato del controllo positivo o del controllo negativo non soddisfa i criteri di accettazione, sulla schermata "Controls" (Controlli) appare il messaggio "Failed" (Fallito). In tal caso, i risultati non possono essere approvati e si devono ripetere le sessioni del controllo positivo e del controllo negativo.

NOTA

Se il risultato del controllo positivo e del controllo negativo non è valido e i campioni erano inclusi nella medesima sessione, i campioni possono essere approvati ma i loro risultati non sono validati. In tal caso, il(i) controllo (i) fallito(i) e i campioni devono essere ripetuti.

9.3.3 C. Validazione dei risultati del campione

Il programma **ELiTe InGenius software** interpreta i risultati della PCR per il target (Canale **PJ**) e per l'Internal Control (Canale **IC**) con i parametri degli Assay Protocol **PJ ELiTe_BAL_200_100** e **PJ ELiTe_SP_200_100**. I valori di Ct risultanti vengono convertiti in concentrazione.

I risultati sono mostrati sulla schermata "Results Display".

I risultati del campione possono essere approvati quando sono vere le tre condizioni riportate nella tabella sottostante.

1) Curva di calibrazione	Stato
PJ Q-PCR Standard	APPROVATO
2) Controllo positivo	Stato
PJ Positive Control	APPROVATO
3) Controllo negativo	Stato
PJ Negative Control	APPROVATO

I risultati del campione sono interpretati automaticamente dal **ELiTe InGenius software** usando i parametri dell'Assay Protocol.

La tabella sottostante riporta i possibili messaggi relativi al risultato ottenuto.

Per ogni campione il sistema indica una combinazione dei seguenti messaggi specificando se sono stati rilevati i DNA dei patogeni.

Risultato di una sessione sul campione	Interpretazione
PJ:DNA Detected, quantity equal to XXX copies/mL (PJ:DNA Rilevato, quantità pari a XXX copie/mL)	Il PJ DNA è stato rilevato nel campione nell'intervallo di misurazione del saggio, nella concentrazione indicata.
PJ:DNA Detected, quantity below LLoQ copies / mL (PJ:DNA Rilevato, quantità minore di LLoQ copie/mL)	Il PJ DNA è stato rilevato nel campione, la sua concentrazione è al di sotto del limite inferiore di quantificazione (LLoQ) del saggio.
PJ:DNA Detected, quantity beyond ULoQ copies / mL (PJ:DNA Rilevato, quantità oltre ULoQ copie/mL)	Il PJ DNA è stato rilevato nel campione, la sua concentrazione è oltre il limite superiore di quantificazione (ULoQ) del saggio.
PJ:DNA Not detected or below LoD copies / mL (PJ:DNA non Rilevato o minore di LoD copie/mL)	Il PJ DNA non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per l'RNA target oppure la sua concentrazione è inferiore al limite di rilevabilità (LoD) del saggio.
Invalid - Retest Sample (non valido - ripeti test su campione)	Risultato del saggio non valido per un errore dell'Internal Control (dovuto per esempio a errata estrazione o effetto carryover degli inibitori). Il test deve essere ripetuto.

Campioni che hanno riportato il risultato “Invalid - Retest Sample” (Invalido - Ripetere il campione): in questo caso, il DNA dell’Internal Control non è stato rilevato in modo efficace, probabilmente per problemi nella fase di campionamento, pretrattamento, estrazione o PCR (ad es. campionamento non corretto, degradazione o perdita di DNA durante l’estrazione o presenza di inibitori nell’eluato), che possono generare risultati errati.

Se ne rimane un volume sufficiente, l’eluato può essere ri-analizzato (tal quale oppure diluito) mediante una sessione di amplificazione in modalità “PCR Only”. In caso di un secondo risultato non valido, il campione deve essere nuovamente analizzato partendo dall’estrazione di un nuovo campione in modalità “Extract + PCR” (vedere [14 “Risoluzione dei problemi” pagina 30](#))

I campioni segnalati come “PJ:DNA Not Detected or below “LoD” copies/mL” (PJ:DNA non Rilevato o minore di LoD copie/mL) sono idonei per l’analisi, ma non è stato possibile rilevare il DNA di PJ. In questo caso, il campione può essere negativo per il DNA di PJ oppure il DNA di PJ è presente in una concentrazione inferiore al limite di rilevazione del saggio (vedere [11 “Caratteristiche delle prestazioni” pagina 20](#)).

I campioni positivi per il DNA di PJ a una concentrazione inferiore al limite di rilevabilità (e al limite di quantificazione inferiore) del saggio, se rilevati, sono identificati nel report come “PJ:DNA Detected, quantity below “LLoQ” copies/mL” (PJ:DNA Rilevato, quantità inferiore a “LLoQ” copie/mL) (vedere [11 “Caratteristiche delle prestazioni” pagina 20](#)).

I campioni positivi per il DNA di PJ all’interno dell’intervallo di misurazione lineare vengono rilevati e segnalati come “PJ:DNA Detected, quantity equal to “XXX” copies / mL” (PJ:DNA Rilevato, quantità pari a “XXX” copie/mL) (vedere [11 “Caratteristiche delle prestazioni” pagina 20](#))

I campioni positivi per il DNA di PJ in quantità maggiore del limite superiore di quantificazione sono riportati come “PJ:DNA Detected, quantity beyond “ULoQ” copies / mL” (PJ:DNA Rilevato, quantità oltre “ULoQ” copie/mL) e non sono idonei per la quantificazione. Se necessario, il campione può essere diluito prima dell’estrazione o della PCR e nuovamente analizzato per ottenere risultati all’interno dell’intervallo di misurazione lineare del saggio (vedere [11 “Caratteristiche delle prestazioni” pagina 20](#)).

NOTA

I risultati ottenuti con questo saggio devono essere interpretati tenendo conto di tutti i dati clinici e degli altri esiti di laboratorio.

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

9.3.4 Refertazione dei risultati dei campioni

I risultati del campione sono memorizzati nel database e possono essere esportati sotto forma di “Sample Report” e “Track Report”.

Il “Sample Report” mostra i dettagli dei risultati per campione selezionato (SID).

Il “Track Report” mostra i dettagli dei risultati per track selezionato.

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

10 PROCEDURA ELITe BeGenius

La procedura per l’uso del prodotto **Pneumocystis ELITe MGB Kit** con lo strumento **ELITe BeGenius** si articola in due fasi:

Tabella 7

FASE 1	Verifica che il sistema sia pronto	
FASE 2	Impostazione della sessione	A) Corsa dei campioni (Extract + PCR)
		B) Corsa dei campioni estratti (PCR Only)
		C) Corsa di Calibrazione (PCR Only)
		D) Corsa del Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR Only)
FASE 3	Esame ed approvazione dei risultati	1) Validazione della curva di calibrazione
		2) Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo
		3) Validazione dei risultati del campione
		4) Refertazione dei risultati del campione

10.1 FASE 1 - Verifica che il sistema sia pronto

Prima di iniziare la sessione:

- Accendere lo strumento **ELiTe BeGenius** e selezionare la modalità “**CLOSED**”,
- nel menu “Calibrations” nella home page, verificare che i calibratori (**Q-PCR Standard**) siano approvati e validi (Stato) per il lotto di **PCR Mix** da utilizzare. Se non ci sono calibratori validi disponibili per il lotto di **PCR Mix**, eseguire la calibrazione come descritto nelle sezioni seguenti;
- nel menu “Controls” nella home page, verificare che i controlli per PCR (**Positive Control, Negative Control**) siano approvati e validi (Stato) per il lotto di **PCR Mix** da utilizzare. Se non ci sono controlli per PCR validi disponibili per il lotto di **PCR Mix**, eseguire i controlli per PCR come descritto nelle sezioni seguenti;
- selezionare il tipo di sessione analitica, seguendo le istruzioni visualizzate sull'interfaccia grafica utente (GUI) per l'impostazione della sessione e utilizzare gli Assay Protocol forniti da EG SpA (vedere “Campioni e controlli”).

Se l'Assay Protocol d'interesse non è presente nel sistema, rivolgersi al Servizio Clienti ELiTechGroup competente per il proprio paese/la propria area geografica.

10.2 STEP 2 - Impostazione della sessione

Il prodotto **Pneumocystis ELiTe MGB Kit** può essere utilizzato su **ELiTe BeGenius** per eseguire:

- Corsa dei campioni (Extract + PCR)
- Corsa dei campioni estratti (PCR Only)
- Sessione di calibrazione (PCR Only)
- Corsa del Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR only)

Tutti i parametri necessari per la sessione sono inclusi nell'Assay Protocol disponibile sullo strumento e vengono richiamati automaticamente nel momento in cui li si seleziona.

NOTA

Lo strumento **ELiTe BeGenius** può essere collegato al “Laboratory Information System” (LIS) tramite il quale è possibile scaricare i dati della sessione di lavoro. Consultare il manuale d'istruzioni dello strumento per maggiori dettagli.

Prima di impostare una sessione:

Scongelare i tubi di **PCR Mix** necessari a temperatura ambiente per 30 minuti. Ciascun tubo è sufficiente per **12 test** in condizioni ottimali (2 o più test per sessione). Mescolare delicatamente, quindi centrifugare il contenuto per 5 secondi e conservare in ghiaccio o in blocco freddo.

NOTA

Proteggere la miscela **PCR Mix** dalla luce durante lo scongelamento perché questo reagente è fotosensibile.

Per impostare uno dei quattro tipi di sessione, procedere come segue facendo riferimento alle istruzioni visualizzate sulla GUI:

	A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)	B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)
1	<p>Identificare i campioni e, ne necessario, scongelare a temperatura ambiente, agitare delicatamente, centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.</p> <p>Per questo saggio trasferire 200 µL di campione in una provetta Sarstedt da 2 mL precedentemente etichettata.</p> <p>Scongela i tubi di CPE necessari a temperatura ambiente per 30 minuti. Agitare delicatamente, quindi centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo. Ciascun tubo contiene un volume sufficiente per preparare 12 estrazioni.</p>	<p>Se necessario, scongela gli Elution tube contenenti gli acidi nucleici estratti a temperatura ambiente. Agitare delicatamente, quindi centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.</p>
2	Nella schermata "Home", selezionare "Perform Run".	Nella schermata "Home", selezionare "Perform Run".
3	Rimuovere tutti i Rack dalla "Cooler Unit" e posizionarli sul tavolo di preparazione.	Rimuovere i "Rack" dalle "Lane 1, 2 e 3" (L1, L2, L3) della "Cooler Unit" e posizionarli sul tavolo di preparazione.
4	Selezionare il "run mode": "Extract + PCR".	Selezionare il "run mode": "PCR Only".
5	Caricare i campioni nel "Sample Rack". (Nota: quando si caricano provette secondarie "2 mL Tubes", utilizzare gli adattatori blu per il "Sample Rack").	Caricare i campioni nell'"Elution Rack".
6	Inserire il " Sample Rack " nella "Cooler Unit" a partire dalla "Lane 5" (L5). Se necessario, inserire il "Sample ID" (SID) per ogni "Position" utilizzata. (Se si caricano provette secondarie, contrassegnare con "2 mL Tube". Se le provette secondarie non hanno codice a barre, digitare manualmente il "Sample ID").	<p>Inserire l'"Elution Rack" nella "Cooler Unit" a partire dalla "Lane 3" (L3).</p> <p>Se necessario, per ogni "Position" inserire il "Sample ID", la "Sample matrix", l'"Extraction kit" e l'"Extracted eluate vol." (volume eluato).</p>
7	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
8	Verificare che "Extraction Input Volume" sia 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia 100 µL.	Non applicabile
9	Nella colonna "Assay" selezionare l'Assay Protocol da utilizzare (vedere "Campioni e controlli").	Nella colonna "Assay" selezionare l'Assay Protocol da utilizzare (vedere "Campioni e controlli").
10	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
11	Quando si processano più di 12 campioni, ripetere la procedura dal punto 6.	Quando si processano più di 12 campioni, ripetere la procedura dal punto 6.
12	Caricare gli "Elution Tube" nell'"Elution Rack" (gli Elution Tube possono essere etichettati con il codice a barre per una miglior tracciabilità).	Non applicabile
13	Inserire l'"Elution Rack" nella "Cooler Unit" a partire dalla "Lane 3" (L3). Quando si processano più di 12 campioni, ripetere la procedura utilizzando la "Lane 2" (L2).	Non applicabile
14	Non applicabile	Non applicabile
15	Fare clic su "Next" per proseguire.	Non applicabile
16	Caricare il CPE e la PCR Mix nel "Reagent/Elution Rack".	Caricare la PCR Mix nel "Reagent/Elution Rack".

	A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)	B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)
17	Inserire il "Reagent/Elution Rack" nella "Cooler Unit" nella "Lane 2" (L2) se disponibile o nella "Lane 1" (L1). Se necessario, per ogni PCR Mix e/o CPE, inserire "S/N" (numero di serie), "Lot No." (numero di lotto), "Exp. Date" (data di scadenza) e "T/R" (numero di reazioni).	Inserire il "Reagent/Elution Rack" nella "Cooler Unit" nella "Lane 2" (L2) se disponibile o nella "Lane 1" (L1). Se necessario, per ogni PCR Mix, inserire "S/N" (numero di serie), "Lot No." (numero di lotto), "Exp. Date" (data di scadenza) e "T/R" (numero di reazioni).
18	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
19	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'"Inventory Area" e sostituire i rack se necessario.	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'"Inventory Area" e sostituire i rack se necessario.
20	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
21	Caricare il "PCR Rack" con la "PCR Cassette" nell'Inventory Area.	Caricare il "PCR Rack" con la "PCR Cassette" nell'Inventory Area.
22	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
23	Caricare l'"Extraction Rack" con le cartucce di estrazione "ELITe InGenius SP 200" e i materiali di consumo per l'estrazione richiesti.	Non applicabile
24	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.
25	Premere "Start".	Premere "Start".
	C. Corsa di Calibrazione (PCR Only)	D. Corsa del Positive Control e del Negative Control (PCR Only)
1	Scongelare le provette di Q-PCR Standard necessarie (Cal1: Q-PCR Standard 10 ² , Cal2: Q-PCR Standard 10 ³ , Cal3: Q-PCR Standard 10 ⁴ , Cal4: Q-PCR Standard 10 ⁵) per 30 minuti a temperatura ambiente. Agitare delicatamente, quindi centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.	Scongelare le provette di controllo positivo a temperatura ambiente per 30 minuti. Agitare delicatamente la provetta, centrifugarla per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenerla su ghiaccio o su blocco freddo. Preparare il controllo negativo trasferendo almeno 50 µL di acqua per biologia molecolare in un "Elution tube", fornito in dotazione con l'ELITe InGenius SP 200 Consumable Set.
2	Nella schermata "Home", selezionare "Perform Run".	Nella schermata Home, selezionare "Perform Run".
3	Rimuovere i "Rack" dalle "Lane 1, 2 e 3" (L1, L2, L3) della "Cooler Unit" e posizionarli sul tavolo di preparazione.	Rimuovere i "Rack" dalle "Lane 1, 2 e 3" (L1, L2, L3) della "Cooler Unit" e posizionarli sul tavolo di preparazione.
4	Selezionare il "run mode": PCR Only.	Selezionare il "run mode": "PCR Only".
5	Caricare le provette di Q-PCR Standard nell'"Elution Rack".	Caricare le provette di controllo positivo e controllo negativo nell'"Elution Rack".
6	Inserire l'"Elution Rack" nella "Cooler Unit" a partire dalla "Lane 3" (L3). Se necessario, per ogni "Position" inserire "Reagent name" e "S/N" (numero di serie), "Lot No." (numero di lotto), "Exp. Date" (data di scadenza) e "T/R" (numero di reazioni).	Inserire l'"Elution Rack" nella "Cooler Unit" a partire dalla "Lane 3" (L3). Se necessario, per ogni "Position" inserire "Reagent name" e "S/N" (numero di serie), "Lot No." (numero di lotto), "Exp. Date" (data di scadenza) e "T/R" (numero di reazioni).
7	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
8	Nella colonna "Assay" selezionare l' Assay Protocol da utilizzare (vedere "Campioni e controlli").	Nella colonna "Assay" selezionare l' Assay Protocol da utilizzare (vedere "Campioni e controlli").
9	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
10	Caricare la PCR Mix nel "Reagent/Elution Rack".	Caricare la PCR Mix nel "Reagent/Elution Rack".

	C. Corsa di Calibrazione (PCR Only)	D. Corsa del Positive Control e del Negative Control (PCR Only)
11	Inserire il "Reagent/Elution Rack" nella "Cooler Unit" nella "Lane 2" (L2). Se necessario, per ogni PCR Mix, inserire "S/N" (numero di serie), "Lot No." (numero di lotto), "Exp. Date" (data di scadenza) e "T/R" (numero di reazioni).	Inserire il "Reagent/Elution Rack" nella "Cooler Unit" a partire dalla "Lane 2" (L2). Se necessario, per ogni PCR Mix, inserire "S/N" (numero di serie), "Lot No." (numero di lotto), "Exp. Date" (data di scadenza) e "T/R" (numero di reazioni).
12	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
13	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'"Inventory Area" (area reagenti) e sostituire i rack se necessario.	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'"Inventory Area" (area reagenti) e sostituire i rack se necessario.
14	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
15	Caricare il "PCR Rack" con la "PCR Cassette" nell'Inventory Area.	Caricare il "PCR Rack" con la "PCR Cassette" nell'Inventory Area.
16	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
17	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.
18	Premere "Start".	Premere "Start".

Una volta completata la sessione, **ELiTe BeGenius** consente all'operatore di visualizzare, approvare, salvare i risultati, stampare e salvare il report.

NOTA

Alla fine della sessione, rimuovere dallo strumento il campione estratto residuo presente nella **provetta di eluizione**, tapparlo, identificarlo e conservarlo a $-20 \pm 10^\circ\text{C}$ per non più di un mese. Evitare di provocare la fuoriuscita del campione estratto.

NOTA

Alla fine della sessione, rimuovere dallo strumento la **PCR Mix** tapparla e conservarla a -20°C o temperatura inferiore oppure conservarla a bordo nel blocco freddo per un massimo di 7 ore (per 2 sessioni di 3 ore ciascuna e per il tempo necessario per iniziare una terza sessione); mescolare delicatamente le provette e centrifugarle per 5 secondi prima di iniziare una nuova sessione.

NOTA

Alla fine della sessione, rimuovere dallo strumento il **Q-PCR Standard** residuo, tapparlo e conservarlo a -20°C o a temperatura inferiore. Evitare la fuoriuscita del Q-PCR Standard.

NOTA

Il **Q-PCR Standard** può essere utilizzato per 4 sessioni indipendenti da 2 ore ciascuna.

NOTA

Alla fine della sessione, rimuovere dallo strumento il **Positive Control** residuo, tapparlo e conservarlo a -20°C o a temperatura inferiore. Evitare la fuoriuscita del **Positive Control**. Smaltire il **Negative Control** residuo.

NOTA

Il **Positive Control** può essere utilizzato per 4 sessioni indipendenti da 3 ore ciascuna.

NOTA

Alla fine della sessione, smaltire la **PCR Cassette** e gli altri materiali di consumo secondo le disposizioni legali e ambientali vigenti. Evitare la fuoriuscita dei prodotti di reazione.

10.3 FASE 3 - Esame ed approvazione dei risultati

Lo strumento **ELiTe BeGenius** monitora i segnali di fluorescenza del target e del controllo interno per ciascuna reazione e applica automaticamente i parametri dell'Assay Protocol per generare le curve della PCR che vengono poi interpretate ed espresse nei risultati.

Al termine della sessione, viene visualizzata automaticamente la schermata "Results Display". In questa schermata, sono mostrati i risultati e i dati relativi alla sessione analitica. Da questa schermata è possibile approvare i risultati, stampare o salvare i report ("Sample Report" o "Track Report"). Consultare il manuale d'istruzioni dello strumento per maggiori dettagli.

NOTA

Lo strumento **ELiTe BeGenius** può essere collegato al "Laboratory Information System" (LIS) che consente di caricare i risultati della sessione nel centro elaborazione dati del laboratorio. Consultare il manuale d'istruzioni dello strumento per maggiori dettagli.

ELiTe BeGenius utilizza il prodotto **Pneumocystis ELiTe MGB Kit** per generare i risultati tramite la seguente procedura:

1. Validazione della curva di calibrazione
2. Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo
3. Validazione dei risultati ottenuti sul campione
4. Refertazione dei risultati del campione

NOTA

Per i dettagli, fare riferimento allo stesso paragrafo della **Procedura ELiTe InGenius**

11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI**11.1 Sensibilità analitica: Limite di rilevabilità (LoD)**

La sensibilità analitica del kit Pneumocystis ELiTe MGB, come limite di rilevabilità (LoD), è stata definita in associazione con campioni BAL/BA e con il sistema **ELiTe InGenius**.

Il LoD è stato calcolato analizzando un panel di campioni BAL/BA negativi inoculati con materiale di riferimento certificato *Pneumocystis jirovecii* (PJ) a titolo noto (Qnostics). Il LoD è stato calcolato mediante modello Probit di analisi della regressione dei dati come concentrazione avente una probabilità del 95% di risultare positiva.

I risultati finali sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 8 Limite di rilevabilità in BAL/BA con ELiTe InGenius

LoD	Intervallo di confidenza 95%	
	limite inferiore	limite superiore
97 copie/mL	60 copie/mL	275 copie/mL

Il valore LoD calcolato è stato verificato per ciascuna matrice analizzando su **Elite InGenius** e su **ELiTe BeGenius** un pool di matrici inoculate con materiale di riferimento Pneumocystis "alla concentrazione dichiarata".

I risultati ottenuti hanno confermato la concentrazione dichiarata per il target del prodotto Pneumocystis ELiTe MGB Kit su entrambi gli strumenti ELiTe InGenius ed ELiTe BeGenius per ciascuna matrice.

11.2 Intervallo di misurazione lineare

L'intervallo di misurazione lineare del saggio è stato determinato in associazione con ciascuna matrice su **ELITe InGenius** ed **ELITe BeGenius** utilizzando un pannello di diluizioni di DNA del target PJ (inoculato con DNA plasmidico quantificato contenente l'amplicone dell'mtLSU) in DNA PJ - matrice negativa.

I risultati per ciascuna matrice sono riportati nei paragrafi seguenti.

Espettorato:

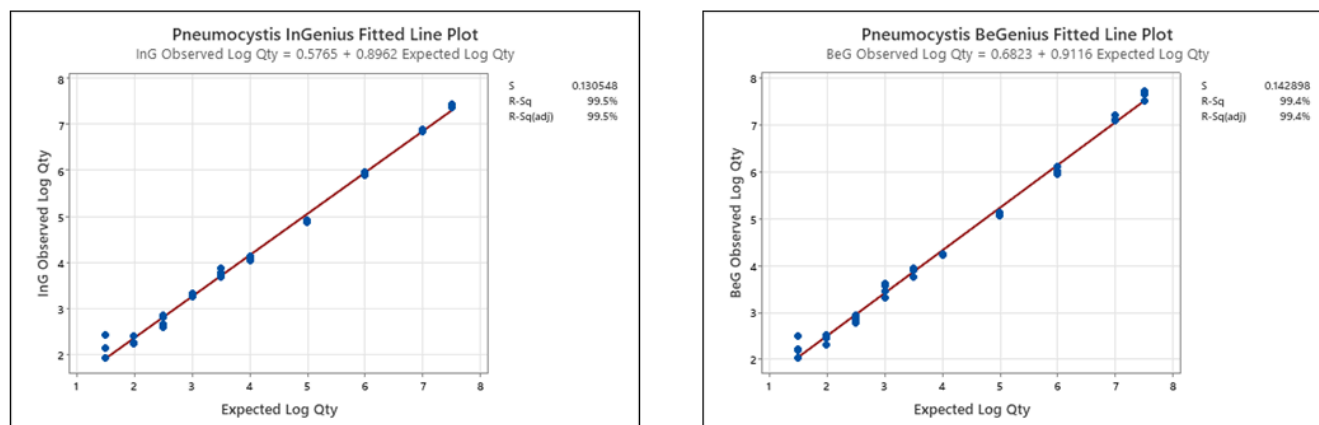


Fig. 1

I risultati ottenuti da ELITe InGenius ed ELITe BeGenius sono stati analizzati mediante regressione ortogonale e lineare al fine di calcolare la correlazione tra i metodi.

I risultati sono sintetizzati nelle figure sottostanti.

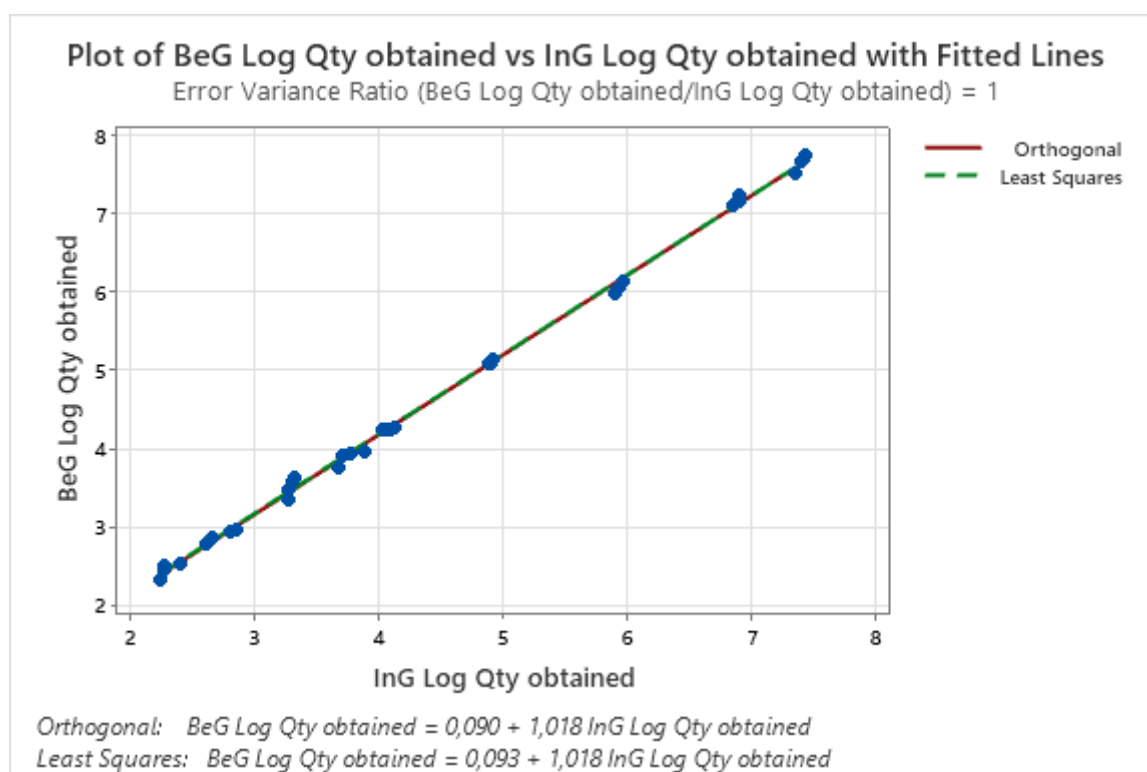


Fig. 2

L'analisi di regressione ortogonale ha generato un'intercetta pari a - 0,090 (95% IC: 0,0291; 0,1509) e una pendenza pari a 1,018 (95% CI: 1,0059/1,0308).

BAL/BA:

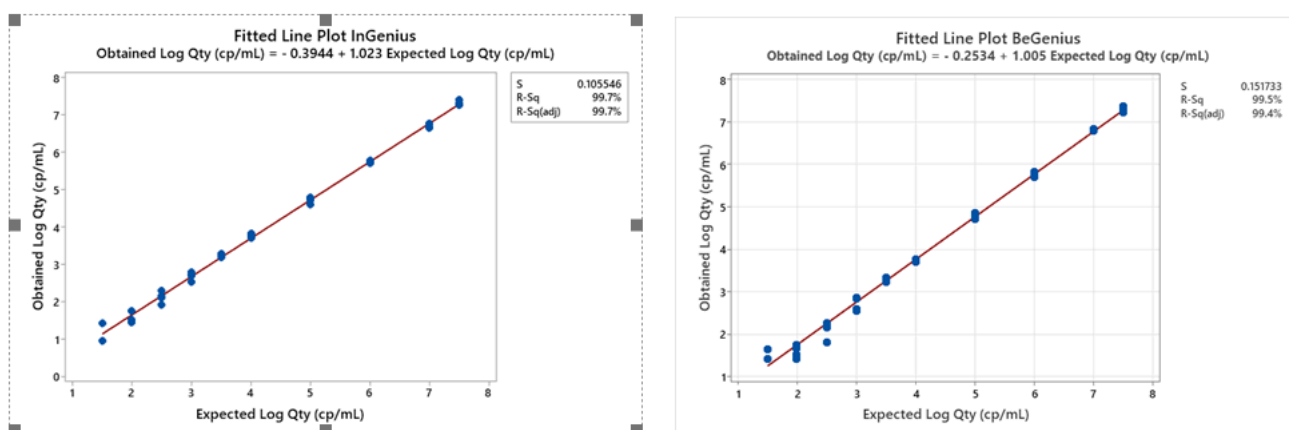


Fig. 3

I risultati ottenuti da ELITE InGenius ed ELITE BeGenius sono stati analizzati mediante regressione ortogonale e lineare al fine di calcolare la correlazione tra i metodi.

I risultati sono sintetizzati nelle figure sottostanti.

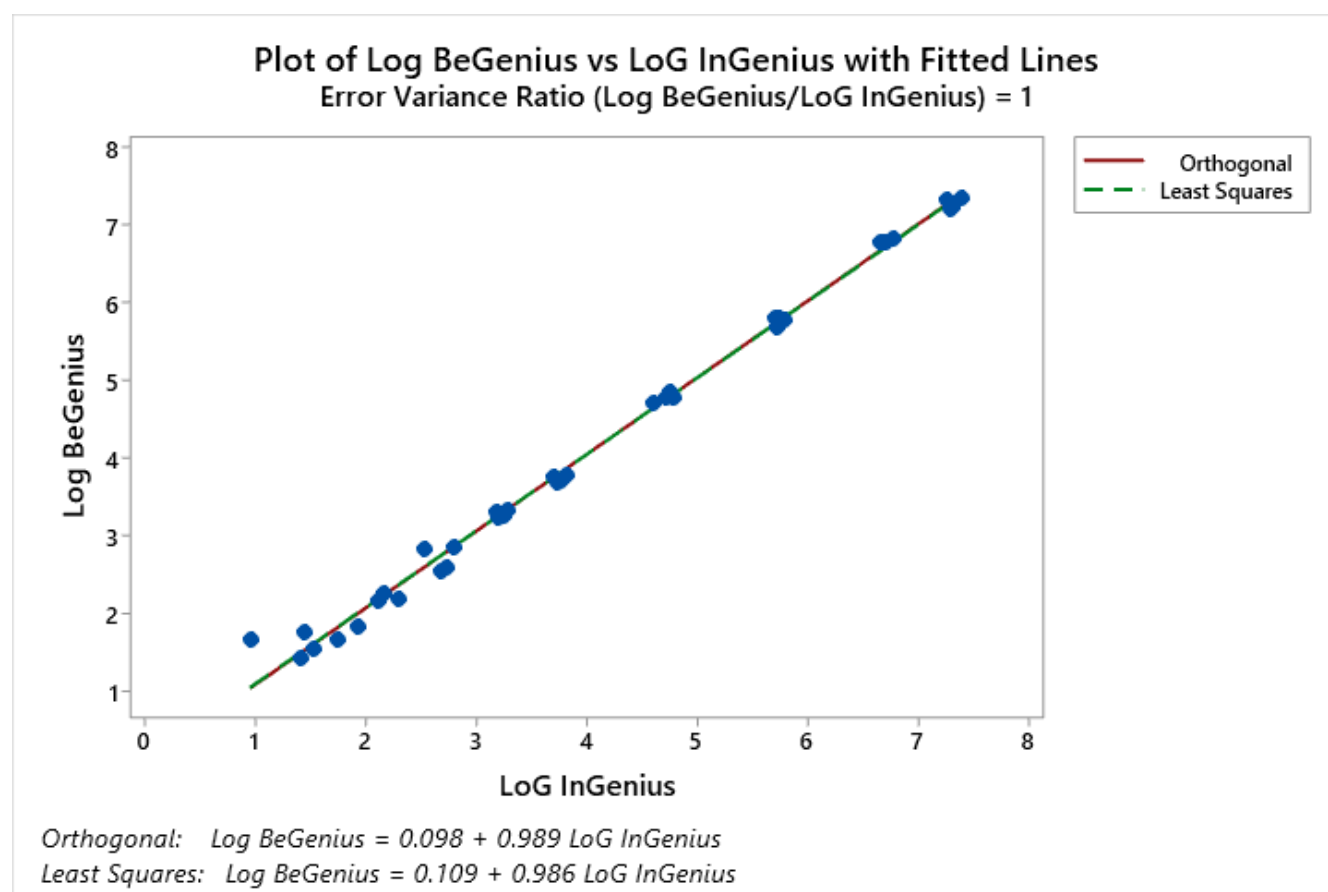


Fig. 4

L'analisi di regressione ortogonale ha generato un'intercetta pari a 0,098 (95% CI -0,0134, 0,2099) e una pendenza pari a 0,989 (95% CI: 0,9647/1,0137).

I risultati finali sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 9 Intervallo di misurazione lineare per Espettorato e BAL/BA su ELite InGenius ed ELite BeGenius

Limite inferiore	Limite superiore
97 copie/mL	31.622.777 copie/mL

11.3 Incertezza della curva dello standard

Il valore di incertezza della curva standard è stato calcolato combinando gli errori casuali (SD) delle quantificazioni di tutti i livelli e moltiplicando per il fattore di copertura $k = 2$ (incertezza combinata estesa) ed è pari a xxxx Log copie/reazione.

Tabella 10

Livelli della curva standard	Teorico	Misurata	SD	Incertezza combinata estesa
	Log copie/reaz.	Log copie/reaz.		
PJ - PCR Standard 10^5	5,0000	4,9934	0,0841	0,3078
PJ - PCR Standard 10^4	4,0000	4,0233	0,0619	
PJ - PCR Standard 10^3	3,0000	2,9733	0,0892	
PJ - PCR Standard 10^2	2,0000	2,0100	0,0694	

11.4 Inclusività: Efficienza della rilevazione e della quantificazione su differenti genotipi

L'efficienza di rilevazione dei diversi genotipi è stata valutata mediante confronto con le sequenze disponibili nel database dei nucleotidi EBI ENA.

L'analisi delle regioni selezionate per l'ibridazione dei primer e delle sonde fluorescenti nell'allineamento delle sequenze disponibili nel database per la regione di interesse del gene mtLSU gene degli isolati PJ ha evidenziato la loro conservazione e l'assenza di mutazioni significative.

L'inclusività del saggio, intesa come efficienza di rilevazione di diversi isolati di *Pneumocystis*, è stata valutata mediante analisi del pannello EQA QCMD 2018 *Pneumocystis jirovecii pneumonia* (Qnostics) composto da 6 diversi isolati clinici.

I risultati finali sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 11

Materiale di riferimento				Pneumocisti Risultati di ELite MGB Kit	
Campioni	Campione descrizione	Frequenza di rilevazione	Campione Stato	PJ Ct	PJ copies/mL ("HHV8:DNA rilevato, quantità pari a "XXX" copie/mL)
PCPDNA18S-01	P. jirovecii (Clinical)	Rilevato	per scopi di test	33,60	1.771
				33,69	2.704
PCPDNA18S-02	P. jirovecii (j888023)	Rilevato spesso	per scopi di test	32,19	4.805
				32,56	5.706

Tabella 11 (segue)

PCPDNA18S-03	<i>P. jirovecii</i> (j888023)	Rilevato spesso	per scopi di test	30,11	20.904
				30,28	25.449
PCPDNA18S-04	<i>P. jirovecii</i> (Tipo A1)	Rilevato spesso	per scopi di test	33,83	1.507
				33,57	2.933
PCPDNA18S-05	<i>P. jirovecii</i> (Clinical)	Rilevato	per scopi di test	34,06	1.280
				34,81	1.298
PCPDNA18S-06	<i>P. jirovecii</i> (g885652)	Rilevato spesso	per scopi di test	35,60	432
				37,69	196
PCPDNA18S-07	<i>P. jirovecii</i> (j888023)	Rilevato	Educativo	37,55	109
				37,14	280
PCPDNA18S-08	<i>P. jirovecii</i> Negativi	Negativi	per scopi di test	Indet.	Indet.
				Indet.	Indet.
PCPDNA18S-09	<i>P. jirovecii</i> (Tipo A1)	Rilevato	Educativo	37,11	149
				36,91	326
PCPDNA18S-10	<i>P. jirovecii</i> (j888023)	Rilevato spesso	per scopi di test	31,75	6.547
				33,27	3.565

Tutti i 9 campioni positivi sono stati correttamente rilevati da Pneumocystis ELiTe MGB Kit in associazione con lo strumento ELiTe InGenius.

L'inclusività del saggio, intesa come efficienza di rilevazione di diversi isolati di Pneumocystis, è stata valutata anche analizzando campioni clinici positivi di BAL/BA e di espettorato analizzati con un metodo IVD CE di riferimento

I risultati sono sintetizzati nella tabella seguente.

Tabella 12

Campioni	N	positivo	negativo	Non valido
BAL/BA positivo per PJ	15	15	0	0
Espettorato positivo per PJ	8	8	0	0

Tutti i 23 campioni clinici positivi sono stati correttamente rilevati come positivi da Pneumocystis ELiTe MGB Kit in associazione con lo strumento ELiTe InGenius.

11.5 Marcatori potenzialmente interferenti: Crossreattività

La potenziale cross-reattività con altri microrganismi involontari del prodotto Pneumocystis ELiTe MGB Kit è stata valutata mediante analisi *in silico* di sequenze disponibili nel database EBI ENA. L'analisi non ha evidenziato alcuna omologia significativa con altri organismi non intenzionali (altri organismi, compresi altri funghi).

La mancata cross-reattività con altri microrganismi che possono essere rilevati nei campioni clinici di BAL/BA è stata anche verificata attraverso l'analisi di un pannello di materiali di riferimento certificati (ATCC) ad alto titolo.

I risultati finali sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 13 Marcatori di potenziale cross-reattività

Microrganismo	Ceppo	Esito
<i>Aspergillus fumigatus</i>	118	Nessuna cross-reattività
<i>Candida albicans</i>	3147	Nessuna cross-reattività
<i>Staphylococcus aureus</i>	Rosenbach	Nessuna cross-reattività
<i>Escherichia coli</i>	H10407	Nessuna cross-reattività
<i>Bordetella pertussis</i>	-	Nessuna cross-reattività
<i>Bordetella parapertussis</i>	-	Nessuna cross-reattività
<i>Haemophilus influenzae</i>	Rd	Nessuna cross-reattività
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	R6	Nessuna cross-reattività
<i>Legionella pneumophila</i>	Philadelphia-1	Nessuna cross-reattività
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	FH	Nessuna cross-reattività
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	AR-39	Nessuna cross-reattività
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	-	Nessuna cross-reattività
CMV	AD-169	Nessuna cross-reattività
Enterovirus	Enterovirus 71	Nessuna cross-reattività
Adenovirus	Adenoid 6	Nessuna cross-reattività
Virus dell'influenza A	A/PR/8/34	Nessuna cross-reattività
Virus dell'influenza B	B/Florida/4/2006	Nessuna cross-reattività
Flu A	A2	Nessuna cross-reattività

Tutti gli organismi potenzialmente cross reattivi hanno dato un risultato negativo per il target quando analizzati con Pneumocystis ELiTe MGB Kit.

11.6 Marcatori potenzialmente interferenti: Inibizione

L'assenza di interferenze sull'amplificazione del target da parte di altri organismi che possono essere presenti nei campioni clinici BAL/BA è stata verificata analizzando il pannello di materiali certificati. Il DNA genomico o l'RNA provenienti da diversi organismi potenzialmente cross-reattivi (ATCC) sono stati inoculati con DNA plasmidico contenente l'amplicone dell'mtLSU a bassa concentrazione (circa 10 copie/reazione).

I risultati finali sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 14 Marcatori potenzialmente interferenti

Microrganismo	Ceppo	Esito
<i>Aspergillus fumigatus</i>	118	Nessuna interferenza
<i>Candida albicans</i>	3147	Nessuna interferenza
<i>Staphylococcus aureus</i>	Rosenbach	Nessuna interferenza
<i>Escherichia coli</i>	H10407	Nessuna interferenza
<i>Bordetella pertussis</i>	-	Nessuna interferenza

Tabella 14 Marcatori potenzialmente interferenti (segue)

<i>Bordetella parapertussis</i>	-	Nessuna interferenza
<i>Haemophilus influenzae</i>	Rd	Nessuna interferenza
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	R6	Nessuna interferenza
<i>Legionella pneumophila</i>	Philadelphia-1	Nessuna interferenza
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	FH	Nessuna interferenza
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	AR-39	Nessuna interferenza
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	-	Nessuna interferenza
CMV	AD-169	Nessuna interferenza
Enterovirus	Enterovirus 71	Nessuna interferenza
Adenovirus	Adenoid 6	Nessuna interferenza
Virus dell'influenza A	A/PR/8/34	Nessuna interferenza
Virus dell'influenza B	B/Florida/4/2006	Nessuna interferenza
Flu A	A2	Nessuna interferenza

Tutti i potenziali organismi interferenti non hanno compromesso l'amplificazione del target quando analizzati con Pneumocystis ELITE MGB Kit.

11.7 Sostanze potenzialmente interferenti

Il possibile effetto delle sostanze interferenti è stato valutato con campioni contenenti sostanze endogene: sangue intero, mucina, antibiotici, steroidi, antistaminici.

I campioni BAL/BA sono stati inoculati con materiale di riferimento di PJ (Qnostics) a una concentrazione di 3 x LoD e con le potenziali sostanze interferenti.

I valori di Ct del target e l'Internal Control (campioni di riferimento e analisi) sono stati utilizzati per calcolare il coefficiente di variabilità percentuale (%CV) allo scopo di valutare la possibile interferenza.

I risultati sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 15 Sostanze potenzialmente interferenti

Campione	Pos./Rep.	%CV PJ Ct	%CV Ct IC
5% sangue intero	3 / 3	1,41	0,94
1% Mucina	3 / 3	0,29	0,91
6 µg/ml di Ambroxolo cloridrato	3 / 3	0,60	0,53
160 µg / mL Sulfametossazolo + 32 µg / mL Trimetoprim	3 / 3	1,35	0,54
200 µg / mL Ampicillina	3 / 3	1,72	0,60
40 ng / mL Beclometasone	3 / 3	1,28	0,71
4 µg / mL Ebastina	3 / 3	0,64	0,81

Tutti i campioni sono risultati positivi per il target d'interesse come previsto. Il coefficiente %CV dei valori di Ct è risultato inferiore al 2%. Nessuna delle sostanze analizzate alle concentrazioni oggetto di studio ha mostrato di interferire con la rilevazione del target utilizzando il prodotto Pneumocystis ELITE MGB Kit.

11.8 Riproducibilità

La riproducibilità del saggio è stata valutata sugli strumenti **ELITE InGenius** ed **ELITE BeGenius** mediante analisi di un pannello di campioni BAL/BA, inclusi un campione negativo e due campioni positivizzati con DNA di PJ.

Le tabelle sottostanti riportano una sintesi della riproducibilità inter-strumento.

Tabella 16 Riproducibilità inter-strumento su ELITE InGenius

Campione	N	PJ			
		Media Ct	SD	% CV	% Concordanza
Negativi	8	NA	NA	NA	100%
3X LoD	8	36,63	0,63	1,72	100%
10X LoD	8	34,42	0,48	1,39	100%

Tabella 17 Riproducibilità inter-strumento su ELITE BeGenius

Campione	N	PJ			
		Media Ct	SD	% CV	% Concordanza
Negativi	8	NA	NA	NA	100%
3X LoD	8	37,26	0,41	1,11	100%
10X LoD	8	34,92	0,40	1,16	100%

Tabella 18 Riproducibilità inter-lotto su ELITE InGenius

Campione	N	PJ			
		Media Ct	SD	% CV	% Concordanza
Negativi	8	NA	NA	NA	100%
3X LoD	8	36,99	0,48	1,29	100%
10X LoD	8	35,03	0,44	1,25	100%

Tabella 19 Riproducibilità inter-lotto su ELITE BeGenius

Campione	N	PJ			
		Media Ct	SD	% CV	% Concordanza
Negativi	8	NA	NA	NA	100%
3X LoD	8	37,59	0,38	1,02	100%
10X LoD	8	35,70	0,59	1,65	100%

Nel test di riproducibilità, il prodotto Pneumocystis ELITE MGB Kit ha rilevato tutti i campioni come previsto e ha mostrato una variabilità massima dei valori di Ct del target espressa come %CV inferiore al 5%.

11.9 Specificità diagnostica: conferma di campioni negativi

La specificità diagnostica del saggio, come conferma di campioni clinici negativi, è stata valutata in associazione con **ELiTe InGenius** analizzando campioni di BAL/BA e di espettorato che erano negativi per il DNA di PJ (testati con un prodotto IVD CR per l'amplificazione Real-Time). Poiché **ELiTe BeGenius** ha prestazioni analitiche equivalenti a **ELiTe InGenius**, anche le prestazioni diagnostiche del saggio eseguito sui due strumenti sono considerate equivalenti. Pertanto, la specificità diagnostica del saggio ottenuta in associazione con **ELiTe InGenius** è applicabile anche a **ELiTe BeGenius**.

I risultati sono sintetizzati nella tabella seguente.

Campioni	N	Positivi	Negativi	Specificità diagnostica in %
BAL/BA negativi per PJ	58	2	56	96,6
Espettorato negativo per PJ	35	1	34	97,10

Tutti i campioni erano validi per l'analisi.

Il valore di cut-off dell'Internal Control Ct (IC Ct) è impostato a 34 con **ELiTe InGenius** e su 35 con **ELiTe BeGenius** per i campioni BAL/BA.

Il valore di cut-off dell'Internal Control Ct (IC Ct) è impostato a 37 per i campioni di espettorato analizzati con **ELiTe InGenius** ed **ELiTe BeGenius**.

11.10 Sensibilità diagnostica: conferma di campioni positivi

La sensibilità diagnostica del saggio, come conferma di campioni clinici positivi, è stata valutata in associazione con **ELiTe InGenius** analizzando campioni clinici di BAL/BA e di espettorato che erano positivi per il DNA di PJ (testati con un prodotto IVD CR per Real-Time PCR) o positivizzati con materiale di riferimento PJ. Poiché **ELiTe BeGenius** ha prestazioni analitiche equivalenti a **ELiTe InGenius**, anche le prestazioni diagnostiche del saggio eseguito sui due strumenti sono considerate equivalenti. Pertanto, la sensibilità diagnostica del saggio ottenuta in associazione con **ELiTe InGenius** è applicabile anche a **ELiTe BeGenius**.

I risultati sono sintetizzati nella tabella seguente.

Campioni	N	Positivi	Negativi	Sensibilità diagnostica in %
BAL/BA positivo per PJ	13	13	0	100
BAL/BA positivizzati con PJ	30	30	0	100
Totale campioni BAL/BA	43	43	0	100
Espettorato positivo per PJ	8	8	0	100
Espettorato positivizzato con PJ	30	24	6	80
Totale campioni di espettorato	38	32	6	84,2

NOTA

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 del kit "PJ ELiTe MGB Kit", FTP150ING.

12 BIBLIOGRAFIA

C. Valero et al. (2016) *Front. Microbiol.* 7:1413

M. Maillet et al. (2014) *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 33(3):331-6

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

13 LIMITI DELLA PROCEDURA

Utilizzare questo prodotto soltanto con il seguente campione clinico: BAL/BA, espettorato liquefatto.

Al momento non sono disponibili dati riguardanti le prestazioni del prodotto con altri campioni clinici.

Non utilizzare questo prodotto con campioni contenenti una quantità eccessiva di mucina, perché i campioni con alta viscosità inibiscono la reazione di amplificazione degli acidi nucleici e possono invalidare i risultati.

Non sono disponibili dati sulla prestazione del prodotto con DNA estratto dai seguenti campioni clinici: tamponi respiratori.

I risultati ottenuti con questo prodotto dipendono dalla corretta identificazione, raccolta, trasporto, conservazione e preparazione dei campioni. Per evitare risultati errati è necessario, pertanto, procedere con cautela durante queste fasi e seguire attentamente le istruzioni per l'uso riportate nel manuale fornito con il prodotto.

La metodica di amplificazione Real Time utilizzata in questo prodotto ha un'elevata sensibilità analitica che la rende soggetta a contaminazioni da campioni clinici positivi, da controlli positivi e dagli stessi prodotti della reazione di amplificazione. Le cross-contaminazioni possono produrre risultati falsi positivi. Il formato del prodotto è progettato per limitare le cross-contaminazioni. Comunque, 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 dispositivi di protezione individuale 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 l'uso di dispositivi di protezione individuale e di strumenti dedicati alla preparazione delle sessioni di lavoro per evitare risultati falsi positivi.

Per evitare risultati errati, questo prodotto deve essere utilizzato da professionisti qualificati e addestrati all'uso di tecniche di biologia molecolare, quali estrazione, PCR e rilevazione di acidi nucleici.

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.

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

Talvolta, i risultati ottenuti con questo prodotto possono non essere validi per via di un difetto del 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, inserimenti o delezioni nella regione dell'DNA del coperto dai primer e dalle sonde del prodotto potrebbero compromettere la rilevazione e la quantificazione del DNA del target.

Come per qualunque altro dispositivo medico-diagnostico, i risultati ottenuti con questo prodotto devono essere interpretati in combinazione con tutte le osservazioni cliniche rilevanti e gli esiti degli esami di laboratorio.

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

Tuttavia, tale rischio residuo associato all'uso previsto del prodotto è stato ponderato a fronte dei potenziali benefici per il paziente ed è stato ritenuto accettabile.

14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI

Tabella 20

Reazione con Q-PCR Standard, curva standard o reazione del Positive Control non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errata impostazione dello strumento.	Controllare la posizione della PCR Mix, dei Q-PCR Standards e del Positive Control. Controllare i volumi della PCR Mix, dei Q-PCR Standards e del Positive Control.
Degradazione della PCR Mix.	Non utilizzare la miscela PCR Mix per più di 7 sessioni indipendenti (3 ore nel blocco freddo dell'Inventory Area o nella Cooler Unit). Non utilizzare la PCR Mix per più di tre sessioni consecutive (7 ore ciascuna in blocco freddo nell'Inventory Area o nella Cooler Unit). Non lasciare la PCR Mix a temperatura ambiente per più di 30 minuti. Utilizzare una nuova aliquota di PCR Mix.
Degradazione dei Q-PCR Standards o del Positive Control.	Non utilizzare il Q-PCR Standard per più di 4 sessioni indipendenti (2 ore ciascuna nell'area di estrazione o nell'unità refrigerata). Non utilizzare il Positive Control per più di 4 sessioni indipendenti (3 ore ciascuna nell'area di estrazione o nella Cooler Unit). Utilizzare nuove aliquote di Q-PCR Standards o di Positive Control.
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup.

Tabella 21

Reazione del controllo negativo non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errata impostazione dello strumento.	Controllare la posizione della PCR Mix e del Negative Control. Controllare i volumi della PCR Mix e del Negative Control.
Contaminazione del PCR Mix.	Utilizzare una nuova aliquota di PCR Mix.
Contaminazione del Negative Control.	Non utilizzare il Negative Control per più di una sessione. Utilizzare una nuova aliquota di acqua per biologia molecolare.
Contaminazione dell'area di estrazione, dei Rack o del blocco freddo dell'Inventory Area nella Cooler Unit.	Pulire le superfici con detergenti acquosi, lavare i camici, sostituire i tubi e i puntali in uso.
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup.

Tabella 22

Reazione del campione non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errata impostazione dello strumento.	Controllare la posizione della PCR Mix, Internal Control e del campione. Controllare i volumi di PCR Mix, Internal Control e del campione.
Degradazione della PCR Mix.	Non utilizzare la PCR Mix per più di 7 sessioni indipendenti (3 ore nell'Inventory Area o nella Cooler Unit). Non utilizzare la PCR Mix per più di 3 sessioni consecutive (7 ore nel blocco refrigerante dell'Inventory Area o nella Cooler Unit). Non lasciare la PCR Mix a temperatura ambiente per più di 30 minuti. Utilizzare una nuova aliquota di PCR Mix.

Tabella 22 (segue)

Reazione del campione non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Degradazione del template di Internal Control.	Utilizzare una nuova aliquota di Internal Control.
Inibizione dovuta a sostanze interferenti con il campione.	Ripetere la reazione di amplificazione del campione con una diluizione 1:2 in acqua per biologia molecolare del campione eluito in una sessione in modalità "PCR Only" (solo PCR). Ripetere l'estrazione con una diluizione 1:2 in acqua per biologia molecolare del campione in una sessione in modalità "Extract + PCR" (estrazione + PCR).
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELiTechGroup.

Tabella 23

Curva di dissociazione anomala	
Possibili cause	Soluzioni
Assenza di un picco definito. Picco definito, ma T _m differente rispetto a quello di altri campioni e degli standard o del Positive Control.	Controllare che il valore Ct del target sia inferiore a 30. Elevate quantità di prodotti di amplificazione alla fine della reazione possono interferire con l'analisi della curva di melting. Ripetere la reazione di amplificazione del campione per confermare la presenza del target con una possibile mutazione. Il target nel campione deve essere sequenziato per confermare la mutazione.

Tabella 24

Errore nel calcolo di Ct	
Possibili cause	Soluzioni
Concentrazione troppo elevata del target nel campione con segnale di fluorescenza anomalo.	Se nel grafico della PCR si osserva un'amplificazione significativa, selezionare il tracciato correlato al campione e approvare manualmente il risultato come positivo. Se nel grafico della PCR non si osserva alcuna amplificazione, selezionare il tracciato correlato al campione e approvare manualmente il risultato come negativo o lasciarlo come non valido. Se è richiesto un valore di ciclo-soglia (Ct): - ripetere la reazione di amplificazione del campione eluito con una diluizione 1:10 in acqua per biologia molecolare in una sessione in modalità "PCR Only" (solo PCR) oppure - ripetere l'estrazione del campione primario con una diluizione 1:10 in acqua per biologia molecolare in una sessione in modalità "Extract + PCR" (estrazione + PCR).

Tabella 25

Anomala percentuale elevata di risultati positivi nella stessa sessione (reazioni con valori di Ct tardivi comparabili)	
Possibili cause	Soluzioni
Contaminazione tra campioni durante i passaggi pre-analitici.	Pulire la micropipetta con soluzione fresca di ipoclorito di sodio (candeggina) al 3% o con un detergente per DNA/RNA dopo aver pipettato ogni campione. Non utilizzare le pipette Pasteur. Utilizzare pipette del tipo a spostamento positivo oppure munirle di puntali con filtro per aerosol. Introdurre i campioni nelle ultime posizioni degli strumenti, come indicato nella GUI. Seguire la sequenza di caricamento indicata dal software.
Contaminazione ambientale del laboratorio.	Pulire tutte le superfici che vengono a contatto con l'operatore e i campioni (incluse le pipette) con soluzione fresca di ipoclorito di sodio (candeggina) al 3% o detergente per DNA/RNA. Eseguire un ciclo di decontaminazione con U.V. Utilizzare una nuova provetta di PCR Mix e/o CPE.

15 LEGENDA DEI SIMBOLI



Numero di catalogo.



Limite superiore di temperatura.



Codice del lotto.



Da utilizzare prima del (ultimo giorno del mese).



Dispositivo medico-diagnostico *in vitro*.



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



Identificazione unica del dispositivo



Contenuto sufficiente per "N" test.



Consultare le istruzioni per l'uso.



Contenuto.



Conservare al riparo dalla luce del sole.



Fabbricante.

16 AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA

Questo prodotto contiene reagenti fabbricati da Thermo Fisher Scientific e venduti sulla base di accordi di licenza stipulati tra ELiTechGroup S.p.A. e le sue affiliate e Thermo Fisher Scientific. Il prezzo d'acquisto di questo prodotto include diritti non trasferibili, limitati a utilizzare solo questa quantità di prodotto esclusivamente per attività dell'acquirente direttamente correlate alla diagnostica umana. Per informazioni sulla licenza d'acquisto per questo prodotto per fini diversi da quelli dichiarati sopra, rivolgersi a Licensing Department, Thermo Fisher Scientific. E-mail: outlicensing@thermofisher.com.

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.

Le tecnologie ELiTe InGenius® ed ELiTe BeGenius® sono coperte da brevetti e richieste di brevetto in attesa di approvazione.

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.

Appendix A Pneumocystis ELiTe MGB Kit utilizzato in associazione alle piattaforme della serie ®



ATTENZIONE

Il presente documento è una versione sintetica del manuale di istruzioni ufficiale. Fare riferimento al documento completo prima dell'uso: www.elitechgroup.com

USO PREVISTO

Il prodotto **Pneumocystis ELiTe MGB Kit** è un dispositivo medico-diagnostico *in vitro* di professionisti sanitari come test quantitativo della Real-Time PCR degli acidi nucleici per la **rilevazione e la quantificazione del DNA** di *Pneumocystis jirovecii* (**PJ**) in campioni di DNA estratti da campioni clinici.

Il saggio è validato in associazione con gli strumenti **ELiTe InGenius®** ed **ELiTe BeGenius®**, sistemi automatizzati e integrati per l'estrazione, la Real-Time PCR e l'interpretazione dei risultati, utilizzando campioni di lavaggio broncoalveolare (BAL)/broncoaspirato (BA) ed espettorato liquefatto.

Il prodotto è destinato all'uso diagnostico *in vitro* come ausilio nella diagnosi e nel monitoraggio dell'infezione da *Pneumocystis jirovecii*.

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


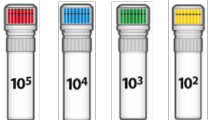

Sequenza amplificata

Sequenza	Gene	Fluoroforo	Canale
Target	mtLSU	FAM	PJ
Controllo interno	Sequenza artificiale (IC2)	AP525	IC

Matrici validate

- BAL/BA
- Campioni di espettorato liquefatto

Contenuto del Kit e prodotti correlati

Pneumocystis ELiTe MGB Kit	Pneumocystis ELiTe Standard	Pneumocystis - ELiTe Positive Control
 X 8	 X 2	 X 3
PCR Mix pronta per l'uso 8 provette da 280 µL 96 reazioni per kit 7 cicli di congelamento/ scongelamento	Pronta per l'uso a 4 livelli: 10^5 , 10^4 , 10^3 , 10^2 2 set di 4 provette da 200 µL 4 cicli di congelamento/scongelamento	Controllo positivo pronto per l'uso 3 provette da 160 µL 12 reazioni per kit 4 cicli di congelamento/ scongelamento

Validità massima: **24 mesi**

Temperatura di conservazione: **-20 °C**

Altri prodotti richiesti ma non forniti nel kit

<ul style="list-style-type: none"> Strumento ELiTe InGenius: INT030. Strumento ELiTe BeGenius: INT040. ELiTe InGenius SP 200: INT032SP200. ELiTe InGenius SP1000: INT033SP1000 	<ul style="list-style-type: none"> CPE - Internal Control: CTCPE <p>ELiTe InGenius ed ELiTe BeGenius Consumable Set (vedere le Istruzioni per l'uso di ELiTe InGenius ed ELiTe BeGenius).</p>
--	--

Protocollo ELiTe InGenius ed ELiTe BeGenius

Tabella 26

› Volume del campione	200 µL	Volume di R/MG PCR Mix	20 µL
› Volume di CPE	10 µL	› Frequenza dei controlli	15 giorni
› Volume eluizione totale	100 µL	› Frequenza di calibrazione	60 giorni
› Volume di eluato in PCR	20 µL	Unità di risultati quantitativi	Copie/mL

Prestazioni di ELiTe InGenius e ELiTe BeGenius

Matrice	Limite di rilevabilità	Intervallo lineare	Sensibilità diagnostica	Specificità diagnostica
BAL	97 cp / mL	97 – 31622777	100% 43/43*	96,6% 56/58*
Espettorato	97 cp / mL	97 – 31622777	84,2% 32/38*	97,1% 34/35*

*campioni confermati/campioni analizzati

Preparazione dei campioni

Questo prodotto deve essere utilizzato su **ELiTe InGenius** ed **ELiTe BeGenius** con i seguenti campioni clinici identificati secondo le linee guida di laboratorio e raccolti, trasportati e conservati nelle seguenti condizioni.

Campione	Requisiti per la raccolta	Condizioni di trasporto/conservazione			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2/+8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Lavaggio bronco-alveolare/ broncoaspirato (BAL/BA)	in soluzione fisiologica sterile o PBS* sterile		≤1 settimana	≤30 giorni	≤1 anno
Espettorato (SP)			≤1 settimana	≤30 giorni	> 30 giorni

*PBS: Soluzione salina tamponata con fosfato

Procedure di ELiTe InGenius

L'interfaccia grafica utente (GUI) del software ELiTe InGenius fornisce istruzioni passo-passo per configurare la sessione. Tutti i passaggi di estrazione, Real-Time PCR e interpretazione dei risultati vengono eseguiti in automatico. Sono disponibili due modalità operative: sessione completa (Extract + PCR) o PCR Only.

Prima dell'analisi

1. Accendere ELITE InGenius. Inserire username e password. Selezionare la modalità "CLOSED" .	2. Verificare i controlli: Positive Control e Negative Control nel menu "Controls". Nota: Entrambi devono essere eseguiti, approvati e non scaduti.	3. Scongellare la PCR Mix e le provette CTRCPE Mescolare delicatamente con agitatore vortex. Centrifugare per 5 sec.
--	--	--

Procedura 1 - Sessione completa: Extract + PCR (ad es. campioni)

1. Selezionare "Perform Run" sul touch screen	2. Verificare i volumi di estrazione: Ingresso: "200 µL", eluizione: "100 µL"	3. Scansionare i codici a barre dei campioni con un lettore di codici a barre manuale o digitare l'ID campione
4. Selezionare l'"Assay Protocol" di interesse: PJ ELITE_BAL_200_100 oppure PJ ELITE_SP_200_100 oppure	5. Selezionare il metodo "Extract + PCR" e la posizione del campione: Tubo primario o Tubo di estrazione	6. Caricare la miscela PCR Mix e il controllo interno (IC) nell'Inventory Block
7. Caricare: PCR Cassette, cartuccia di estrazione, provetta di eluizione, cassetta per puntali, rack per provette di estrazione e rack per campioni primari	8. Chiudere lo sportello. Avviare la sessione	9. Visualizzare, approvare e archiviare i risultati

NOTA

Se è necessaria una modalità "Extract Only", fare riferimento al manuale d'istruzioni dello strumento per la procedura.

Procedura 2: PCR Only (ad es. eluati, standard, controlli)

1. Selezionare "Perform Run" sul touch screen	2. Verificare i volumi di estrazione: Ingresso: "200 µL", eluizione: "100 µL"	3. Scansionare i codici a barre dei campioni con un lettore di codici a barre manuale o digitare l'ID campione
4. Selezionare l'"Assay protocol" di interesse: PJ ELITE_PC e PJ ELITE_NC)	5. Selezionare il metodo "PCR Only" e impostare la posizione del campione "Elution Tube".	6. Caricare la miscela PCR Mix nell'Inventory Block
7. Caricare: Il Rack delle PCR Cassette e il Rack delle "Elution tube" con i campioni di DNA estratti da analizzare	8. Chiudere lo sportello. Avviare la sessione	9. Visualizzare, approvare e archiviare i risultati

Procedure di ELITE BeGenius

L'interfaccia grafica utente (GUI) del software ELITE BeGenius fornisce istruzioni passo-passo per configurare la sessione. Tutti i passaggi di estrazione, Real-Time PCR e interpretazione dei risultati vengono eseguiti in automatico. Sono disponibili due modalità operative: sessione completa (Extract + PCR) o PCR Only.

Prima dell'analisi

1. Accendere ELITE InGenius. Inserire username e password. Selezionare la modalità "CLOSED" .	2. Verificare i controlli: Positive Control e Negative Control nel menu "Controls". Nota: Entrambi devono essere eseguiti, approvati e non scaduti.	3. Scongellare la PCR Mix e le provette CTRCPE Mescolare delicatamente con agitatore vortex. Centrifugare per 5 sec.
--	--	--

Procedura 1 - Sessione completa: Extract + PCR (ad es. campioni)

1. Selezionare "Perform Run" sul touch screen, quindi fare clic sul run mode «Extract + PCR»	2. Inserire il "Sample Rack" contenente i campioni con il codice a barre nella "Cooler Unit". La scansione del codice a barre è già attiva	3. Verificare i volumi di estrazione: Ingresso: "200 µL", Eluizione: "100 µL"
4. Selezionare l'"Assay Protocol" di interesse: (PJ ELiTe_Be_BAL_200_100 oppure PJ ELiTe_Be_SP_200_100 oppure Nota: se si esegue una seconda estrazione, ripetere i passaggi da 2 a 4	5. Stampare le etichette per identificare con il codice a barre gli Elution Tube vuoti. Caricare i tubi nell'Elution Rack e inserirlo nella Cooler Unit.	6. Caricare la PCR Mix e l'Internal Control nell'Elution Rack e inserirlo nella Cooler Unit.
7. Caricare il "PCR Rack" con la "PCR Cassette" e l'"Extraction Basket" con le cartucce di estrazione "ELiTe InGenius SP 200" e i materiali di consumo per l'estrazione richiesti.	8. Chiudere lo sportello. Avviare la sessione	9. Visualizzare, approvare e archiviare i risultati

NOTA

Se è necessaria una modalità "Extract Only", fare riferimento al manuale d'istruzioni dello strumento per la procedura.

Procedura 2: PCR Only (ad es. eluati, standard, controlli)

1. Selezionare "Perform Run" sul touch screen e fare clic sulla modalità di esecuzione «PCR Only».	2. Caricare i tubi di acidi nucleici estratti o i tubi con i controlli dotati di codice a barre nell'Elution Rack e inserirlo nella Cooler Unit.	3. Per i controlli: per ogni "Position" inserire "Reagent name" e "S/N" (numero di serie), "Lot No." (numero di lotto), "Exp. Date" (data di scadenza) e "T/R" (numero di reazioni). Per gli eluati: per ogni "Position" inserire i dati relativi a "Sample ID", "Sample matrix", "Extraction kit" ed "Extracted eluate vol." (volume eluato).
4. Selezionare l'"Assay Protocol" di interesse: (EV ELiTe_Be_PC ed EV ELiTe_Be_NC oppure EV ELiTe_Be_STD)	5. Caricare la miscela di reazione completa nel Reagent/Elution Rack e inserirlo nella Cooler Unit.	6. Caricare il "PCR Rack" con la "PCR Cassette".
7. Chiudere lo sportello. Avviare la sessione	8. Visualizzare, approvare e archiviare i risultati	



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