

Istruzioni per l'uso

HCV ELITe MGB® Kit

reagenti per la trascrizione inversa dell'RNA e la Real-Time PCR



REF RTK601ING

UDI 08033891487072

CE **IVD**
0123

CRONOLOGIA REVISIONI

Rev.	Avviso di modifica	Data (gg/mm/aa)
10-R	Estensione dell'uso del prodotto in associazione con lo strumento MyGenius PRO (cod. INT050) con matrici di plasma in EDTA o in ACD e siero. Aggiornamento alla versione "Modello 2 versione 4.0.2" dei protocolli di analisi per gli strumenti ELITe InGenius® (cod. INT030) ed ELITe BeGenius® (cod. INT040). Nuova grafica e configurazione del contenuto delle Istruzioni per l'uso (IFU).	16/09/26
09-R	Aggiornamento del test di cross-reattività	10/04/26
08-R	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.	01/08/25
07-R	Aggiornamento per la conformità ai requisiti del Regolamento (UE) 2017/746 relativo ai dispositivi medico-diagnostici in vitro (IVDR). Incremento delle prestazioni analitiche e diagnostiche nel paragrafo CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI NOTA La composizione del prodotto rimane invariata	06/06/25
04	Altri prodotti richiesti: nota relativa alla disponibilità di HCV ELITe Standard (cod. STD601ING) e HCV - ELITe Positive Control (cod. CTR601ING) come prodotti separati. Procedura ELITe BeGenius: istruzioni dettagliate per la preparazione della miscela di reazione completa per un numero di campioni superiore a 12, in combinazione con lo strumento ELITe BeGenius. Procedura ELITe BeGenius: correzione di un errore di battitura nella descrizione dell'Assay Protocol. Avvertenze e precauzioni specifiche relative ai componenti: proroga del periodo di utilizzo di ciascuna provetta di reagente fino a 60 giorni dalla prima apertura.	07/06/24
00 — 03	Sviluppo di nuovo prodotto e modifiche correlate	-

INDICE

1 USO PREVISTO	4
2 PRINCIPIO DEL SAGGIO.....	4
3 DESCRIZIONE DEL PRODOTTO	4
4 MATERIALI INCLUSI NEL PRODOTTO	6
5 MATERIALI RICHIESTI MA NON INCLUSI NEL PRODOTTO	6
6 ALTRI PRODOTTI RICHIESTI	7
7 AVVERTENZE E PRECAUZIONI	7
8 CAMPIONI E CONTROLLI per ELITe InGenius, ELITe BeGenius e MyGenius PRO.....	9
9 PROCEDURA ELITe InGenius.....	12
10 PROCEDURA ELITe BeGenius	20
11 PROCEDURA MyGenius PRO.....	25
12 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI CON ELITe InGenius, ELITe BeGenius e MyGenius PRO	32
13 BIBLIOGRAFIA.....	48
14 LIMITI DELLA PROCEDURA	48
15 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI	49
16 LEGENDA DEI SIMBOLI	54
17 AVVISO PER L'UTILIZZATORE	55
18 AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA.....	55
Appendix A QUICK START GUIDE.....	56
Appendix B QUICK START GUIDE.....	62

1 USO PREVISTO

Il prodotto **HCV ELITe MGB® Kit** è un dispositivo medico-diagnostico in vitro destinato all'uso da parte degli operatori sanitari come saggio di trascrizione inversa e real-time PCR quantitativa degli acidi nucleici per la rilevazione e la quantificazione dell'RNA del virus dell'epatite C (HCV), estratto da campioni clinici.

Il saggio è stato validato in associazione con gli strumenti **ELITe InGenius®**, **ELITe BeGenius®** e **MyGenius PRO®** (nome registrato ELIVERSE®) sistemi automatizzati e integrati per l'estrazione, la trascrizione inversa, la Real-Time PCR e l'interpretazione dei risultati, utilizzando campioni umani di plasma raccolti in EDTA o in ACD e siero.

Il prodotto è destinato all'uso come ausilio nella gestione di pazienti HCV-positivi sottoposti a terapia antivirale.

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

Il prodotto non è destinato all'uso come test di screening o per rilevare la presenza di o l'esposizione ad agenti trasmissibili nel sangue, negli emoderivati, nelle cellule, nei tessuti, negli organi o in qualsiasi dei loro derivati al fine di valutarne l'idoneità per la trasfusione, il trapianto o la terapia cellulare. Il prodotto non è destinato all'uso come test diagnostico per confermare la presenza di un'infezione da HCV.

2 PRINCIPIO DEL SAGGIO

Il saggio è una reazione di trascrizione inversa e Real-Time PCR (metodica one step) quantitativa per l'estrazione, la trascrizione inversa, l'amplificazione e la rilevazione dell'RNA dell'HCV isolato dai campioni clinici, utilizzando una miscela di reazione completa che contiene primer e sonde con tecnologia ELITe MGB®.

Le sonde ELITe MGB si attivano quando si ibridano con i relativi prodotti della PCR. **ELITe InGenius**, **ELITe BeGenius** e **MyGenius PRO** monitorano l'aumento della fluorescenza e calcolano i cicli di soglia (Ct) e le temperature di melting (Tm). La quantità di HCV viene calcolata sulla base di una curva di calibrazione memorizzata.

Nelle sonde ELITe MGB i fluorofori sono inibiti quando la sonda si trova nello stato a filamento singolo con struttura a spirale casuale. I fluorofori sono attivi nel duplex sonda/amplicone, poiché l'inibitore è spazialmente separato dal fluoroforo. Si noti che il fluoroforo non viene scisso durante la PCR e può essere utilizzato per l'analisi di dissociazione e il calcolo della temperatura di fusione.

3 DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

L'**HCV ELITe MGB Kit** fornisce i seguenti componenti:

- **HCV ELITe MGB Mix**

Questo componente fornisce i seguenti due componenti secondari:

- **HCV PCR Mix** una miscela PCR Mix ottimizzata e stabilizzata che contiene:
 - primer e sonda specifici per l'**HCV**, la regione 5' UTR, rilevata nel canale **HCV**; la sonda è stabilizzata da MGB®, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher® e marcata con il fluoroforo FAM®, and labeled by FAM dye.
 - primer e sonda specifici per l'Internal Control (**IC**) per una regione specifica di RNA genomico di fago **MS2**, rilevati nel canale **IC**; la sonda è stabilizzata da MGB®, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher e marcata con il fluoroforo AquaPhluor® AP525;
 - buffer, cloruro di magnesio, nucleotidi trifosfato e DNA polimerasi ad attivazione termica ("hot-start").
- **RT EnzymeMix**, una miscela ottimizzata e stabilizzata di enzimi per trascrizione inversa.

La miscela **HCV ELITe MGB Mix** contiene reagenti sufficienti per **96 test** su **ELITe InGenius**, **ELITe BeGenius** e **MyGenius PRO** utilizzando 20 µL di **HCV PCR Mix** e 0,3 µL di **RT EnzymeMix** per reazione.

- **HCV ELITe Standard**

Questo componente fornisce i sub-componenti **HCV Q-PCR Standard**, quattro soluzioni stabilizzate di DNA plasmidico con la regione 5' UTR di HCV amplificata a **titolo noto**. Il componente **HCV ELITE Standard** deve essere utilizzato con la miscela **HCV ELITE MGB Mix** su **ELITE InGenius**, **ELITE BeGenius** e **MyGenius PRO**, per calcolare la curva di calibrazione del sistema (lotto del prodotto e strumento) per la quantificazione dell'HCV.

NOTA

La concentrazione del DNA plasmidico in copie/mL è stata determinata mediante misurazione con uno spettrofotometro UV, ed è stata messa in correlazione con lo standard internazionale "WHO International Standard 6th HCV International Standard" (NIBSC, UK, codice 18/184) con l'ausilio di un fattore di conversione che consente di esprimere la quantificazione dell'HCV in unità internazionali/mL (IU/mL).

Il componente **HCV ELITE Standard** contiene reagenti sufficienti per **2 sessioni** su **ELITE InGenius**, **ELITE BeGenius** e **MyGenius PRO**, utilizzando 20 µL per ciascuna reazione.

- **HCV - ELITE Positive Control**

Questo componente contiene il sub-componente **HCV Positive Control**, una soluzione stabilizzata di DNA plasmidico con la regione 5' UTR di HCV amplificata a **titolo noto**. Il componente **HCV Positive Control** deve essere utilizzato con la miscela **HCV ELITE MGB Mix** su **ELITE InGenius**, **ELITE BeGenius** e **MyGenius PRO**, al fine di generare grafici di controllo per la verifica del sistema (lotto del prodotto e strumento).

Il prodotto **HCV Positive Control** contiene reagenti sufficienti per **8 sessioni** su **ELITE InGenius**, **ELITE BeGenius** e **MyGenius PRO** (**4 sessioni per ciascuna provetta**), utilizzando 20 µL per reazione.

- **HCV Internal Control**

Questo componente contiene il sub-componente **HCV CPE** (Internal Control esogeno), una soluzione stabilizzata di RNA genomico di fago MS2. Il componente **HCV Internal Control** deve essere utilizzato su **ELITE InGenius** ed **ELITE BeGenius**, e aggiunto ai reagenti di estrazione per validare i risultati dei campioni negativi all'HCV.

Il prodotto **HCV Internal Control** contiene reagenti sufficienti per effettuare **96 test** su **ELITE InGenius** ed **ELITE BeGenius** (**12 test per ciascun tubo**), utilizzando 10 µL per estrazione.

Il componente **HCV Internal Control NON** va utilizzato in associazione con **MyGenius PRO** per il quale si deve utilizzare il prodotto Internal Control Maxi (cod. ICMAXI) (non incluso nel kit).

4 MATERIALI INCLUSI NEL PRODOTTO

Tabella 1

Componente	Componente secondario	Descrizione	Quantità	Classificazione dei rischi
HCV ELITe MGB Mix cod. RTS601ING	HCV PCR Mix cod. RTS601ING	Miscela di reagenti per trascrizione inversa e Real-Time PCR in provetta con tappo NEUTRO	4 x 600 µL	-
	RT EnzymeMix cod. RTS003-RT	Enzimi per trascrittasi inversa in tubo con tappo con inserto NERO	2 x 20 µL	-
HCV ELITe Standard cod. STD601ING	HCV Q-PCR Standard 10 ⁵ cod. STD601ING-5	Soluzione di plasmide in provetta con tappo ROSSO	1 x 160 µL	-
	HCV Q-PCR Standard 10 ⁴ cod. STD601ING-4	Soluzione di plasmide in provetta con tappo BLU	1 x 160 µL	
	HCV Q-PCR Standard 10 ³ cod. STD601ING-3	Soluzione di plasmide in provetta con tappo VERDE	1 x 160 µL	
	HCV Q-PCR Standard 10 ² cod. STD601ING-2	Soluzione di plasmide in provetta con tappo GIALLO	1 x 160 µL	
HCV - ELITe Positive Control cod. CTR601ING	HCV Positive Control cod. CTR601ING	Soluzione di plasmide in provetta con tappo NERO	2 x 160 µL	-
HCV Internal Control cod. CPE601ING	HCV Internal Control cod. CPE601ING	Soluzione di DNA plasmidici e RNA genomico di fago MS2 in provetta con tappo NEUTRO	8 x 160 µL	-

5 MATERIALI RICHIESTI MA NON INCLUSI NEL PRODOTTO

- Cappa a flusso laminare.
- Guanti senza polvere monouso in nitrile o materiale analogo.
- Agitatore vortex.
- Centrifuga da banco (~5.000 giri/minuto).
- Microcentrifuga da banco (~13,000 giri/minuto).
- Micropipette e puntali sterili con filtro per aerosol o a spostamento positivo (intervallo di volume: 0,5-1000 µL).
- Provette sterili da 2,0 mL con tappo a vite (Sarstedt, Germania, rif. 72.694.005).
- Provette sterili da 0,5 mL con tappo a vite (Sarstedt, Germania, cod. 72.730.005).
- Acqua per biologia molecolare.

6 ALTRI PRODOTTI RICHIESTI

I reagenti per l'estrazione dell'RNA dai campioni e i materiali di consumo **non** sono forniti con questo prodotto. Per l'estrazione automatizzata degli acidi nucleici, la trascrizione inversa, la PCR in tempo reale e l'interpretazione dei risultati dei campioni, sono necessari 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 1.4.0 (o successiva) HCV ELiTe_PC , Assay Protocol con parametri per l'analisi del Positive Control HCV ELiTe_NC , Assay Protocol con parametri per l'analisi del Negative Control HCV ELiTe_STD , Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei Calibratori HCV ELiTe_PL_600_50 , Assay Protocol con parametri per l'analisi dei campioni di Plasma HCV ELiTe_Se_600_50 , Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di Siero	ELiTe InGenius SP 1000 (EG SpA, cod. INT033SP1000) ELiTe InGenius ed ELiTe BeGenius Consumable Sets (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) HCV ELiTe_Be_PC , Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Controllo Positivo HCV ELiTe_Be_NC , Assay Protocol con parametri per l'analisi del Negative Control HCV ELiTe_Be_STD , Assay Protocol con parametri per l'analisi dei Calibratori HCV ELiTe_Be_PL_600_50 , Assay Protocol con parametri per l'analisi dei campioni di Plasma HCV ELiTe_Be_Se_600_50 , Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di Siero	
MyGenius PRO (EG SpA cod. INT050) MyGenius PRO Software versione BB—04 (o successiva) HCV ELiTe_My_PC , Assay Protocol con parametri per l'analisi del Positive Control. HCV ELiTe_My_NC , Assay Protocol con parametri per l'analisi del Negative Control HCV ELiTe_My_STD , Assay Protocol con parametri per l'analisi dei Calibratori. HCV ELiTe_My_PL_IU_600_50 , Assay Protocol con parametri per l'analisi dei campioni di Plasma HCV ELiTe_My_PL_cmL_600_50 , Assay Protocol con parametri per l'analisi dei campioni di Plasma e risultati in copie/mL HCV ELiTe_My_Se_IU_600_50 , Assay Protocol con parametri per l'analisi dei campioni di Plasma HCV ELiTe_My_Se_cmL_600_50 , Assay Protocol con parametri per l'analisi di campioni di Siero e risultati in copie/mL	Internal Control Maxi (EG SpA, cod. ICMAXI) Negative Control (EG SpA, cod. CTRNEG) MyGenius PRO Consumable Sets (vedere le Istruzioni per l'uso di MyGenius PRO)

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 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 sul posto 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 fornite con il prodotto.
- 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.

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 (Sottocomponente)	Temperatura di conservazione	Uso dopo la prima apertura	Cicli di congela- mento/ scongela- mento	Stabilità a bordo dello strumento (ELITe InGenius ed ELITe BeGenius)	Stabilità a bordo dello strumento (MyGenius PRO)
HCV ELITe MGB Mix (HCV PCR Mix)	-20 °C o inferiore (al riparo dalla luce)	60 giorni	Fino a cinque	—	—
HCV ELITe MGB Mix (RT EnzymeMix)	-20 °C o inferiore	60 giorni	Fino a dieci cicli, fino a dieci minuti ciascuno, a 2 / +8 °C	—	—
HCV ELITe Standard (HCV Q-PCR Standard)	-20 °C o inferiore	60 giorni	Fino a due	2 sessioni separate di 2 ore ciascuna	Fino a 2 ore per 4 volte*
HCV ELITe – Positive Control (HCV Positive Control)	-20 °C o inferiore	60 giorni	Fino a quattro	4 sessioni separate di 3 ore ciascuna	Fino a 3 ore per 4 volte*
HCV ELITe Internal Control (HCV Internal Control)	-20 °C o inferiore	60 giorni	Fino a sei	6 sessioni separate di 3 ore ciascuna	—

* con cicli di congelamento/scongelamento intermedi

8 CAMPIONI E CONTROLLI per ELITe InGenius, ELITe BeGenius e MyGenius PRO

8.1 Campioni e protocolli di analisi

Questo prodotto è destinato all'uso su **ELITe InGenius**, **ELITe BeGenius** e **MyGenius PRO** con i campioni clinici convalidati pertinenti, identificati e manipolati secondo le linee guida di laboratorio, e raccolti, trasportati e conservati nelle seguenti condizioni:

Tabella 4

Campione	Requisiti per la raccolta	Condizioni di trasporto/conservazione			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Plasma	EDTA o ACD	≤1 giorno	≤3 giorni	≤1 mese	≤6 mesi
Siero	-	≤1 giorno	≤5 giorni	≤1 mese	≤6 mesi

EDTA, Ethylenediaminetetraacetic acid; ACD, Acid-citrate-dextrose

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

Tabella 5 Assay Protocol per HCV ELITe MGB Kit

Campione	Strumento	Assay Protocol	Referto	Caratteristiche
Plasma	ELITe InGenius	HCV ELITe_PL_600_50	copie/mL / IU/mL	Volume di estrazione in ingresso: 600 µL Volume di eluizione: 50 µL Internal Control: 10 µL Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1,7 Volume di PCR Mix: 20 µL Volume di campione nella PCR: 20 µL
	ELITe BeGenius	HCV ELITe_Be_PL_600_50	copie/mL / IU/mL	Volume di estrazione in ingresso: 600 µL Volume di eluizione: 50 µL Internal Control: 10 µL Fattore di diluizione: 1 Volume di PCR Mix: 20 µL Volume di campione nella PCR: 20 µL
Siero	ELITe InGenius	HCV ELITe_Se_600_50	copie/mL / IU/mL	Volume di estrazione in ingresso: 600 µL Volume di eluizione: 50 µL Internal Control: 10 µL Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1,7 Volume di PCR Mix: 20 µL Volume di campione nella PCR: 20 µL
	ELITe BeGenius	HCV ELITe_Be_Se_600_50	copie/mL / IU/mL	Volume di estrazione in ingresso: 600 µL Volume di eluizione: 50 µL Internal Control: 10 µL Fattore di diluizione: 1 Volume di PCR Mix: 20 µL Volume di campione nella PCR: 20 µL

Per l'analisi sullo strumento **MyGenius PRO** si devono utilizzare gli Assay Protocol indicati di seguito. Si tratta di protocolli per dispositivi diagnostici in vitro (IVD) appositamente validati per l'uso specifico con i prodotti ELITe MGB Kit e lo strumento **MyGenius PRO** con le matrici indicate.

Tabella 6 Assay Protocol per HCV ELITE MGB Kit e MyGenius PRO

Campione	Strumento	Nome Assay Protocol	Report	Caratteristiche
Plasma in ACD o EDTA	My Genius PRO	HCV ELITE_My_PL_IU_600_50	IU/mL	Volume di estrazione in ingresso: 600 µL Volume di eluizione: 50 µL Internal Control: 10 µL Fattore di diluizione: 1
		HCV ELITE_My_PL_cmL_600_50	Copie/mL	Volume di PCR Mix: 20 µL Volume di campione nella PCR: 20 µL
Siero	My Genius PRO	HCV ELITE_My_Se_IU_600_50	IU/mL	Volume di estrazione in ingresso: 600 µL Volume di eluizione: 50 µL Internal Control: 10 µL Fattore di diluizione: 1
		HCV ELITE_My_Se_cmL_600_50	Copie/mL	Volume di PCR Mix: 20 µL Volume di campione nella PCR: 20 µL

NOTA

Verificare che la provetta primaria e il volume del campione siano compatibili con ELITE InGenius, ELITE BeGenius o MyGenius PRO attenendosi alle istruzioni per l'uso dei rispettivi strumenti.

Il volume del campione in una provetta primaria varia in base al tipo di provetta caricato. Consultare le istruzioni per l'uso del kit di estrazione per maggiori informazioni sulla preparazione e l'esecuzione della procedura di estrazione.

Se richiesto, si devono trasferire 600 µL di campione in un Extraction Tube (per ELITE InGenius) o in una provetta Sarstedt da 2 mL (per ELITE BeGenius) e si devono trasferire 660 µL di campione in una provetta Sarstedt da 2 mL (per MyGenius PRO).

NOTA

Il pipettamento per trasferire i campioni dalla provetta primaria del campione 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 "7 AVVERTENZE E PRECAUZIONI pagina 7".

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 [12 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI CON ELITE InGenius, ELITE BeGenius e MyGenius PRO pagina 32](#).

Non utilizzare plasma raccolto in eparina, che è un noto inibitore della PCR.

Non utilizzare plasma emolitico, perché l'emoglobina inibisce la reazione della PCR.

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, usare i quattro livelli del prodotto HCV ELITE Standard, fornito in dotazione con questo kit, con gli Assay Protocol **HCV ELITE_STD** o **HCV ELITE_Be_STD** oppure **HCV ELITE_My_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.). Fare riferimento a quanto indicato in "Incertezza della curva standard" 12 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI CON ELITE InGenius, ELITE BeGenius e MyGenius PRO pagina 32

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

- Per il Positive Control, utilizzare il componente **HCV - ELITE Positive Control** fornito nel kit, con gli Assay Protocol **HCV ELITE_PC** oppure **HCV ELITE_Be_PC** oppure **HCV ELITE_My_PC**,

- Per il Negative Control, utilizzare acqua per biologia molecolare (non fornita in questo kit), con gli Assay Protocol **HCV ELITE_NC** o **HCV ELITE_Be_NC** oppure utilizzare il **Negative Control** (non fornito in questo kit) con l'Assay Protocol **HCV ELITE_My_NC**.

NOTA

Gli strumenti **ELITE InGenius**, **ELITE BeGenius** e **MyGenius PRO** consentono di generare e memorizzare la curva di calibrazione e la validazione dei controlli della PCR per ciascun 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 rianalizzare i controlli positivo e negativo.

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;
- quando vengono eseguiti interventi di manutenzione o assistenza importanti sugli strumenti **ELITE InGenius**, **ELITE BeGenius** e **MyGenius PRO**.

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 **HCV ELITE MGB Kit** con lo strumento **ELITE InGenius** 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)	

Tabella 7 (segue)

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" 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'allestimento 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.

9.2 FASE 2 - Impostazione della sessione

Il prodotto **HCV ELiTe MGB Kit** può essere utilizzato su **ELiTe InGenius** per eseguire quanto segue:

- A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)
- B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)
- C. Sessione di calibrazione (PCR Only)
- D. 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:

1. Scongellare le provette di **HCV PCR Mix** necessarie, portandole a temperatura ambiente per 30 minuti. Ogni provetta contiene un volume sufficiente per **24 test** (5 o più test per sessione). Mescolare con il vortex a bassa velocità per 10 secondi ripetendo l'operazione per tre volte, 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.

2. Prelevare le provette necessarie di **RT EnzymeMix**. Ciascuna provetta contiene un volume sufficiente per **48 test**. Agitare delicatamente la provetta, centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.

NOTA

Non esporre il prodotto **RT EnzymeMix** a temperature superiori a -20 °C per più di 10 minuti.

- Preparare un tubo da 2 mL (Sarstedt cod. 72.694.005, non fornito in questo kit) per la **miscela di reazione completa** ed etichettarlo utilizzando un pennarello indelebile.
- Calcolare i volumi necessari di **HCV PCR Mix** e **RT EnzymeMix** per preparare la **miscela di reazione completa** in base al numero di campioni (N) da analizzare, come descritto nella tabella sottostante.

Tabella 8

Numero di campioni (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 12$	290 μL	4,4 μL

- Preparare la **miscela di reazione completa** trasferendo nella provetta da 2 mL etichettata i volumi calcolati dei due componenti. Mescolare con il vortex a bassa velocità per 10 secondi ripetendo l'operazione per tre volte, centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.

NOTA

La **miscela di reazione completa** può essere utilizzata entro **7** ore se mantenuta in un blocco freddo (per 2 sessioni di 3 ore ciascuna e per il tempo necessario per iniziare la terza sessione). La miscela di reazione completa **non può** essere conservata per essere riutilizzata.

NOTA

La **miscela di reazione completa** è fotosensibile per cui non esporla alla luce diretta.

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

Tabella 9

	A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)	B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)
1	Identificare i campioni e, se 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. Se richiesto, trasferire 600 μL di campione in un Extraction Tube precedentemente etichettato. ELITE InGenius provvederà a lasciare nell'Extraction Tube il volume eccedente. Scongelare le provette di CPE necessarie a temperatura ambiente per 30 minuti. Agitare delicatamente, centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.	Scongelare 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.
2	Nella schermata "Home", selezionare "Perform Run".	Nella schermata "Home", selezionare "Perform Run".
3	Verificare che "Extraction Input Volume" sia 1000 μL e che "Extracted Elute Volume" sia 50 μL .	Verificare che "Extraction Input Volume" sia 1000 μL e che "Extracted Elute Volume" sia 50 μL .
4	Per ogni campione, assegnare un tracciato, "Track", e compilare il "SampleID" (SID) digitando o scansionando il codice a barre.	Per ogni campione, assegnare un tracciato, "Track", e compilare il "SampleID" (SID) digitando o scansionando il codice a barre.

Tabella 9 (segue)

	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 "Primary Tube" o "Extraction Tube" come posizione da cui caricare il campione. Verificare che " Dilution factor " sia " 1.7 ".	Verificare che la posizione da cui caricare il campione riportata nella colonna "Sample Position" sia "Elution Tube (ultima riga)". Verificare che " Dilution factor " sia " 1.7 ".
8	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
9	Caricare il CPE e la miscela di reazione completa nell'Inventory Block facendo riferimento alla "Load List" e inserire il numero di lotto di CPE e PCR Mix, la data di scadenza e il numero di reazioni per ogni provetta.	Caricare la miscela di reazione completa 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 reazioni per ogni provetta.
10	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
11	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'"Inventory Area" e sostituire i Tip Racks se necessario.	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'"Inventory Area" e sostituire i Tip Racks se necessario.
12	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
13	Caricare la PCR Cassette, gli Elution Tubes, le cartucce di estrazione ELiTe InGenius SP 1000, tutti i materiali di consumo richiesti e i campioni da estrarre.	Caricare la PCR Cassette e gli Elution Tubes 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".

Tabella 10

	C. Corsa di calibrazione (PCR Only)	D. Corsa del Positive Control e del Negative Control (PCR Only).
1	Scongellare a temperatura ambiente per 30 minuti i necessari Q-PCR Standard tubes (Cal1: Q-PCR Standards 10^2 , Cal2: Q-PCR Standards 10^3 , Cal3: Q-PCR Standards 10^4 , Cal4: Q-PCR Standards 10^5). Mescolare con il vortex a bassa velocità per 10 secondi ripetendo l'operazione per tre volte, centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.	Scongellare le provette del Positive Control a temperatura ambiente per 30 minuti. Mescolare con il vortex a bassa velocità per 10 secondi ripetendo l'operazione per tre volte, centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo. Preparare il Negative Control trasferendo almeno 50 µL di acqua per biologia molecolare in un "Elution Tube", fornito in dotazione con i materiali di consumo ELiTe InGenius SP 1000 Consumable Set.
2	Nella schermata "Home", selezionare "Perform Run".	Nella schermata "Home", selezionare "Perform Run".
3	Verificare che il volume estrazione in ingresso sia di 1000 µL e che il volume eluizione estratto sia di 50 µL.	Verificare che "Extraction Input Volume" sia 1000 µL e che "Extracted Elute Volume" sia 50 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 del 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 Positive Control e dell'acqua per biologia molecolare.

Tabella 10 (segue)

	C. Corsa di calibrazione (PCR Only)	D. Corsa del Positive Control e del Negative Control (PCR Only).
5	Verificare che nella colonna "Protocol" sia selezionato "PCR Only".	Verificare che nella colonna "Protocol" 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 (ultima riga)".
7	Caricare la miscela di reazione completa 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 reazioni per ogni provetta.	Caricare la miscela di reazione completa 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 reazioni per ciascuna provetta.
8	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
9	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" (rack per puntali) dell'Inventory Area e sostituire tali rack per puntali se necessario.	Verificare la presenza dei puntali negli appositi "Tip Racks" (Rack puntali) dell'Inventory Area e sostituire il(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 del 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 agli operatori di visualizzare, approvare, salvare i risultati, e anche di stampare e salvare il report.

NOTA

Alla fine della corsa, il campione estratto residuo che è rimasto negli **Elution Tube** deve essere rimosso dallo strumento, tappato, identificato e conservato a -20 ± 10 °C per non più di un mese. Evitare la fuoriuscita del campione estratto.

NOTA

La **miscela di reazione completa** può essere conservata a bordo nel blocco refrigerato 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 e centrifugare il contenuto per 5 secondi prima di iniziare una nuova sessione. La miscela di reazione completa **non** può essere conservata per essere riutilizzata.

NOTA

Alla fine della corsa, rimuovere dallo strumento i **Q-PCR Standards** residui, tapparli e conservarli a -20 °C o a temperatura inferiore. Evitare fuoriuscite dei **Q - PCR Standards**.

NOTA

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

NOTA

Alla fine della corsa, rimuovere dallo strumento i **Positive Control** residui, tapparli e conservarli a -20 °C o a temperatura inferiore. Evitare fuoriuscite del Positive Control. Il Negative Control residuo deve essere smaltito.

NOTA

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

NOTA

Alla fine della corsa, smaltire la **PCR Cassette** e i 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 **HCV 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'apposito programma dotato di **ELITE InGenius software** elabora i risultati del Positive Control e del Negative Control e genera i grafici dei controlli. L'approvazione del Positive Control si basa sulla valutazione della quantità logaritmica ottenuta che dovrebbe rientrare nell'intervallo di quantità logaritmica previsto (Grafico PC). Questo assicura che le prestazioni del sistema rientrino nei criteri di accettazione. Il secondo grafico (Grafico L-J) è dedicato esclusivamente al monitoraggio dell'andamento del Positive Control nel tempo. Consultare il manuale di 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 Validazione dei risultati dei campioni

Il programma dotato di **ELITE InGenius software** interpreta i risultati della PCR per il target (Canale HCV) e per l'Internal Control (Canale IC) con i parametri degli Assay Protocol **HCV ELITE_PL_600_50** e "**HCV ELITE_Se_600_50**". I valori di Ct target 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.

Tabella 11

1) Curva di calibrazione	Stato
HCV Q-PCR Standards	APPROVED (APPROVATO)
2) Positive Control	Stato
HCV Positive Control	APPROVED (APPROVATO)
3) Negative Control	Stato
HCV Negative Control	APPROVED (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 l'RNA del patogeno è stato rilevato.

Tabella 12

Risultato di una sessione sul campione	Interpretazione
HCV:RNA Detected, quantity equal to "XXX" copies/mL or IU/mL (HCV:RNA Rilevato, quantità pari a "XXX" copie/mL o IU/mL)	L'RNA di HCV è stato rilevato nel campione nell'intervallo di misurazione del saggio, nella concentrazione indicata.
HCV:RNA Detected, quantity below "LLOQ" copies/mL or IU/mL (HCV:RNA Rilevato, quantità minore di "LLOQ" copie/mL o IU/mL)	L'RNA di HCV è stato rilevato nel campione, al di sotto del limite inferiore di quantificazione (LLOQ) del saggio.
HCV:RNA Detected, quantity beyond "ULOQ" copies/mL or IU/mL (HCV:RNA Rilevato, quantità maggiore di "ULOQ" copie/mL o IU/mL)	L'RNA di HCV è stato rilevato nel campione, oltre il limite superiore di quantificazione (ULOQ) del saggio.
HCV:RNA Not Detected or below the "LoD" copies/mL or IU/mL (HCV:RNA Non Rilevato o minore di "LoD" copie/mL o IU/mL)	L'RNA di HCV 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.
Non valido - Ripetere test campione	Risultato del saggio non valido per un errore del controllo interno (dovuto ad es. a errata estrazione o effetto carryover degli inibitori). Il test deve essere ripetuto.

I campioni segnalati con "Invalid - Retest Sample" (Invalido - Ripetere il campione) non sono idonei per l'interpretazione del risultato. In questo caso, l'RNA dell'Internal Control non è stato rilevato in maniera efficace, probabilmente per problemi nella fase della trascrizione inversa, della PCR o dell'estrazione (degradazione o perdita di RNA durante l'estrazione o inibitori nell'eluato), che possono essere all'origine di risultati errati.

Se il volume di eluato rimanente è sufficiente, l'eluato può essere sottoposto nuovamente a test (tal quale o diluito) tramite una corsa 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 [15 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI pagina 49](#)).

I campioni segnalati come "HCV: RNA Not detected or below "LoD" copies / mL or IU / mL" (HCV: RNA Non Rilevato o minore di "LoD" copie/mL o IU/mL) sono idonei per l'analisi, ma non è stato possibile rilevare l'RNA di HCV. In questo caso, il campione può essere negativo per l'RNA di HCV oppure

l'RNA di HCV è presente a una concentrazione inferiore al limite di rilevabilità del saggio (vedere [12 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI CON ELITE InGenius, ELITE BeGenius e MyGenius PRO pagina 32](#)).

I campioni positivi per l'RNA del HCV a una concentrazione inferiore al limite di rilevabilità (e al limite di quantificazione inferiore) del saggio, se rilevati, vengono segnalati come "HCV: RNA Detected, quantity below "LLOQ" copies/mL or IU/mL" (HCV: RNA Rilevato, quantità minore di "LLOQ" copie/mL o IU/mL) (vedere [12 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI CON ELITE InGenius, ELITE BeGenius e MyGenius PRO pagina 32](#)).

I campioni positivi per l'RNA di HCV che rientrano nell'intervallo di misurazione lineare (vedere [12 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI CON ELITE InGenius, ELITE BeGenius e MyGenius PRO pagina 32](#)) vengono rilevati e segnalati come "HCV:RNA Detected, quantity equal to "XXX" copies/mL or IU/mL" (HCV:RNA Rilevato, quantità pari a "XXX" copie/mL o IU/mL).

I campioni positivi per l'RNA di HCV che sono in quantità maggiore rispetto al limite superiore di quantificazione sono segnalati come "HCV:RNA Detected, quantity beyond "ULOQ" copies / mL or IU / mL" (HCV:RNA Rilevato in quantità maggiore di "ULOQ" copie/mL o IU/mL) e non sono idonei per la quantificazione. Se necessario, il campione può essere diluito prima dell'estrazione o della PCR e analizzato nuovamente per ottenere risultati che rientrino nell'intervallo di misurazione lineare del saggio.

NOTA

I risultati ottenuti con questo saggio devono essere interpretati in associazione a tutte le osservazioni cliniche ed esiti degli esami di laboratorio rilevanti.

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 **HCV ELITe MGB Kit** con lo strumento **ELITe BeGenius** si articola in due fasi:

Tabella 13

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 **HCV ELITe MGB Kit** può essere utilizzato su **ELITe BeGenius** per eseguire:

- Corsa dei campioni (Extract + PCR)
- Corsa dei campioni estratti (PCR Only)
- Corsa di calibrazione (PCR Only)
- Corsa del Positive Control e del Negative Control (PCR Only).

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

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:

1. Scongellare le provette di **PCR Mix** necessarie a temperatura ambiente per 30 minuti. Ogni provetta contiene un volume sufficiente per **24 test** in condizioni ottimali (5 o più test per sessione). Mescolare con vortex a bassa velocità la provetta per 10 secondi ripetendo l'operazione per tre volte, centrifugarla per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenerla su ghiaccio o su blocco freddo.

NOTA

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

2. Prelevare le provette necessarie di **RT EnzymeMix**. Ogni provetta contiene un volume sufficiente per **48 test** in condizioni ottimali (5 o più test per sessione). Agitare delicatamente, centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.

NOTA

Non esporre il prodotto **RT EnzymeMix** a temperature superiori a -20 °C per più di 10 minuti.

3. Preparare un tubo da 2 mL (Sarstedt cod. 72.694.005, non fornito in questo kit) per la **miscela di reazione completa** ed etichettarlo utilizzando un pennarello indelebile.
4. Calcolare i volumi necessari di **PCR Mix** e **RT EnzymeMix** per preparare la **miscela di reazione completa** in base al numero di campioni (N) da analizzare, come descritto nella tabella sottostante.

Tabella 14

Numero di campioni (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 12$	290 μL	4,4 μL
$13 \leq N \leq 18$	$(N + 3) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 3) \times 0,3 \mu\text{L}$
$19 \leq N \leq 23$	$(N + 4) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 4) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 24$	580 μL	8,7 μL

5. Preparare la **miscela di reazione completa** trasferendo nel tubo da 2 mL etichettato i volumi calcolati dei due componenti. Mescolare con il vortex a bassa velocità per 10 secondi ripetendo l'operazione per tre volte, centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.

NOTA

La **miscela di reazione completa** può essere utilizzata entro **7 ore** se mantenuta in un blocco freddo (per 2 sessioni di 3 ore ciascuna e per il tempo necessario per iniziare la terza sessione). La miscela di reazione completa **non può** essere conservata per essere riutilizzata.

NOTA

La **miscela di reazione completa** è fotosensibile per cui non esporla alla luce diretta.

Per impostare uno dei quattro tipi di corsa, seguire i passaggi indicati di seguito facendo riferimento alle istruzioni visualizzate sulla GUI.

Tabella 15

	A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)	B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)
1	Identificare i campioni e, se 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. Se richiesto, trasferire 600 µL di campione in una provetta Sarstedt da 2 mL precedentemente etichettata. ELiTe BeGenius lascerà il volume eccedente nella provetta Sarstedt da 2 mL. Scongelare le provette di CPE necessarie a temperatura ambiente per 30 minuti. Agitare delicatamente, centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.	Se necessario, scongelare gli Elution Tube che contengono gli acidi nucleici estratti a temperatura ambiente. Agitare delicatamente, centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.
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 la modalità "Run mode": "Extract and PCR". Nota: Quando si caricano i tubi secondari "2 mL Tubes", utilizzare gli adattatori blu per il "Sample Rack".	Selezionare la modalità "Run mode": "PCR Only".
5	Caricare i campioni nel "Sample Rack".	Caricare i campioni nell'Elution Rack.
6	Inserire il "Sample Rack" nella "Cooler Unit" a partire dalla "Lane 5" (L5). Se necessario per ciascuna "Position" inserire il "Sample ID" (SID). Se si caricano provette secondarie, contrassegnarle con "2 mL Tube". Se le provette secondarie non hanno codice a barre, digitare manualmente il "Sample ID".	Inserire l'Elution Rack nella "Cooler Unit" a partire dalla "Lane 3" (L3). Se necessario, per ogni "Position" inserire il "Sample ID", la "Sample matrix", l'"Extraction kit" e l'"Extracted eluate vol." (volume eluato).
7	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
8	Verificare che "Extraction Input Volume" (volume estrazione in ingresso) sia 600 µL e che "Extracted Elute Volume" (volume eluato estratto) sia 50 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 utilizzando "Lane 4" (L4).	Quando si processano più di 12 campioni, ripetere la procedura dal punto 6 utilizzando "Lane 4" (L4).
12	Caricare gli "Elution Tubes" nell'Elution Rack (gli Elution Tubes 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	Fare clic su "Next" per proseguire.	Non applicabile
15	Caricare il CPE e la miscela di reazione completa nel "Reagent/Elution Rack".	Caricare la miscela di reazione completa nel "Reagent/Elution Rack".

Tabella 15 (segue)

	A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)	B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)
16	Inserire il "Reagent/Elution Rack" nella "Cooler Unit" nella "Lane 2" (L2) se disponibile o nella "Lane 1" (L1). Se necessario, per ciascun reagente 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 reagente della PCR Mix, inserire "S/N" (numero di serie), "Lot No." (numero di lotto), "Exp. Date" (data di scadenza) e "T/R" (numero di reazioni).
17	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
18	Verificare la presenza dei puntali negli appositi "Tip Racks" (Rack puntali) dell'Inventory Area e sostituire il(i) rack se necessario.	Verificare la presenza dei puntali negli appositi "Tip Racks" (Rack puntali) dell'Inventory Area e sostituire il (i) rack se necessario.
19	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
20	Caricare il "PCR Rack" con la "PCR Cassette" nell'Inventory Area.	Caricare il "PCR Rack" con la "PCR Cassette" nell'Inventory Area.
21	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
22	Caricare l' Extraction Rack con le cartucce di estrazione di "ELITe InGenius SP 1000 e i materiali di consumo richiesti per l'estrazione.	Non applicabile
23	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.
24	Premere "Start".	Premere "Start".

Tabella 16

	C. Corsa di calibrazione (PCR Only)	D. Corsa del Positive Control e del Negative Control (PCR only)
1	Scongellare per 30 minuti a temperatura ambiente i necessari Q-PCR Standard tubes (Cal1: Q-PCR Standards 10 ² , Cal2: Q-PCR Standards 10 ³ , Cal3: Q-PCR Standards 10 ⁴ , Cal4: Q-PCR Standards 10 ⁵). Mescolare con il vortex a bassa velocità per 10 secondi ripetendo l'operazione per tre volte, centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.	Scongellare le provette del Positive Control a temperatura ambiente per 30 minuti. Agitare delicatamente, centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo. Preparare il Negative Control trasferendo almeno 50 µL di acqua per biologia molecolare in un "Elution Tube", fornito in dotazione con ELITe InGenius SP 1000 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 la modalità "Run mode": PCR Only.	Selezionare la modalità "Run mode": PCR Only.
5	Caricare le provette di Q-PCR Standard nell'Elution Rack.	Caricare le provette di Positive Control e di Negative Control 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.

Tabella 16 (segue)

	C. Corsa di calibrazione (PCR Only)	D. Corsa del Positive Control e del Negative Control (PCR only)
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 miscela di reazione completa nel "Reagent/Elution Rack".	Caricare la miscela di reazione completa nel "Reagent/Elution Rack".
11	Inserire il "Reagent/Elution Rack" nella "Cooler Unit" nella "Lane 2" (L2) se disponibile oppure nella "Lane 1" (L1). Se necessario, per ogni reagente della 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 reagente della 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	Verificare la presenza dei puntali negli appositi "Tip Racks" (Rack puntali) dell'Inventory Area e sostituire il(i) rack se necessario.	Verificare la presenza dei puntali negli appositi "Tip Racks" (Rack puntali) dell'Inventory Area e sostituire il (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 agli operatori di visualizzare, approvare, salvare i risultati, e anche di stampare e salvare il report.

NOTA

Alla fine della sessione, rimuovere dallo strumento gli **Elution tube** con il campione estratto residuo, 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

La **miscela di reazione completa** può essere conservata a bordo nel blocco refrigerato 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 e centrifugare il contenuto per 5 secondi prima di iniziare una nuova sessione. La miscela di reazione completa **non** può essere conservata per essere riutilizzata.

NOTA

Alla fine della corsa, rimuovere dallo strumento il **Q-PCR Standards** residuo, tapparlo e conservarlo a -20°C o a temperatura inferiore. Evitare fuoriuscite del Q-PCR Standards.

NOTA

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

NOTA

Alla fine della corsa, rimuovere dallo strumento il **Positive Control** residuo, tapparlo e conservarlo a -20 °C o a temperatura inferiore. Evitare fuoriuscite del Positive Control. Il Negative Control residuo deve essere smaltito.

NOTA

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

NOTA

Alla fine della corsa, smaltire la **PCR Cassette** e i 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 **HCV 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 PROCEDURA MyGenius PRO

La procedura per l'uso del prodotto **HCV ELiTe MGB Kit** con lo strumento **MyGenius PRO** si articola in tre fasi:

Tabella 17

FASE 1	Verifica che il sistema sia pronto	
FASE 2	Impostazione della sessione	A) Sessione di analisi dei campioni (Extract + PCR)
		B) Sessione di analisi dei Calibratori (PCR Only)
		C) Sessione di analisi del Positive Control e del Negative Control (PCR only)

Tabella 17 (segue)

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

11.1 FASE 1 - Verifica che il sistema sia pronto

Prima di iniziare la sessione di analisi:

- accendere lo strumento MyGenius PRO ed effettuare il login; l'unità si avvierà in modalità STAND-BY.
- nel menu "Calibrations" nella schermata Home, verificare che i calibratori (**Q-PCR Standard**) siano approvati e validi (Status) 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 schermata Home, verificare che i controlli per PCR (**Positive Control, Negative Control**) siano approvati e validi (Status) 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;
- seguire 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.

11.2 FASE 2 – Configurazione del flusso di lavoro sul sistema

Il prodotto **HCV ELITe MGB Kit** può essere utilizzato su **MyGenius PRO** per eseguire:

- A. Sessione di analisi dei campioni (Extract + PCR)
- B. Sessione di analisi dei Calibratori (PCR Only)
- C. Sessione di analisi del Positive Control e del Negative Control (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 **MyGenius PRO** può essere collegato al "Laboratory Information System" (LIS) tramite il quale è possibile scaricare i dati della sessione di lavoro. Consultare il manuale di istruzioni dello strumento per maggiori dettagli.

Prima di configurare una sessione di analisi:

1. Scongelerare le provette di **PCR Mix** necessarie, portandole a temperatura ambiente per 30 minuti. Ogni provetta contiene un volume sufficiente per **24 test** (5 o più test per sessione). Agitare delicatamente, centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.
2. Prelevare le provette di **RT EnzymeMix II** necessarie. Ciascuna provetta contiene un volume sufficiente per **48 test**. Agitare delicatamente, centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.
3. Preparare una provetta da 2 mL (Sarstedt cod. 72.694.005, non fornita in questo kit) per la **miscela di reazione completa** ed etichettarla utilizzando un pennarello indelebile.
4. Calcolare i volumi necessari di **PCR Mix** and **RT EnzymeMix II** per preparare la **miscela di reazione completa** in base al numero di campioni (N) da analizzare, come descritto nella tabella sottostante.

Numero di test (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 12$	290 μL	4,4 μL
$13 \leq N \leq 18$	$(N + 3) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 3) \times 0,3 \mu\text{L}$
$19 \leq N \leq 23$	$(N + 4) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 4) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 24$	580 μL	8,7 μL

NOTA

Se il numero di reazioni supera i 24 test, preparare una provetta da 2 mL aggiuntiva contenente il numero richiesto di reazioni, seguendo le istruzioni riportate nella tabella di cui sopra.

- Preparare la **miscela di reazione completa** trasferendo nella provetta da 2 mL etichettata i volumi calcolati dei due componenti. Mescolare con il vortex a bassa velocità per 10 secondi ripetendo l'operazione per tre volte, centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.

NOTA

La **miscela di reazione** può essere conservata a bordo nel blocco refrigerato per un periodo fino a 7 ore. La miscela di reazione completa **non può** essere conservata per essere riutilizzata.

NOTA

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

NOTA

Non esporre il prodotto **RT EnzymeMix** a temperature superiori a -20 °C per più di 10 minuti.

Per impostare uno dei tre tipi di sessione di analisi, procedere come indicato di seguito, facendo riferimento alle istruzioni visualizzate sull'interfaccia GUI:

	A. Sessione di analisi dei campioni (Extract + PCR)	B. Sessione di analisi dei Calibratori (PCR Only)	C. Sessione di analisi del Positive Control e del Negative Control (PCR Only)
1	Identificare i campioni e, se 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. Se la provetta primaria è compatibile con i rack di MyGenius PRO, inserire la provetta con i campioni nei rack; se ciò non è possibile, trasferire 660 µL di campione in una provetta secondaria precedentemente etichettata da (2mL). Scongellare le provette necessarie di Internal Control Maxi (IC MAXI) a temperatura ambiente per 30 minuti. Mescolare delicatamente, quindi centrifugare il contenuto per 5 secondi. Ciascuna provetta contiene un volume sufficiente per 72 test.	Scongellare le provette di Q-PCR Standard necessarie (Cal1: Q-PCR Standard 102, Cal2: Q-PCR Standard 103, Cal3: Q-PCR Standard 104, Cal4: Q-PCR Standard 105) 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.	Scongellare le provette di Positive Control 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. Centrifugare le provette di Negative Control per 5 secondi.
2	Se lo strumento è collegato al LIS, i codici a barre dei campioni vengono letti e riconosciuti automaticamente da MyGenius PRO quando vengono posizionati nell'Area campioni. Se lo strumento non è collegato al LIS, assegnare manualmente i campioni utilizzando le funzioni ASSIGN TEST (Assegna test) o ASSIGN SAMPLE (Assegna campione) nella pagina "Sample List" dell'interfaccia grafica, prima di caricarli nello strumento. Queste funzioni consentono anche di assegnare il protocollo di prova corretto a ciascun campione.	Caricare la PCR Mix e le provette di Q-PCR Standard nel carosello refrigerato per reagenti.	Caricare la PCR Mix e le provette di Positive Control e Negative Control nel carosello refrigerato per reagenti.
3	In modalità STAND-BY verificare che vi sia una quantità sufficiente di materiali di consumo per completare il test e che i livelli dei rifiuti solidi e liquidi siano adeguati al funzionamento dello strumento. Se necessario, caricare i materiali di consumo richiesti negli appositi cassette e svuotare il contenitore dei rifiuti e il serbatoio dei liquidi. Per le procedure di caricamento dettagliate, consultare il manuale d'uso dello strumento.	In modalità STAND-BY verificare che vi sia una quantità sufficiente di materiali di consumo per completare il test e che i livelli dei rifiuti solidi e liquidi siano adeguati al funzionamento dello strumento. Se necessario, caricare i materiali di consumo richiesti negli appositi cassette e svuotare il contenitore dei rifiuti e il serbatoio dei liquidi. Per le procedure di caricamento dettagliate, consultare il manuale d'uso dello strumento.	In modalità STAND-BY verificare che vi sia una quantità sufficiente di materiali di consumo per completare il test e che i livelli dei rifiuti solidi e liquidi siano adeguati al funzionamento dello strumento. Se necessario, caricare i materiali di consumo richiesti negli appositi cassette e svuotare il contenitore dei rifiuti e il serbatoio dei liquidi. Per le procedure di caricamento dettagliate, consultare il manuale d'uso dello strumento.
4	Premere Start nella pagina iniziale e attendere che lo strumento passi allo stato 'Preparation' (Preparazione) e quindi 'Operation' (Funzionamento).	Premere Start nella pagina iniziale e attendere che lo strumento passi allo stato 'Preparation' (Preparazione) e quindi 'Operation' (Funzionamento).	Premere Start nella pagina iniziale e attendere che lo strumento passi allo stato 'Preparation' (Preparazione) e quindi 'Operation' (Funzionamento).
5	Caricare la PCR Mix nel carosello refrigerato per reagenti.	Nella schermata Home, selezionare il pulsante "Calibration" (Calibrazione).	Nella schermata Home, selezionare il pulsante "Controls" (Controlli).

	A. Sessione di analisi dei campioni (Extract + PCR)	B. Sessione di analisi dei Calibratori (PCR Only)	C. Sessione di analisi del Positive Control e del Negative Control (PCR Only)
6	Prenotare l'apertura dello sportello dell'area Auto Sampler e caricare i campioni e IC MAXI.	Nella pagina Calibration selezionare la provetta di Q-PCR Standard caricata nel punto 2, quindi premere "Order" (Ordina).	Nella pagina Control selezionare il Positive Control e il Negative Control caricati nel punto 2 e quindi premere "Order" (Ordina).
7	Chiudere lo sportello dell'Auto Sampler e la sessione di analisi avrà inizio.		

Non appena si ottiene un risultato, **MyGenius PRO** consente agli utenti di visualizzare, approvare, archiviare i risultati e salvare il report finale.

NOTA

Alla fine della sessione di analisi, 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 2 calibrazioni, lasciandolo sullo strumento per un massimo di 2 ore per ciascuna calibrazione.

NOTA

Alla fine della sessione di analisi, 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 calibrazioni lasciandolo a bordo dello strumento per un massimo di 3 ore per ogni calibrazione.

NOTA

Quando necessario o quando lo strumento lo richiede, rimuovere dal cassetto dello strumento la **PCR Cassette** e gli altri materiali di consumo, che devono essere smaltiti in conformità a tutte le normative di legge nazionali e ambientali. Evitare la fuoriuscita dei prodotti di reazione.

NOTA

Lo strumento **MyGenius PRO** può essere collegato al "Laboratory Information System" (LIS) tramite il quale è possibile scaricare i dati della sessione di lavoro. Consultare il manuale di istruzioni dello strumento per maggiori dettagli.

11.3 FASE 3 - Esame ed approvazione dei risultati

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

Una volta completata l'analisi di ciascun campione, i risultati possono essere visualizzati nella schermata 'Results', che mostra i risultati e le informazioni relative ai campioni. Da questa schermata è possibile approvare i risultati e salvare i report. Consultare il manuale di istruzioni dello strumento per maggiori dettagli.

Lo strumento **MyGenius PRO** utilizza il prodotto **HCV 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

Validazione della curva di calibrazione

Il programma con **ELiTe InGenius Software** interpreta i risultati della PCR per il target delle reazioni del Calibratore con i parametri dell'Assay Protocol **HCV ELiTe_My_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 (Calibrations) Esse possono essere visionate e approvate dall'utente, selezionando la calibrazione di interesse e la sezione "View chart" (Visualizza grafico).

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

NOTA

Se la curva di calibrazione non soddisfa i criteri di accettazione, sulla schermata "Calibration" (Calibrazione) appare il messaggio "Error" (Errore). In questo caso, i risultati non possono essere approvati e si devono ripetere le reazioni di amplificazione del calibratore. Inoltre, se nella sessione di analisi sono stati inclusi dei campioni, questi non vengono quantificati: in tal caso, dopo la ripetizione della calibrazione, tutti i risultati devono essere interpretati e approvati (vedere la sezione dedicata ai risultati dei campioni).

Validazione dei risultati di amplificazione del Positive Control e del Negative Control

Il programma con **ELiTe InGenius software** interpreta i risultati della PCR per il target delle reazioni del Positive Control e del Negative Control con i parametri degli Assay Protocol **HCV ELiTe_My_PC** and **HCV ELiTe_My_NC**. I valori di Ct risultanti vengono convertiti in concentrazione e utilizzati 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) Esse possono essere visionate e approvate dall'utente, selezionando la calibrazione di interesse e la sezione "View chart" (Visualizza grafico).

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

Il programma con **MyGenius PRO Software** elabora i risultati del Positive Control e del Negative Control e genera i grafici dei controlli. I risultati vengono analizzati dal software per garantire che le prestazioni del sistema rientrino nei criteri di accettazione, riportati nei tracciati dei grafici di controllo. Consultare il manuale di istruzioni dello strumento per maggiori dettagli.

NOTA

Se il risultato del Positive Control o del Negative Control non soddisfa i criteri di accettazione, sulla schermata "Controls" (Controlli) appare il messaggio "Error" (Errore). In tal caso, i risultati non possono essere approvati e si devono ripetere le sessioni del Positive Control o del Negative Control.

NOTA

Se il risultato del Positive Control o del Negative Control non è valido e i campioni erano inclusi nella medesima sessione, non è possibile approvare i campioni. In questo caso, dopo la ripetizione dei controlli, è necessario interpretare e approvare tutti i risultati (vedere la sezione dedicata ai risultati dei campioni).

Validazione dei risultati del campione

Il programma con **ELiTe InGenius software** interpreta i risultati della PCR per il target (canale **HCV**) e per l'Internal Control (canale **IC**) con i parametri degli Assay Protocol **HCV ELiTe_My_PL_IU_600-50**, **HCV ELiTe_My_PL_cml_600-50**, **HCV ELiTe_My_Se_IU_600-50** e **HCV ELiTe_My_Se_cml_600-50**. I valori di Ct target risultanti vengono convertiti in concentrazione.

I risultati vengono riportati nella schermata "Results".

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

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

I risultati dei campioni vengono interpretati automaticamente dal programma mediante **MyGenius PRO Software** utilizzando i parametri dell'Assay Protocol se i risultati della calibrazione e dei controlli correlati sono stati approvati. campioni non sono presenti calibrazioni e controlli validi e approvati, i campioni non possono essere interpretati e approvati: in questo caso, le calibrazioni e i controlli devono essere approvati e successivamente ogni campione deve essere interpretato nella sezione "sample list" (elenco campioni) ed approvato nella sezione "Results" (Risultati) utilizzando gli appositi pulsanti.

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
HCV:RNA DETECTED, QUANTITY EQUAL TO XXX COPIES/ML OR IU/ML (HCV:RNA Rilevato, quantità pari a "XXX" copie/mL o IU/mL)	L' RNA di HCV è stato rilevato nel campione entro l'intervallo di misurazione del saggio, nella concentrazione indicata.
HCV:RNA DETECTED, QUANTITY BELOW "LLOQ" COPIES/ML OR IU/ML (HCV:RNA Rilevato, quantità minore di "LLOQ" copie/mL o IU/mL)	L' RNA di HCV è stato rilevato nel campione, la sua concentrazione è al di sotto del limite inferiore di quantificazione (LLOQ) del saggio.
HCV:RNA DETECTED, QUANTITY BEYOND "ULOQ" COPIES/ML OR IU/ML (HCV:RNA Rilevato, quantità maggiore di "ULOQ" copie/mL o IU/mL)	L' RNA di HCV è stato rilevato nel campione, la sua concentrazione è oltre il limite superiore di quantificazione (ULOQ) del saggio.
HCV:RNA NOT DETECTED OR BELOW "LOD" COPIES/ML OR IU/ML (HCV:RNA NON Rilevato o minore di "LOD" copie/mL o IU/mL)	L' RNA di HCV non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per l'RNA di HCV oppure la sua concentrazione è al di sotto del Limite di Rilevabilità (LoD) del saggio.
Invalid - Retest Sample (Non valido – Ripetere il 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 INVALID-RETEST SAMPLE" (NON VALIDO – RIPETERE IL CAMPIONE): in questo caso, il DNA dell'Internal Control non è stato rilevato in modo efficace, probabilmente a causa di problemi nella fase di campionamento, pretrattamento, estrazione o PCR (ad es. campionamento non corretto, degradazione o perdita di RNA durante l'estrazione o presenza di inibitori nell'eluato), che possono generare risultati errati. In questo caso il campione deve essere nuovamente analizzato partendo dall'estrazione di un nuovo campione.

I campioni segnalati come "HCV:RNA NOT DETECTED OR BELOW "LOD" COPIES/ML OR IU/ML" (HCV:RNA NON Rilevato o minore di "LOD" copie/mL o IU/mL) sono idonei per l'analisi, ma non è stato possibile rilevare l'HCV. In questo caso, il campione può essere negativo per il RNA di HCV oppure il RNA di HCV è presente a una concentrazione inferiore rispetto al Limite di rilevabilità del saggio (vedere [12 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI CON ELITE InGenius, ELITE BeGenius e MyGenius PRO pagina 32](#)).

I campioni positivi per l'RNA di HCV a una concentrazione inferiore al limite di rilevabilità (e al limite di quantificazione inferiore) del saggio, se rilevati, vengono segnalati come "HCV: RNA DETECTED, QUANTITY BELOW "LLOQ" COPIES/ML OR IU/ML" (HCV: RNA Rilevato, quantità minore di "LLOQ" copie/mL o IU/mL) (vedere [12 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI CON ELITe InGenius, ELITe BeGenius e MyGenius PRO pagina 32](#)).

I campioni positivi per l'RNA di HCV che rientrano nell'intervallo di misurazione lineare vengono rilevati e segnalati come "HCV: RNA DETECTED, QUANTITY EQUAL TO "XXX" COPIES/ML OR IU/ML" (HCV: RNA Rilevato, quantità pari a "XXX" copie/mL o IU/mL) (vedere [12 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI CON ELITe InGenius, ELITe BeGenius e MyGenius PRO pagina 32](#)).

I campioni positivi per l'RNA di HCV che sono al di sopra del limite superiore di quantificazione vengono segnalati come "HCV: RNA DETECTED, QUANTITY BEYOND "ULOQ" COPIES/ML OR IU/ML" (HCV: RNA Rilevato, quantità maggiore di "ULOQ" copie/mL o IU/mL) e non sono idonei per la quantificazione (vedere [12 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI CON ELITe InGenius, ELITe BeGenius e MyGenius PRO pagina 32](#)). Se necessario, il campione può essere diluito prima dell'estrazione e analizzato nuovamente per ottenere risultati che rientrino nell'intervallo di misurazione lineare del saggio.

NOTA

I risultati ottenuti con questo saggio devono essere interpretati in associazione a tutte le osservazioni cliniche ed esiti degli esami di laboratorio rilevanti.

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".

Report con i risultati del campione

I risultati del campione vengono memorizzati nel database e possono essere esportati sotto forma di "Sample Report" e "Details Report".

Il "Details Report" mostra i dettagli dei risultati per campione selezionato (SID).

Il "Summary Report" mostra i risultati dell'interpretazione per tutti i campioni selezionati (SID).

Sia il "Details Report" che il "Summary Report" possono essere stampati e firmati da personale autorizzato.

12 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI CON ELITe InGenius, ELITe BeGenius e MyGenius PRO

12.1 Limite di rilevazione (LoD)

Il Limite di rilevabilità (LoD) del saggio è stato determinato sullo strumento ELITe InGenius analizzando un pannello di Plasma inoculato con materiale di riferimento certificato per l'HCV (6° standard internazionale dell'OMS, NIBSC). È stata eseguita un'analisi di regressione Probit sui risultati e il LoD è stato stimato come la concentrazione corrispondente a una probabilità del 95% di un risultato positivo.

I risultati sono illustrati nelle tabelle seguenti.

Tabella 18

Limite di rilevabilità (IU/mL) per campioni di Plasma in ACD con ELITe InGenius			
Target	LoD	Intervallo di Confidenza (IC) al 95%	
		Limite inferiore	Limite superiore
HCV	26	19	48

Il LoD inteso come copie/mL per campioni di Plasma è stato calcolato applicando il fattore di conversione specifico (2,4 UI/copia) specificato nel paragrafo [12.13 Fattore di conversione alle Unità Internazionali pagina 43](#). La sensibilità analitica espressa in copie/mL è riportata di seguito.

Tabella 19

Limite di rilevabilità (copie/mL) per campioni di plasma in ACD con ELITe InGenius			
Target	LoD	Intervallo di Confidenza (IC) al 95%	
		Limite inferiore	Limite superiore
HCV	11	8	20

Il valore calcolato di LoD è stato verificato mediante analisi su ELITe InGenius ed ELITe BeGenius di un pool di plasma in ACD, di un pool di plasma in EDTA e di un pool di siero inoculati con materiale di riferimento certificato per HCV alla concentrazione dichiarata.

I risultati ottenuti hanno confermato la concentrazione dichiarata per il target del prodotto HCV ELITe MGB Kit su entrambi gli strumenti ELITe InGenius ed ELITe BeGenius.

Il valore LoD calcolato su ELITe InGenius è valido anche per MyGenius PRO.

12.2 Equivalenza delle matrici: Plasma con EDTA a confronto con plasma con ACD e siero

L'equivalenza delle matrici di HCV ELITe MGB Kit è stata verificata utilizzando campioni appaiati (stesso donatore) di plasma in EDTA e in ACD, e di plasma in EDTA e di siero su ELITe InGenius.

Per 30 campioni testati come negativi per HCV con un saggio immunologico CE IVD, è stata valutata la percentuale di concordanza negativa (NPA) e il coefficiente di variabilità (% CV) dei valori di Ct dell'Internal Control

I risultati sono illustrati nelle tabelle seguenti.

Tabella 20

Campione	N	Positivo	Negativo	NPA	Ct di IC %CV	%CV totale Ct IC
Plasma in EDTA	30	0	30	100%	0,89	0,95
Plasma in ACD	30	0	30		1,02	

Tabella 21

Campione	N	Positivo	Negativo	NPA	Ct di HCV % CV	%CV totale Ct dell'HCV
Plasma in EDTA	30	30	0	100%	0,90	1,11
Siero	30	30	0		1,28	

Per 30 campioni positivizzati con materiale di riferimento certificato (6th WHO HCV International Standard, NIBSC) è stata valutata la percentuale di concordanza positiva (PPA) e il coefficiente di variabilità (% CV) dei valori di Ct di HCV.

I risultati sono illustrati nelle tabelle seguenti.

Tabella 22

Campione	N	Positivo	Negativo	PPA	Ct di HCV % CV	%CV totale Ct dell'HCV
Plasma in EDTA	30	30	0	100%	1,96	1,79
Plasma in ACD	30	30	0		1,60	
Plasma in EDTA	30	30	0	100%	1,84	1,81
Siero	30	30	0		1,77	

In queste analisi, i 30 campioni appaiati di plasma in EDTA e di plasma in ACD e i 30 campioni appaiati di plasma in EDTA e di siero hanno evidenziato prestazioni equivalenti quando analizzati con HCV ELITE MGB® Kit in associazione con ELITE InGenius.

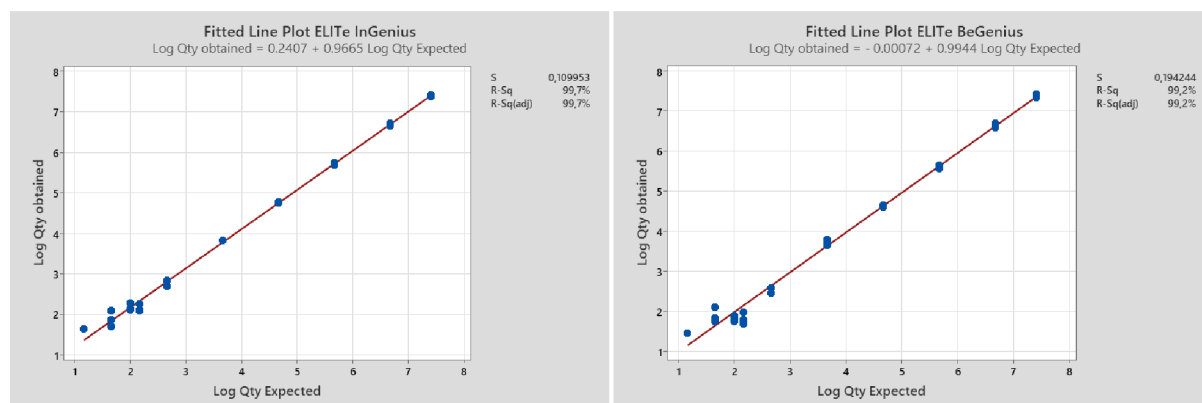
Ulteriori analisi sull'equivalenza delle matrici sono state eseguite nell'ambito dello studio riguardante l'intervallo di misurazione lineare riportato nella sezione seguente.

L'equivalenza delle matrici verificata in associazione con ELITE InGenius è valida anche per ELITE BeGenius e MyGenius PRO.

12.3 Intervallo di misurazione lineare

L'intervallo di misurazione lineare del saggio è stato determinato in associazione a campioni di plasma su ELITE InGenius ed ELITE BeGenius utilizzando un pannello di diluizioni del materiale di riferimento di HCV (AcroMetrix) in campioni negativi di plasma in EDTA.

I risultati sono illustrati nelle figure seguenti.

**Fig. 1**

L'intervallo di misurazione lineare in copie/mL per campioni di plasma in EDTA è stato calcolato applicando lo specifico fattore di conversione riportato nella sezione seguente.

I risultati finali sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 23

Intervallo di misurazione lineare per HCV ELITE MGB Kit con ELITE InGenius ed ELITE BeGenius	
Limite inferiore	Limite superiore
26 IU/mL	25.000.001 IU/mL
11 copie/mL	10.416.667 copie/mL

Per i genotipi principali di HCV (1, 2, 3, 4, 5, 6), la linearità di quantificazione è stata verificata mediante analisi di campioni negativi di plasma in EDTA positivizzati con materiale di riferimento per HCV (SeraCare).

I risultati sono illustrati nella figura seguente.

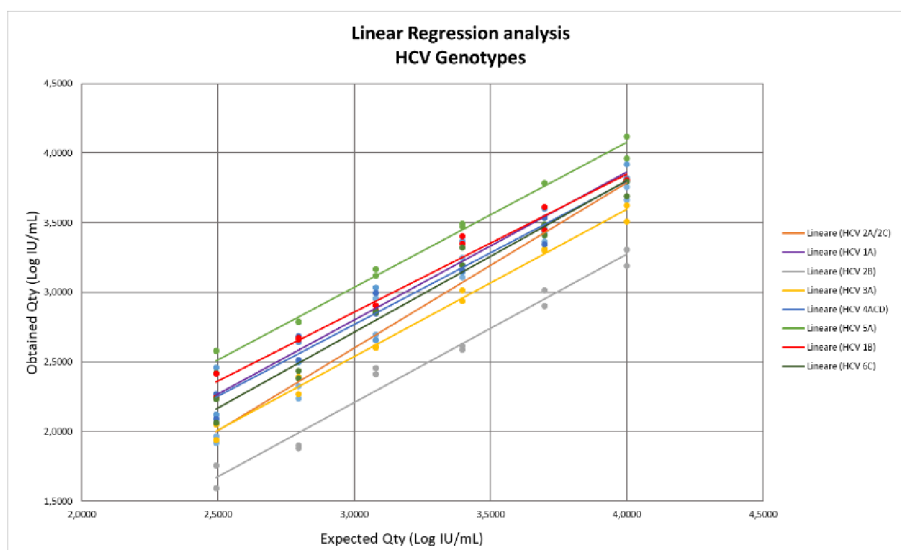


Fig. 2

La linearità del saggio è stata confermata per i genotipi principali di HCV (1, 2, 3, 4, 5, 6): il valore R² è compreso tra 0,950 e 0,992 e i risultati quantitativi sono risultati compresi entro $\pm 0,5$ Log IU/mL, ad eccezione del genotipo 2B di HCV che è stato sottostimato di circa 0,8 Log IU/mL rispetto al valore teorico. Tuttavia, gli stessi campioni sono stati sottostimati da “cobas® HCV da utilizzare sui sistemi 6800” (Roche Diagnostics).

La linearità del saggio è stata verificata analizzando campioni negativi di plasma in EDTA, campioni negativi di plasma in ACD e campioni negativi di siero positivizzati con materiale di riferimento per HCV (6° Standard Internazionale dell'OMS, NIBSC).

I risultati sono illustrati nella figura seguente.

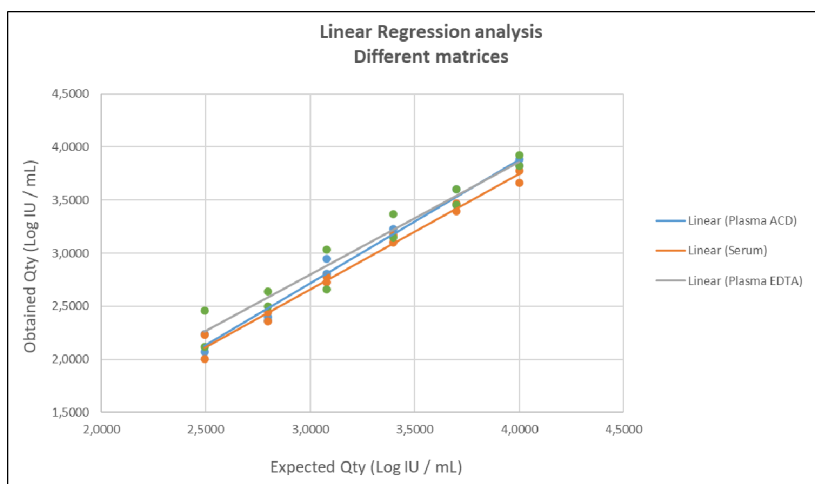


Fig. 3

La linearità del saggio è stata verificata per campioni di plasma in EDTA, di plasma in ACD e di siero dando risultati quantitativi entro $\pm 0,5$ Log IU/mL e R² rispettivamente di 0,950, 0,984 e 0,987.

L'intervallo di misurazione lineare determinato per ELITE InGenius è valido anche per ELITE BeGenius e MyGenius PRO..

12.4 Incertezza della curva dello standard

Il valore di incertezza della curva dello 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 0,1416 Log copie/reazione.

Tabella 24

Curva standard Livelli	Teorico Log c/reaz.	SD	Incertezza combinata estesa
HCV Standard 10 ⁵	5,0000	0,0652	0,1416
HCV Standard 10 ⁴	4,0000	0,0641	
HCV Standard 10 ³	3,0000	0,0489	
HCV Standard 10 ²	2,0000	0,0964	

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

L'inclusività del saggio, intesa come efficienza di rilevazione dei diversi genotipi dell'HCV, è stata valutata mediante analisi in silico delle sequenze disponibili nelle banche dati dei nucleotidi. L'analisi ha evidenziato la conservazione delle sequenze e l'assenza di mutazioni significative. Si prevede pertanto un'efficace rilevazione dei diversi ceppi o isolati.

L'inclusività del saggio è stata verificata testando tre pannelli di materiali di riferimento per HVC (Seracare, AccuTrak, Qnostics) a 3x LoD.

I risultati sono illustrati nelle tabelle seguenti.

Tabella 25

AccuTrak HCV RNA Genotype Performance Panel (SeraCare)		
ID campione	Pos./Rep.	Esito
HCV 1a	3/3	HCV detected (HCV rilevato)
HCV 1b	3/3	HCV detected (HCV rilevato)
HCV 2a/2c	3/3	HCV detected (HCV rilevato)
HCV 2b	3/3	HCV detected (HCV rilevato)
HCV 3a	3/3	HCV detected (HCV rilevato)
DHCV 4acd	3/3	HCV detected (HCV rilevato)
HCV 5a	3/3	HCV detected (HCV rilevato)
HCV 6c	3/3	HCV detected (HCV rilevato)
AccuTrak HCV RNA Genotype Performance Panel (SeraCare)		
ID campione	Pos./Rep.	Esito
HCV 1a	3/3	HCV detected (HCV rilevato)
HCV 1b	3/3	HCV detected (HCV rilevato)
HCV 2b	3/3	HCV detected (HCV rilevato)
HCV 3a	3/3	HCV detected (HCV rilevato)
HCV 4a	3/3	HCV detected (HCV rilevato)
HCV 5a	3/3	HCV detected (HCV rilevato)
HCV 6a	3/3	HCV detected (HCV rilevato)

Tabella 25 (segue)

AccuTrak HCV RNA Genotype Performance Panel (SeraCare)		
ID campione	Pos./Rep.	Esito
AccuTrak HCV RNA Genotype Performance Panel (SeraCare)		
ID campione	Pos./Rep.	Esito
HCV 1a	3/3	HCV detected (HCV rilevato)
HCV 1b	3/3	HCV detected (HCV rilevato)
HCV 2i	3/3	HCV detected (HCV rilevato)
HCV 3a	3/3	HCV detected (HCV rilevato)
HCV 4r	3/3	HCV detected (HCV rilevato)
HCV 5a	3/3	HCV detected (HCV rilevato)
HCV 6I	3/3	HCV detected (HCV rilevato)

Tutti i campioni sono stati correttamente rilevati come positivi e quantificati entro $\pm 0,5$ Log utilizzando HCV ELITE MGB® Kit su ELITE InGenius.

12.6 Marcatori potenzialmente interferenti: Crossreattività

La potenziale cross-reattività di organismi non target che potrebbero essere presenti nei campioni clinici è stata valutata per il test mediante analisi in silico. L'analisi non ha evidenziato alcuna omologia significativa con altri organismi non target (virus, batteri, protozoi e funghi). Pertanto, non è prevista alcuna cross-reattività.

L'assenza di cross-reattività con altri organismi è stata verificata anche mediante l'analisi di un pannello di organismi diversi da quello di interesse (ATCC, NIBSC, Vircell e Zeptomatrix) ad alto titolo.

I risultati sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 26

ID campione	Pos./Rep.	Esito
HIV1	0/3	Nessuna cross-reattività
HIV2	0/3	Nessuna cross-reattività
HTLVI	0/3	Nessuna cross-reattività
HTLVII	0/3	Nessuna cross-reattività
CMV	0/3	Nessuna cross-reattività
EBV	0/3	Nessuna cross-reattività
HAV	0/3	Nessuna cross-reattività
HBV	0/3	Nessuna cross-reattività
HEV	0/3	Nessuna cross-reattività
HSV1	0/3	Nessuna cross-reattività
HSV2	0/3	Nessuna cross-reattività
HHV6	0/3	Nessuna cross-reattività
VZV	0/3	Nessuna cross-reattività

Tabella 26 (segue)

ID campione	Pos./Rep.	Esito
Influenza A	0/3	Nessuna cross-reattività
Influenza B	0/3	Nessuna cross-reattività
RSV	0/3	Nessuna cross-reattività
ADV	0/3	Nessuna cross-reattività
WNV	0/3	Nessuna cross-reattività
DV3	0/3	Nessuna cross-reattività
EV	0/3	Nessuna cross-reattività
PVB19	0/3	Nessuna cross-reattività
Staphylococcus aureus	0/3	Nessuna cross-reattività
Candida albicans	0/3	Nessuna cross-reattività
WNV (NIBSC)	0/12	Nessuna cross-reattività
WNV (ATCC)	0/3	Nessuna cross-reattività
WNV (Vircell)	0/5	Nessuna cross-reattività
DV1	0/5	Nessuna cross-reattività
DV2	0/5	Nessuna cross-reattività
DV3 (Vircell)	0/5	Nessuna cross-reattività
DV3 (ATCC)	0/3	Nessuna cross-reattività
DV4	0/5	Nessuna cross-reattività
Virus della febbre gialla	0/5	Nessuna cross-reattività
Virus Zika asiatico	0/5	Nessuna cross-reattività
Virus Zika	0/5	Nessuna cross-reattività
Virus Chikungunya	0/5	Nessuna cross-reattività

Tutti i marcatori potenzialmente interferenti analizzati non hanno evidenziato alcuna cross-reattività per l'amplificazione del target HCV quando analizzati con HCV ELITe MGB Kit.

12.7 Marcatori potenzialmente interferenti: Inibizione

La potenziale inibizione di organismi diversi da quello di interesse che si possono rilevare nei campioni clinici è stata valutata per il saggio mediante l'analisi di pannelli di organismi diversi da quello di interesse (ATCC, NIBSC, ZeptoMetrix) a 3x LoD.

I risultati sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 27

ID campione	HCV Pos. / Rep.	Esito
HIV1	3/3	Nessuna interferenza
HIV2	3/3	Nessuna interferenza
HTLVI	3/3	Nessuna interferenza

Tabella 27 (segue)

ID campione	HCV Pos. / Rep.	Esito
HTLVII	3/3	Nessuna interferenza
CMV	3/3	Nessuna interferenza
EBV	3/3	Nessuna interferenza
HAV	3/3	Nessuna interferenza
HBV	3/3	Nessuna interferenza
HEV	3/3	Nessuna interferenza
HSV1	3/3	Nessuna interferenza
HSV2	3/3	Nessuna interferenza
HHV6	3/3	Nessuna interferenza
VZV	3/3	Nessuna interferenza
Influenza A	3/3	Nessuna interferenza
Influenza B	3/3	Nessuna interferenza
RSV	3/3	Nessuna interferenza
ADV	3/3	Nessuna interferenza
WNV	3/3	Nessuna interferenza
DV3	3/3	Nessuna interferenza
EV	3/3	Nessuna interferenza
PVB19	3/3	Nessuna interferenza
Staphylococcus aureus	3/3	Nessuna interferenza
Candida albicans	3/3	Nessuna interferenza

Tutti gli organismi potenzialmente interferenti analizzati non hanno evidenziato alcuna inibizione dell'amplificazione del target HCV quando analizzati con HCV ELITE MGB Kit.

12.8 Sostanze potenzialmente interferenti: Inibizione

La potenziale inibizione di sostanze interferenti (endogene ed esogene) che potrebbero essere presenti nei campioni clinici è stata valutata per il saggio mediante l'analisi di un pannello di sostanze a concentrazioni rilevanti in campioni di plasma positivi per il target.

I risultati sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 28

Campione	HCV Pos. / Rep.	Esito
Bilirubina	3/3	Nessuna interferenza
Trigliceridi	3/3	Nessuna interferenza
Emoglobina elevata	1/3	Interferenza
Emoglobina media	3/3	Interferenza
Emoglobina bassa	3/3	Nessuna interferenza

Tabella 28 (segue)

Campione	HCV Pos. / Rep.	Esito
Eparina	0/3	Interferenza
EDTA	3/3	Nessuna interferenza
Ganciclovir	3/3	Nessuna interferenza
Azitromicina	3/3	Nessuna interferenza
Sofosbuvir	3/3	Nessuna interferenza
Pibrentasvir	3/3	Nessuna interferenza
Glecaprevir	3/3	Nessuna interferenza
Ribavirina	3/3	Nessuna interferenza
Velpatasvir	3/3	Nessuna interferenza

La maggior parte delle sostanze testate non interferisce con l'amplificazione del target HCV o dell'Internal Control.

NOTA

L'emoglobina a concentrazione media (1,7 – 2,3 g/dL) è considerata interferente e non quantifica il target HCV con valori di quantità logaritmica medi del target compresi nell'intervallo richiesto dalle linee guida internazionali dopo l'aggiunta o la sottrazione del valore di SEM come errore di misurazione.

NOTA

È stato confermato che l'eparina e l'emoglobina a concentrazioni elevate (3,4 – 4,6 g/dL) sono in grado di inibire l'amplificazione dell'HCV; tuttavia, a causa del valore soglia del Ct dell'Internal Control (IC Ct < 31), nella maggior parte dei casi i risultati dei campioni sono stati classificati come "non validi" e non come "falsi negativi".

12.9 Cross-contaminazione

La possibile contaminazione crociata durante l'analisi è stata valutata analizzando 30 campioni di plasma negativi per l'RNA di HCV alternati a 30 campioni di plasma positivamente con materiale di riferimento certificato per HCV (Zeptomatrix) ad alto titolo.

I risultati sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 29

Campioni	N	Positivo	Negativo
Plasma con ACD inoculato a $6,26 \times 10^7$ HCV IU/mL	30	30	0
Plasma con ACD negativo per HCV	30	0	30

In questo test con HCV ELITe MGB Kit, non sono state rilevate cross-contaminazioni tra le sessioni, né al loro interno.

12.10 Tasso totale di errore di sistema

Il tasso totale di errore di sistema per il saggio è stato valutato sugli strumenti ELITe InGenius ed ELITe BeGenius analizzando un pannello di campioni positivamente con un materiale di riferimento certificato (6° Standard Internazionale dell'OMS per l'HCV, NISBC) alla concentrazione di 3 x LoD (circa 78 IU/mL).

I risultati sono sintetizzati nelle tabelle seguenti.

Tabella 30 ELITE InGenius — Tasso totale di errore di sistema

Campioni	N	Teorico IU/mL	Positivo	Negativo	Tasso totale di errore di sistema
Plasma in EDTA positivizzato con HCV	100	78	100	0	0%
Plasma in ACD positivizzato con HCV	30	78	30	0	0%
Siero positivizzato con HCV	30	78	30	0	0%

Tabella 31 ELITE BeGenius — Tasso totale di errore di sistema

Matrice	N	Teorico IU/mL	Positivo	Negativo	Tasso totale di errore di sistema
Plasma in EDTA positivizzato con HCV	100	78	100	0	0%

In questo test con HCV ELITE MGB Kit, nessuno dei campioni positivi per l'RNA di HCV ha fornito risultati falsi negativi. In questo test, il tasso totale di errore di sistema è stato pari allo 0%.

12.11 Ripetibilità

La ripetibilità intra-sessione e inter-sessione del saggio è stata valutata sugli strumenti ELITE InGenius ed ELITE BeGenius analizzando un pannello di campioni di plasma, inclusi un campione negativo e due campioni positivizzati con materiale di riferimento certificato per HCV (6° Standard Internazionale dell'OMS, NIBSC).

Un esempio dei risultati di ripetibilità intra-sessione (in un giorno) è illustrato nelle tabelle seguenti.

Tabella 32 Ripetibilità intra-sessione con ELITE InGenius (Giorno 1)

Campione	N	HCV			
		Media Ct	Media Ct	Media Ct	% Concordezza
Negativo	8	-	-	-	100%
3X LOD	8	37,28	0,34	0,92	100%
10X LOD	8	35,37	0,43	1,23	100%

Tabella 33 Ripetibilità intra-sessione con ELITE BeGenius (Day 1)

Campione		HCV			
		Media Ct	Media Ct	Media Ct	% Concordezza
Negativo	8	-	-	-	100%
3X LOD	8	37,83	1,15	3,05	100%
10X LOD	8	35,45	0,30	0,85	100%

Un esempio dei risultati di ripetibilità inter-sessione (in due giorni) è illustrato nelle tabelle seguenti.

Tabella 34 Ripetibilità inter-sessione con ELITE BeGenius (Day1 + Day2)

Campione	N	HCV			
		Media Ct	Media Ct	Media Ct	% Concordeza
Negativo	16	-	-	-	100%
3X LOD	16	37,37	0,67	1,78	100%
10X LOD	16	35,40	0,43	1,22	100%

Tabella 35 Ripetibilità inter-sessione con ELITE BeGenius (Day1 + Day2)

Campione	N	HCV			
		Media Ct	Media Ct	Media Ct	% Concordeza
Negativo	16	-	-	-	100%
3X LOD	16	37,68	0,25	2,31	100%
10X LOD	16	35,54	0,10	0,96	100%

Nel test di ripetibilità, HCV 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 a 5%.

12.12 Riproducibilità

La riproducibilità inter-sito del saggio è stata valutata sullo strumento ELITE InGenius analizzando un pannello di campioni di plasma negativi o positivizzati con HCV (6° Standard Internazionale dell'OMS, NIBSC).

Le tabelle sottostanti riportano una sintesi della riproducibilità inter-sito (su due siti).

Tabella 36 Riproducibilità inter-sito con ELITE InGenius

Campione	HCV				
	N	Media Ct	SD	%CV	% Concordeza
Negativo	24	Indet.	-	-	100%
3X LoD	24	36,89	0,55	1,48	100%
10X LoD	24	35,03	0,46	1,32	100%

Nel test di riproducibilità inter-sito, HCV ELITE MGB Kit ha rilevato il target e mostrato una variabilità massima dei valori di Ct del target espressa come %CV pari a 1,48%.

La riproducibilità del saggio è stata valutata su ELITE BeGenius ed ELITE InGenius analizzando un pannello di campioni di plasma negativi o positivizzati con HCV (6° Standard Internazionale dell'OMS, NIBSC).

Le tabelle sottostanti riportano una sintesi della riproducibilità inter-strumento (su tre strumenti).

Tabella 37 Riproducibilità inter-strumento con ELITE InGenius

Campione	HCV				
	N	Media Ct	SD	% CV	% Concordanza
Negativo	24	Indet.	-	-	100%
3x LoD	24	37,03	0,53	1,44	100%
10x LoD	24	33,97	0,38	1,11	100%

Tabella 38 Riproducibilità inter-strumento con ELITE InGenius

Campione	HCV				
	N	Media Ct	SD	% CV	% Concordanza
Negativo	24	Indet.	-	-	100%
3 x LoD	23	38,00	0,71	1,86	100%
10 x LoD	24	36,44	0,67	1,84	100%

Le tabelle sottostanti riportano una sintesi della riproducibilità inter-lotto (su tre lotti).

Tabella 39 Riproducibilità inter-lotto con ELITE InGenius

Campione	HCV				
	N	Media Ct	SD	% CV	% Concordanza
Negativo	48	Indet.	-	-	100%
3x LoD	48	37,32	0,64	1,72	100%
10x LoD	48	35,44	0,38	1,07	100%

Tabella 40 Riproducibilità inter-lotto con ELITE BeGenius

Campione	HCV				
	N	Media Ct	SD	% CV	% Concordanza
Negativo	48	Indet.	-	-	100%
3 x LoD	48	37,60	0,71	1,88	100%
10 x LoD	48	35,78	0,48	1,33	100%

Nel test di riproducibilità inter-strumento e inter-lotto, il prodotto HCV 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%.

12.13 Fattore di conversione alle Unità Internazionali

Il fattore di conversione per riportare i risultati quantitativi in IU/mL a partire da copie/mL è stato calcolato utilizzando il materiale di riferimento calibrato certificato "6° Standard Internazionale dell'OMS per HCV" (NIBSC).

Il fattore di conversione è stato determinato pari a **2,4 IU/copia**.

Essendo stata precedentemente dimostrata l'equivalenza tra campioni di plasma in EDTA, di plasma in ACD e di siero, il fattore di conversione può essere applicato alle tre matrici.

Il fattore di conversione di HCV ELiTe MGB Kit in associazione a plasma in EDTA è stato verificato con gli strumenti ELiTe BeGenius ed ELiTe InGenius utilizzando il materiale di riferimento calibrato certificato calibrato "6° Standard Internazionale dell'OMS per HCV" (NIBSC). I risultati ottenuti sono stati analizzati tramite regressione ortogonale e lineare allo scopo di calcolare la loro correlazione.

Il fattore di conversione in Unità Internazionali calcolato per ELiTe InGenius è valido anche per MyGenius PRO.

I risultati sono sintetizzati nelle figure sottostanti.

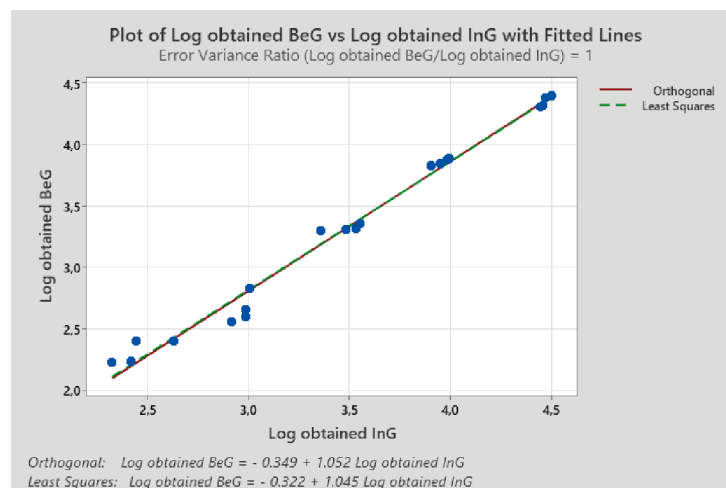


Fig. 4

L'analisi di regressione ortogonale ha generato un'intercetta pari a - 0,3494 (95% IC: - 0,5546; - 0,1442) e una pendenza pari a 1,0523 (95% CI: 0,9943; 1,1103). L'analisi di regressione lineare ha generato un R² di 0,985.

12.14 MyGenius PRO: correlazione dei metodi

L'analisi di correlazione dei diversi metodi è stata valutata su MyGenius PRO analizzando campioni di HCV provenienti da pazienti la cui carica virale rientrava nell'intervallo di misurazione del metodo di riferimento (ELiTe InGenius). I risultati ottenuti con MyGenius PRO e il metodo di riferimento (ELiTe InGenius) sono stati analizzati mediante la regressione lineare e la regressione ortogonale.

Lo studio di correlazione è stato condotto in un unico sito su 103 campioni clinici di plasma in EDTA certificati positivi al DNA di HCV o inoculati con materiale di riferimento utilizzando ELiTe InGenius come comparatore.

I risultati sono sintetizzati nelle figure sottostanti.

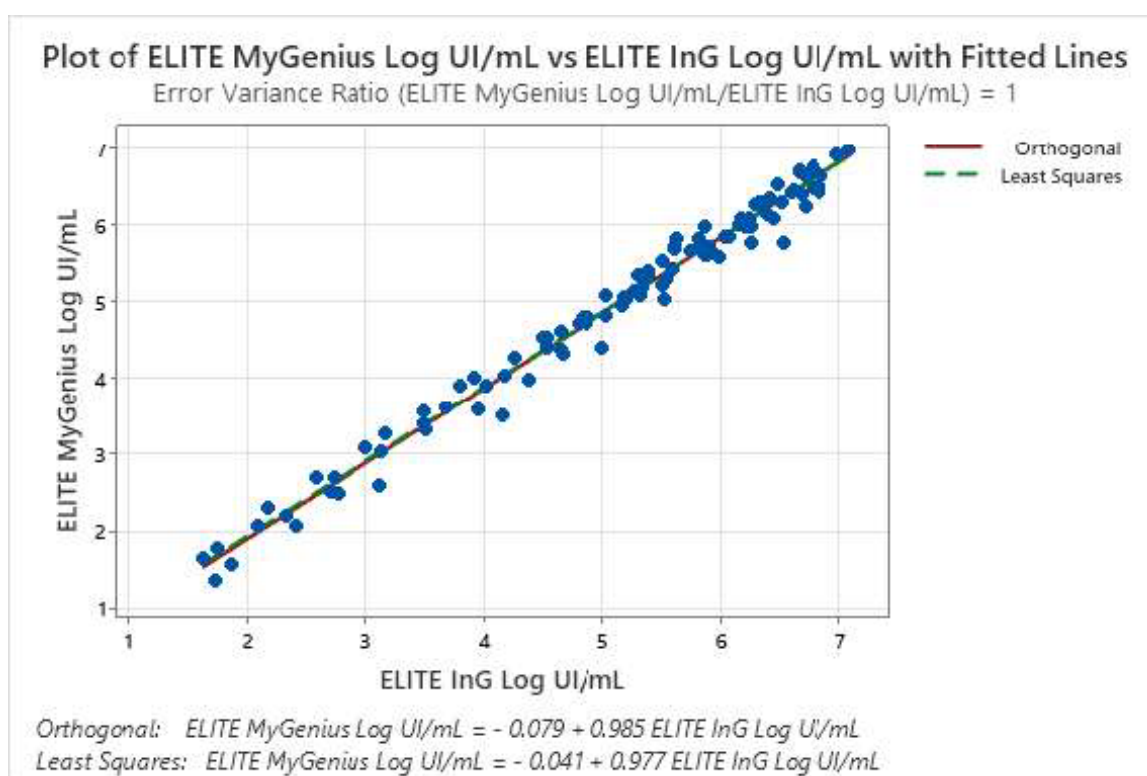


Fig. 5

L'analisi di regressione ortogonale ha generato un'intercetta pari a 0,0791 (CI 95%: 0,2047; 0,0464) e una pendenza pari a 0,9849 (95% CI: 0,9611; 1,0088). L'analisi di regressione lineare ha generato un R² di 0,985.

I risultati della correlazione dei metodi sono validi anche per le matrici di plasma in ACD e siero.

12.15 Specificità diagnostica: conferma di campioni negativi

La specificità diagnostica del saggio, valutata mediante percentuale di concordanza negativa, è stata valutata in tre siti differenti su **ELiTe InGenius** analizzando campioni clinici negativi per l'RNA di HCV testati con metodi di riferimento di diagnostica molecolare marcati CE IVD.

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 su ELiTe InGenius è applicabile anche a ELiTe BeGenius.

Poiché MyGenius PRO ha dimostrato di fornire prestazioni analitiche equivalenti a quelle di ELiTe InGenius, le prestazioni diagnostiche del saggio su entrambi gli strumenti sono considerate anch'esse equivalenti. Pertanto, la Specificità diagnostica del saggio ottenuta in associazione con ELiTe InGenius è applicabile anche a MyGenius PRO.

I risultati dello studio sulla specificità diagnostica, dopo l'analisi dei casi discordanti, sono stati riassunti nella tabella seguente, sia distinti in base al metodo di riferimento ("cobas® HCV da utilizzare sul sistema 4800" e "cobas® HCV da utilizzare sul sistema 6800", Roche Diagnostics) sia raggruppati, poiché presentano prestazioni equivalenti.

Tabella 41

Campioni di plasma in EDTA e di siero negativi per l'RNA di HCV	N	Positivo	Negativo	Specificità diagnostica
Riferimento: cobas HCV da utilizzare sul sistema 6800	100	0	100	100%
Riferimento: cobas HCV da utilizzare sul sistema 4800	222	5	217	97,7%
Risultati combinati	322	5	317	98,4%

Il valore di cut-off dell'IC Ct per il plasma in EDTA, il plasma in ACD e il siero è fissato a 31 quando l'analisi viene eseguita con ELITE InGenius e MyGenius PRO e a 33 quando viene eseguita con ELITE BeGenius.

12.16 Sensibilità diagnostica: correlazione metodologica

La sensibilità diagnostica del saggio, valutata mediante analisi di correlazione di diversi metodi, è stata valutata in tre laboratori diversi sullo strumento **ELITE InGenius** analizzando campioni clinici positivi per l'RNA di HCV di pazienti sottoposti a terapia antivirale, con carico virale compreso nell'intervallo di misurazione di HCV ELITE MBG Kit e dei metodi di riferimento di diagnostica molecolare marcati CE IVD. I risultati ottenuti con HCV ELITE MBG Kit e con il metodo di riferimento sono stati sottoposti ad analisi di regressione di Deming e lineare.

Lo studio di correlazione è stato eseguito in un laboratorio su 95 campioni clinici di plasma in EDTA positivi per il RNA di HCV utilizzando come metodo di riferimento il "cobas® HCV da utilizzare sul sistema 6800".

I risultati sono sintetizzati nelle figure sottostanti.

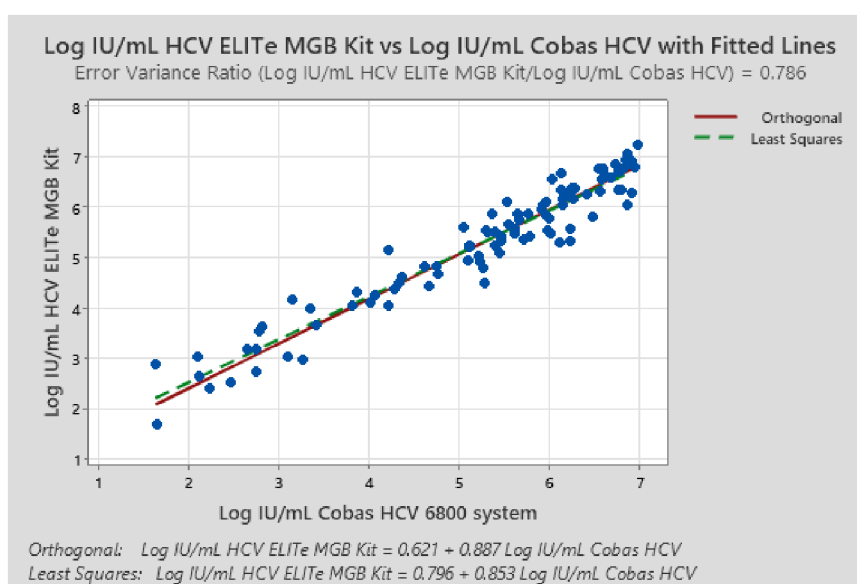


Fig. 6

In questo test, l'analisi di regressione di Deming ha generato una pendenza pari a 0,887 (CI 95%: 0,836; 0,938) e un'intercetta pari a 0,621 (95% CI: 0,345; 0,896). L'analisi di regressione lineare ha generato un R^2 di 0,926.

Lo studio di correlazione è stato eseguito in due altri siti su 184 campioni clinici di plasma in EDTA e di siero positivi per l'RNA di HCV utilizzando come metodo di riferimento il "cobas® HCV da utilizzare sul sistema 4800".

I risultati sono sintetizzati nelle figure sottostanti.

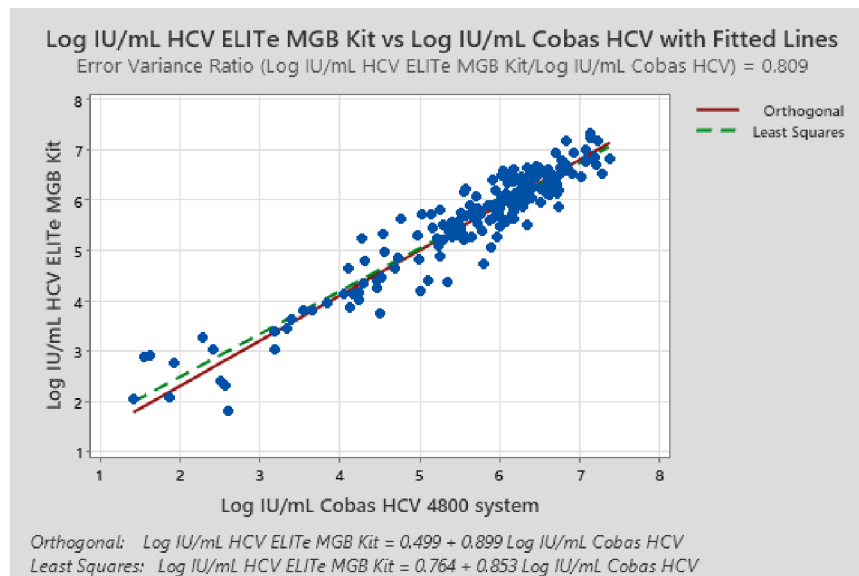


Fig. 7

In questo test, l'analisi di regressione di Deming ha generato una pendenza pari a 0,899 (CI 95%: 0,856; 0,943) e un'intercetta pari a 0,499 (95% CI: 0,245; 0,753). L'analisi di regressione lineare ha generato un R^2 di 0,899.

Poiché i due metodi di riferimento ("cobas® HCV da utilizzare sul sistema 4800" e "cobas® HCV da utilizzare sul sistema 6800", Roche Diagnostics) hanno prestazioni equivalenti, lo studio di correlazione è stato eseguito anche sui risultati combinati dei tre diversi siti.

I risultati sono sintetizzati nelle figure sottostanti.

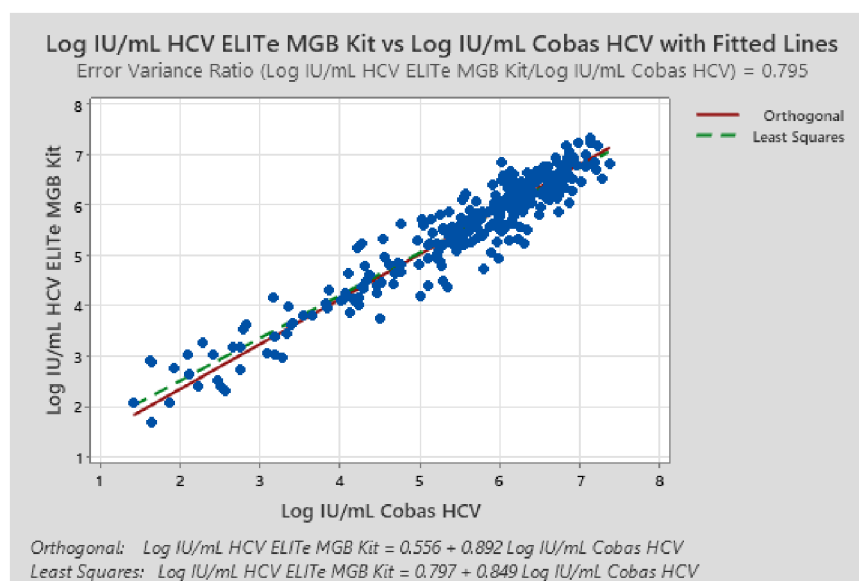


Fig. 8

In questo test, l'analisi di regressione di Deming ha generato una pendenza pari a 0,892 (CI 95%: 0,858; 0,926) e un'intercetta pari a 0,556 (95% CI: 0,363; 0,749). L'analisi di regressione lineare ha generato un R^2 di 0,905.

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 su **ELITe InGenius** è applicabile anche a **ELITe BeGenius**.

Poiché **MyGenius PRO** ha dimostrato di fornire prestazioni analitiche equivalenti a quelle di **ELITe InGenius**, le prestazioni diagnostiche del saggio su entrambi gli strumenti sono considerate anch'esse equivalenti. Pertanto, la sensibilità diagnostica del saggio ottenuta in associazione con **ELITe InGenius** è applicabile anche a **MyGenius PRO**.

NOTA

I dati e i risultati completi dei test eseguiti per la valutazione delle caratteristiche delle prestazioni del prodotto con le matrici e gli strumenti sono registrati nel Fascicolo Tecnico del prodotto "HCV ELiTe MGB® Kit", FTP601ING.

13 BIBLIOGRAFIA

P. Halfon et al. (2006) J Clin Microbiology 44: 2507 – 2511

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

WHO Prequalification of In Vitro Diagnostics Public Report (WHO PQ Public Report), number PQDx 0465-118-00, 03/2021, version 1,0.

<https://ltd.aruplab.com> (test numero 3000572).

<https://www.mayocliniclabs.com> (Test ID: HCVQN).

H. H. Kessler et al. (2001) J. Clin. Microb. 39: 1788 - 1790.

K. Sener et al. (2010) J. Clin. Lab. Analysis 24: 134 - 138.

C. Baleriola et al. (2011) J. Clin. Microbiol. 49: 3163 – 3167

WHO (World Health Organization), 2018, Guidelines for the care and treatment of persons diagnosed with chronic hepatitis C virus infection.

CDC (Centers for Disease Control and Prevention), 2020, CDC Recommendations for Hepatitis C Screening Among Adults — United States, 2020.

AASLD (American Association for the study of liver diseases) and IDSA (The Infectious Diseases Society of America), 2022, HCV Guidance: Recommendations for testing, managing and treating Hepatitis C.

EASL (European Association for the Study of the Liver), 2020, EASL recommendations on treatment of Hepatitis C 2020", Journal of Hepatology.

Ministero della Salute, 2022, Linee di indirizzo Nazionali sui percorsi diagnostico terapeutici assistenziali per l'infezione da virus dell'epatite.

14 LIMITI DELLA PROCEDURA

Utilizzare questo prodotto soltanto con i seguenti campioni clinici: Plasma raccolto in EDTA o ACD, siero.

Il plasma in EDTA o in ACD e il siero essere ottenuti da sangue intero conservato a temperatura ambiente o a 2/8 °C per un massimo di 24 ore.

Non utilizzare questo prodotto con plasma raccolto in provette contenenti eparina, perché l'eparina inibisce la reazione di amplificazione degli acidi nucleici e può quindi invalidare i risultati.

Non utilizzare questo prodotto con plasma emolizzato, perché l'eparina inibisce la reazione di amplificazione degli acidi nucleici e può quindi invalidare i risultati.

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

Questo prodotto non è destinato all'uso come test di screening o per rilevare la presenza o l'esposizione ad agenti trasmissibili nel sangue, negli emoderivati, nelle cellule, nei tessuti, negli organi o in qualsiasi dei loro derivati al fine di valutarne l'idoneità per la trasfusione, il trapianto o la terapia cellulare.

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.

Il metodo della Real Time PCR utilizzato in questo prodotto ha un'elevata sensibilità analitica che lo rende sensibile a cross-contaminazioni da campioni clinici positivi, Positive Control e prodotti della PCR. 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 del saggio per evitare risultati falsi positivi.

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, per evitare risultati errati.

È necessario disporre di aree separate per la preparazione della miscela di reazione completa e dell'estrazione/amplificazione/rilevazione dei prodotti della reazione di amplificazione per prevenire risultati falso-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.

Un risultato negativo ottenuto con questo prodotto indica che il RNA target non è stato rilevato nel RNA estratto dal campione; tuttavia, non si può escludere che il RNA target abbia un titolo inferiore al limite di rilevabilità del prodotto (vedere [12 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI CON ELITE InGenius, ELITE BeGenius e MyGenius PRO pagina 32](#)). In tal caso, il risultato potrebbe essere un falso negativo.

I risultati ottenuti con questo prodotto potrebbero talvolta indicare come risultato "Invalid" (non valido) a causa di un errore dell'Internal Control. In tal caso, il campione dovrà essere nuovamente analizzato, ripartendo dall'estrazione, e ciò potrebbe comportare un ritardo di comunicazione dei risultati finali.

Possibili polimorfismi, inserimenti o delezioni nella regione dell'RNA target coperta dai primer e dalle sonde del prodotto potrebbero compromettere la rilevazione e la quantificazione dell'RNA target.

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

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.

15 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI

ELITE InGenius ed ELITE BeGenius

Tabella 42

Reazione con Q-PCR Standard, curva standard o Positive Control non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errata impostazione dello strumento.	Controllare la posizione della miscela di reazione completa, di Q-PCR Standard e del Positive Control. Controllare i volumi della miscela di reazione completa, dei Q-PCR standard e del Positive Control.
Errore di preparazione della miscela di reazione completa.	Controllare i volumi dei reagenti utilizzata durante la preparazione della miscela di reazione completa.

Tabella 42 (segue)

Reazione con Q-PCR Standard, curva standard o Positive Control non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Degradazione della miscela di reazione completa o dei suoi componenti.	Non utilizzare la miscela di reazione completa 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. Non lasciare il prodotto RT EnzymeMix a temperature superiori a -20 °C per più di 10 minuti. Preparare di nuovo la miscela di reazione completa. Utilizzare una nuova aliquota dei componenti.
Degradazione dei componenti Q-PCR Standard o del Positive Control.	Non utilizzare il Q-PCR Standard per più di 2 sessioni indipendenti (2 ore ciascuna nella Extraction Area o nella Cooler Unit). Non utilizzare il Positive Control per più di 4 sessioni indipendenti (3 ore ciascuna nell'Extraction Area o nella Cooler Unit). Utilizzare nuove aliquote dei Q-PCR Standard o del Positive Control.
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup.

Tabella 43

Reazione del Negative Control non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errata impostazione dello strumento.	Controllare la posizione della miscela di reazione completa e del Negative Control. Controllare i volumi della miscela di reazione completa e del Negative Control.
Contaminazione del Negative Control.	Non utilizzare il Negative Control per più di 1 sessione. Utilizzare una nuova aliquota di acqua per biologia molecolare.
Contaminazione della miscela di reazione completa o dei suoi componenti.	Preparare di nuovo la miscela di reazione completa. Utilizzare una nuova aliquota dei componenti.
Contaminazione dell'area di estrazione, dei Rack, dell'Inventory Block o della Cooler Unit.	Pulire le superfici con detergenti acquosi, lavare i camici, sostituire le provette e i puntali in uso.
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup.

Tabella 44

Reazione del campione non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errata impostazione dello strumento.	Controllare la posizione della miscela di reazione completa, dell'Internal Control e del campione. Controllare i volumi della miscela di reazione completa, dell'Internal Control e del campione.
Errore di preparazione della miscela di reazione completa.	Controllare i volumi dei reagenti utilizzata durante la preparazione della miscela di reazione completa.

Tabella 44 (segue)

Reazione del campione non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Degradazione della miscela di reazione completa o dei suoi componenti.	Non utilizzare la miscela di reazione completa 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. Non lasciare il prodotto RT EnzymeMix a temperature superiori a -20 °C per più di 10 minuti. Preparare di nuovo la miscela di reazione completa. Utilizzare una nuova aliquota dei componenti.
Degradazione del Controllo Interno.	Utilizzare una nuova aliquota del Controllo Interno.
Inibizione dovuta a sostanze interferenti nel 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". Ripetere l'estrazione con una diluizione 1:2 in acqua per biologia molecolare del campione eluito in una sessione in modalità "Extract + PCR" (estrazione + PCR).
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup.

Tabella 45

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 46

Errore nel calcolo di Ct	
Possibili cause	Soluzioni
Concentrazione troppo elevata del target nel campione o campione con segnale di fluorescenza anomalo.	Se nel PCR plot appare un'amplificazione significativa: - selezionare il Track relativo al campione e approvare manualmente il risultato come positivo. Se nel PCR plot non si osserva alcuna amplificazione, selezionare il Track relativo 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); - 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 47

Alto tasso anormale di risultati positivi nella stessa sessione (reazioni con valori Ct tardivi simili)	
Possibili cause	Soluzioni
Contaminazione da campione a campione durante le fasi pre-analitiche.	Pulire la micropipetta, con una soluzione fresca di ipoclorito di sodio al 3% (candeggina) o un detergente per DNA/RNA, dopo aver pipettato ciascun campione. Non utilizzare le pipette Pasteur. Le pipette devono essere del tipo a dispensazione positiva o utilizzate con puntali con filtro per aerosol. Introdurre campioni nelle ultime posizioni degli strumenti, come indicato dalla 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 Q-PCR Mix e/o di Internal Control.

MyGenius PRO**Tabella 48**

Reazione con Q-PCR Standard, curva standard o Positive Control non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errata impostazione dello strumento.	Controllare i volumi della miscela di reazione completa, dei Q-PCR standard e del Positive Control. È importante che le provette utilizzate su MyGenius PRO non siano state precedentemente utilizzate da altre piattaforme o per impostare sessioni su piattaforme aperte, poiché lo strumento legge l'etichetta e assegna automaticamente il numero massimo di replicati che possono essere eseguiti se quella provetta non è mai stata caricata su MyGenius PRO. Pertanto, se si utilizza una provetta non nuova, il volume potrebbe non essere sufficiente.
Errore di preparazione della miscela di reazione completa.	Controllare i volumi dei reagenti utilizzata durante la preparazione della miscela di reazione completa.
Degradazione della miscela di reazione completa o dei suoi componenti.	Non utilizzare la miscela di reazione completa per più di 3 sessioni consecutive (7 ore nel Carousel). Non lasciare la PCR Mix a temperatura ambiente per più di 30 minuti. Non lasciare il prodotto RT EnzymeMix a temperature superiori a -20 ° C per più di 10 minuti. Preparare di nuovo la miscela di reazione completa. Utilizzare una nuova aliquota dei componenti.
Degradazione dei componenti Q-PCR Standard o del Positive Control.	Non utilizzare il Q-PCR Standard per più di 2 sessioni indipendenti (2 ore ciascuna nel carosello). Non utilizzare il Positive Control per più di 4 sessioni indipendenti (3 ore ciascuna nel carosello). Utilizzare nuove provette di Q-PCR Standards o Positive Control.
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup.

Tabella 49

Reazione del controllo negativo non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errata impostazione dello strumento.	Controllare i volumi della miscela di reazione completa e del Negative Control. È importante che le provette utilizzate su MyGenius PRO non siano state precedentemente utilizzate da altre piattaforme o per impostare sessioni su piattaforme aperte, poiché lo strumento legge l'etichetta e assegna automaticamente il numero massimo di replicati che possono essere eseguiti se quella provetta non è mai stata caricata su MyGenius PRO. Pertanto, se si utilizza una provetta non nuova, il volume potrebbe non essere sufficiente.
Contaminazione del Negative Control.	Non utilizzare il Negative Control per più di 1 sessione e per più di 8 ore. Utilizzare una nuova provetta di Negative Control.
Contaminazione della miscela di reazione completa.	Preparare di nuovo la miscela di reazione completa. Utilizzare una nuova aliquota dei componenti.
Contaminazione dell'area di estrazione, dei Rack, dell'Inventory Block o della Cooler Unit.	Pulire le superfici con detergenti acquosi, lavare i camici, sostituire le provette e i puntali in uso.
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup.

Tabella 50

Reazione del campione non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errata impostazione dello strumento.	Controllare i volumi della miscela di reazione completa, dell'Internal Control e dei campioni. È importante che le provette utilizzate su MyGenius PRO non siano state precedentemente utilizzate da altre piattaforme o per impostare sessioni su piattaforme aperte, poiché lo strumento legge l'etichetta e assegna automaticamente il numero massimo di replicati che possono essere eseguiti se quella provetta non è mai stata caricata su MyGenius PRO. Pertanto, se si utilizza una provetta non nuova, il volume potrebbe non essere sufficiente.
Degradazione della miscela di reazione completa o dei suoi componenti.	Non utilizzare la miscela di reazione completa per più di 3 sessioni consecutive (7 ore nel Carousel). Non lasciare la PCR Mix a temperatura ambiente per più di 30 minuti. Non lasciare il prodotto RT EnzymeMix a temperature superiori a -20 ° C per più di 10 minuti. Preparare di nuovo la miscela di reazione completa. Utilizzare una nuova aliquota dei componenti.
Degradazione del template di Internal Control.	Non utilizzare l'Internal Control per più di 8 ore. Utilizzare una nuova provetta di Internal Control.
Inibizione dovuta a sostanze interferenti con il campione.	Ripetere l'estrazione e l'amplificazione del campione. Ripetere l'estrazione e l'amplificazione del campione con una diluizione 1:2 in acqua per biologia molecolare.
Concentrazione troppo elevata del target nel campione o campione con segnale di fluorescenza anomalo.	Se è necessario un valore Ct, ripetere l'estrazione e l'amplificazione del campione con una diluizione 1:10 in acqua per biologia molecolare.
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup.

Tabella 51

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 l'estrazione e l'amplificazione del campione per confermare la presenza del target con una possibile mutazione. Il target presente nel campione deve essere sequenziato per confermare la mutazione.

Tabella 52

Errore nel calcolo di Ct	
Possibili cause	Soluzioni
Concentrazione troppo elevata del target nel campione o campione con segnale di fluorescenza anomalo.	Se nel grafico PCR compare un'amplificazione significativa, il risultato deve essere considerato positivo. Se nel grafico PCR non compare alcuna amplificazione, il risultato deve essere considerato negativo o non valido. Se è necessario un valore Ct, ripetere l'estrazione e l'amplificazione del campione con una diluizione 1:10 in acqua per biologia molecolare.

Tabella 53

Alto tasso anormale di risultati positivi nella stessa sessione (reazioni con valori Ct tardivi simili)	
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 pipette Pasteur. Le pipette devono essere del tipo a spostamento positivo o utilizzate con puntali con filtro anti-aerosol. Analizzare i campioni come ultima operazione della giornata.
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 Q-PCR Mix e/o di Internal Control.

16 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 del Regolamento IVDR 2017/746\CE relativo ai dispositivi medico-diagnostici *in vitro*.
Certificato rilasciato da TÜV SÜD Product Service GmbH, Germania.



Identificazione unica del dispositivo



Contenuto sufficiente per "N" test.



Consultare le istruzioni per l'uso.



Contenuto.



Conservare al riparo dalla luce del sole.



Fabbricante.

17 AVVISO PER L'UTILIZZATORE

Qualsiasi incidente grave che si verifichi in relazione al dispositivo deve essere segnalato al produttore e all'autorità competente dello Stato membro in cui risiedono l'utilizzatore e/o il paziente. Per informare ELITechGroup S.p.A., produttore del presente dispositivo, si prega di utilizzare il seguente indirizzo e-mail: egspa.vigilance@elitechgroup.com.

Verrà resa disponibile al pubblico una "Sintesi della Sicurezza e delle Prestazioni" tramite il database europeo dei dispositivi medici (Eudamed) non appena questo sistema informatico sarà funzionante. Prima che sia pubblicato l'avviso della piena funzionalità di Eudamed, verrà tempestivamente resa disponibile al pubblico la "Sintesi della Sicurezza e delle Prestazioni" richiedendola via email all'indirizzo emd.support@elitechgroup.com.

18 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. Email: 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®, ELITe BeGenius® e MyGenius PRO® 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 HCV ELITe MGB® Kit utilizzato in associazione con gli strumenti della serie Genius®

NOTA

Il presente documento è una versione semplificata delle istruzioni d'uso ufficiali. È disponibile solo in inglese. Si prega di consultare il documento completo prima dell'uso all'indirizzo: www.elitechgroup.com

Uso previsto

Il prodotto **HCV ELITe MGB® Kit** è un dispositivo medico-diagnostico in vitro destinato all'uso da parte degli operatori sanitari come saggio di trascrizione inversa e real-time PCR quantitativa degli acidi nucleici per la rilevazione e la quantificazione dell'RNA del virus dell'epatite C (HCV), estratto da campioni clinici.

Il saggio è stato validato in associazione con gli strumenti **ELITe InGenius®**, **ELITe BeGenius®** e **MyGenius PRO®** (nome registrato ELIVERSE®) sistemi automatizzati e integrati per l'estrazione, la trascrizione inversa, la Real-Time PCR e l'interpretazione dei risultati, utilizzando campioni umani di plasma raccolti in EDTA o in ACD e siero.

Il prodotto è destinato all'uso come ausilio nella gestione di pazienti HCV-positivi sottoposti a terapia antivirale.

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

Il prodotto non è destinato all'uso come test di screening o per rilevare la presenza di o l'esposizione ad agenti trasmissibili nel sangue, negli emoderivati, nelle cellule, nei tessuti, negli organi o in qualsiasi dei loro derivati al fine di valutarne l'idoneità per la trasfusione, il trapianto o la terapia cellulare. Il prodotto non è destinato all'uso come test diagnostico per confermare la presenza di un'infezione da HCV.

Sequenza amplificata

Sequenza	Gene	Fluoroforo	Canale
Target	Regione UTR dell'HCV5'	FAM	HCV
Internal Control	MS2	AP525	IC

Matrice validata

› Plasma in EDTA o Plasma in ACD	› Siero
----------------------------------	---------

Contenuto del kit

HCV ELITe MGB Mix		HCV ELITe Standard		HCV - ELITe Positive Control	HCV Internal Control
 X 4	 X 2	    X 1		 X 2	 X 8
PCR Mix 4 provette da 600 µL 96 reazioni per kit 5 cicli di congelamento/ scongelamento per provetta	RT EnzymeMix 2 provette da 20 µL 96 reazioni per kit 10 cicli di congelamento/ scongelamento per provetta	Calibratori pronti per l'uso: 10 ⁵ , 10 ⁴ , 10 ³ , 10 ² 1 set di 4 provette da 160 µL 2 cicli di congelamento/ scongelamento per provetta		Positive Control (PC) pronto per l'uso 2 provette da 160 µL 8 reazioni per kit 4 cicli di congelamento/ scongelamento per provetta	Internal Control (IC) pronto per l'uso 8 provette da 160 µL 96 estrazioni per kit 6 cicli di congelamento/ scongelamento per provetta

Validità massima: **18 mesi**Temperatura di conservazione: **-20 °C**

Altri prodotti richiesti ma non forniti nel kit

- › Strumento ELITe InGenius: INT030
- › Strumento ELITe BeGenius: INT040

- › ELITe InGenius SP 1000 Extraction Cartridge: INT033SP1000

ELITe InGenius ed **ELITe BeGenius** Consumable Sets (vedere le Istruzioni per l'uso di ELITe InGenius ed ELITe BeGenius).

Protocollo ELITe InGenius ed ELITe BeGenius

› Volume del campione	600 µL	› Unità di risultati quantitativi	Unità Internazionali: IU/mL
Volume di HCV Internal Control	10 µL		Copie: copie/mL
› Volume di eluizione totale	50 µL	› Frequenza dei controlli	15 giorni
› Volume eluizione PCR	20 µL	› Frequenza di calibrazione	60 giorni
› Volume PCR Mix completa	20 µL		

Prestazioni con ELITe InGenius ed ELITe BeGenius

Matrice	Limite di rilevabilità	Fattore di conversione in IU	Sensibilità diagnostica: Correlazione tra i metodi	Specificità diagnostica
Plasma/siero	26 IU/mL 11 copie/mL	2,4 IU/copie	R2 = 0,905 279 campioni quantificati	98.4% 317 campioni confermati/322 campioni testati
			Metodi di riferimento: "cobas® HCV da utilizzare sui sistemi 4800" e "cobas® HCV da utilizzare sui sistemi 6800", Roche Diagnostics.	

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.

Tipo di campione	Condizioni di trasporto/conservazione			
	+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ±10 °C	-70 ±15 °C
Campioni di plasma raccolto in EDTA o ACD.	≤1 giorno	≤3 giorni	≤1 mese	≤6 mesi
Siero	≤1 giorno	≤5 giorni	≤1 mese	≤6 mesi

Non utilizzare il plasma raccolto in provette con eparina per prevenire l'inibizione della reazione di amplificazione e frequenti risultati non validi.

Non utilizzare plasma emolitico, perché l'emoglobina inibisce la reazione della PCR.

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 calibratori: Q-PCR Standard nel menu "Calibration" Verificare i controlli: Positive Control e Negative Control nel menu "Controls". Nota: Tutti devono essere eseguiti, approvati e non scaduti	3. Scongellare la PCR Mix e le provette CPE Mescolare delicatamente con il vortex. Centrifugare per 5 secondi. Mantenere la RT EnzymeMix in ghiaccio.
4. Preparare la miscela di reazione completa.			5. Mescolare delicatamente con il vortex. Centrifugare per 5 secondi. Conservare la miscela di reazione completa in ghiaccio. Non esporre alla luce diretta.
Numero di campioni (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix	
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0,3 µL	
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0,3 µL	
N = 12	290 µL	4,4 µL	

Procedura 1 - Esecuzione completa: Extraction + PCR

1. Selezionare "Perform Run" (Esegui analisi) sul touch screen	2. Verificare i volumi di estrazione: Ingresso: "1000 µL", eluizione: "50 µL"	3. Scansionare il codice a barre con l'apposito lettore manuale o digitare l'ID del campione.
4. Selezionare l'"Assay Protocol" di interesse: HCV ELITE_PL_600_50 o HCV ELITE_Se_600_50	5. Selezionare il metodo "Extract + PCR" e la posizione del campione: Extraction Tube	6. Caricare la miscela di reazione completa e l'Internal Control nell'Inventory Block
7. Caricare: PCR Cassette, cartuccia di estrazione, Elution Tube, cassette per puntali, rack per tubi di estrazione.	8. Chiudere lo sportello. Avviare la corsa.	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 - Solo PCR

1 - 4: Seguire la Procedura 1 di Esecuzione completa descritta sopra (selezionare gli Assay Protocol: HCV ELITE_PC e HCV ELITE_NC o HCV ELITE_STD, oppure HCV ELITE_PL_600_50 o HCV ELITE_Se_600_50)	5. Selezionare la modalità "PCR only" e impostare la posizione del campione su "Elution Tube"	6. Caricare la miscela di reazione completa nell'Inventory block
7. Caricare: il rack della PCR Cassette e il rack degli Elution Tubes con gli acidi nucleici estratti.	8. Chiudere lo sportello. Avviare la corsa.	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 BeGenius. Inserire username e password. Selezionare la modalità "Closed"	2. Verificare i calibratori: Q-PCR Standard nel menu "Calibration" Verificare i controlli: Positive Control e il Negative Control nel menu "Controls". Nota: Tutti devono essere eseguiti, approvati e non scaduti	3. Scongellare la PCR Mix e le provette CPE Mescolare delicatamente con il vortex. Centrifugare per 5 secondi. Mantenere la RT EnzymeMix in ghiaccio.
---	---	---

4. Preparare la miscela di reazione completa.			5. Mescolare delicatamente con il vortex. Centrifugare per 5 secondi. Conservare la miscela di reazione completa in ghiaccio. Non esporre alla luce diretta.
Numero di campioni (N)	HCV PCR Mix	RT EnzymeMix	
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$	
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$	
$N = 12$	290 μL	4,4 μL	
$13 \leq N \leq 18$	$(N + 3) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 3) \times 0,3 \mu\text{L}$	
$19 \leq N \leq 23$	$(N + 4) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 4) \times 0,3 \mu\text{L}$	
$N = 24$	580 μL	8,7 μL	

Procedura 1 - Esecuzione completa: Extraction + PCR

1. Selezionare "Perform Run" sul touch screen e fare clic sulla modalità di esecuzione «Extraction and PCR» (Estrazione e PCR).	2. Inserire il Sample Rack con il codice a barre nella Cooling Area. Il lettore di codici a barre è già attivo.	3. Verificare i volumi di estrazione: Ingresso: "600 μL ", Eluato: "50 μL "
4. Selezionare l'"Assay Protocol" di interesse: HCV ELiTe_Be_PL_600_50 oppure HCV ELiTe_Be_Se_600_50	5. Stampare le etichette per identificare con il codice a barre gli Elution Tube vuoti. Caricare le provette nell'Elution Rack e inserirlo nella Cooling Area.	6. Caricare la miscela di reazione completa e il CPE nel Reagent Rack e inserirli nella Cooling Area.
NOTA Se si esegue una seconda estrazione, ripetere i passaggi da 2 a 4.		
7. Caricare: puntali con filtro, Extraction rack e PCR rack	8. Chiudere lo sportello. Avviare la corsa.	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 - Solo PCR

1. Selezionare "Perform Run" (Esegui analisi) sul touch screen e fare clic sulla modalità di esecuzione «PCR Only».	2. Caricare le provette di acidi nucleici estratti o dotate di codice a barre nell'Elution Rack e inserirlo nella Cooling Area.	3. Per gli <u>Standard</u> e i <u>Controlli</u> : per ogni "Position" inserire i dati relativi a "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 <u>eluati</u> : per ogni "Position" inserire i dati relativi a "Sample ID", "Sample matrix", "Extraction kit" ed "Extracted eluate vol." (volume eluato).
3. Selezionare l'Assay Protocol di interesse (HCV ELITE_Be_PC e HCV ELITE_Be_NC oppure HCV ELITE_Be_STD, oppure HCV ELITE_Be_PL_600_50 oppure HCV ELITE_Be_Se_600_50)	5. Caricare la PCR-Mix nel Reagent/ Elution Rack e inserirlo nella Cooler Unit. Caricare i puntali con filtro e il PCR Rack con la "PCR Cassette"	6. Chiudere lo sportello. Avviare la corsa.
7. Visualizzare, approvare e archiviare i risultati.		

Appendix B HCV ELITe MGB Kit utilizzato in associazione con MyGenius PRO



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 **HCV ELITe MGB® Kit** è un dispositivo medico-diagnostico in vitro destinato all'uso da parte degli operatori sanitari come saggio di trascrizione inversa e real-time PCR quantitativa degli acidi nucleici per la rilevazione e la quantificazione dell'RNA del virus dell'epatite C (HCV), estratto da campioni clinici.

Il saggio è stato validato in associazione con gli strumenti **ELITe InGenius®**, **ELITe BeGenius®** e **MyGenius PRO®** (nome registrato ELIVERSE®) sistemi automatizzati e integrati per l'estrazione, la trascrizione inversa, la Real-Time PCR e l'interpretazione dei risultati, utilizzando campioni umani di plasma raccolti in EDTA o in ACD e siero.

Il prodotto è destinato all'uso come ausilio nella gestione di pazienti HCV-positivi sottoposti a terapia antivirale.

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

Il prodotto non è destinato all'uso come test di screening o per rilevare la presenza di o l'esposizione ad agenti trasmissibili nel sangue, negli emoderivati, nelle cellule, nei tessuti, negli organi o in qualsiasi dei loro derivati al fine di valutarne l'idoneità per la trasfusione, il trapianto o la terapia cellulare. Il prodotto non è destinato all'uso come test diagnostico per confermare la presenza di un'infezione da HCV.

Sequenza amplificata

Sequenza	Gene	Fluoroforo	Canale
Target	Regione UTR dell'HCV5'	FAM	HCV
Internal Control	MS2	AP525	IC

Matrici validate

› Plasma in EDTA o Plasma in ACD	› Siero
----------------------------------	---------

Contenuto del kit

HCV ELiTe MGB Mix		HCV ELiTe Standard		HCV - ELiTe Positive Control	HCV Internal Control
 X 4	 X 2	    X 1		 X 2	 X 8
PCR Mix 4 provette da 600 µL 96 reazioni per kit 5 cicli di congelamento/ scongelamento per provetta	RT Enzyme Mix 2 provette da 20 µL 96 reazioni per kit 10 cicli di congelamento/ scongelamento per provetta	Calibratori pronti per l'uso: 10 ⁵ , 10 ⁴ , 10 ³ , 10 ² 1 set di 4 provette da 160 µL 2 cicli di congelamento/ scongelamento per provetta		Positive Control (PC) pronto per l'uso 2 provette da 160 µL 8 reazioni per kit 4 cicli di congelamento/ scongelamento per provetta	Internal Control (IC) pronto per l'uso 8 provette da 160 µL 96 estrazioni per kit 6 cicli di congelamento/ scongelamento per provetta

Validità massima: **18 mesi**Temperatura di conservazione: **-20 °C**

Altri prodotti richiesti ma non forniti nel kit

• MyGenius PRO (EG SpA cod. INT050) • MyGenius PRO Software versione Bb-04 (o (o successiva)	• Internal Control Maxi (EG SpA, cod. ICMAI) • Negative Control (EG SpA, cod. CTRNEG) • MyGenius PRO Reagents and Consumables (vedere le Istruzioni per l'uso di MyGenius PRO),
---	---

Potocollo di MyGenius PRO

› Volume del campione	660 µL	› Volume di eluato nella PCR	20 µL
› Volume di IC	10 µL	› Volume Q—PCR Mix	20 µL
› Volume di eluizione totale	50 µL	› Frequenza dei controlli	15 giorni
		› Frequenza di calibrazione	60 giorni

Prestazioni di MyGenius PRO

Matrice	Limite di rilevabilità	Fattore di conversione in IU	Sensibilità diagnostica: Correlazione tra i metodi	Specificità diagnostica
Plasma/siero	26 IU/mL 11 copie/mL	2,4 IU/copie	R2 = 0,905 279 campioni quantificati	98.4% 317 campioni confermati/322 campioni testati
			Metodi di riferimento: "cobas® HCV da utilizzare sui sistemi 4800" e "cobas® HCV da utilizzare sui sistemi 6800", Roche Diagnostics.	

Preparazione dei campioni

Questo prodotto è destinato all'uso sullo strumento **MyGenius PRO** con i seguenti campioni clinici secondo le linee guida del laboratorio, e raccolti, trasportati e conservati nelle condizioni indicate di seguito:

Tabella 54

Campione	Requisiti per la raccolta	Condizioni di trasporto/conservazione			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Plasma	EDTA o ACD	≤1 giorno	≤3 giorni	≤1 mese	≤6 mesi
Siero	-	≤1 giorno	≤5 giorni	≤1 mese	≤6 mesi

Non utilizzare il plasma raccolto in provette con eparina per prevenire l'inibizione della reazione di amplificazione e frequenti risultati non validi.

Procedure di MyGenius PRO

L'utente viene guidato passo dopo passo dall'interfaccia grafica utente (GUI) del software MyGenius PRO per impostare l'esecuzione. Tutti i passaggi di estrazione, Real-Time PCR e interpretazione dei risultati vengono eseguiti in automatico. Sono disponibili due modalità operative: esecuzione completa (Extract + PCR) o PCR Only.

1. Accendere lo strumento MyGenius PRO. Accedere in modalità STAND-BY con nome utente e password.	2. Caricare tutti i materiali di consumo nei cassette e svuotare il serbatoio dei rifiuti liquidi e i contenitori dei rifiuti solidi, se necessario. Premere il pulsante Start per eseguire la preparazione: al termine della preparazione, lo strumento passerà alla modalità Operativa.	3. Verificare i calibratori: Q-PCR Standard nel menu "Calibration". Verificare i controlli: Positive Control e Negative Control nel menu "Controls". Nota: Tutti devono essere eseguiti, approvati e non scaduti.
4. Scongellare la PCR Mix e le provette IC MAXI Mescolare delicatamente con agitatore vortex. Centrifugare per 5 secondi. Mantenere la RT EnzymeMix in ghiaccio.		
5. Preparare la miscela di reazione completa.		
Numero di campioni (N)	HCV PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0,3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0,3 µL
N = 12	290 µL	4,4 µL
13 ≤ N ≤ 18	(N + 3) x 20 µL	(N + 3) x 0,3 µL
19 ≤ N ≤ 23	(N + 4) x 20 µL	(N + 4) x 0,3 µL
N = 24	580 µL	8,7 µL

6. Caricare le provette con le miscele PCR nel carosello dei reagenti seguendo le indicazioni della GUI.	7. Caricare le provette IC MAXI nell'apposito rack blu e inserirlo nell'area dell'Auto Sampler.	8a. Se lo strumento è collegato al LIS, inserire i campioni nell'area dell'Auto Sampler utilizzando i rack dedicati in base al diametro delle provette utilizzate. L'estrazione inizierà automaticamente. 8b. Se lo strumento non è collegato al LIS, nell'elenco dei campioni premere "Assign test" (Assegna test), leggere il codice a barre dei campioni con il lettore di codici a barre esterno, selezionare la matrice di plasma o siero e assegnare l'Assay Protocol "HCV ELITe_My_PL_IU_600_50" oppure "HCV ELITe_My_PL_cmL_600_50" oppure HCV ELITe_My_Se_IU_600_50" HBV oppure ELITe_My_PL_cmL_600_50"; inserire i campioni nell'area dell'Auto Sampler utilizzando i rack dedicati in base al diametro delle provette utilizzate. L'estrazione inizierà automaticamente.
--	---	---



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