



## AVVERTENZA del 20/06/2025

**IMPORTANTE PER GLI UTILIZZATORI DEL PRODOTTO:**

### « HBV ELITe MGB® Kit » Ref. RTK602ING

Questa nuova revisione dell'IFU contiene le seguenti modifiche:

Marcatura CE secondo il nuovo Regolamento Europeo 2017/746 (IVDR).

Aggiornamento delle prestazioni analitiche e diagnostiche nel paragrafo "CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI"

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

### NOTA BENE

I lotti di prodotto sotto elencati, con marcatura CE secondo la Direttiva IVDD, rimarranno presenti sul mercato fino alla data di scadenza, in accordo all' Articolo 110 dell' IVDR. Se in possesso di questi lotti, si prega di contattare il personale di ELITechGroup per richiedere la relativa precedente revisione delle IFUs.

NUMERO DI CATALOGO	Numero di Lotto	Data di scadenza
RTK602ING	C1224-002	31/10/2026
RTK602ING	C0225-002	31/12/2026



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

Uffici: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76 11  
E-mail: [emd.support@elitechgroup.com](mailto:emd.support@elitechgroup.com)  
Sito internet: [www.elitechgroup.com](http://www.elitechgroup.com)

## HBV ELITE MGB® Kit

reagenti per la Real Time PCR del DNA

REF RTK602ING



UDI 08033891487027

0123

### INDICE

USO PREVISTO	pagina 1
PRINCIPIO DEL SAGGIO	pagina 2
DESCRIZIONE DEL PRODOTTO	pagina 2
MATERIALI INCLUSI NEL PRODOTTO	pagina 3
MATERIALI RICHIESTI MA NON INCLUSI NEL PRODOTTO	pagina 3
ALTRI PRODOTTI RICHIESTI	pagina 4
AVVERTENZE E PRECAUZIONI	pagina 5
CAMPIONI E CONTROLLI	pagina 6
PROCEUDRA ELITE InGenius	pagina 8
PROCEDURA ELITE BeGenius	pagina 13
CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI	pagina 17
BIBLIOGRAFIA	pagina 27
LIMITI DELLA PROCEDURA	pagina 28
RISOLUZIONE DEI PROBLEMI	pagina 29
LEGENDA DEI SIMBOLI	pagina 31
AVVISO PER L'UTILIZZATORE	pagina 32
AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA	pagina 32
ANNEX: QUICK GUIDE	pagina A

### USO PREVISTO

Il prodotto **HBV ELITE MGB® Kit** è un dispositivo medico-diagnostico *in vitro* destinato all'uso da parte degli operatori sanitari come saggio di Real-Time PCR quantitativa degli acidi nucleici per la rilevazione e la quantificazione del DNA del virus dell'epatite B (HBV), estratto da campioni clinici.

Il saggio è validato in associazione agli strumenti **ELITE InGenius®** e **ELITE BeGenius®**, sistemi integrati e automatizzati per l'estrazione, la Real-Time PCR e l'interpretazione dei risultati a partire da campioni di plasma umano raccolto in EDTA o in ACD e di siero.

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

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

Il 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. Il prodotto non è destinato all'uso come test diagnostico per confermare la presenza di un'infezione da HBV.

## PRINCIPIO DEL SAGGIO

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

Le sonde ELITE MGB sono attivate mediante ibridazione con i prodotti specifici della PCR. **ELITE InGenius** e **ELITE BeGenius** monitorano l'incremento di fluorescenza emessa e calcolano i "cicli soglia" (Ct) e le temperature di melting (Tm). La quantità di HBV è calcolata sulla base di una curva di calibrazione.

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

## DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

L'**HBV ELITE MGB Kit** fornisce i seguenti componenti:

- **HBV ELITE MGB Mix**

Questo componente fornisce il sub-componente **HBV PCR Mix**, una miscela per PCR ottimizzata e stabilizzata che contiene i primer e la sonda specifici per:

- il gene codificante la polimerasi (gene P) dell'**HBV**, rilevato dal canale **HBV**; la sonda è stabilizzata dalla molecola MGB®, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher® e marcata con il fluoroforo FAM;
- il controllo interno (**IC**) specifico per la sequenza artificiale IC2, rilevato dal canale **IC**; la sonda è stabilizzata da MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher e marcata con il fluoroforo AquaPhluor® AP525.

- **HBV PCR Mix** contiene inoltre buffer, cloruro di magnesio, nucleotidi trifosfato e DNA polimerasi ad attivazione termica ("hot-start"). Ogni provetta contiene **280 µL** di soluzione ed è sufficiente per **12 test**, se si processano almeno 2 campioni per sessione.

**HBV ELITE MGB Mix** contiene reagenti sufficienti per eseguire **96 test su ELITE InGenius** e **ELITE BeGenius (12 sessioni per provetta)**, usando 20 µL per reazione.

- **HBV ELITE Standard**

Questo componente contiene i sub-componenti **HBV Q-PCR Standard**, quattro soluzioni stabilizzate di DNA plasmidico con la regione amplificata del gene codificante la polimerasi dell'HBV a **titolo noto**. **HBV ELITE Standard** deve essere utilizzato con la miscela **HBV ELITE PCR Mix** su **ELITE InGenius** e **ELITE BeGenius** per calcolare la curva di calibrazione del sistema (lotto del prodotto e strumento) per la quantificazione dell'HBV.

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 "4th WHO International Standard for HBV DNA for NAT" (NIBSC, UK, codice 10/266) con l'ausilio di un fattore di conversione che consente di esprimere la quantificazione dell'HBV in unità internazionali/mL (IU/mL).

La concentrazione del DNA plasmidico è stata correlata anche al "5th WHO International Standard for HBV DNA for NAT" (NIBSC, UK, codice 22/120) come indicato nel paragrafo Fattore di conversione in unità internazionali della sezione Caratteristiche delle prestazioni.

L'**HBV ELITE Standard** contiene reagenti sufficienti per eseguire **2 sessioni su ELITE InGenius** e **ELITE BeGenius**, usando 20 µL per reazione.

- **HBV – ELITE Positive Control**

Questo componente contiene il sub-componente **HBV Positive Control**, una soluzione stabilizzata di DNA plasmidico con la regione amplificata del gene codificante la polimerasi dell'HBV a un **titolo noto**. L'**HBV Positive Control** deve essere utilizzato con la miscela **HBV PCR Mix** su **ELITE InGenius** e **ELITE BeGenius** per creare i traccati dei controlli per la verifica del sistema (lotto del prodotto e strumento).

L'**HBV - ELITE Positive Control** contiene reagenti sufficienti per eseguire **8 sessioni su ELITE InGenius** e **ELITE BeGenius (4 sessioni per provetta)**, usando 20 µL per reazione.

- **HBV Internal Control**

**HBV ELITE MGB® Kit**  
reagenti per la Real Time PCR del DNA

**REF** RTK602ING

Questo componente contiene il sub-componente **HBV CPE** (controllo interno esogeno), una soluzione stabilizzata di DNA plasmidico contenente la sequenza artificiale IC2. L'**HBV CPE** viene aggiunto ai reagenti di estrazione per validare i risultati di campioni HBV negativi.

L'**HBV Internal Control** contiene reagenti sufficienti per eseguire **96 test su ELITE InGenius e ELITE BeGenius (12 test per provetta)**, usando 10 µL per reazione.

L'**HBV1 ELITE MGB Kit** può essere utilizzato anche in associazione con strumenti equivalenti.

**MATERIALI INCLUSI NEL PRODOTTO**

Componente	Componente secondario	Descrizione	Quantità	Classificazione dei rischi
<b>HBV ELITE MGB Mix</b> rif. RTS602ING	HBV PCR Mix rif. RTS602ING	Miscela di reagenti per real-time PCR in provetta con <b>tappo BIANCO</b>	8 x 280 µL	-
<b>HBV ELITE Standard</b> rif. STD602ING	HBV Q-PCR Standard 10 <sup>5</sup> rif. STD602ING-5	Soluzione di plasmide in provetta con <b>tappo ROSSO</b>	1 x 160 µL	-
	HBV Q-PCR Standard 10 <sup>4</sup> rif. STD602ING-4	Soluzione di plasmide in provetta con <b>tappo BLU</b>	1 x 160 µL	
	HBV Q-PCR Standard 10 <sup>3</sup> rif. STD602ING-3	Soluzione di plasmide in provetta con <b>tappo VERDE</b>	1 x 160 µL	
	HBV Q-PCR Standard 10 <sup>2</sup> rif. STD602ING-2	Soluzione di plasmide in provetta con <b>tappo GIALLO</b>	1 x 160 µL	
<b>HBV - ELITE Positive Control</b> rif. CTR602ING	HBV Positive Control rif. CTR602ING	Soluzione di plasmide in provetta con tappo <b>NERO</b>	2 x 160 µL	-
<b>HBV Internal Control</b> rif. CPE602ING	HBV CPE rif. CPE602ING	Soluzione di DNA plasmidici e RNA genomico di fago MS2 con <b>tappo NEUTRO</b>	8 x 160 µL	-

**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 (~3.000 giri/minuto).
- Microcentrifuga da banco (~13.000 giri/minuto).
- Micropipette e puntali sterili con filtro per aerosol o a spostamento positivo (0,5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Provette sterili da 2,0 mL con tappo a vite (Sarstedt, Germania, rif. 72.694.005).
- Acqua per biologia molecolare.

**ALTRI PRODOTTI RICHIESTI**

I reagenti per l'estrazione del DNA dai campioni e i materiali di consumo **non** sono inclusi in questo prodotto. Per l'estrazione automatica degli acidi nucleici, la Real-Time PCR e l'interpretazione dei risultati dei campioni, sono richiesti i seguenti prodotti:

Strumenti e software	Prodotti e reagenti
<p><b>ELITE InGenius</b> (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, rif. INT030)</p> <p><b>ELITE InGenius Software</b> versione 1.3.0.17 (o successiva)</p> <p><b>HBV ELITE_PC</b>, Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Controllo Positivo</p> <p><b>HBV ELITE_NC</b>, Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Controllo Negativo</p> <p><b>HBV ELITE_STD</b>, Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei Calibratori</p> <p><b>HBV ELITE_PL_200_50</b>, Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di Plasma</p> <p><b>HBV ELITE_Se_200_50</b>, Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di Siero</p>	<p><b>ELITE InGenius SP 200</b> (EG SpA, rif. INT032SP200)</p> <p><b>ELITE InGenius SP 200 Consumable Set</b> (EG SpA, rif. INT032CS)</p> <p><b>ELITE InGenius PCR Cassette</b> (EG SpA, rif. INT035PCR),</p> <p><b>300 µL Filter Tips Axygen</b> (Corning Life Sciences Inc., rif. TF-350-L-R-S) solo con ELITE InGenius</p> <p><b>1000 µL Filter Tips Tecan</b> (Tecan, Svizzera, rif. 30180118) solo con ELITE BeGenius</p> <p><b>ELITE InGenius Waste Box</b> (EG SpA, rif. F2102-000)</p>
<p><b>ELITE BeGenius</b> (EG SpA, rif. INT040)</p> <p><b>ELITE BeGenius Software</b> versione 2.1.0 (o successiva)</p> <p><b>HBV ELITE_Be_PC</b>, Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Controllo Positivo</p> <p><b>HBV ELITE_Be_NC</b>, Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Controllo Negativo</p> <p><b>HBV ELITE_Be_STD</b>, Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei Calibratori</p> <p><b>HBV ELITE_Be_PL_200_50</b>, Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di Plasma</p> <p><b>HBV ELITE_Be_Se_200_50</b>, Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di Siero</p>	

## **AVVERTENZE E PRECAUZIONI**

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

### **Avvertenze e precauzioni generali**

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

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

Indossare indumenti protettivi e guanti adatti a proteggersi gli occhi e il viso.

Non pipettare mai le soluzioni con la bocca.

Non mangiare, bere, fumare o applicare cosmetici 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.

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.

### **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.

Manipolare i prodotti di estrazione in modo tale da ridurre al minimo la dispersione nell'ambiente per prevenire il rischio di contaminazione.

Manipolare con attenzione e non aprire mai la PCR Cassette in modo tale da evitare la diffusione dei prodotti della PCR nell'ambiente e la contaminazione dei campioni e dei reagenti.

**HBV ELITE MGB® Kit**  
reagenti per la Real Time PCR del DNA

**REF** RTK602ING

**Avvertenze e precauzioni specifiche per i componenti**

Componente (Sub-componente)	Temperatura di conservazione	Uso dopo la prima apertura	Cicli di congelamento/scongelamento	Stabilità sullo strumento (ELITE InGenius e ELITE BeGenius)
HBV ELITE MGB Mix (HBV PCR Mix)	-20 °C o inferiore (al riparo dalla luce)	60 giorni	fino a sette	fino a 7 sessioni separate* di 3 ore ciascuna oppure fino a 7 ore consecutive (2 sessioni di 3 ore ciascuna e il tempo necessario per iniziare la terza sessione)
HBV ELITE Standard (HBV Q-PCR Standard)	-20 °C o inferiore	60 giorni	Fino a due	2 sessioni separate di 2 ore ciascuna
HBV ELITE - Positive Control (HBV Positive Control)	-20 °C o inferiore	60 giorni	Fino a quattro	4 sessioni separate di 3 ore ciascuna
HBV ELITE Internal Control (HBV CPE)	-20 °C o inferiore	60 giorni	Fino a sei	6 sessioni separate di 3 ore ciascuna

\* con cicli di congelamento/scongelamento intermedi

**CAMPIONI E CONTROLLI**

**Campioni**

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

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

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

Per l'analisi di campioni su **ELITE InGenius** e **ELITE BeGenius**, è necessario utilizzare gli Assay Protocol di seguito elencati. Questi protocolli di saggio IVD sono stati validati per l'uso specifico con i kit ELITE MGB e con **ELITE InGenius** o **ELITE BeGenius** con le matrici indicate.

**HBV ELITE MGB® Kit**  
reagenti per la Real Time PCR del DNA

REF RTK602ING

Assay Protocol HBV ELITE MGB Kit				
Campione	Strumento	Nome Assay Protocol	Report	Caratteristiche
Plasma in ACD o EDTA	ELITE InGenius	HBV ELITE_PL_200_50	Positivo / copie/mL / IU/mL / Negativo	Volume estrazione in ingresso: 200 µL Volume eluizione estratto: 50 µL Controllo interno: 10 µL Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1 Volume PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 20 µL
	ELITE BeGenius	HBV ELITE_Be_PL_200_50	Positivo / copie/mL / IU/mL / Negativo	Volume estrazione in ingresso: 200 µL Volume eluizione estratto: 50 µL Controllo interno: 10 µL Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1 Volume PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 20 µL
Siero	ELITE InGenius	HBV ELITE_Se_200_50	Positivo / copie/mL / IU/mL / Negativo	Volume estrazione in ingresso: 200 µL Volume eluizione estratto: 50 µL Controllo interno: 10 µL Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1 Volume PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 20 µL
	ELITE BeGenius	HBV ELITE_Be_Se_200_50	Positivo / copie/mL / IU/mL / Negativo	Volume estrazione in ingresso: 200 µL Volume eluizione estratto: 50 µL Controllo interno: 10 µL Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1 Volume PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 20 µL

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

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

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

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

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

#### 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 **HBV ELITE Standard**, fornito in dotazione con questo kit, con gli Assay Protocol **HBV ELITE\_STD** o **HBV ELITE\_Be\_STD**.

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

- Per il controllo positivo, usare il prodotto **HBV – ELITE Positive Control**, fornito in dotazione con questo kit, con gli Assay Protocol **HBV ELITE\_PC** o **HBV ELITE\_Be\_PC**.
- Per il controllo negativo, usare acqua per biologia molecolare (non fornita in dotazione con questo kit) con gli Assay Protocol **HBV ELITE\_NC** o **HBV ELITE\_Be\_NC**.

**Nota:** Gli strumenti **ELITE InGenius** e **ELITE BeGenius** consentono di generare e memorizzare la curva di calibrazione e la convalida dei controlli della PCR per ogni lotto di reagente per PCR. Le curve di calibrazione scadono dopo **60 giorni**; trascorso questo termine, è necessario ripetere la calibrazione. I risultati dei controlli per PCR scadono dopo **15 giorni**; trascorso questo termine, è necessario 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:

## HBV ELITE MGB® Kit reagenti per la Real Time PCR del DNA

REF RTK602ING

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

### 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.

## PROCEDURA ELITE InGenius

La procedura per l'uso del prodotto **HBV ELITE MGB Kit** con lo strumento **ELITE InGenius** si articola in tre fasi:

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	A) Validazione della curva di calibrazione
		B) Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo
		C) Validazione dei risultati del campione
		D) Refertazione dei risultati del campione

### 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 "Calibration" nella home page, verificare che i calibratori (**HBV Q-PCR Standard**) siano approvati e validi (Status) per il lotto di **HBV PCR Mix** da utilizzare. Se non ci sono calibratori validi disponibili per il lotto di **HBV PCR Mix**, eseguire la calibrazione come descritto nelle sezioni seguenti;
- nel menu "Controls" nella home page, verificare che i controlli per PCR (**HBV Positive Control**, **HBV Negative Control**) siano approvati e validi (Status) per il lotto di **HBV PCR Mix** da utilizzare. Se non ci sono controlli per PCR validi disponibili per il lotto di **HBV PCR Mix**, eseguire i controlli per PCR come descritto nelle sezioni seguenti;
- scegliere il tipo di sessione analitica, seguendo le istruzioni visualizzate sull'interfaccia utente grafica (GUI) per l'allestimento della sessione e utilizzando 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.

### FASE 2 - Impostazione della sessione

Il prodotto **HBV ELITE MGB Kit** può essere utilizzato su **ELITE InGenius** per eseguire:

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

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

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

Prima di impostare una sessione:

Scongelare le provette di **HBV PCR Mix** necessarie a temperatura ambiente per 30 minuti. Ogni provetta contiene un volume sufficiente per 12 test in condizioni ottimali (2 o più test per sessione). Agitare delicatamente la provetta, 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.

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

	A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)	B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)
<b>1</b>	<p><b>Identificare i campioni</b> e, ne necessario, scongelare a temperatura ambiente, agitare delicatamente, centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere su ghiaccio o su blocco freddo.</p> <p>Per questo test trasferire 200 µL di campione in un Extraction tube precedentemente etichettato.</p> <p><b>Scongelare</b> le <b>provette di CPE</b> necessarie a temperatura ambiente per 30 minuti. Agitare delicatamente le provette, centrifugarle per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenerle su ghiaccio o su blocco freddo.</p>	<p><b>Scongelare</b> a temperatura ambiente la <b>provetta di eluizione</b> contenente gli acidi nucleici estratti. Agitare delicatamente la provetta, centrifugarla per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenerla su ghiaccio o su blocco freddo.</p>
<b>2</b>	Nella schermata Home, selezionare "Perform Run".	Nella schermata Home, selezionare "Perform Run".
<b>3</b>	Verificare che "Extraction Input Volume" sia 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia 50 µL.	Verificare che "Extraction Input Volume" sia 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia 50 µL.
<b>4</b>	Per ogni campione, assegnare un "Track" e compilare il "SampleID" (SID) digitando o scansionando il codice a barre.	Per ogni campione, assegnare un "Track" e compilare il "SampleID" (SID) digitando o scansionando il codice a barre.
<b>5</b>	Nella colonna "Assay" selezionare l' <b>Assay Protocol</b> da utilizzare (vedere "Campioni e controlli").	Nella colonna "Assay" selezionare l' <b>Assay Protocol</b> da utilizzare (vedere "Campioni e controlli").
<b>6</b>	Verificare che il protocollo visualizzato sia: "Extract + PCR".	Nella colonna "Protocol" (protocollo) selezionare "PCR Only".
<b>7</b>	Nella colonna "Sample Position" selezionare "Extraction tube" come posizione da cui caricare il campione. Verificare che " <b>Dilution factor</b> " sia "1".	Verificare che la posizione da cui caricare il campione riportata nella colonna "Sample Position" sia "Elution Tube (bottom row)". Verificare che " <b>Dilution factor</b> " sia "1".
<b>8</b>	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
<b>9</b>	<b>Caricare il CPE</b> e la <b>PCR Mix</b> nell'"Inventory Block" (area reagenti) facendo riferimento alla "Load List" e inserire il numero di lotto di CPE e PCR Mix, la data di scadenza e il numero di reazione per ogni provetta.	<b>Caricare la PCR Mix</b> nell'"Inventory Block" facendo riferimento alla "Load List" e inserire il numero di lotto della PCR Mix, la data di scadenza e il numero di reazione per ogni provetta.
<b>10</b>	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
<b>11</b>	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'"Inventory Area" e sostituire i rack dei puntali se necessario.	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'"Inventory Area" e sostituire i rack dei puntali se necessario.
<b>12</b>	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
<b>13</b>	Caricare la PCR Cassette, le cartucce per estrazione ELITE InGenius SP 200 e tutti i materiali di consumo richiesti e i campioni da estrarre.	Caricare la PCR Cassette e le provette di eluizione con i campioni estratti.
<b>14</b>	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
<b>15</b>	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.
<b>16</b>	Premere "Start".	Premere "Start".

	<b>C. Sessione di calibrazione (Solo PCR)</b>	<b>D. Sessione con il controllo positivo e il controllo negativo (Solo PCR)</b>
<b>1</b>	<b>Scongelare</b> le provette di <b>Q-PCR Standard</b> necessarie (Cal1: Q-PCR Standard 10 <sup>2</sup> , Cal2: Q-PCR Standard 10 <sup>3</sup> , Cal3: Q-PCR Standard 10 <sup>4</sup> , Cal4: Q-PCR Standard 10 <sup>5</sup> ) a temperatura ambiente per 30 minuti. Agitare delicatamente la provetta, centrifugarla per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenerla su ghiaccio o su blocco freddo.	<b>Scongelare</b> le provette di <b>controllo positivo</b> a temperatura ambiente per 30 minuti. Agitare delicatamente la provetta, centrifugarla per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenerla su ghiaccio o su blocco freddo. <b>Preparare il controllo negativo</b> trasferendo almeno 50 µL di acqua per biologia molecolare in una provetta di eluizione, fornita in dotazione con l'ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.
<b>2</b>	Nella schermata Home, selezionare "Perform Run".	Nella schermata Home, selezionare "Perform Run".
<b>3</b>	Verificare che "Extraction Input Volume" sia 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia 50 µL.	Verificare che "Extraction Input Volume" sia 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia 50 µL.
<b>4</b>	Per il Q-PCR Standard, assegnare il "Track", <b>selezionare l'Assay Protocol</b> (vedere "Campioni e controlli") nella colonna "Assay" e inserire il numero di lotto reagente e la data di scadenza.	Nella colonna "Assay" selezionare <b>l'Assay Protocol</b> da utilizzare (vedere "Campioni e controlli"). Inserire il numero di lotto e la data di scadenza del controllo positivo e dell'acqua per biologia molecolare.
<b>5</b>	Verificare che nella colonna "Protocol" (Protocollo) sia selezionato "PCR Only".	Verificare che nella colonna "Protocol" (Protocollo) sia selezionato "PCR Only".
<b>6</b>	Verificare che la posizione da cui caricare il campione riportata nella colonna "Sample Position" sia "Elution Tube (bottom row)".	Verificare che la posizione da cui caricare il campione riportata nella colonna "Sample Position" sia "Elution Tube (bottom row)".
<b>7</b>	Caricare la <b>PCR Mix</b> nell'"Inventory Block" facendo riferimento alla "Load List" e inserire il numero di lotto della PCR Mix, la data di scadenza e il numero di reazione per ogni provetta.	<b>Caricare la PCR Mix</b> nell'"Inventory Block" facendo riferimento alla "Load List" e inserire il numero di lotto della PCR Mix, la data di scadenza e il numero di reazione per ogni provetta.
<b>8</b>	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
<b>9</b>	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'"Inventory Area" e sostituire i rack dei puntali se necessario.	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'"Inventory Area" e sostituire i rack dei puntali se necessario.
<b>10</b>	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
<b>11</b>	Caricare la PCR Cassette e le provette di Q-PCR Standard.	Caricare la PCR Cassette, il controllo positivo e il controllo negativo.
<b>12</b>	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
<b>13</b>	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.
<b>14</b>	Premere "Start".	Premere "Start".

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

**Nota:** Alla fine della sessione, rimuovere dallo strumento il campione estratto residuo presente nella **provetta di eluizione**, tapparla, identificarlo e conservarlo a -20 °C per non più di un mese. Evitare la fuoriuscita del campione estratto.

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

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

**Nota:** Alla fine della sessione, rimuovere dallo strumento il **controllo positivo** residuo, tapparla e conservarlo a -20° C o a temperatura inferiore. Evitare la fuoriuscita del controllo positivo. Smaltire il controllo negativo residuo.

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

### **FASE 3 - Esame ed 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 del Protocol Assay 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.

**ELITE InGenius** utilizza il prodotto **HBV ELITE MGB Kit** per generare risultati tramite la seguente procedura:

- A. Validazione della curva di calibrazione
- B. Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo
- C. Validazione dei risultati del campione
- D. Refertazione dei risultati del campione

#### **A. 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 **HBV 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.

#### **B. 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 **HBV ELITE\_PC** e **HBV 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 dei controlli positivo e negativo scadono **dopo 15 giorni**.

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

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

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

#### **C. Validazione dei risultati del campione**

Il programma **ELITE InGenius software** interpreta i risultati della PCR per il target (Canale **HBV**) e

per il controllo interno (Canale **IC**) con i parametri degli Assay Protocol **HBV ELITE\_PL\_200\_50** e **HBV ELITE\_Se\_200\_50**. I valori di Ct risultanti vengono convertiti in concentrazione.

I risultati sono mostrati sulla schermata "Results Display".

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

<b>1) Curva di calibrazione</b>	<b>Stato</b>
HBV Q-PCR Standard	APPROVATO
<b>2) Controllo positivo</b>	<b>Stato</b>
HBV Positive Control	APPROVATO
<b>3) Controllo negativo</b>	<b>Stato</b>
HBV Negative Control	APPROVATO

I risultati del campione sono interpretati automaticamente dal **ELITE InGenius software** usando i parametri dell'Assay Protocol. La tabella sottostante riporta i possibili messaggi relativi al risultato ottenuto.

Per ogni campione il sistema indica una combinazione dei seguenti messaggi specificando se il DNA del patogeno è stato rilevato.

<b>Risultato di una sessione sul campione</b>	<b>Interpretazione</b>
HBV:DNA Rilevato, quantità pari a "XXX" copie/mL o IU/mL o	L' <b>HBV DNA è stato rilevato</b> nel campione nell'intervallo di misurazione del saggio, nella concentrazione indicata.
HBV:DNA Rilevato, quantità inferiore a "LLoQ" copie/mL o IU/mL	L' <b>HBV DNA è stato rilevato</b> nel campione, al di sotto del limite inferiore di quantificazione (LLoQ) del saggio.
HBV:DNA Rilevato, quantità oltre a "ULoQ" copie/mL o IU/mL	L' <b>HBV DNA è stato rilevato</b> nel campione, oltre il limite superiore di quantificazione (ULoQ) del saggio.
HBV:DNA Non rilevato o inferiore a "LoD" copie/mL o IU/mL	L' <b>HBV DNA non è stato rilevato</b> nel campione. Il campione è negativo per l'DNA target oppure la sua concentrazione è inferiore al limite di rilevazione (LoD) del saggio.
Non valido - Ripetere test campione	<b>Risultato del saggio non valido</b> per un errore del controllo interno (dovuto ad es. a errata estrazione o effetto carryover degli inibitori). Il test deve essere ripetuto.

Campioni segnalati come "Non valido - Ripetere test campione": in questo caso, il DNA del controllo interno non è stato rilevato in maniera efficace, probabilmente per problemi nella fase di campionamento, estrazione o PCR (ad es. campionamento sbagliato, degradazione o perdita di DNA durante l'estrazione o presenza di inibitori nell'eluato), che possono essere all'origine di risultati errati.

Quando il volume è sufficiente, l'eluato può essere ritestato (tal quale oppure diluito) mediante una sessione di amplificazione in modalità "PCR Only". In caso di un secondo risultato non valido, il campione deve essere ritestato partendo dall'estrazione di un nuovo campione in modalità "Extract + PCR" (vedere "Risoluzione dei problemi").

I campioni segnalati come "HBV:DNA Non rilevato o inferiore a "LoD" copie/mL o IU/mL" sono idonei per l'analisi, ma non è stato possibile rilevare il DNA di HBV. In questo caso, il campione può essere negativo per il DNA di HBV oppure il DNA di HBV è presente in una concentrazione inferiore al limite di rilevazione del saggio (vedere "Caratteristiche delle prestazioni").

I campioni positivi per il DNA di HBV ad una concentrazione inferiore al limite di rilevazione (e al limite di quantificazione inferiore) del saggio, se rilevati, sono identificati nel report come "HBV:DNA Rilevato, quantità inferiore a "LLoQ" copie/mL o IU/mL" (vedere "Caratteristiche delle prestazioni").

I campioni positivi per il DNA di HBV all'interno dell'intervallo di misurazione lineare (vedere "Caratteristiche delle prestazioni") sono rilevati e segnalati come "HBV:DNA Rilevato, quantità pari a "XXX" copie/mL o IU/mL".

I campioni positivi per il DNA di HBV in quantità maggiore del limite superiore di quantificazione sono segnalati come "HBV:DNA Rilevato, quantità oltre a "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 ritestato per ottenere risultati all'interno dell'intervallo di misurazione lineare del saggio.

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

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

**D. Refertazione dei risultati del campione**

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.

**PROCEDURA ELITE BeGenius**

La procedura per l'uso del prodotto **HBV ELITE MGB Kit** con lo strumento **ELITE BeGenius** si articola in tre fasi:

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	A) Validazione della curva di calibrazione
		B) Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo
		C) Validazione dei risultati del campione
		D) Refertazione dei risultati del campione

**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 (**HBV Q-PCR Standard**) siano approvati e validi (Status) per il lotto di **HBV PCR Mix** da utilizzare. Se non ci sono calibratori validi disponibili per il lotto di **HBV PCR Mix**, eseguire la calibrazione come descritto nelle sezioni seguenti;
- nel menu "Controls" nella home page, verificare che i controlli per PCR (**HBV Positive Control**, **HBV Negative Control**) siano approvati e validi (Status) per il lotto di **HBV PCR Mix** da utilizzare. Se non ci sono controlli per PCR validi disponibili per il lotto di **HBV PCR Mix**, eseguire i controlli per PCR come descritto nelle sezioni seguenti;
- scegliere il tipo di sessione analitica, seguendo le istruzioni visualizzate sull'interfaccia utente grafica (GUI) per l'allestimento della sessione e utilizzando 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.

**FASE 2 - Impostazione della sessione**

Il prodotto **HBV ELITE MGB Kit** può essere utilizzato su **ELITE BeGenius** per eseguire:

- 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)

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

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

Prima di impostare una sessione:

Scongelare le provette di **HBV PCR Mix** necessarie a temperatura ambiente per 30 minuti. Ogni provetta contiene un volume sufficiente per **12 test** in condizioni ottimali (2 o più test per sessione). Agitare

**HBV ELITE MGB® Kit**  
reagenti per la Real Time PCR del DNA

**REF** RTK602ING

delicatamente la provetta, 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.

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

	A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)	B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)
1	<p><b>Identificare i campioni</b> e, ne necessario, scongelare a temperatura ambiente, agitare delicatamente, centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere su ghiaccio o su blocco freddo.</p> <p>Per questo saggio trasferire 200 µL di campione in una provetta Sarstedt da 2 mL precedentemente etichettata.</p> <p><b>Scongelare le provette di CPE</b> necessarie a temperatura ambiente per 30 minuti. Agitare delicatamente le provette, centrifugarle per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenerle su ghiaccio o su blocco freddo.</p>	<p>Se necessario, <b>scongelare</b> a temperatura ambiente le <b>provette di eluizione</b> contenenti gli acidi nucleici estratti. Agitare delicatamente la provetta, centrifugarla per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenerla su ghiaccio o su blocco freddo.</p>
2	Nella schermata "Home", selezionare " <b>Perform Run</b> ".	Nella schermata "Home", selezionare " <b>Perform Run</b> ".
3	Rimuovere tutti i Rack dalla "Cooler Unit" e posizionarli sul tavolo di preparazione.	Rimuovere i "Rack" dalle "Lane 1, 2 e 3" (L1, L2, L3) della "Cooler Unit" e posizionarli sul tavolo di preparazione.
4	Selezionare il "run mode": "Extract +PCR".	Selezionare il "run mode": "PCR Only".
5	<b>Caricare i campioni</b> nel "Sample Rack". ( <b>Nota:</b> quando si caricano tubi secondari "2 mL Tubes", utilizzare gli adattatori blu per il "Sample Rack").	<b>Caricare i campioni</b> nell'"Elution Rack".
6	<p><b>Inserire il "Sample Rack"</b> nella "Cooler Unit" a partire dalla "Lane 5" (L5).</p> <p>Se necessario, inserire il "Sample ID" (SID) per ogni "Position" utilizzata. (Se si caricano tubi secondari, contrassegnare "2 mL Tube". Se i tubi secondari non hanno codice a barre, digitare manualmente il "Sample ID".)</p>	<p><b>Inserire l'"Elution Rack"</b> nella "Cooler Unit" a partire dalla "Lane 3" (L3).</p> <p>Se necessario, per ogni "Position" inserire il "Sample ID", la "Sample matrix", l'"Extraction kit" e l'"Extracted eluate vol." (volume eluato).</p>
7	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
8	Verificare che "Extraction Input Volume" sia 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia 50 µL.	Verificare che "Extraction Input Volume" sia 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia 50 µL.
9	Nella colonna "Assay" selezionare l' <b>Assay Protocol</b> da utilizzare (vedere "Campioni e controlli").	Nella colonna "Assay" selezionare l' <b>Assay Protocol</b> da utilizzare (vedere "Campioni e controlli").
10	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
11	Quando si processano più di 12 campioni, ripetere la procedura dal punto 6.	Quando si processano più di 12 campioni, ripetere la procedura dal punto 6.
12	<b>Caricare le "Elution tubes"</b> nell'"Elution Rack" (le provette di eluizione possono essere etichettate con il codice a barre per migliorarne la tracciabilità).	Non applicabile
13	<p>Inserire l'"Elution Rack" nella "Cooler Unit" a partire dalla "Lane 3" (L3).</p> <p>Quando si processano più di 12 campioni, ripetere la procedura utilizzando la "Lane 2" (L2).</p>	Non applicabile
15	Fare clic su "Next" per proseguire.	Non applicabile
16	<b>Caricare il CPE e la PCR Mix</b> nel "Reagent/Elution Rack".	<b>Caricare la PCRM Mix</b> nel "Reagent/Elution Rack".
17	<p>Inserire il "Reagent/Elution Rack" nella "Cooler Unit" nella "Lane 2" (L2) se disponibile o nella "Lane 1" (L1).</p> <p>Se necessario, per ogni reagente della 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).</p>	<p>Inserire il "Reagent/Elution Rack" nella "Cooler Unit" nella "Lane 2" (L2) se disponibile o nella "Lane 1" (L1).</p> <p>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).</p>
18	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
19	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'"Inventory Area" e sostituire i rack se necessario.	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'"Inventory Area" e sostituire i rack se necessario.

**HBV ELITE MGB® Kit**  
reagenti per la Real Time PCR del DNA

**REF** RTK602ING

	<b>A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)</b>	<b>B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)</b>
20	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
21	<b>Caricare</b> il "PCR Rack" con la "PCR Cassette" nell'Inventory Area.	<b>Caricare</b> il "PCR Rack" con la "PCR Cassette" nell'Inventory Area.
22	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
23	<b>Caricare</b> l'"Extraction Rack" con le cartucce di estrazione "ELITE InGenius SP 200" e i materiali di consumo per l'estrazione richiesti.	Non applicabile
24	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.
25	Premere "Start".	Premere "Start".

	<b>C. Sessione di calibrazione (Solo PCR)</b>	<b>D. Sessione con il controllo positivo e il controllo negativo (Solo PCR)</b>
1	<b>Scongelare le provette di Q-PCR Standard</b> necessarie (Cal1: Q-PCR Standard 10 <sup>2</sup> , Cal2: Q-PCR Standard 10 <sup>3</sup> , Cal3: Q-PCR Standard 10 <sup>4</sup> , Cal4: Q-PCR Standard 10 <sup>5</sup> ) per 30 minuti a temperatura ambiente. Agitare delicatamente la provetta, centrifugarla per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenerla su ghiaccio o su blocco freddo.	<b>Scongelare le provette di controllo positivo</b> a temperatura ambiente per 30 minuti. Agitare delicatamente la provetta, centrifugarla per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenerla su ghiaccio o su blocco freddo. <b>Preparare il controllo negativo</b> trasferendo almeno 50 µL di acqua per biologia molecolare in una provetta di eluizione, fornita in dotazione con l'ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.
2	Nella schermata Home, selezionare "Perform Run".	Nella schermata Home, selezionare "Perform Run".
3	Rimuovere i "Rack" dalle "Lane 1, 2 e 3" (L1, L2, L3) della "Cooler Unit" e posizzarli sul tavolo di preparazione.	Rimuovere i "Rack" dalle "Lane 1, 2 e 3" (L1, L2, L3) della "Cooler Unit" e posizzarli sul tavolo di preparazione.
4	Selezionare il "run mode": PCR Only".	Selezionare il "run mode": "PCR Only".
5	<b>Caricare le provette di Q-PCR Standard</b> nell'"Elution Rack".	<b>Caricare le provette di controllo positivo e controllo negativo</b> nell'"Elution Rack".
6	<b>Inserire l'"Elution Rack"</b> 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).	<b>Inserire l'"Elution Rack"</b> nella "Cooler Unit" a partire dalla "Lane 3" (L3). Se necessario, per ogni "Position" inserire "Reagent name" e "S/N" (numero di serie), "Lot No." (numero di lotto), "Exp. Date" (data di scadenza) e "T/R" (numero di reazioni).
7	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
8	Verificare l'"Extraction Input Volume" (200 µL) e l'"Extracted Elute Volume" (50 µL).	Verificare l'"Extraction Input Volume" (200 µL) e l'"Extracted Elute Volume" (50 µL).
9	Nella colonna "Assay" selezionare l' <b>Assay Protocol</b> da utilizzare (vedere "Campioni e controlli").	Nella colonna "Assay" selezionare l' <b>Assay Protocol</b> da utilizzare (vedere "Campioni e controlli").
10	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
11	<b>Caricare la PCRM Mix</b> nel "Reagent/Elution Rack".	<b>Caricare la PCRM Mix</b> nel "Reagent/Elution Rack".
12	<b>Inserire il "Reagent/Elution Rack"</b> nella "Cooler Unit" nella "Lane 2" (L2). Se necessario, per ogni PCR Mix, inserire "S/N" (numero di serie), "Lot No." (numero di lotto), "Exp. Date" (data di scadenza) e "T/R" (numero di reazioni).	<b>Inserire il "Reagent/Elution Rack"</b> nella "Cooler Unit" a partire dalla "Lane 2" (L2). Se necessario, per ogni PCR Mix, inserire "S/N" (numero di serie), "Lot No." (numero di lotto), "Exp. Date" (data di scadenza) e "T/R" (numero di reazioni).
13	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
14	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'"Inventory Area" (area reagenti) e sostituire i rack se necessario.	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'"Inventory Area" (area reagenti) e sostituire i rack se necessario.
15	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
16	<b>Caricare</b> il "PCR Rack" con la "PCR Cassette" nell'Inventory Area.	<b>Caricare</b> il "PCR Rack" con la "PCR Cassette" nell'Inventory Area.
17	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
18	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.
19	Premere "Start".	Premere "Start".

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

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

**Nota:** Alla fine della sessione, rimuovere dallo strumento la **PCR Mix**, tapparla e conservarla a  $-20$  °C o temperatura inferiore oppure conservarla a bordo nel blocco freddo per un massimo di 7 ore (per 2 sessioni di 3 ore ciascuna e per il tempo necessario per iniziare una terza sessione). Agitare delicatamente la provetta, quindi centrifugarla per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo prima di cominciare la successiva sessione.

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

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

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

### **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.

Lo strumento **ELITE BeGenius** utilizza il prodotto **HBV ELITE MGB Kit** per generare i risultati tramite la seguente procedura:

- A. Validazione della curva di calibrazione
- B. Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo
- C. Validazione dei risultati del campione
- D. Refertazione dei risultati del campione

**Nota:** Per i dettagli, fare riferimento allo stesso paragrafo della **Procedura ELITE InGenius**.

**CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI**

**Limite di rilevazione (LoD)**

Il limite di rilevazione (LoD) del saggio è stato determinato sullo strumento ELITE InGenius mediante analisi di un pannello di campioni di plasma negativo per HBV in ACD, positivizzato con un materiale di riferimento per HBV (4<sup>th</sup> WHO HBV International Standard, NIBSC). È stata eseguita l'analisi di regressione con modello Probit sui risultati ed è stato stimato il LoD come la concentrazione del campione che ha una probabilità del 95% di risultare positivo.

I risultati sono illustrati nelle tabelle seguenti.

<b>Limite di rilevazione (IU/mL) per campioni di plasma in ACD ed ELITE InGenius</b>			
<b>Target</b>	<b>LoD</b>	<b>Intervallo di confidenza 95%</b>	
		<b>Limite inferiore</b>	<b>Limite superiore</b>
HBV	9	6	18

Il LoD inteso come copie/mL per campioni di plasma raccolti in ACD è stato calcolato applicando lo specifico fattore di conversione indicato (0,24 IU/copie). Si riporta di seguito la sensibilità analitica espressa in copie/mL.

<b>Limite di rilevazione (copie/mL) per campioni di plasma in ACD ed ELITE InGenius</b>			
<b>Target</b>	<b>LoD</b>	<b>Intervallo di confidenza 95%</b>	
		<b>Limite inferiore</b>	<b>Limite superiore</b>
HBV	38	27	73

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

I risultati ottenuti hanno confermato la concentrazione dichiarata per il target di HBV ELITE MGB Kit su entrambi gli strumenti ELITE InGenius e ELITE BeGenius.

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

L'equivalenza delle matrici di HBV 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 negativi per HBV con un saggio immunoenzimatico CE IVD, è stata valutata la percentuale di concordanza negativa (NPA) e il coefficiente di variabilità (%CV) dei valori di Ct del controllo interno.

I risultati sono illustrati nelle tabelle seguenti.

<b>Campione</b>	<b>N</b>	<b>Positivi</b>	<b>Negativi</b>	<b>NPA</b>	<b>%CV Ct IC</b>	<b>%CV totale Ct IC</b>
Plasma in EDTA	30	0	30	100%	0,86	0,98
Plasma in ACD	30	0	30		1,01	

<b>Campione</b>	<b>N</b>	<b>Positivi</b>	<b>Negativi</b>	<b>NPA</b>	<b>%CV Ct IC</b>	<b>%CV totale Ct IC</b>
Plasma in EDTA	30	0	30	97%	0,90	0,86
Siero	30	1	29		0,82	

Un campione di siero ha fornito un risultato positivo con un titolo molto basso (inferiore a 9 IU/mL) coerente con un risultato negativo del saggio immunoenzimatico CE IVD utilizzato per certificare la negatività del campione.

Per 30 campioni positivizzati con materiale di riferimento certificato (4<sup>th</sup> WHO HBV International Standard, NIBSC) è stata valutata la percentuale di concordanza positiva (PPA) e il coefficiente di variabilità (%CV) dei valori di Ct di HBV.

I risultati sono illustrati nelle tabelle seguenti.

**HBV ELITE MGB® Kit**  
reagenti per la Real Time PCR del DNA

**REF** RTK602ING

Campione	N	Positivi	Negativi	PPA	Ct di HBV %CV	%CV totale Ct HBV
Plasma in EDTA	30	30	0	100%	1,75	1,81
Plasma in ACD	30	30	0		1,88	

Campione	N	Positivi	Negativi	PPA	Ct di HBV %CV	%CV totale Ct HBV
Plasma in EDTA	30	30	0	100%	1,59	1,49
Siero	30	30	0		1,29	

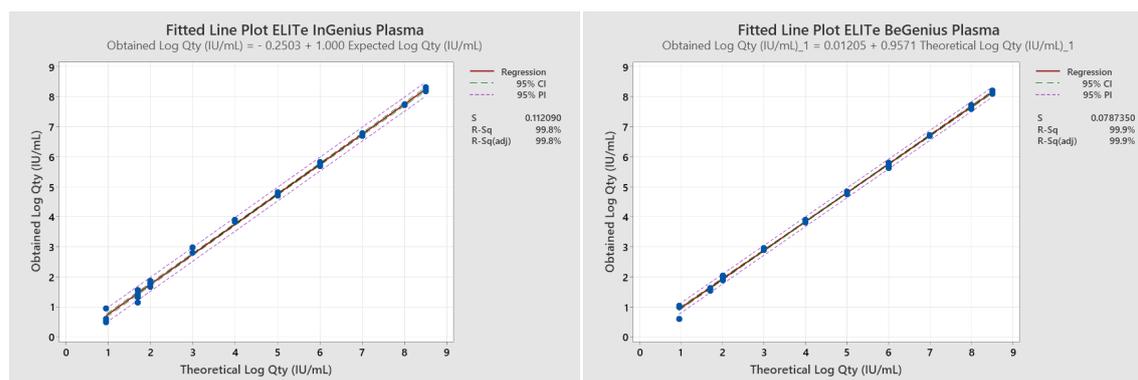
In queste analisi, i 30 campioni appaiati di plasma in EDTA e di plasma in ACD e i 30 campioni appaiati di plasma in EDTA e di siero hanno evidenziato prestazioni equivalenti quando analizzati con il prodotto HBV ELITE MGB Kit in associazione con ELITE InGenius.

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

**Intervallo di misurazione lineare**

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

I risultati sono illustrati nelle figure seguenti.



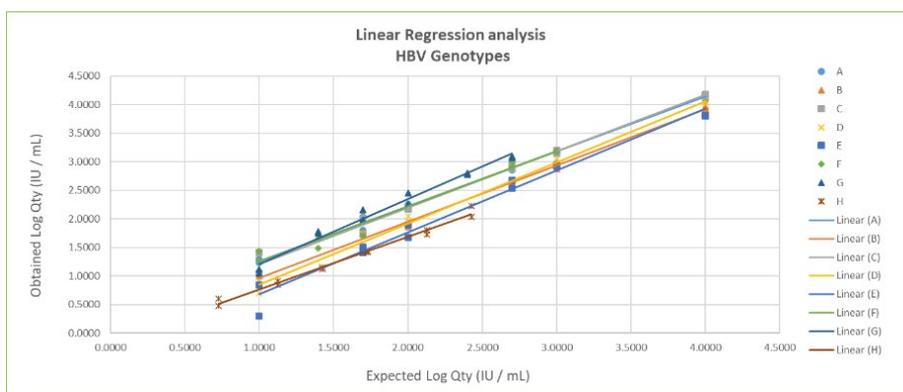
L'intervallo di misurazione lineare in copie/mL per campioni di plasma in ACD è stato calcolato applicando lo specifico fattore di conversione riportato nella sezione seguente.

I risultati finali sono illustrati nella tabella seguente.

<b>Intervallo di misurazione lineare per HBV ELITE MGB Kit con ELITE InGenius e ELITE BeGenius</b>	
<b>Limite inferiore</b>	<b>Limite superiore</b>
9 IU/mL	317.750.000 IU/mL
38 copie/ml	1.323.958.333 copie/ml

Per i genotipi principali di HBV (A, B, C, D, E, F, G), l'intervallo di misurazione lineare è stato verificato analizzando campioni negativi di plasma in EDTA positivizzati con materiale di riferimento per HBV (1<sup>st</sup> WHO International Reference Panel for HBV Genotypes, PEI).

I risultati sono illustrati nella figura seguente.



La linearità del saggio è stata confermata per i principali genotipi di HBV (A, B, C, D, E, F, G), dando risultati quantitativi entro  $\pm 0,5$  Log IU/mL e R2 compreso tra 0,979 e 0,996.

Per le tre matrici, l'intervallo di misurazione lineare è stato verificato analizzando campioni negativi di plasma in EDTA, campioni negativi di plasma in ACD e campioni negativi di siero positivizzati con materiale di riferimento per HBV (4<sup>th</sup> WHO International Standard, NIBSC).

I risultati sono illustrati nella figura seguente.



La linearità del saggio è stata verificata per i 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 0,974, 0,982 e 0,988.

### 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 0,2832 Log copie/reaione.

Livelli della curva dello standard	Teorico Log c/rxn	SD	Incertezza combinata estesa
HBV Q - PCR Standard $10^5$	5,0000	0,0652	0,2832
HBV Q - PCR Standard $10^4$	4,0000	0,0641	
HBV Q - PCR Standard $10^3$	3,0000	0,0489	
HBV Q - PCR Standard $10^2$	2,0000	0,0964	

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

L'inclusività del saggio, come efficienza della rilevazione per differenti genotipi di HBV, è stata valutata mediante analisi *in silico*. L'analisi ha dimostrato la conservazione della sequenza e l'assenza di mutazioni significative. Pertanto, si prevede una rilevazione efficiente di differenti ceppi o isolati.

L'inclusività del saggio è stata verificata testando due pannelli di materiali di riferimento per HBV (PEI e SeraCare) a 3x LoD.

I risultati sono illustrati nelle tabelle seguenti.

<b>1st WHO International Reference Panel for HBV</b>		
<b>ID campione</b>	<b>Pos./Rep.</b>	<b>Esito</b>
HBV 1/A	3 / 3	HBV rilevato
HBV 2/A	3 / 3	HBV rilevato
HBV 3/A	3 / 3	HBV rilevato
HBV 4/B	3 / 3	HBV rilevato
HBV 5/B	3 / 3	HBV rilevato
HBV 6/B	3 / 3	HBV rilevato
HBV 7/B	3 / 3	HBV rilevato
HBV 8/C	3 / 3	HBV rilevato
HBV 9/C	3 / 3	HBV rilevato
HBV 10/D	3 / 3	HBV rilevato
HBV 11/D	3 / 3	HBV rilevato
HBV 12/D	3 / 3	HBV rilevato
HBV 13/E	3 / 3	HBV rilevato
HBV 14/F	3 / 3	HBV rilevato
HBV 15/G	3 / 3	HBV rilevato

<b>AccuSet™ HBV DNA Genotype Performance Panel</b>		
<b>ID campione</b>	<b>Pos./Rep.</b>	<b>Esito</b>
A	3 / 3	HBV rilevato
B	3 / 3	HBV rilevato
C	3 / 3	HBV rilevato
D	3 / 3	HBV rilevato
E	3 / 3	HBV rilevato
F	3 / 3	HBV rilevato
H	3 / 3	HBV rilevato

Tutti i campioni sono stati correttamente rilevati e quantificati entro  $\pm 0,5$  Log IU/mL con il prodotto HBV ELITE MGB Kit su ELITE InGenius.

#### **Marcatori potenzialmente interferenti: Crossreattività**

La potenziale crossreattività con altri microrganismi che si possono rilevare nei campioni clinici di plasma è stata valutata per il saggio mediante analisi *in silico*. L'analisi non ha evidenziato omologie significative con altri organismi diversi da quello di interesse (virus, batteri, protozoi e funghi). Pertanto, non si prevede nessuna crossreattività.

L'assenza di crossreattività con altri organismi è stata verificata anche mediante l'analisi di un pannello di organismi diversi da quello di interesse (ATCC, NIBSC, ZeptoMetrix) ad alto titolo.

I risultati sono illustrati nella tabella seguente.

<b>ID campione</b>	<b>HBV Pos. / Rep.</b>	<b>Esito</b>
Adenovirus 2	0 / 3	Nessuna crossreattività
CMV	0 / 3	Nessuna crossreattività
EBV	0 / 3	Nessuna crossreattività
HHV6	0 / 3	Nessuna crossreattività
VZV	0 / 3	Nessuna crossreattività
HSV1	0 / 3	Nessuna crossreattività
HSV2	0 / 3	Nessuna crossreattività
HTLVI	0 / 3	Nessuna crossreattività

ID campione	HBV Pos. / Rep.	Esito
HTLVII	0 / 3	Nessuna crossreattività
Parvovirus B19	0 / 3	Nessuna crossreattività
Echovirus 4	0 / 3	Nessuna crossreattività
Virus Dengue tipo 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
RSV	0 / 3	Nessuna crossreattività
Virus dell'influenza A (H1N1)	0 / 3	Nessuna crossreattività
Virus dell'influenza B (Florida)	0 / 3	Nessuna crossreattività
RSV A2	0 / 3	Nessuna crossreattività
EBV	0 / 3	Nessuna crossreattività
HCV	0 / 3	Nessuna crossreattività
HEV	0 / 3	Nessuna crossreattività
HIV-1	0 / 3	Nessuna crossreattività
HIV-2	0 / 3	Nessuna crossreattività
<i>Candida albicans</i>	0 / 3	Nessuna crossreattività
<i>Staphylococcus aureus</i>	0 / 3	Nessuna crossreattività

Tutti gli organismi potenzialmente interferenti analizzati non hanno evidenziato alcuna crossreattività per l'amplificazione del target HBV quando analizzati con HBV ELITE MGB Kit.

#### **Marcatori potenzialmente interferenti: Inibizione**

La potenziale inibizione di organismi diversi da quello di interesse che possono essere presenti nei campioni clinici è stata valutata per il saggio mediante l'analisi di un pannello di organismi diversi da quello di interesse (ATCC, NIBSC, ZeptoMetrix) ad alto titolo positivamente con DNA genomico di HBV (NIBSC) a 3x LoD.

I risultati sono illustrati nella tabella seguente.

ID campione	HBV Pos. / Rep.	Esito
Adenovirus 2	3 / 3	Nessuna interferenza
CMV	3 / 3	Nessuna interferenza
EBV	3 / 3	Nessuna interferenza
HHV6	3 / 3	Nessuna interferenza
VZV	3 / 3	Nessuna interferenza
HSV1	3 / 3	Nessuna interferenza
HSV2	3 / 3	Nessuna interferenza
HTLVI	3 / 3	Nessuna interferenza
HTLVII	3 / 3	Nessuna interferenza
Parvovirus B19	3 / 3	Nessuna interferenza
Echovirus 4	3 / 3	Nessuna interferenza
Virus Dengue tipo 3	3 / 3	Nessuna interferenza
RSV	3 / 3	Nessuna interferenza
Virus dell'influenza A (H1N1)	3 / 3	Nessuna interferenza
Virus dell'influenza B (Florida)	3 / 3	Nessuna interferenza
RSV A2	3 / 3	Nessuna interferenza
EBV	3 / 3	Nessuna interferenza
HCV	3 / 3	Nessuna interferenza
HEV	3 / 3	Nessuna interferenza
HIV-1	3 / 3	Nessuna interferenza
HIV-2	3 / 3	Nessuna interferenza
<i>Staphylococcus aureus</i>	3 / 3	Nessuna interferenza
<i>Candida albicans</i>	3 / 3	Nessuna interferenza

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

**Sostanze potenzialmente interferenti: Inibizione**

L'inibizione da sostanze potenzialmente interferenti (endogene ed esogene) che si potrebbero rilevare nei campioni clinici è stata valutata per il saggio mediante l'analisi di un pannello di sostanze a concentrazioni significative in campioni di plasma positivi per i target.

I risultati sono illustrati nella tabella seguente.

Campione	HBV Pos. / Rep.	Esito
EDTA	3 / 3	Nessuna interferenza
Eparina	1 / 3	Interferenza
Sangue emolitico elevato	3 / 3	Nessuna interferenza
Plasma lipemico	3 / 3	Nessuna interferenza
Plasma itterico	3 / 3	Nessuna interferenza
Ganciclovir	3 / 3	Nessuna interferenza
Azitromicina	3 / 3	Nessuna interferenza
Glecaprevir	3 / 3	Nessuna interferenza
Entecavir	3 / 3	Nessuna interferenza
Tenofovir	3 / 3	Nessuna interferenza
Lamivudina	3 / 3	Nessuna interferenza

La maggior parte delle sostanze testate non interferisce con l'amplificazione verso HBV o verso il controllo interno.

È stato confermato che l'eparina è in grado di inibire l'amplificazione di HBV. Tuttavia, grazie al limite di Ct per il controllo interno (Ct IC <31), si sono ottenuti risultati dei campioni "non validi" e non "falsi negativi".

**Contaminazione crociata**

La possibile contaminazione crociata è stata valutata analizzando 30 campioni di plasma negativi per il DNA di HBV alternati a 30 campioni di plasma positivizzati con materiale di riferimento certificato per HBV (Zeptomatrix) ad alto titolo.

I risultati sono illustrati nella tabella seguente.

Campioni	N	Negativi	Positivi
Plasma con ACD inoculato a 1x10 <sup>6</sup> HBV IU/mL	30	0	30
Plasma con ACD negativo per HBV	30	30	0

In questo test con HBV ELITe MGB Kit, non sono state rilevate crosscontaminazioni né inter-sessione, né intra-sessione.

**Tasso totale di errore di sistema**

Il tasso totale di errore di sistema per il saggio è stato valutato sugli strumenti ELITe InGenius e ELITe BeGenius analizzando un pannello di campioni positivizzati con un materiale di riferimento certificato (4<sup>th</sup> WHO HBV International Standard, NIBSC) alla concentrazione di 3 x LoD (circa 27 IU/mL).

I risultati sono sintetizzati nelle tabelle seguenti.

ELITe InGenius - Tasso totale di errore di sistema				
Campioni	N	Positivi	Negativi	Tasso totale di errore di sistema
Plasma con EDTA inoculato	100	100	0	0%
Plasma con ACD inoculato	30	30	0	0%
Siero inoculato	30	30	0	0%

ELITE BeGenius - Tasso totale di errore di sistema				
Campioni	N	Positivi	Negativi	Tasso totale di errore di sistema
Plasma con EDTA inoculato	100	100	0	0%

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

### Ripetibilità

La ripetibilità intra-sessione e inter-sessione del saggio è stata valutata sugli strumenti ELITE InGenius e ELITE BeGenius analizzando un pannello di campioni di plasma, inclusi un campione negativo e due campioni positivamente con materiale di riferimento certificato per HBV (4<sup>th</sup> WHO International Standard, NIBSC).

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

Ripetibilità intra-sessione con ELITE InGenius (Giorno 1)								
Campione	HBV				% Concordanza	Controllo interno		
	N	Ct media	SD	%CV		Ct medio	SD	%CV
Negativi	8	-	-	-	100%	29,10	0,23	0,79
3X LOD	8	38,90	0,50	1,29	100%			
10X LOD	8	36,50	0,16	0,44	100%			

Ripetibilità intra-sessione con ELITE BeGenius (Giorno 1)								
Campione	HBV				% Concordanza	Controllo interno		
	N	Ct media	SD	%CV		Ct media	SD	%CV
Negativi	8	-	-	-	100%	30,06	0,37	1,24
3X LOD	8	38,64	0,46	1,19	100%			
10X LOD	8	36,83	0,34	0,93	100%			

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

Ripetibilità intra-sessione con ELITE InGenius (Giorno 1 + Giorno 2)								
Campione	HBV				% Concordanza	Controllo interno		
	N	Ct media	SD	%CV		Ct media	SD	%CV
Negativi	16	-	-	-	100%	29,15	0,51	1,74
3X LOD	16	38,71	0,69	1,78	100%			
10X LOD	16	36,57	0,33	0,91	100%			

Ripetibilità inter-sessione con ELITE BeGenius (Giorno 1 + Giorno 2)								
Campione	HBV				% Concordanza	Controllo interno		
	N	Ct media	SD	%CV		Ct media	SD	%CV
Negativi	16	-	-	-	100%	30,04	0,54	1,80
3X LOD	16	38,93	0,86	2,22	100%			
10X LOD	16	36,87	0,35	0,94	100%			

Nel test di ripetibilità, HBV ELITE MGB Kit ha rilevato correttamente il target e mostrato una variabilità massima dei valori di Ct del target espressa come %CV pari a 2,22%.

### Riproducibilità

La riproducibilità inter-sito, inter-strumento e inter-lotto del saggio è stata valutata sugli strumenti ELITE InGenius e ELITE BeGenius analizzando un pannello di campioni di plasma, inclusi un campione negativo e due campioni positivamente con materiale di riferimento certificato per HBV (4<sup>th</sup> WHO HBV International Standard, NIBSC).

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

Riproducibilità inter-sito con ELITE InGenius								
Campione	HBV				% Concordanza	Controllo interno		
	N	Ct media	SD	%CV		Ct media	SD	%CV
Negativi	24	Indet.	-	-	100%	28,73	0,45	1,58
3X LOD	24	37,60	0,68	1,80	100%			
10X LOD	24	35,63	0,35	0,98	100%			

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

Riproducibilità inter-strumento con ELITE InGenius								
Campione	HBV				% Concordanza	Controllo interno		
	N	Ct media	SD	%CV		Ct media	SD	%CV
Negativi	24	-	-	-	100%	29,08	0,31	1,05
3X LOD	24	37,69	0,69	1,83	100%			
10X LOD	24	36,04	0,55	1,53	100%			

Riproducibilità inter-strumento con ELITE BeGenius								
Campione	HBV				% Concordanza	Controllo interno		
	N	Ct media	SD	%CV		Ct media	SD	%CV
Negativi	24	-	-	-	100%	30,67	0,86	2,80
3X LOD	24	38,54	1,08	2,79	100%			
10X LOD	24	36,53	0,76	2,09	100%			

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

Riproducibilità inter-lotto con ELITE InGenius								
Campione	HBV				% Concordanza	Controllo interno		
	N	Ct media	SD	%CV		Ct media	SD	%CV
Negativi	48	-	-	-	100%	29,01	0,38	1,31
3X LOD	48	38,05	0,85	2,23	100%			
10X LOD	48	35,99	0,53	1,47	100%			

Riproducibilità inter-lotto con ELITE BeGenius								
Campione	HBV				% Concordanza	Controllo interno		
	N	Ct media	SD	%CV		Ct media	SD	%CV
Negativi	48	-	-	-	100%	29,89	0,51	1,71
3X LOD	48	38,19	0,85	2,24	100%			
10X LOD	48	36,38	0,57	1,57	100%			

Nel test di riproducibilità, HBV ELITE MGB Kit ha rilevato correttamente tutti i campioni come previsto e ha mostrato una variabilità massima dei valori di Ct del target espressa come %CV pari a 2,79%.

#### Fattore di conversione alle Unità Internazionali

Il fattore di conversione per riportare i risultati quantitativi in unità internazionali/mL a partire da copie/mL è stato calcolato utilizzando il materiale di riferimento calibrato certificato "4<sup>th</sup> WHO HBV International Standard" (NIBSC). Il fattore di conversione è stato determinato pari a 0,24 IU/copie.

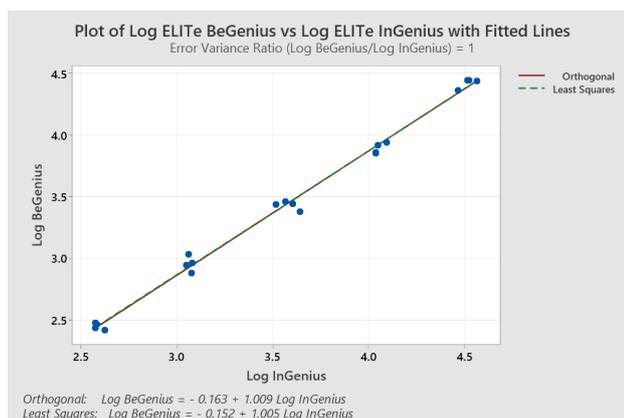
Le tabelle sottostanti riportano una sintesi dei risultati.

Fattore di conversione alle Unità Internazionali, Fc = 0,24 IU/copie						
Campione			Risultato			Differenza log (rif. - test)
IU/mL	Log IU/mL	N	c/mL media	IU/mL media	Log IU/mL media	
31.600	4,5000	27	133.240	31.748	4,4877	+0,0123
10.000	4,0000	27	41.965	9.999	3,9917	+0,0083
3.160	3,5000	27	14.275	3.401	3,5187	-0,0187
1.000	3,0000	27	4.337	1.033	3,0020	-0,0020

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 HBV ELITE MGB Kit in associazione a plasma in EDTA è stato verificato con gli strumenti ELITE BeGenius e ELITE InGenius utilizzando il materiale di riferimento calibrato certificato "4th WHO HBV International Standard" (NIBSC). I risultati ottenuti sono stati analizzati tramite regressione ortogonale e lineare allo scopo di calcolare la loro correlazione.

I risultati sono sintetizzati nelle figure sottostanti.



L'analisi di regressione ortogonale ha generato un'intercetta pari a -0,163 (95% IC: -0,294; -0,032) e una pendenza pari a 1,009 (95% CI: 0,973; 1,045). L'analisi di regressione lineare ha generato un R<sup>2</sup> di 0,994.

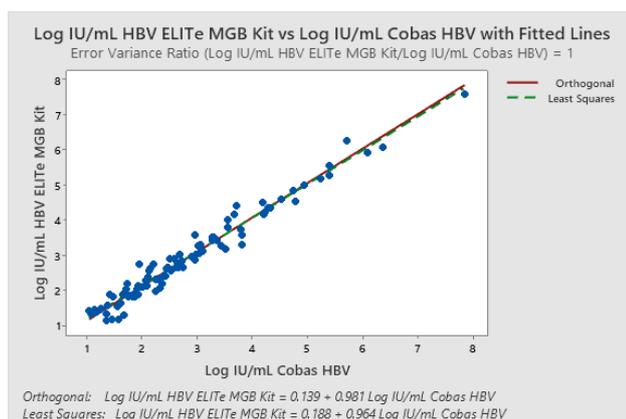
**Nota:** I fattori di conversione allo standard internazionale (0,24 IU/copie), calcolati con il "4th WHO International Standard for HBV DNA for NAT" possono essere applicati anche per il "5th WHO International Standard for HBV DNA for NAT" (NIBSC, UK, codice 22/120).

### 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 il DNA di HBV di pazienti sottoposti a terapia antivirale, con carico virale compreso nell'intervallo di misurazione di HBV ELITE MGB Kit e dei metodi di riferimento di diagnostica molecolare marcati CE IVD. I risultati ottenuti con HBV ELITE MGB Kit e con i metodi di riferimento sono stati sottoposti ad analisi di regressione ortogonale e lineare.

Lo studio di correlazione è stato eseguito in un laboratorio su 93 campioni clinici di plasma in EDTA positivi per il DNA di HBV utilizzando come metodo riferimento il "cobas® HBV for use on the 6800 System".

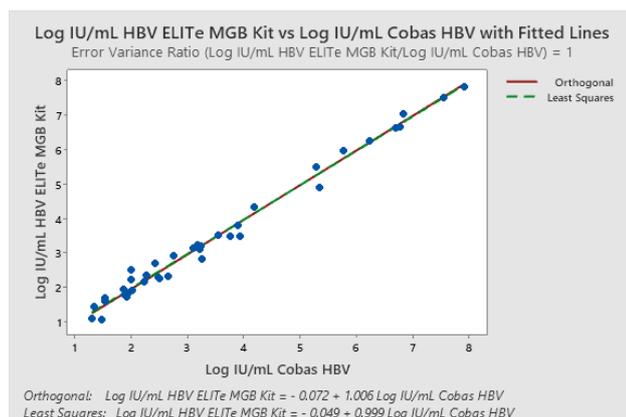
I risultati sono sintetizzati nelle figure sottostanti.



In questo test, l'analisi di regressione ortogonale ha generato una pendenza pari a 0,981 (95% CI: 0,943; 1,020) e un'intercetta pari a 0,139 (95% CI: 0,018; 0,259). L'analisi di regressione lineare ha generato un R<sup>2</sup> di 0,964.

Lo studio di correlazione è stato eseguito in due altri siti su 38 campioni clinici di plasma in EDTA positivi per il DNA di HBV utilizzando come metodo di riferimento il “cobas® HBV for use on the 4800 System”.

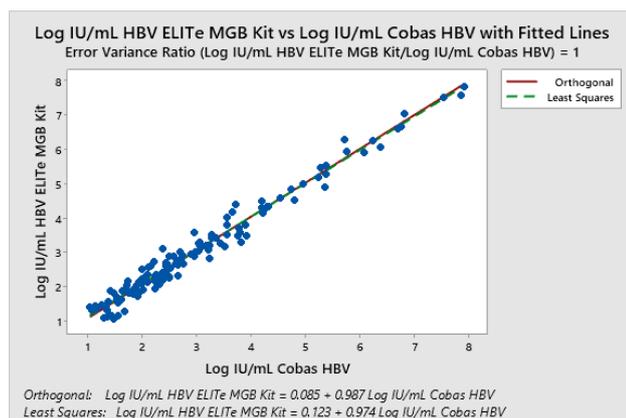
I risultati sono sintetizzati nelle figure sottostanti.



In questo test, l'analisi di regressione ortogonale ha generato una pendenza pari a 1,006 (95% CI: 0,968; 1,043) e un'intercetta pari a -0,072 (95% CI: -0,219; 0,080). L'analisi di regressione lineare ha generato un R<sup>2</sup> di 0,987.

Poiché i due metodi di riferimento (“cobas® HBV for use on the 4800 System” e “cobas® HBV for use on the 6800 System”, 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.



In questo test, l'analisi di regressione ortogonale ha generato una pendenza pari a 0,987 (95% CI: 0,943; 1,020) e un'intercetta pari a 0,085 (95% CI: 0,018; 0,259). L'analisi di regressione lineare ha generato un R<sup>2</sup> di 0,964.

**HBV ELITE MGB® Kit**  
reagenti per la Real Time PCR del DNA

REF RTK602ING

0,959; 1,015) e un'intercetta pari a 0,085 (95% CI: -0,009; 0,179). L'analisi di regressione lineare ha generato un R<sup>2</sup> di 0,974.

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.

**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 il DNA di HBV testati con metodi di riferimento di diagnostica molecolare marcati CE IVD.

I risultati dello studio di specificità diagnostica, dopo l'analisi di discrepanza, sono sintetizzati nella tabella seguente, entrambi differenziati mediante il metodo di riferimento ("cobas® HBV for use on the 4800 System" e "cobas® HBV for use on the 6800 System", Roche Diagnostics) e combinati, in quando offrono prestazioni equivalenti.

Campioni di plasma in EDTA negativi per il DNA di HBV	N	Positivi	Negativi	Specificità diagnostica
Riferimento: cobas HBV for use on the 6800 Systems	93	3	90	96,8%
Riferimento: cobas HBV for use on the 4800 Systems	34	0	34	100%
Risultati combinati	127	3	124	97,6%

Questi campioni hanno dato risultati positivi discordanti con titoli più bassi rispetto al LoD di HBV ELITE MGB Kit e dei metodi di riferimento. Questi campioni possono casualmente generare risultati positivi.

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.

**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 "HBV ELITE MGB® Kit", FTP602ING.

**BIBLIOGRAFIA**

- S. Velkov et al. (2018) *Genes*. 9: 495.  
D. N. Clark et al. (2017) *J. of Virology*. 91: e01785-16.  
K. Linnet et al. (2004) *Clin. Chem*. 50: 732 - 740.  
E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res*. 35: e30.  
<https://www.mayocliniclabs.com> (ID del test HBVQN).  
<https://ltd.aruplab.com> (numero del test 3000863).  
<https://ltd.clevelandcliniclabs.com> (numero del test 87517).

## LIMITI DELLA PROCEDURA

Utilizzare questo prodotto soltanto con i seguenti campioni clinici: Plasma o in provette con 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.

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

Il 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.

Il prodotto non è destinato all'uso come test diagnostico per confermare la presenza di un'infezione da HBV.

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

La metodica PCR real time utilizzata in questo prodotto ha un'elevata sensibilità analitica che la rende soggetta a contaminazioni da campioni clinici positivi, da controlli positivi e dai prodotti della PCR. Le contaminazioni crociate possono produrre risultati falsi positivi. Il formato del prodotto è progettato per limitare le contaminazioni crociate. Comunque, questi fenomeni possono essere evitati solo attenendosi alle buone prassi di laboratorio e seguendo attentamente le istruzioni riportate nel presente manuale.

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

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

Questo prodotto richiede l'uso di dispositivi di protezione individuale e di strumenti dedicati alla preparazione delle sessioni di lavoro per evitare risultati falsi positivi.

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

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

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

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

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

Come per qualunque altro dispositivo medico-diagnostico, i risultati ottenuti con questo prodotto devono essere interpretati in combinazione con tutte le osservazioni cliniche e i risultati 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.

**RISOLUZIONE DEI PROBLEMI**

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

<b>Reazione del controllo negativo non valida</b>	
<b>Possibili cause</b>	<b>Soluzioni</b>
Errata impostazione dello strumento.	Controllare la posizione della PCR Mix e del controllo negativo. Controllare i volumi della PCR Mix e del controllo negativo.
Contaminazione del controllo negativo.	Non utilizzare il controllo negativo per più di 1 sessione. Utilizzare una nuova aliquota di acqua per biologia molecolare.
Contaminazione della PCR Mix.	Utilizzare una nuova aliquota di PCR Mix.
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.

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

<b>Curva di dissociazione anomala</b>	
<b>Possibili cause</b>	<b>Soluzioni</b>
Assenza di un picco definito. Picco definito, ma Tm differente rispetto a quello di altri campioni e degli standard o del controllo positivo.	Controllare che il valore Ct del target sia inferiore a 30. La grande quantità di prodotti della reazione di amplificazione alla fine della reazione può 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.

<b>Errore nel calcolo di Ct</b>	
<b>Possibili cause</b>	<b>Soluzioni</b>
Concentrazione troppo elevata del target nel campione o campione con segnale di fluorescenza anomalo.	Se nel tracciato della PCR appare un'amplificazione significativa, selezionare il tracciato relativo al campione e approvare manualmente il risultato come positivo. Se nel tracciato della PCR non appare nessuna amplificazione, selezionare il tracciato relativo al campione e approvare manualmente il risultato come negativo o lasciarlo come non valido. Se è richiesto un valore di 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"; - ripetere l'estrazione del campione primario con una diluizione 1:10 in acqua per biologia molecolare in una sessione in modalità "Extract + PCR".

<b>Anomala percentuale elevata di risultati positivi nella stessa sessione (reazioni con valori tardivi di Ct comparabili)</b>	
<b>Possibili cause</b>	<b>Soluzioni</b>
Contaminazione tra campioni durante i passaggi pre-analitici.	<p>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.</p> <p>Non utilizzare le pipette Pasteur. Utilizzare pipette a spostamento positivo o con puntali con filtro per aerosol.</p> <p>Introdurre i campioni nelle ultime posizioni degli strumenti, come indicato nella GUI. Seguire la sequenza di caricamento indicata dal software.</p>
Contaminazione ambientale del laboratorio.	<p>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.</p> <p>Eseguire un ciclo di decontaminazione con U.V.</p> <p>Utilizzare una nuova provetta di PCR Mix e/o CPE.</p>

### LEGENDA DEI SIMBOLI

**REF**

Numero di catalogo



Limite superiore di temperatura.

**LOT**

Codice del lotto.



Da utilizzare prima del (ultimo giorno del mese).

**IVD**

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.

**UDI**

Numero Unico Identificativo del dispositivo



Contenuto sufficiente per "N" test.



Attenzione, consultare le istruzioni per l'uso.

**CONT**

Contenuto.



Tenere lontano dalla luce solare



Fabbricante.

### **AVVISO PER L'UTILIZZATORE**

Qualsiasi incidente grave che si verifichi in relazione al dispositivo deve essere segnalato al fabbricante e all'autorità competente dello Stato membro in cui risiedono l'utilizzatore e/o il paziente. Al momento della revisione corrente delle Istruzioni per l'uso, non si è verificato nessun grave incidente né alcun richiamo, aventi un impatto sulle prestazioni del prodotto e la sicurezza del dispositivo.

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](mailto:emd.support@elitechgroup.com).

### **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 EG SpA 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](mailto:outlicensing@thermofisher.com).

I reagenti di rilevazione ELITE MGB® sono coperti da uno o più brevetti USA numero 7319022, 7348146, 7381818, 7541454, 7671218, 7718374, 7723038, 7759126, 7767834, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529, e da brevetti EP numero 1687609, 1781675, 1789587, 2689031, 2714939, 2736916, 2997161. Sono state presentate domande di brevetto attualmente in attesa di approvazione.

Le tecnologie ELITE InGenius® ed ELITE BeGenius® sono coperte da brevetti e da domande di brevetti 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.

cobas® è un marchio registrato di Roche Diagnostics.

MGB®, Eclipse Dark Quencher®, AquaPhluor®, ELITE MGB®, il logo di ELITE MGB®, ELITE InGenius® ed ELITE BeGenius® sono marchi registrati di ELITechGroup nell'Unione Europea.



Caution, this document is a simplified version of the official instruction for use. Please refer to the complete document before use: [www.elitechgroup.com](http://www.elitechgroup.com)

### Intended use

The product **HBV ELITe MGB® Kit** is an *in vitro* diagnostic medical device intended to be used by healthcare professionals as quantitative nucleic acids Real-Time PCR assay for the detection and the quantification of the DNA of Hepatitis B Virus (HBV), extracted from clinical specimens.

The assay is validated in association with **ELITe InGenius®** and **ELITe BeGenius®** instruments, automated and integrated systems for extraction, Real-Time PCR and results interpretation, using human specimens of plasma collected in EDTA or in ACD and serum.

The product is intended for use as an aid in managing of HBV-infected individuals undergoing antiviral therapy. The results must be interpreted in combination with all relevant clinical observations and laboratory outcomes.

The product is not intended to be used for screening or to detect the presence or the exposure to transmissible agents in blood, blood components, cells, tissues, organs or any of their derivatives in order to assess their suitability for transfusion, transplantation or cell administration. The product is not intended for use as a diagnostic test to confirm the presence of HBV infection.

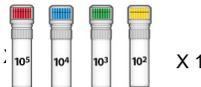
### Amplified sequence

Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
Target	HBV polymerase gene (P gene)	FAM	HBV
Internal Control	IC2	AP525	IC

### Validated matrix

› Plasma EDTA or Plasma ACD › Serum

### Kit content

HBV ELITe MGB Mix	HBV ELITe Standard	HBV Internal Control	HBV - ELITe Positive Control
 X 8	 X 1	 X 8	 X 2
Ready-to-use PCR Mix 8 tubes of 280 µL 12 reactions per tube 96 reactions per kit 7 freeze-thaw cycles	Ready-to-use Calibrators: 4 levels 1 set of 4 tubes of 160 µL 2 reactions per tube 2 reactions per kit 2 freeze-thaw cycles	Ready-to-use IC 8 tubes of 160 µL 96 reactions per kit 6 freeze-thaw cycles	Ready-to-use Positive Control 2 tubes of 160 µL 4 reactions per tube 8 reactions per kit 4 freeze-thaw cycles

Maximum shelf-life: **24 months**

Storage Temperature: **-20 °C**

### Other product required not provided in the kit

- › ELITe InGenius instrument: INT030
- › ELITe BeGenius instrument: INT040
- › ELITe InGenius SP 200: INT032SP200.
- › ELITe InGenius PCR Cassette: INT035PCR.
- › ELITe InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS
- › ELITe InGenius Waste Box: F2102-000
- › 300 µL Filter Tips Axigen: TF-350-L-R-S (ELITe InGenius only)
- › 1000 µL Filter Tips Tecan : 30180118 (ELITe BeGenius only)

### ELITe InGenius and ELITe BeGenius protocol

› Sample volume	200 µL	› Unit of quantitative result	International Unit: IU/mL
› HBV CPE volume	10 µL	› Conversion factor to IU	0.24 IU/copy
› Total elution volume	50 µL	› Frequency of controls	15 days
› PCR elution input volume	20 µL	› Frequency of calibration	60 days
› HBV PCR Mix volume	20 µL		

### ELITe InGenius and ELITe BeGenius Performances

Matrix	Limit of Detection	Diagnostic Sensitivity: Method Correlation	Diagnostic Specificity
Plasma / Serum	<b>9 IU / mL</b> 38 copies / mL	<b>R<sup>2</sup> = 0.974</b> <small>131 quantified samples</small>	<b>97.6%</b> <small>124 confirmed samples / 127 tested samples</small>
		reference methods: "cobas® HBV for use on the 4800 Systems" and "cobas® HBV for use on the 6800 Systems", Roche Diagnostics.	

### Sample preparation

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

Sample type	Transport/Storage conditions			
	+16 / +26 °C (room temperature)	+2 / +8 °C	-20 ±10 °C	-70 ±15 °C
Plasma samples collected in EDTA or ACD	≤ 3 days	≤ 5 days	≤ 1 month	≤ 6 months
Serum	≤ 3 days	≤ 5 days	≤ 1 month	≤ 6 months

Do not use Plasma collected in heparin to prevent inhibition of amplification reaction and frequent invalid results.

### ELITe InGenius Procedures

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

#### Before analysis

1. Switch on ELITe InGenius. Log in with username and password. Select the mode "Closed".	2. Verify calibrators: <b>Q-PCR Standard</b> in the "Calibration" menu. Verify controls: <b>Positive Control</b> and <b>Negative Control</b> in the "Controls" menu. <i>Note:</i> All must have been run, approved and not expired.	3. Thaw the <b>PCR Mix</b> and the <b>CPE</b> tubes. Vortex gently. Spin down 5 sec.
---	---	--

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", elution: "50 µL"	3. Scan the sample barcodes with hand-held barcode reader or type the sample ID
4. Select the "Assay Protocol" of interest: HBV ELITe_PL_200_50 or HBV ELITe_Se_200_50	5. Select the method "Extract + PCR" and the sample position: Extraction Tube	6. Load the PCR Mix and the Internal Control in the Inventory Block
7. Load: PCR Cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip Cassette, Extraction Tube racks	8. Close the door Start the run	9. View, approve and store the results

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

#### Procedure 2 - PCR Only (e.g., eluates, standards, controls)

1 to 4: Follow the Procedure 1 described above (select the Assay Protocol: HBV ELITe_PC and HBV ELITe_NC or HBV ELITe_STD)	5. Select the method "PCR Only" and set the sample position "Elution Tube"	6. Load the PCR Mix in the Inventory Block
7. Load: PCR Cassette rack and the Elution tube rack with the extracted nucleic acid, standards or controls	8. Close the door Start the run	9. View, approve and store the results

## ELITE BeGenius Procedures

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

### Before analysis

<p>1. Switch on ELITE BeGenius. Log in with username and password. Select the mode "Closed".</p>	<p>2. Verify calibrators: <b>Q-PCR Standard</b> in the "Calibration" menu. Verify controls: <b>Positive Control</b> and <b>Negative Control</b> in the "Controls" menu. <i>Note:</i> Both must have been run, approved and not expired.</p>	<p>3. Thaw the <b>PCR Mix</b> and the <b>CPE</b> tubes. Vortex gently. Spin down 5 sec.</p>
--	---	---

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

<p>1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «Extract + PCR»</p>	<p>2. Insert the Sample Rack with the barcoded samples in the Cooler Unit. The barcode scan is already active</p>	<p>3. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "50 µL"</p>
<p>4. Select the "Assay Protocol" of interest (HBV ELITE_Be_PL_200_50 or HBV ELITE_Be_Se_200_50)</p> <p><b>Note:</b> if a second extraction is performed repeat steps from 2 to 4</p>	<p>5. Print the labels to barcode the empty elution tubes. Load the tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit.</p>	<p>6. Load the PCR-Mix and the CPE in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit.</p>
<p>7. Load: "PCR Rack" with "PCR Cassette" and the "Extraction Rack" with the "ELITE InGenius SP 200" extraction cartridges and the required extraction consumables</p>	<p>8. Close the door. Start the run</p>	<p>9. View, approve and store the results</p>

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

### Procedure 2 - PCR Only (e.g., eluates, standards, controls)

<p>1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «PCR Only»</p>	<p>2. Load the extracted nucleic acid or controls/calibrators barcoded tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit</p>	<p>3. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "50 µL"</p>
<p>4. Select the "Assay protocol" of interest (HBV ELITE_Be_PC and HBV ELITE_Be_NC or HBV ELITE_Be_STD)</p>	<p>5. Load the PCR-Mix in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit</p>	<p>6. Load "PCR Rack" with "PCR Cassette"</p>
<p>7. 4. Close the door. Start the run</p>	<p>8. . View, approve and store the results</p>	