

Istruzioni per l'uso

Parvovirus B19 ELITe MGB® Kit

reagenti per la Real-Time PCR del DNA



REF RTS070PLD

UDI 08033891483623

CE
0123

IVD

CRONOLOGIA REVISIONI

Rev.	Avviso di modifica	Data (gg/mm/aa)
17-R	Aggiornamento per la conformità ai requisiti del Regolamento (UE) 2017/746 relativo ai dispositivi medico-diagnostici in vitro (IVDR). Incremento delle prestazioni analitiche e diagnostiche nel paragrafo CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI Aggiornamento dell'uso previsto: Validazione dei prodotti in associazione agli strumenti ELiTe InGenius (cod. INT030) ed ELiTe BeGenius (cod. INT040) con matrici di sangue intero raccolto in EDTA e di liquido amniotico. NOTA La composizione del prodotto rimane invariata Nuova grafica e impostazione del contenuto delle Istruzioni per l'uso (IFU).	30/01/26
16	Estensione dell'uso sullo strumento automatizzato e integrato ELiTe BeGenius e su matrice di liquido amniotico Aggiunta delle informazioni UDI.	03/06/24
15	Aggiornamento per l'uso del prodotto in associazione con lo strumento «ELiTe BeGenius®» (cod. INT040).	28/01/22
14	<i>Aggiornamento dei nomi AP da utilizzare in associazione con il sistema ELiTe InGenius®</i>	30/01/20
13	Estensione dell'uso con matrice di liquido amniotico in associazione allo strumento ELiTe InGenius®.	11/10/17
00-12	Sviluppo di nuovo prodotto e successive modifiche	-

NOTA

I lotti di prodotti identificati dai seguenti numeri di LOTTO continuano ad essere presenti sul mercato in conformità alla Direttiva IVDD fino alla rispettiva scadenza posticipata, ai sensi dell'articolo 110 del Regolamento IVDR. Se si è in possesso di tali lotti di prodotto, si prega di contattare il personale di ELiTechGroup per richiedere la versione precedente delle Istruzioni per l'uso (IFU) da seguire per questo prodotto.

<u>CODICE PRODOTTO</u>	<u>Numero di lotto</u>	<u>Data di scadenza</u>
RTS070PLD	U0624-073	30/04/26
RTS070PLD	U1124-016	30/06/26
RTS070PLD	U0625-043	30/06/27

Il prodotto Positive Control e i lotti di prodotto Standard attualmente immessi sul mercato ai sensi della Direttiva IVDD (identificati dai numeri di LOTTO indicati nelle istruzioni per l'uso del Positive Control e nelle istruzioni per l'uso del prodotto Standard) sono tecnicamente compatibili con la nuova versione del kit di amplificazione e possono essere utilizzati, fino a esaurimento, in associazione con la nuova versione dell'IVDR del kit di amplificazione e in conformità al suo uso previsto.

INDICE

1 USO PREVISTO	4
2 PRINCIPIO DEL SAGGIO.....	4
3 DESCRIZIONE DEL PRODOTTO	4
4 MATERIALI INCLUSI NEL PRODOTTO	5
5 MATERIALI RICHIESTI MA NON INCLUSI NEL PRODOTTO	5
6 ALTRI PRODOTTI RICHIESTI	6
7 AVVERTENZE E PRECAUZIONI	6
8 CAMPIONI E CONTROLLI	7
9 PROCEDURA ELITe InGenius.....	10
10 PROCEDURA ELITe BeGenius	17
11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI	22
12 BIBLIOGRAFIA	30
13 LIMITI DELLA PROCEDURA	30
14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI	32
15 LEGENDA DEI SIMBOLI	34
16 AVVISO PER L'UTILIZZATORE	35
17 AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA.....	35
Appendix A QUICK START GUIDE.....	36

1 USO PREVISTO

Il prodotto **Parvovirus B19 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 per la **rilevazione e la quantificazione del DNA del Parvovirus umano B19 (PVB19)**, estratto da campioni clinici.

Il saggio è stato validato in associazione con gli strumenti **ELiTe InGenius®** ed **ELiTe BeGenius®**, sistemi automatizzati e integrati per l'estrazione, la Real-Time PCR e l'interpretazione dei risultati, utilizzando campioni umani di sangue intero raccolto in EDTA e di liquido amniotico.

Questo prodotto è destinato all'uso come ausilio nella diagnosi e nel monitoraggio delle infezioni da Parvovirus B19 in pazienti con sospetta infezione o sotto monitoraggio per infezioni da Parvovirus B19.

I risultati devono essere interpretati in combinazione con tutte le osservazioni cliniche e i risultati di laboratorio pertinenti.

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.

2 PRINCIPIO DEL SAGGIO

Il saggio è un test di Real-Time PCR quantitativo per la rilevazione del DNA del Parvovirus isolato da campioni e amplificato utilizzando il reagente del saggio **PVB19 Q — PCR Mix**, che contiene i primer e le sonde con tecnologia ELiTe MGB®.

Le sonde ELiTe MGB vengono attivate quando ibridano con il prodotto specifico della PCR. **ELiTe InGenius** ed **ELiTe BeGenius** monitorano l'incremento di fluorescenza emessa e calcolano il ciclo soglia (Ct) e le temperature di melting (Tm). La quantità di DNA del **PVB19** è calcolata sulla base di una curva di calibrazione memorizzata.

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

NOTA

Un fattore di conversione (Fc) consente di esprimere i risultati dell'analisi quantitativa in Unità Internazionali (UI) di PVB19 del "3° Standard Internazionale dell'OMS per il Parvovirus B19 DNA mediante tecnica di amplificazione degli acidi nucleici (NAT)" (NIBSC, cod. 12/208, Regno Unito).

3 DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

Il **Parvovirus B19 ELiTe MGB Kit** fornisce il reagente del saggio **PVB19 Q — PCR Mix**, una miscela per PCR ottimizzata e stabilizzata che contiene primer e sonde specifici per:

- una regione del **gene VP1** di PVB19, rilevata nel canale **PVB19**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher® e marcata con il fluoroforo FAM.
- Internal Control (IC), specifico per la regione **promoter and 5' UTR** della **beta-globina umana**, rilevato nel canale **IC**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher® e marcata con il fluoroforo AquaPhluor® 525 (AP525).

Il componente **PVB19 Q — PCR Mix** contiene inoltre il buffer, il cloruro di magnesio, i nucleotidi trifosfati, il fluoroforo AP593, (usato invece del ROX o del Cy5) come riferimento passivo per la normalizzazione della fluorescenza, l'enzima Uracil-N-glicosidasi (UNG) per l'inattivazione delle contaminazioni da prodotto di amplificazione, e la DNA polimerasi ad attivazione termica ("hot start").

Il prodotto **Parvovirus B19 ELiTe MGB Kit** contiene reagenti sufficienti per 96 test (**24 sessioni per ogni provetta**) utilizzando 20 µL per reazione.

4 MATERIALI INCLUSI NEL PRODOTTO

Tabella 1

Componente	Descrizione	Quantità	Classificazione dei rischi
PVB19 Q - PCR Mix cod. RTS070PLD	Miscela di reagenti per Real-Time PCR in provetta con tappo neutro	4 x 540 µL	-

5 MATERIALI RICHIESTI MA NON INCLUSI NEL PRODOTTO

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

6 ALTRI PRODOTTI RICHIESTI

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

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

Strumenti e software	Prodotti e reagenti
ELiTe InGenius (ELiTechGroup S.p.A., EG SpA cod. INT030) ELiTe InGenius Software versione 1.3.0.19 (o successiva) PVB19 ELiTe _STD , Assay Protocol con parametri per l'analisi dei calibratori PVB19 ELiTe _PC , Assay Protocol con parametri per l'analisi del Positive Control PVB19 ELiTe _NC , Assay Protocol con parametri per l'analisi del Negative Control PVB19 ELiTe _WB_200_100 , Assay Protocol con parametri per l'analisi dei campioni di sangue intero PVB19 ELiTe _AF_200_100 , Assay Protocol con parametri per l'analisi dei campioni di liquido amniotico	Parvovirus B19 ELiTe Standard (EG SpA, cod. STD070PLD) Parvovirus B19 – ELiTe Positive Control (EG SpA, cod. CTR070PLD) CPE – Internal Control (EG SpA, cod. CTCPE) ELiTe InGenius SP200 (EG SpA, cod. INT032SP200) ELiTe InGenius ed ELiTe BeGenius Consumable Set (vedere le Istruzioni per l'uso di ELiTe InGenius ed ELiTe BeGenius).
ELiTe BeGenius (EG SpA cod. INT040) ELiTe BeGenius Software versione 2.3.0. (o successiva) PVB19 ELiTe _Be_STD , Assay Protocol con parametri per l'analisi dei calibratori PVB19 ELiTe _Be_PC , Assay Protocol con parametri per l'analisi del Positive Control PVB19 ELiTe _Be_NC , Assay Protocol con parametri per l'analisi del Negative Control PVB19 ELiTe _Be_WB_200_100 , Assay Protocol con parametri per l'analisi dei campioni di sangue intero PVB19 ELiTe _Be_AF_200_100 , Assay Protocol con parametri per l'analisi dei campioni di liquido amniotico	

7 AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Questo prodotto è riservato esclusivamente all'uso in vitro.

7.1 Avvertenze e precauzioni generali

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

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

- Indossare indumenti protettivi e guanti adatti a proteggersi gli occhi e il viso.
- Non pipettare mai le soluzioni con la bocca.
- Non mangiare, bere, fumare o applicare cosmetici nelle aree di lavoro.
- Lavarsi accuratamente le mani dopo avere maneggiato campioni e reagenti.
- Eliminare i reagenti avanzati e i rifiuti secondo le norme vigenti.

- Prima di eseguire il saggio, leggere attentamente tutte le istruzioni.
- Durante l'esecuzione del saggio attenersi alle istruzioni fornite con il prodotto.
- Non utilizzare il prodotto oltre la data di scadenza indicata.
- Utilizzare solo i reagenti in dotazione con il prodotto e quelli consigliati dal fabbricante.
- Non utilizzare reagenti provenienti da lotti diversi.
- Non utilizzare reagenti di altri fabbricanti.

7.2 Avvertenze e precauzioni per la biologia molecolare

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

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

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

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

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

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

7.3 Avvertenze e precauzioni specifiche per i componenti

Tabella 2

Componente	Temperatura di conservazione	Uso dopo la prima apertura	Cicli di congelamento/scongelamento	Stabilità sullo strumento (ELITE InGenius ed ELITE BeGenius)
PVB19 Q — PCR Mix	-20 °C o inferiore (al riparo dalla luce)	Un mese	Fino a cinque	Fino a cinque sessioni indipendenti* di tre ore ciascuna oppure fino a 7 ore consecutive (2 sessioni di 3 ore ciascuna e il tempo necessario per iniziare la terza sessione)

*con congelamento intermedio.

8 CAMPIONI E CONTROLLI

8.1 Campioni e protocolli di analisi

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

Tabella 3

Campione	Requisiti per la raccolta	Condizioni di trasporto/conservazione			
		16/26 °C (temperatura ambiente)	+2/+8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Sangue intero	EDTA	≤24 ore	≤3 giorni	≤30 giorni	≤30 giorni
Liquido amniotico	raccolto senza conservanti	≤4 ore	≤4 ore	≤30 giorni	≤30 giorni

EDTA, acido etilendiamminotetraacetico

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

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

Tabella 4 Assay Protocol per Parvovirus B19 ELiTe MGB Kit

Campione	Strumento	Nome Assay Protocol	Referto	Caratteristiche
Sangue intero	ELiTe InGenius	PVB19 ELiTe_WB_200_100	copie/mL o UI/mL	Volume di estrazione in ingresso: 200 µL Volume di eluizione: 100 µL Internal Control: 10 µL Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1 Volume PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 20 µL
	ELiTe BeGenius,	PVB19 ELiTe_Be_WB_200_100	copie/mL o UI/mL	Volume di estrazione in ingresso: 200 µL Volume di eluizione: 100 µL Internal Control: 10 µL Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1 Volume PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 20 µL
Liquido amniotico	ELiTe InGenius	PVB19 ELiTe_AF_200_100	copie/mL o UI/mL	Volume di estrazione in ingresso: 200 µL Volume di eluizione: 100 µL Internal Control: 10 µL Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1 Volume PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 20 µL
	ELiTe BeGenius,	PVB19 ELiTe_Be_AF_200_100	copie/mL o UI/mL	Volume di estrazione in ingresso: 200 µL Volume di eluizione: 100 µL Internal Control: 10 µL Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1 Volume PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 20 µL

UI: Unità Internazionali dell'OMS.

NOTA

Verificare se la provetta primaria e il volume del campione sono compatibili con ELITE InGenius o ELITE BeGenius, attenendosi alle istruzioni per l'uso del kit di estrazione **ELITeInGeniusSP200** (EG SpA, cod. INT032SP200).

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

Se richiesto, si devono trasferire 200 µL di campione in un Extraction Tube (per ELITE InGenius) oppure all'interno di una provetta Sarstedt da 2 mL (per ELITE BeGenius).

NOTA

Il trasferimento con pipette dei campioni nell'**Extraction Tube** o nella **provetta Sarstedt da 2 mL** potrebbe **generare contaminazione**. Utilizzare pipette appropriate e seguire tutte le raccomandazioni contenute nella sezione 7 AVVERTENZE E PRECAUZIONI pagina 6".

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 alla sezione **11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI** pagina 22.

8.2 Calibratori e controllo 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 **Parvovirus B19 ELITE Standard** (non fornito in questo kit) con gli Assay Protocol **PVB19 ELITE_STD** o **PVB19 ELITE_Be_STD**.

NOTA

La concentrazione dei quattro prodotti Q – PCR Standard è espressa in copie/reazione (10^5 copie/reaz., 10^4 copie/reaz., 10^3 copie/reaz., 10^2 copie/reaz.) Fare riferimento a "Incertezza della curva standard" nella sezione 11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI pagina 22

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

- Per il Positive Control, usare il prodotto **Parvovirus B19 - ELITE Positive Control** (non fornito in questo kit) con gli Assay Protocol **PVB19 ELITE_PC** o **PVB19 ELITE_Be_PC**,
- Per il Negative Control, usare acqua per biologia molecolare (non fornita in dotazione con questo kit) con gli Assay Protocol **PVB19 ELITE_NC** o **PVB19 ELITE_Be_NC**.

NOTA

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

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

I risultati dei controlli per PCR scadono dopo **15 giorni**; trascorso questo termine, è necessario rianalizzare i controlli positivo e negativo.

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

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

8.3 Controlli di qualità

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

9 PROCEDURA ELITE InGenius

La procedura per l'uso del prodotto **Parvovirus B19 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 Positive Control e del Negative Control (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

9.1 FASE 1 - Verifica che il sistema sia pronto

Prima di iniziare la sessione:

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

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

9.2 STEP 2 - Impostazione della sessione

Il prodotto **Parvovirus B19 ELITE MGB Kit** può essere utilizzato su **ELITE InGenius** per eseguire:

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

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

NOTA

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

Prima di impostare una sessione:

Scongelare le provette di **PCR Mix** necessarie a temperatura ambiente per 30 minuti. Ogni provetta contiene un volume sufficiente per **24 test**. Agitare delicatamente la provetta, centrifugarla per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenerla su ghiaccio o un 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	Identificare i campioni e, ne necessario, scongelare a temperatura ambiente, agitare delicatamente, centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere su ghiaccio o un blocco freddo. Se richiesto, trasferire 200 µL di campione in un Extraction tube precedentemente etichettato. Scongellare le provette contenenti CPE 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 un blocco freddo. Ogni provetta contiene un volume sufficiente per preparare 12 estrazioni.	Scongellare a temperatura ambiente la provetta di eluizione contenente gli acidi nucleici estratti. Agitare delicatamente la provetta, centrifugarla per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenerla su ghiaccio o un blocco freddo.
2	Nella schermata “Home”, selezionare “Perform Run” .	Nella schermata “Home”, selezionare “Perform Run” .
3	Verificare che “Extraction Input Volume” sia 200 µL e che “Extracted Elute Volume” sia 100 µL.	Verificare che “Extraction Input Volume” sia 200 µL e che “Extracted Elute Volume” sia 100 µL.
4	Per ogni campione, assegnare un “Track” e compilare il “SampleID” (SID) digitando o scansionando il codice a barre.	Per ogni campione, assegnare un “Track” e compilare il “SampleID” (SID) digitando o scansionando il codice a barre.
5	Nella colonna “Assay” selezionare l’Assay Protocol da utilizzare (vedere “Campioni e controlli”).	Nella colonna “Assay” selezionare l’ Assay Protocol da utilizzare (vedere “Campioni e controlli”).
6	Verificare che il protocollo visualizzato sia: “Extract + PCR”.	Nella colonna “Protocol” (protocollo) selezionare “PCR Only”.
7	Nella colonna “Sample Position” selezionare “Primary tube” o “Extraction tube” come posizione da cui caricare il campione. Verificare che “ Dilution factor ” sia “1”.	Verificare che la posizione da cui caricare il campione riportata nella colonna “Sample Position” sia “Elution Tube (bottom row)”. Verificare che “ Dilution factor ” sia “1”.
8	Fare clic su “Next” per proseguire.	Fare clic su “Next” per proseguire.
9	Caricare il CPE e la PCR Mix nell’“Inventory Block” (area reagenti) facendo riferimento alla “Load List” e inserire il numero di lotto di CPE e PCR Mix, la data di scadenza e il numero di reazione per ogni provetta.	Caricare la PCR Mix nell’“Inventory Block” facendo riferimento alla “Load List” e inserire il numero di lotto della PCR Mix, la data di scadenza e il numero di reazione per ogni provetta.
10	Fare clic su “Next” per proseguire.	Fare clic su “Next” per proseguire.
11	Controllare i puntali negli appositi “Tip 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.

	A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)	B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)
12	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
13	Caricare la PCR Cassette, le cartucce per estrazione ELITE InGenius SP 200 e tutti i materiali di consumo richiesti e i campioni da estrarre.	Caricare la PCR Cassette e le provette di eluizione con i campioni estratti.
14	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
15	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.
16	Premere "Start".	Premere "Start".

	C. Corsa di Calibrazione (PCR Only)	D. Corsa del Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR Only)
1	Scongelare le provette di Q-PCR Standard necessarie (Cal1: Q-PCR Standard 10 ² , Cal2: Q-PCR Standard 10 ³ , Cal3: Q-PCR Standard 10 ⁴ , Cal4: Q-PCR Standard 10 ⁵) a temperatura ambiente per 30 minuti. Agitare delicatamente la provetta, centrifugarla per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenerla su ghiaccio o un blocco freddo.	Scongelare le provette di controllo positivo a temperatura ambiente per 30 minuti. Agitare delicatamente la provetta, centrifugarla per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenerla su ghiaccio o un blocco freddo. Preparare il controllo negativo trasferendo almeno 50 µL di acqua per biologia molecolare in una provetta di eluizione, fornita in dotazione con l'ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.
2	Nella schermata "Home", selezionare "Perform Run".	Nella schermata "Home", selezionare "Perform Run".
3	Verificare che "Extraction Input Volume" sia 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia 100 µL.	Verificare che "Extraction Input Volume" sia 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia 100 µL.
4	Per il Q-PCR Standard, assegnare il "Track", selezionare l'Assay Protocol (vedere "Campioni e controlli") nella colonna "Assay" e inserire il numero di lotto reagente e la data di scadenza.	Nella colonna "Assay" selezionare l'Assay Protocol da utilizzare (vedere "Campioni e controlli"). Inserire il numero di lotto e la data di scadenza del controllo positivo e dell'acqua per biologia molecolare.
5	Verificare che nella colonna "Protocol" (Protocollo) sia selezionato "PCR Only".	Verificare che nella colonna "Protocol" (Protocollo) sia selezionato "PCR Only".
6	Verificare che la posizione da cui caricare il campione riportata nella colonna "Sample Position" sia "Elution Tube (bottom row)".	Verificare che la posizione da cui caricare il campione riportata nella colonna "Sample Position" sia "Elution Tube (bottom row)".
7	Caricare la PCR Mix nell'"Inventory Block" facendo riferimento alla "Load List" e inserire il numero di lotto della PCR Mix, la data di scadenza e il numero di reazione per ogni provetta.	Caricare la PCR Mix nell'"Inventory Block" facendo riferimento alla "Load List" e inserire il numero di lotto della PCR Mix, la data di scadenza e il numero di reazione per ogni provetta.
8	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
9	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'"Inventory Area" e sostituire i rack se necessario.	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'"Inventory Area" e sostituire i rack se necessario.
10	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
11	Caricare la PCR Cassette e le provette di Q-PCR Standard.	Caricare la PCR Cassette, il Positive Control e il Negative Control.
12	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
13	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.
14	Premere "Start".	Premere "Start".

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

NOTA

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

NOTA

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

NOTA

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

NOTA

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

NOTA

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

NOTA

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

NOTA

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

9.3 FASE 3 - Esame e approvazione dei risultati

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

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

NOTA

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

Lo strumento **ELiTe InGenius** utilizza il prodotto **Parvovirus B19 ELiTe MGB Kit** per generare risultati tramite la seguente procedura:

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

9.3.1 Validazione della curva di calibrazione

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

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

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

NOTA

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

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

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

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

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

L'apposito programma dotato di **ELiTe InGenius software** elabora i risultati del Positive Control e del Negative Control e genera i grafici dei controlli. L'approvazione del Positive Control si basa sulla valutazione della quantità logaritmica ottenuta che dovrebbe rientrare nell'intervallo di quantità logaritmica previsto (Grafico PC). Questo assicura che le prestazioni del sistema rientrino nei criteri di accettazione. Il secondo grafico (Grafico L-J) è dedicato esclusivamente al monitoraggio dell'andamento del Positive Control nel tempo. Consultare il manuale di istruzioni dello strumento per maggiori dettagli.

NOTA

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

NOTA

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

9.3.3 Validazione dei risultati dei campioni

Il programma con **ELiTe InGenius software** interpreta i risultati della PCR per il target (Canale **PVB19**) e per l'Internal Control (Canale **IC**) con i parametri degli Assay Protocol **PVB19 ELiTe_WB_200_100** e **PVB19 ELiTe_AF_200_100**. I valori Ct risultanti vengono convertiti in concentrazione.

I risultati sono mostrati sulla schermata "Results Display".

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

1) Curva di calibrazione	Stato
PVB19 Q-PCR Standard	APPROVED (APPROVATO)
2) Controllo positivo	Stato
PVB19 Positive Control	APPROVED (APPROVATO)
3) Controllo negativo	Stato
PVB19 Negative Control	APPROVED (APPROVATO)

I risultati del campione vengono interpretati automaticamente da **ELite InGenius software** utilizzando i parametri degli Assay Protocols.

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

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

Risultato di una sessione sul campione	Interpretazione
PVB19:DNA Detected, quantity equal to XXX copies / mL or IU / mL (PVB19:DNA rilevato, quantità pari a XXX copie/mL o UI/mL)	Il DNA dell'PVB19 è stato rilevato nel campione entro l'intervallo di misurazione del saggio, alla concentrazione indicata.
PVB19:DNA Detected, quantity below LLoQ copies / mL or IU / mL (PVB19:DNA rilevato, quantità inferiore LLoQ copie/mL o UI/mL)	Il DNA di PV B19 è stato rilevato nel campione, la sua concentrazione è al di sotto del limite inferiore di quantificazione (LLoQ) del saggio.
PVB19:DNA Detected, quantity beyond ULoQ copies / mL or IU / mL (PVB19:DNA rilevato, quantità oltre ULoQ copie/mL o UI/mL)	Il DNA di PVB 19 è stato rilevato nel campione, la sua concentrazione è oltre il limite superiore di quantificazione (ULoQ) del saggio.
PVB19:DNA Not detected or below LoD copies / mL or IU / mL (PVB19:DNA non rilevato o inferiore LoD copie/mL o UI/mL)	L'PVB19 DNA non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per l'RNA target oppure la sua concentrazione è inferiore al limite di rilevabilità (LoD) del saggio.
Invalid-Retest Sample (Non valido - Ripeti test su campione)	Risultato del saggio non valido per un errore dell'Internal Control (dovuto per esempio a errata estrazione o effetto carryover degli inibitori). Il test deve essere ripetuto.

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

Se ne rimane un volume sufficiente, l'eluato può essere rianalizzato (tal quale oppure diluito) mediante una sessione di amplificazione in modalità "PCR Only". In caso di un secondo risultato non valido, il campione deve essere nuovamente analizzato partendo dall'estrazione di un nuovo campione in modalità "Extract + PCR" (vedere [14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI pagina 32](#))

I campioni con risultato "PVB19:DNA Not Detected or below "LoD" copies/mL" (PVB19:DNA non rilevato o inferiore "LoD" copie/mL) sono idonei per l'analisi, ma non è stato possibile rilevare il PVB19. In questo caso, il campione può essere negativo per l'DNA di PVB19 oppure il DNA di PVB19 è presente in una concentrazione inferiore al limite di rilevabilità del saggio (vedere [11 "Caratteristiche delle prestazioni" pagina 22](#)).

I campioni positivi per il DNA di PVB19 a una concentrazione inferiore al limite di rilevabilità (e al limite di quantificazione inferiore) del saggio, se rilevati, vengono identificati nel report come "PVB19:DNA Detected, quantity below "LLoQ" copies/mL" (PVB19:DNA rilevato, quantità inferiore "LLoQ" copie/mL) (vedere [11 "Caratteristiche delle prestazioni" pagina 22](#)).

I campioni positivi al DNA di PVB19 che rientrano nell'intervallo di misurazione lineare vengono rilevati e riportati come "PVB19:DNA Detected, quantity equal to "XXX" copies/mL (PVB19:DNA rilevato, quantità pari a "XXX" copie/mL) (vedere [11 "Caratteristiche delle prestazioni" pagina 22](#))

I campioni positivi al DNA dell'PVB19 che superano il limite superiore di quantificazione vengono riportati come "PVB19:DNA Detected, quantity beyond "ULoQ" copies/mL" (PVB19:DNA rilevato, quantità oltre "ULoQ" copie/mL) e non sono idonei per la quantificazione. Se necessario, il campione può essere diluito prima dell'estrazione o della PCR e nuovamente analizzato per ottenere risultati all'interno dell'intervallo di misurazione lineare del saggio (vedere [11 "Caratteristiche delle prestazioni" pagina 22](#)).

NOTA

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

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

9.3.4 Refertazione dei risultati dei campioni

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

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

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

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

10 PROCEDURA ELITE BeGenius

La procedura per l'uso del prodotto **Parvovirus B19 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 Positive Control e del Negative Control
		C) Validazione dei risultati del campione
		D) Refertazione dei risultati del campione

10.1 FASE 1 - Verifica che il sistema sia pronto

Prima di iniziare la sessione:

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

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

10.2 STEP 2 - Impostazione della sessione

Il prodotto **Parvovirus B19 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. Sessione di calibrazione (PCR Only)
 D. Corsa del Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR only)

Tutti i parametri necessari per la sessione sono inclusi 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 **PCR Mix** necessarie a temperatura ambiente per 30 minuti. Ogni provetta contiene un volume sufficiente per **24 test**. Agitare delicatamente la provetta, centrifugarla per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenerla su ghiaccio o un 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	Identificare i campioni e, se necessario, scongelare a temperatura ambiente, agitare delicatamente, centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere su ghiaccio o un blocco freddo. Se richiesto, trasferire 200 µL di campione in una provetta Sarstedt da 2 mL precedentemente etichettata. Scongelare le provette contenenti CPE 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 un blocco freddo. Ogni provetta contiene un volume sufficiente per preparare 12 estrazioni.	Scongelare a temperatura ambiente la provetta di eluizione contenente gli acidi nucleici estratti. Agitare delicatamente la provetta, centrifugarla per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenerla su ghiaccio o un blocco freddo.
2	Nella schermata "Home", selezionare " Perform Run ".	Nella schermata "Home", selezionare " Perform Run ".
3	Rimuovere tutti i Rack dalla "Cooler Unit" e posizzionarli sul tavolo di preparazione.	Rimuovere i "Rack" dalle "Lane 1, 2 e 3" (L1, L2, L3) della "Cooler Unit" e posizzionarli sul tavolo di preparazione.
4	Selezionare il "run mode": "Extract + PCR".	Selezionare il "run mode": "PCR Only".
5	Caricare i campioni nel "Sample Rack". (Nota: quando si caricano provette secondarie "2 mL Tubes", utilizzare gli adattatori blu per il "Sample Rack").	Caricare i campioni nell'"Elution Rack".
6	Inserire il " Sample Rack " nella "Cooler Unit" a partire dalla "Lane 5" (L5). Se necessario, inserire il "Sample ID" (SID) per ogni "Position" utilizzata. (Se si caricano provette secondarie, contrassegnare con "2 mL Tube". Se le provette secondarie non hanno codice a barre, digitare manualmente il "Sample ID").	Inserire l'"Elution Rack" nella "Cooler Unit" a partire dalla "Lane 3" (L3). Se necessario, per ogni "Position" inserire il "Sample ID", la "Sample matrix", l'"Extraction kit" e l'"Extracted eluate vol." (volume eluato).
7	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
8	Verificare che "Extraction Input Volume" sia 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia 100 µL.	Non applicabile

	A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)	B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)
9	Nella colonna "Assay" selezionare l'Assay Protocol da utilizzare (vedere "Campioni e controlli").	Nella colonna "Assay" selezionare l'Assay Protocol da utilizzare (vedere "Campioni e controlli").
10	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
11	Quando si processano più di 12 campioni, ripetere la procedura dal punto 6.	Quando si processano più di 12 campioni, ripetere la procedura dal punto 6.
12	Caricare le "Elution tubes" nell'"Elution Rack" (le provette di eluizione possono essere etichettate con il codice a barre per migliorarne la tracciabilità).	Non applicabile
13	Inserire l'"Elution Rack" nella "Cooler Unit" a partire dalla "Lane 3" (L3). Quando si processano più di 12 campioni, ripetere la procedura utilizzando la "Lane 2" (L2).	Non applicabile
14	Fare clic su "Next" per proseguire.	Non applicabile
15	Caricare il CPE e la PCR Mix nel "Reagent/Elution Rack".	Caricare la PCR Mix nel "Reagent/Elution Rack".
16	Inserire il "Reagent/Elution Rack" nella "Cooler Unit" nella "Lane 2" (L2) se disponibile o nella "Lane 1" (L1). Se necessario, per ogni PCR Mix e/o CPE, inserire "S/N" (numero di serie), "Lot No." (numero di lotto), "Exp. Date" (data di scadenza) e "T/R" (numero di reazioni).	Inserire il "Reagent/Elution Rack" nella "Cooler Unit" nella "Lane 2" (L2) se disponibile o nella "Lane 1" (L1). Se necessario, per ogni PCR Mix, inserire "S/N" (numero di serie), "Lot No." (numero di lotto), "Exp. Date" (data di scadenza) e "T/R" (numero di reazioni).
17	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
18	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.
19	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
20	Caricare il "PCR Rack" con la "PCR Cassette" nell'"Inventory Area".	Caricare il "PCR Rack" con la "PCR Cassette" nell'"Inventory Area".
21	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
22	Caricare l'"Extraction Rack" con le cartucce di estrazione "ELITE InGenius SP 200" e i materiali di consumo per l'estrazione richiesti.	Non applicabile
23	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.
24	Premere "Start".	Premere "Start".

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

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

NOTA

Alla fine della sessione, rimuovere dallo strumento il campione estratto residuo presente nella **provetta di eluizione**, tapparlo, identificarlo e conservarlo a -20 ± 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); mescolare delicatamente le provette e centrifugarle per 5 secondi prima di iniziare una nuova sessione.

NOTA

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

NOTA

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

NOTA

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

NOTA

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

NOTA

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

10.3 FASE 3 - Esame ed approvazione dei risultati

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

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

NOTA

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

ELiTe BeGenius utilizza il prodotto **Parvovirus B19 ELiTe MGB Kit** per generare i risultati tramite la seguente procedura:

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

NOTA

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

11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

11.1 Sensibilità analitica: Limite di rilevabilità (LoD)

Il limite di rilevabilità (LoD) dell'amplificazione del DNA consente di rilevare la presenza di circa 10 copie in 20 µL di DNA aggiunti alla reazione di amplificazione.

Sangue intero raccolto in EDTA

Il valore teorico del LoD è stato verificato mediante analisi con ELITE InGenius ed ELITE BeGenius su un pool di campioni di sangue intero raccolto in EDTA e inoculato con materiale di riferimento del Parvovirus B19 (3° Standard Internazionale dell'OMS, NIBSC) alla concentrazione dichiarata (125 UI/mL).

I risultati sono illustrati nelle tabelle seguenti.

Tabella 5 Limite di rilevabilità con ELITE InGenius ed ELITE BeGenius su sangue intero

Limite di rilevabilità per campioni di sangue intero con ELITE InGenius ed ELITE BeGenius	
Campione	LoD
Sangue intero raccolto in EDTA	125 UI/mL
	250 copie/mL

I risultati ottenuti hanno confermato la concentrazione dichiarata per il target del prodotto Parvovirus B19 ELITE MGB Kit sia su ELITE InGenius che su ELITE BeGenius. Il valore LoD per il target PVB19 in associazione con campioni di sangue intero è stato confermato al valore di 125 UI/mL, corrispondente a 250 copie/mL. Il valore in copie/mL è stato calcolato applicando il fattore di conversione specifico (0,5 UI/copia) riportato nel paragrafo ["11.10 Fattore di conversione alle Unità Internazionali pagina 28"](#).

Liquido amniotico

Il LoD del test utilizzato in associazione con liquido amniotico è stato determinato sullo strumento ELITE InGenius analizzando un pannello di campioni di liquido amniotico negativi al Parvovirus B19 (PVB19) inoculati con materiale di riferimento del PVB19 (3° Standard Internazionale dell'OMS, 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.

Tabella 6 Limite di rilevabilità con ELITE InGenius ed ELITE BeGenius su liquido amniotico

Limite di rilevabilità per campioni di liquido amniotico ed ELITE InGenius			
Target	LoD	Intervallo di Confidenza (IC) al 95%	
		Limite inferiore	Limite superiore
PVB19	40 UI/mL	24 UI/mL	51 UI/mL
	40 copie/mL	24 copie/mL	51 copie/mL

Il LoD inteso come copie/mL per campioni di liquido amniotico è stato calcolato applicando il fattore di conversione specifico (1 UI/copia) specificato nel paragrafo ["11.10 Fattore di conversione alle Unità Internazionali pagina 28"](#).

Il valore del LoD è stato verificato mediante analisi con ELite InGenius ed ELite BeGenius su un pool di campioni di liquido amniotico inoculati con materiale di riferimento certificato del PVB19 (3° Standard Internazionale dell'OMS, NIBSC) alla concentrazione dichiarata.

11.2 Intervallo di misurazione lineare e limiti di quantificazione

L'intervallo di misurazione lineare del saggio è stato determinato in associazione con campioni di sangue intero in EDTA e liquido amniotico su **ELite InGenius** ed **ELite BeGenius** utilizzando un pannello di materiali di riferimento PVB19 (virus inattivato del ceppo NATtrol™ Human Parvovirus B19, ZeptoMetrix) in associazione con sangue intero in EDTA; e (ceppo di Parvovirus umano: B19 Concentrato 1mL, ZeptoMetrix) in associazione con liquido amniotico, in matrici negative al DNA del PVB19.

I risultati per ciascuna matrice sono riportati nei paragrafi seguenti.

Sangue intero raccolto in EDTA

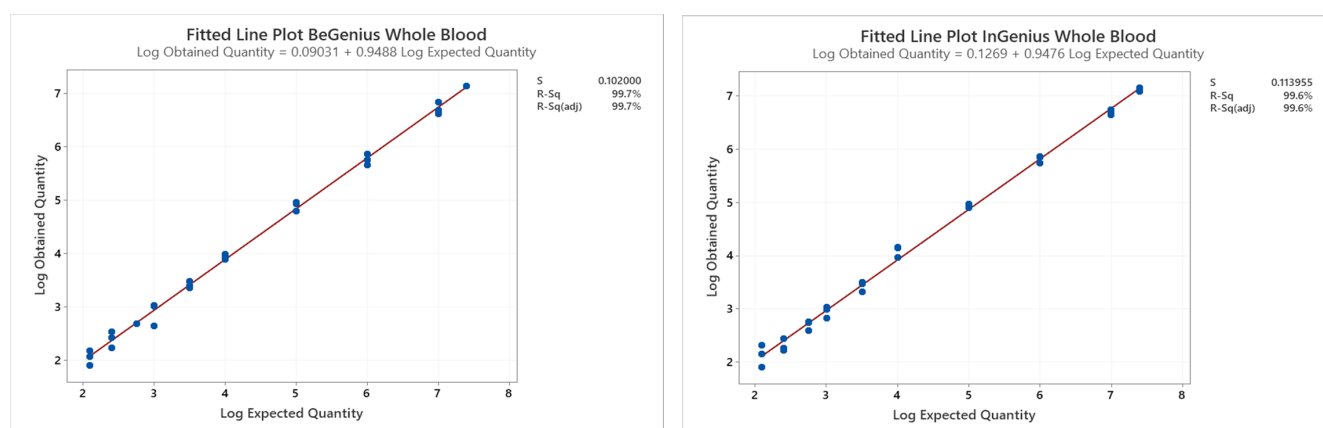


Fig. 1

L'intervallo di misurazione lineare inteso come copie/mL per campioni di sangue intero raccolto in EDTA è stato calcolato applicando il fattore di conversione specifico indicato in [11.10 Fattore di conversione alle Unità Internazionali pagina 28](#)

I risultati finali sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 7 Intervallo di misurazione lineare per campioni di sangue intero con ELite InGenius ed ELite BeGenius

Unità di misura	Limite inferiore	Limite superiore
UI/mL	125	25.000.000
copie/mL	250	50.000.000

Liquido amniotico

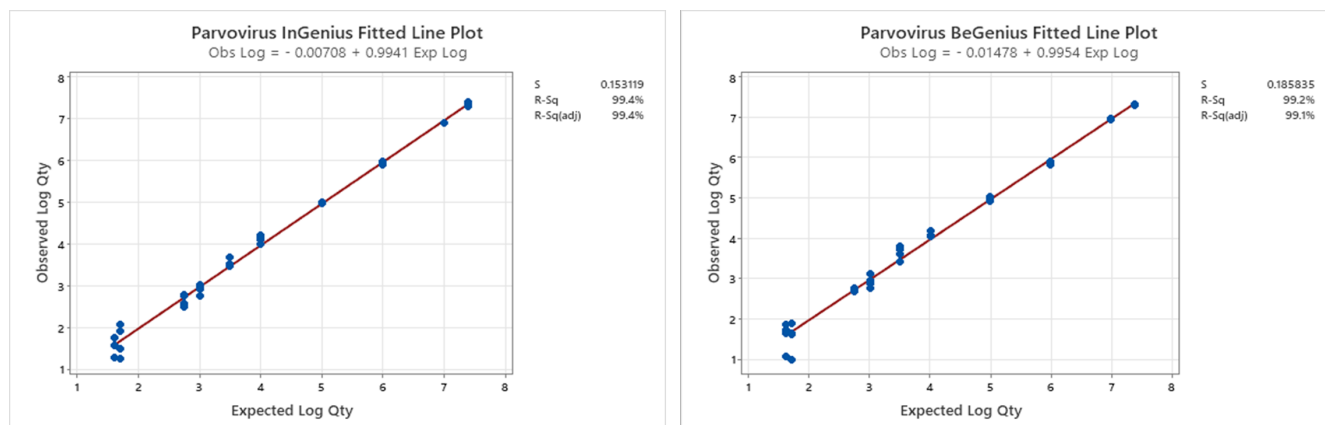


Fig. 2

L'intervallo di misurazione lineare inteso come copie/mL per campioni di liquido amniotico è stato calcolato applicando il fattore di conversione specifico indicato in [11.10 Fattore di conversione alle Unità Internazionali pagina 28](#).

I risultati finali sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 8 Intervallo di misurazione lineare per campioni di liquido amniotico su ELITE InGenius ed ELITE BeGenius

Unità di misura	Limite inferiore	Limite superiore
UI/mL	40	25.000.000
copie/mL	40	25.000.000

11.3 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 0,2535 Log copie/reazione.

Tabella 9 Incertezza della curva dello standard

Livelli della curva standard	Teorico	Misurata	SD	Incertezza combinata estesa
	Log copie/reaz.	Log copie/reaz.		
PVB19Q - PCR Standard 10^5	5,0000	4,9961	0,0539	0,2535
PVB19Q - PCR Standard 10^4	4,0000	4,0176	0,0783	
PVB19 Q - PCR Standard 10^3	3,0000	2,9765	0,0548	
PVB19Q - PCR Standard 10^2	2,0000	2,0098	0,0635	

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

L'inclusività del saggio, come efficienza della rilevazione per differenti ceppi di PVB19, è stata valutata mediante analisi *in silico* delle sequenze disponibili nei database dei nucleotidi. 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.

11.5 Microrganismi potenzialmente interferenti Cross-reattività

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

11.6 Microrganismi potenzialmente interferenti Inibizione

La potenziale inibizione da parte di organismi indesiderati che possono essere presenti nei campioni clinici è stata valutata mediante analisi *in silico*. L'analisi non ha evidenziato omologie significative con altri organismi diversi da quello di interesse (virus, procarioti, invertebrati, funghi, fagi e umani). Pertanto, non si prevede nessuna inibizione.

11.7 Sostanze potenzialmente interferenti: Inibizione

La potenziale inibizione di sostanze interferenti (endogene ed esogene) che potrebbero essere presenti nei campioni clinici è stata valutata per il saggio mediante l'analisi di un pannello di sostanze a concentrazioni rilevanti in campioni positivi per l'PVB19.

I risultati per ciascuna matrice sono riportati nelle tabelle seguenti.

Tabella 10 Sangue intero in EDTA

Campione	PVB19 Pos. / Rep	Esito
Etanolo	5/5	Nessuna inibizione
Azitromicina	5/5	Nessuna inibizione
Ampicillina	5/5	Nessuna inibizione
Vancomicina	5/5	Nessuna inibizione
Ganciclovir	5/5	Nessuna inibizione
Aciclovir	5/5	Nessuna inibizione
Fluconazolo	5/5	Nessuna inibizione
Ciclosporina A	5/5	Nessuna inibizione
EDTA	5/5	Nessuna inibizione
Eparina	5/5	Nessuna inibizione

Le sostanze analizzate non interferiscono con l'amplificazione del PVB19 o dell'Internal Control utilizzando il prodotto Parvovirus B19 ELITE MGB Kit su campioni di sangue intero in EDTA.

Tabella 11 Liquido amniotico

Campione	PVB19 Pos. / Rep	Esito
Azitromicina	5/5	Nessuna inibizione
Aciclovir	5/5	Nessuna inibizione
Human WB	5/5	Nessuna inibizione

Le sostanze analizzate non interferiscono con l'amplificazione del PVB19 o dell'Internal Control utilizzando il prodotto Parvovirus B19 ELITE MGB Kit su campioni di liquido amniotico.

11.8 Ripetibilità

La ripetibilità intra-sessione e inter-sessione del dosaggio è stata valutata sugli strumenti ELITE InGenius ed ELITE BeGenius analizzando un pannello di campioni di sangue intero raccolto in EDTA, incluso un campione negativo e due campioni positivizzati con materiale di riferimento certificato per PVB19 (3° Standard Internazionale dell'OMS, NIBSC).

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

Tabella 12 Ripetibilità intra-sessione su ELITE InGenius

Campione	PVB19				
	N.	Media Ct	SD	% CV	% Concordezza
Negativo	8	N.A.	N.A.	N.A.	100%
3 x LoD	8	35,81	0,52	1,46	100%
10 x LoD	8	34,31	0,28	0,83	100%

Tabella 13 Ripetibilità intra-sessione su ELITE BeGenius

Campione	PVB19				
	N.	Media Ct	SD	% CV	% Concordezza
Negativo	8	N.A.	N.A.	N.A.	100%
3 x LoD	8	36,53	0,53	1,46	100%
10 x LoD	8	34,79	0,21	0,61	100%

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

Tabella 14 Ripetibilità inter-sessione su ELITE InGenius

Campione	PVB19				
	N.	Media Ct	SD	% CV	% Concordezza
Negativo	16	N.A.	N.A.	N.A.	100%
3 x LoD	16	35,87	0,44	1,23	100%
10 x LoD	16	34,19	0,28	0,83	100%

Tabella 15 Ripetibilità inter-sessione su ELITE BeGenius

Campione	PVB19				
	N.	Media Ct	SD	% CV	% Concordezza
Negativo	16	N.A.	N.A.	N.A.	100%
3 x LoD	16	36,40	0,45	1,23	100%
10 x LoD	16	34,68	0,27	0,79	100%

Nel test di ripetibilità, Parvovirus B19 ELITE MGB Kit ha rilevato il target e ha mostrato una variabilità massima dei valori di Ct del target espressa come %CV inferiore a 5%.

11.9 Riproducibilità

La riproducibilità inter-strumento e inter-lotto del dosaggio è stata valutata sugli strumenti ELITE InGenius ed ELITE BeGenius analizzando un pannello di campioni di sangue intero raccolto in EDTA, incluso un campione negativo e due campioni positivizzati con materiale di riferimento certificato per PVB19 (3° Standard Internazionale dell'OMS, NIBSC).

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

Tabella 16 Riproducibilità inter-strumento su ELITE InGenius

Campione	PVB19				
	N.	Media Ct	SD	% CV	% Concordanza
Negativo	8	N.A.	N.A.	N.A.	100%
3 x LoD	8	36,89	0,62	1,68	100%
10 x LoD	8	34,85	0,26	0,74	100%

Tabella 17 Riproducibilità inter-strumento su ELITE BeGenius

Campione	PVB19				
	N.	Media Ct	SD	% CV	% Concordanza
Negativo	8	N.A.	N.A.	N.A.	100%
3 x LoD	8	37,00	0,37	1,00	100%
10 x LoD	8	35,14	0,51	1,46	100%

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

Tabella 18 Riproducibilità inter-lotto su ELITE InGenius

Campione	PVB19				
	N.	Media Ct	SD	% CV	% Concordanza
Negativo	8	N.A.	N.A.	N.A.	100%
3 x LoD	8	36,80	0,67	1,82	100%
10 x LoD	8	35,18	0,71	2,02	100%

Tabella 19 Riproducibilità inter-lotto su ELITE BeGenius

Campione	PVB19				
	N.	Media Ct	SD	% CV	% Concordanza
Negativo	8	N.A.	N.A.	N.A.	100%
3 x LoD	8	37,41	0,27	0,72	100%
10 x LoD	8	35,31	0,32	0,90	100%

Nel test di riproducibilità inter-strumento e inter-lotto, il prodotto Parvovirus B19 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 inferiore al 5%.

11.10 Fattore di conversione alle Unità Internazionali

Il fattore di conversione (Fc) per riportare i risultati quantitativi in unità internazionali/mL a partire da copie/mL è stato calcolato su ELiTe InGenius utilizzando il materiale di riferimento calibrato certificato di PVB19 (NIBSC).

Sangue intero raccolto in EDTA

Il fattore di conversione è stato determinato pari a 0,5 UI/copia su ELiTe InGenius utilizzando un pannello di diluizioni di materiale di riferimento PVB19 (2° Standard Internazionale dell'OMS, NIBSC) in campioni di sangue intero in EDTA negativi.

Le tabelle sottostanti riportano una sintesi dei risultati.

Tabella 20 Calcolo del fattore di conversione alle Unità Internazionali (UI) con ELiTe InGenius

Campione			Risultato			Differenza log (cod. - test)
UI/mL	Log UI/mL	N	Media copie/mL	Media UI/mL	Media log UI/mL	
100.000	5,0000	10	214.661	107.331	5,0210	-0,0210
10.000	4,0000	10	21.433	10.716	4,0080	-0,0080
1.000	3,0000	10	2.136	1.068	2,9850	+0,0150

Il valore del fattore di conversione è stato verificato su **ELiTe InGenius** ed **ELiTe BeGenius** utilizzando il materiale di riferimento calibrato certificato (3° Standard Internazionale dell'OMS, NIBSC), verificato da 5,0000 Log UI/mL a 2,0970 Log UI/mL. I risultati ottenuti sono stati analizzati tramite regressione ortogonale e lineare allo scopo di calcolare la loro correlazione.

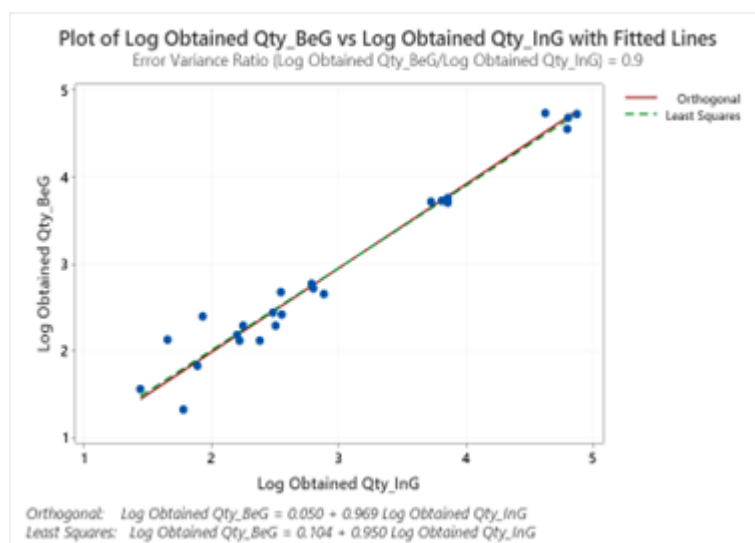


Fig. 3

L'analisi di regressione ortogonale ha generato un'intercetta pari a 0,050 (95% IC: - 0,197; 0,296) e una pendenza pari a 0,969 (IC al 95%: 0,889; 1,048). L'analisi di regressione lineare ha generato un R2 di 0,963.

Liquido amniotico

Il fattore di conversione è stato determinato pari a 1 UI/copia su ELiTe InGenius utilizzando un pannello di diluizioni di materiale di riferimento del PVB19 (3° Standard Internazionale dell'OMS, NIBSC) in campioni di liquido amniotico negativi.

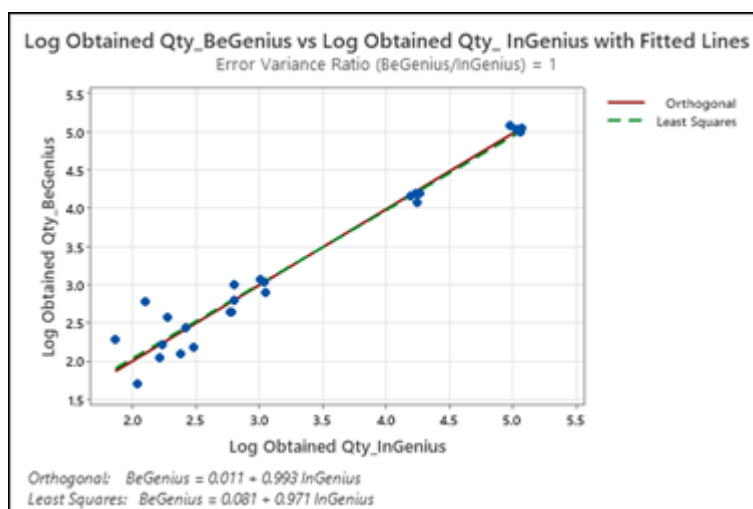
Le tabelle sottostanti riportano una sintesi dei risultati.

Tabella 21 Calcolo del fattore di conversione alle Unità Internazionali (UI) con ELITE InGenius

Campione			Risultato			Differenza log (cod. - test)
UI/mL	Log UI/mL	N	Media copie/mL	Media UI/mL	Media log UI/mL	
316.228	5,5000	16	273.604	273.604	5,4360	0,0640
100.000	5,0000	16	88.997	88.997	4,9470	0,0530
31.623	4,5000	16	34.559	34.559	4,5340	-0,0340
10.000	4,0000	16	11.089	11.089	4,0390	-0,0390
3.162	3,5000	15*	3.704	3.704	3,5580	-0,0580
1.000	3,0000	16	932	932	2,9520	0,0480

*Un campione è risultato anomalo ed è stato escluso dall'analisi.

Il valore del fattore di conversione è stato verificato su **ELITE InGenius** ed **ELITE BeGenius** utilizzando il materiale di riferimento calibrato certificato (3° Standard Internazionale dell'OMS, NIBSC), verificato da 5,0000 Log UI/mL a 2,0970 Log UI/mL. I risultati ottenuti sono stati analizzati tramite regressione ortogonale e lineare allo scopo di calcolare la loro correlazione.

**Fig. 4**

L'analisi di regressione ortogonale ha generato un'intercetta pari a 0,0112 (IC al 95%: 0,2879; 0,3103) e una pendenza pari a 0,9928 (IC al 95%: 0,9046, 1,0810). L'analisi di regressione lineare ha generato un R2 pari a 0,957.

I risultati per ciascuna matrice sono riassunti nelle tabelle seguenti.

Tabella 22 Fattore di conversione in Unità Internazionali con ELITE InGenius ed ELITE BeGenius

Matrice	2,4 UI/copie
Sangue intero	0,5
Liquido amniotico	1,0

11.11 Specificità diagnostica: conferma di campioni negativi

La specificità diagnostica del saggio, come conferma di campioni negativi, è stata valutata in associazione con lo strumento ELiTe InGenius analizzando campioni clinici di sangue intero raccolto in EDTA e di liquido amniotico, certificati negativi o presumibilmente negativi per il target. Poiché ELiTe BeGenius ha prestazioni analitiche equivalenti a ELiTe InGenius, anche le prestazioni diagnostiche del saggio eseguito sui due strumenti sono considerate equivalenti. Pertanto, la specificità diagnostica del saggio ottenuta in associazione con ELiTe InGenius è applicabile anche a ELiTe BeGenius.

I risultati sono riepilogati nella tabella seguente.

Tabella 23 Specificità diagnostica

Campioni	N	Positivi	Negativo	Specificità diagnostica in %
Sangue intero raccolto in EDTA e negativo per il DNA di PVB19	53	0	53	100
Liquido amniotico negativo per il DNA di PVB19	70	0	70	100

Il valore di cut-off del Ct IC è fissato a 35 per i campioni di sangue intero raccolto in EDTA e di liquido amniotico quando analizzati con ELiTe InGenius ed ELiTe BeGenius.

11.12 Sensibilità diagnostica: conferma di campioni positivi

La sensibilità diagnostica del saggio, come conferma dei campioni clinici positivi, è stata valutata in associazione con ELiTe InGenius analizzando campioni clinici di sangue intero raccolto in EDTA e di liquido amniotico, certificati positivi per il target o positivizzati con materiale di riferimento. Poiché ELiTe BeGenius ha prestazioni analitiche equivalenti a ELiTe InGenius, anche le prestazioni diagnostiche del saggio eseguito sui due strumenti sono considerate equivalenti. Pertanto, la sensibilità diagnostica del saggio ottenuta in associazione con ELiTe InGenius è applicabile anche a ELiTe BeGenius.

I risultati sono riepilogati nella tabella seguente.

Tabella 24 Sensibilità diagnostica

Campioni	N	Positivi	Negativi	Sensibilità diagnostica in %
Sangue intero raccolto in EDTA e positivo per il DNA di PVB19	51	51	0	100
Liquido amniotico positivizzato per PVB19	56	56	0	100

NOTA

I dati e i risultati completi delle prove eseguite per la valutazione delle caratteristiche prestazionali del prodotto con le matrici e gli strumenti sono registrati nel Fascicolo Tecnico PARVOVIRUS ELiTe MGB® Kit, FTP 070PLD.

12 BIBLIOGRAFIA

F. McOmish et al. (1993) J. Clin. Microbiol. 31: 323 - 328.

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

C. N. Kotton et al. (2025) Transplantation 109: 1066-1110

13 LIMITI DELLA PROCEDURA

Utilizzare questo prodotto solo con i seguenti campioni clinici: sangue intero raccolto in EDTA, e liquido amniotico.

Non utilizzare questo prodotto con DNA estratto da campioni eparinizzati: l'eparina inibisce la reazione di amplificazione degli acidi nucleici e causa risultati non validi.

Non utilizzare questo prodotto con DNA estratto contenente un'elevata quantità di DNA genomico umano che potrebbe inibire la reazione di amplificazione degli acidi nucleici.

Non sono disponibili dati riguardanti l'inibizione conseguente alla somministrazione di antivirali, antibiotici, chemioterapici o immunosoppressori.

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

Il metodo Real Time PCR utilizzato in questo prodotto ha un'elevata sensibilità analitica che lo rende sensibile alla contaminazione da campioni clinici positivi, controlli positivi e prodotti della PCR. Le cross-contaminazioni possono produrre risultati falsi positivi. Il formato del prodotto è progettato per limitare le cross-contaminazioni. Comunque, questi fenomeni possono essere evitati solo attenendosi alle buone prassi di laboratorio e seguendo attentamente le istruzioni riportate nel presente manuale.

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

Questo prodotto richiede l'uso di dispositivi di protezione individuale e di aree adeguate alla lavorazione di campioni biologici potenzialmente infettivi e preparati chimici classificati come pericolosi, al fine di prevenire incidenti con conseguenze potenzialmente gravi per l'utente e 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 maneggiato da personale professionale, qualificato e addestrato nelle tecniche di biologia molecolare, quali l'estrazione, la PCR e il rilevamento degli 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 rispetto al limite di rilevabilità del prodotto (vedere "Caratteristiche delle prestazioni"). In questo caso il risultato potrebbe essere un falso negativo.

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

Possibili polimorfismi, inserzioni o delezioni nella regione del DNA target 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.

14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI

Tabella 25

Reazione con Q-PCR Standard, curva dello standard o reazione con il controllo positivo non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errata impostazione dello strumento.	Controllare la posizione degli standard PCR Mix, Q-PCR Standard e del Positive Control. Controllare i volumi degli standard PCR Mix, Q-PCR Standard e del Positive Control.
Degradazione della PCR Mix.	Non utilizzare la miscela PCR Mix per più di 5 sessioni indipendenti (3 ore ciascuna nel blocco refrigerante dell'Inventory Area o nella Cooler Unit). Non utilizzare la miscela PCR Mix per più di 3 sessioni indipendenti (7 ore ciascuna nel blocco refrigerante dell'Inventory Area o nella Cooler Unit). Non lasciare la miscela PCR Mix a temperatura ambiente per più di 30 minuti. Utilizzare una nuova aliquota della PCR Mix.
Degradazione dei Q-PCR Standard o del Positive Control.	Non utilizzare il Q-PCR Standard per più di 4 sessioni indipendenti (2 ore ciascuna nell'area di estrazione o nella Cooler Unit). Non utilizzare il Positive Control per più di 4 sessioni indipendenti (3 ore ciascuna nell'area di estrazione o nella Cooler Unit). Utilizzare nuove aliquote dei Q-PCR Standard o del controllo positivo.
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup.

Tabella 26

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

Tabella 27

Reazione del campione non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errata impostazione dello strumento.	Controllare la posizione di PCR Mix, Internal Control e del campione. Controllare i volumi di PCR Mix, Internal Control e del campione.
Degradazione della PCR Mix.	Non utilizzare la miscela PCR Mix per più di 5 sessioni indipendenti (3 ore ciascuna nell'Inventory Area o nella Cooler Unit). Non utilizzare la miscela PCR Mix per più di 3 sessioni indipendenti (7 ore ciascuna nel blocco refrigerante dell'Inventory Area o nella Cooler Unit). Non lasciare la miscela PCR Mix a temperatura ambiente per più di 30 minuti. Utilizzare una nuova aliquota della PCR Mix.
Degradazione del template di Internal Control.	Utilizzare una nuova aliquota della 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.

Tabella 28

Curva di dissociazione anomala	
Possibili cause	Soluzioni
Assenza di un picco definito. Picco definito, ma Tm differente rispetto a quello di altri campioni e degli standard o del Positive Control.	Controllare che il valore Ct del target sia inferiore a 30. 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.

Tabella 29

Errore nel calcolo di Ct	
Possibili cause	Soluzioni
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".

Tabella 30

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

15 LEGENDA DEI SIMBOLI



Numero di catalogo.



Limite superiore di temperatura.



Codice del lotto.



Da utilizzare prima del (ultimo giorno del mese).



Dispositivo medico-diagnostico *in vitro*.



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



Identificazione unica del dispositivo



Contenuto sufficiente per "N" test.



Consultare le istruzioni per l'uso.



Contenuto.



Conservare al riparo dalla luce del sole.



Fabbricante.

16 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. Per informare ELiTechGroup S.p.A., produttore del presente dispositivo, si prega di utilizzare il seguente indirizzo e-mail: egspa.vigilance@elitechgroup.com.

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

17 AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA

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

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

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

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

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

Minitip Flocked Swab® è un marchio registrato di COPAN Italia S.p.A., FecalSwab™ è un marchio registrato di COPAN Italia S.p.A.

Appendix A Parvovirus B19 ELITE MGB Kit utilizzato in associazione alle piattaforme della serie ®



ATTENZIONE

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

Uso previsto

Il prodotto **Parvovirus B19 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 per la **rilevazione e la quantificazione del DNA del Parvovirus umano B19 (PVB19)**, estratto da campioni clinici.

Il saggio è stato validato in associazione con gli strumenti **ELITE InGenius®** ed **ELITE BeGenius®**, che sono sistemi automatizzati e integrati per l'estrazione, la Real-Time PCR e l'interpretazione dei risultati utilizzando campioni umani di sangue intero raccolto in EDTA e di liquido amniotico.

Questo prodotto è destinato all'uso come ausilio nella diagnosi e nel monitoraggio delle infezioni da Parvovirus B19 in pazienti con sospetta infezione o sotto monitoraggio per infezioni da Parvovirus B19.

I risultati devono essere interpretati in combinazione con tutte le osservazioni cliniche e i risultati di laboratorio pertinenti.

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.

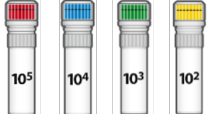
Sequenza amplificata

Sequenza	Gene	Fluoroforo	Canale
Target	Proteina capsidica VP1	FAM	PVB19
Controllo interno	Gene della beta globina umana	AP525	IC

Matrici validate

- Sangue intero con EDTA
- Liquido amniotico

Contenuto del Kit e prodotti correlati

PARVOVIRUS ELITE MGB Kit	Pneumocystis ELITE Standard	PARVOVIRUS- ELITE Positive Control
 X 4	 X 2	 X 2
PCR Mix pronta all'uso 4 provette da 540 µL 96 reazioni per kit 5 cicli di congelamento/ scongelamento	Pronta all'uso a 4 livelli: 10^5 , 10^4 , 10^3 , 10^2 1 set di 4 provette da 200 µL 4 reazioni per kit 4 cicli di congelamento/scongelamento	Positive Control pronto all'uso 2 provette da 160 µL 8 reazioni per kit 4 cicli di congelamento/ scongelamento

Validità massima: **24 mesi**Temperatura di conservazione: **-20 °C**

Altri prodotti richiesti ma non forniti nel kit

- Strumento ELITE InGenius: INT030. - Strumento ELITE BeGenius: INT040. - ELITE InGenius SP 200: INT032SP200.	- CPE - Internal Control: CTRCPE ELITE InGenius and ELITE BeGenius Consumable Set (vedere Istruzioni per l'uso di ELITE InGenius ed ELITE BeGenius)
---	--

Protocollo di ELITE InGenius e ELITE BeGenius

- Volume del campione - Volume di CPE - Volume eluizione totale	200 µL 10 µL 100 µL	- Volume di eluato immesso nella PCR - Volume di PCR Mix - Frequenza dei controlli	20 µL 20 µL 15 giorni
---	---	--	---

Prestazioni di ELITE InGenius e ELITE BeGenius

Matrice	Limite di rilevabilità		Sensibilità diagnostica	Specificità diagnostica
	UI/mL	Copie/mL		
Sangue intero	125	250	100%	100%
Liquido amniotico	40	40	100%	100%

Preparazione dei campioni

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

Tabella 31

Campione	Requisiti per la raccolta	Condizioni di trasporto/conservazione			
		16/26 °C (temperatura ambiente)	+2/+8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Sangue intero	EDTA	≤24 ore	≤3 giorni	≤30 giorni	≤30 giorni
Liquido amniotico	raccolto senza conservanti	≤4 ore	≤4 ore	≤30 giorni	≤30 giorni

Procedure di ELiTe InGenius

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

Prima dell'analisi

1. Accendere ELiTe InGenius. Inserire username e password. Selezionare la modalità "Closed" (chiuso).	2. Verificare i calibratori: Q-PCR Standard nel menu "Calibration". Verificare i controlli: Positive Control e Negative Control nel menu "Controls". Nota: Tutti devono essere eseguiti, approvati e non scaduti.	3. Scongellare la PCR Mix e le provette CTRCPE . Mescolare delicatamente con agitatore vortex. Centrifugare per 5 sec.
---	--	--

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

1. Selezionare "Perform Run" sul touch screen	2. Verificare i volumi di estrazione: Ingresso: "200 µL", eluizione: "100 µL"	3. Scansionare i codici a barre dei campioni con un lettore di codici a barre manuale o digitare l'ID campione
4. Selezionare l'Assay Protocol di interesse: PVB19 ELiTe_WB_200_100 oppure PVB19 ELiTe_AF_200_100	5. Selezionare il metodo "Extract + PCR" e la posizione del campione: Provetta primaria o Extraction Tube	6. Caricare la miscela PCR Mix e l'Internal Control (IC) nell'Inventory Block
7. Caricare: PCR Cassette, cartuccia di estrazione, provetta di eluizione, cassetta per puntali, rack per provette di estrazione e rack per campioni primari	8. Chiudere lo sportello. Avviare la sessione	9. Visualizzare, approvare e archiviare i risultati

NOTA

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

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

1. Selezionare "Perform Run" sul touch screen.	2. Verificare i volumi di estrazione: Ingresso: "200 µL", eluizione: "100 µL"	3. Scansionare il codice a barre con l'apposito lettore manuale, o digitare l'ID del campione
4. Selezionare l'Assay Protocol di interesse: PVB19 ELITE_PC e PVB19 ELITE_NC, or PVB19 ELITE_STD oppure PVB19 ELITE_WB_200_100 oppure PVB19 ELITE_AF_200_100	5. Selezionare il metodo "PCR Only" e impostare la posizione del campione in "Elution Tube".	6. Caricare la miscela PCR Mix nell'Inventory Block
7. Caricare: rack PCR Cassette e provette contenenti la soluzione di eluizione con gli acidi nucleici estratti	8. Chiudere lo sportello. Avviare la sessione	9. Visualizzare, approvare e archiviare i risultati

Procedure di ELITE BeGenius

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

Prima dell'analisi

1. Accendere ELITE BeGenius. Inserire username e password. Selezionare la modalità "Closed" (chiuso).	2. Verificare i calibratori: Q-PCR Standard nel menu "Calibration". Verificare i controlli: Positive Control e Negative Control nel menu "Controls". Nota: Tutti devono essere eseguiti, approvati e non scaduti.	3. Scongela la PCR Mix e le provette CTRCPE . Mescolare delicatamente con agitatore vortex. Centrifugare per 5 sec.
---	--	---

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

1. Selezionare "Perform Run" sul touch screen, quindi fare clic sul run mode «Extract + PCR»	2. Inserire il "Sample Rack" contenente i campioni con il codice a barre nella "Cooler Unit". La scansione del codice a barre è già attiva	3. Verificare i volumi di estrazione: Ingresso: "200 µL", Eluizione: "100 µL"
4. Selezionare l'Assay Protocol di interesse: PVB19 ELITE_Be_WB_200_100 oppure PVB19 ELITE_Be_AF_200_100 Nota: se si esegue una seconda estrazione, ripetere i passaggi da 2 a 4.	5. Stampare le etichette per identificare con il codice a barre gli Elution Tube vuoti. Caricare le provette nell'Elution Rack e inserirlo nella Cooler Unit.	6. Caricare la PCR Mix e l'Internal Control nell'Elution Rack e inserirli nella Cooler Unit.
7. Caricare il "PCR Rack" con la "PCR Cassette" e l'"Extraction Rack" con le cartucce di estrazione "ELITE InGenius SP 200" e i materiali di consumo per l'estrazione richiesti.	8. Chiudere lo sportello. Avviare la sessione	9. Visualizzare, approvare e archiviare i risultati

NOTA

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

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

1. Selezionare "Perform Run" sul touch screen.	2. Caricare le provette di acidi nucleici estratti o le provette con codice a barre con gli Standard o i Controlli nell'Elution Rack e inserirle nella Cooler Unit.	3. Per gli Standard e i Controlli: per ogni "Position" inserire i dati relativi a "Reagent name" e "S/N" (numero di serie), "Lot No." (numero di lotto), "Exp. Date" (data di scadenza) e "T/R" (numero di reazioni). Per gli eluati: per ogni "Position" inserire i dati relativi a "Sample ID", "Sample matrix", "Extraction kit" ed "Extracted eluate vol." (volume eluato).
4. Selezionare l'Assay Protocol di interesse: PVB19 ELITE_Be_PC ed PVB19 ELITE_Be_NC, oppure PVB19 ELITE_Be_STD o PVB19 ELITE_Be_WB_200_100 o PVB19 ELITE_Be_AF_200_100	5. Caricare la miscela di reazione completa nel Reagent/Elution Rack e inserirla nella Cooler Unit.	6. Caricare il "PCR Rack" con la "PCR Cassette".
7. Chiudere lo sportello. Avviare la sessione	8. Visualizzare, approvare e archiviare i risultati	



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