

Istruzioni per l'uso

## **Bordetella ELITe MGB® Kit**

---

reagenti per la Real-Time PCR del DNA



**REF** RTS140ING

**UDI** 08033891486785

**CE**  
0123

**IVD**

**CRONOLOGIA DELLE REVISIONI**

| Rev.  | Notifiche dei cambiamenti                                                                                                                                                                                            | Data (dd/mm/yy) |
|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| 06-R  | Aggiornamento del packaging del vial della PCR Mix (paragrafo "materiali inclusi nel prodotto")<br>Aggiornamento del paragrafo "Altri prodotti richiesti"<br>Aggiornamento del paragrafo "Avviso per l'utilizzatore" | 08/09/25        |
| 05-R  | Aggiornamento del paragrafo "Simboli" con il simbolo "Consultare le istruzioni per l'uso"<br>Aggiornamento del paragrafo "Avviso per l'acquirente: licenza limitata"                                                 | 24/03/25        |
| 04-R  | Espansione dell'uso del prodotto in associazione con lo strumento ELITE BeGenius e la matrice aspirato nasofaringeo.<br>Nuovo formato grafico e nuova impostazione dei contenuti dell'IFU                            | 31/10/24        |
| 03-R  | aggiornamento dopo revisione Organismo Notificato                                                                                                                                                                    | 12/06/23        |
| 02-R  | Marcatura CE secondo il nuovo Regolamento Europeo 2017/746 (IVDR).                                                                                                                                                   | 19/01/23        |
| 00-02 | Nuovo sviluppo di prodotto e modifiche successive                                                                                                                                                                    | —               |

**NOTA**

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

| <u>Numero di catalogo</u> | <u>Numero di lotto</u> | <u>Data di scadenza</u> |
|---------------------------|------------------------|-------------------------|
| RTS140ING                 | U0224-095              | 28/02/26                |
| RTS140ING                 | U0524-028              | 28/02/26                |
| RTS140ING                 | U0824-001              | 31/07/26                |

I lotti di Controllo Positivo ancora presenti sul mercato con marcatura CE secondo la Direttiva IVDD (identificati dai numeri di lotto riportati nelle IFUs del Controllo Positivo) sono tecnicamente compatibili con la nuova versione IVDR del kit di amplificazione e possono essere usati, fino ad esaurimento, in associazione con la nuova versione del kit di amplificazione e in accordo all suo uso previsto.

## INDICE

|                                                                |           |
|----------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1 USO PREVISTO .....</b>                                    | <b>4</b>  |
| <b>2 PRINCIPIO DEL SAGGIO.....</b>                             | <b>4</b>  |
| <b>3 DESCRIZIONE DEL PRODOTTO .....</b>                        | <b>4</b>  |
| <b>4 MATERIALI INCLUSI NEL PRODOTTO .....</b>                  | <b>5</b>  |
| <b>5 MATERIALI RICHIESTI MA NON INCLUSI NEL PRODOTTO .....</b> | <b>5</b>  |
| <b>6 ALTRI PRODOTTI RICHIESTI .....</b>                        | <b>5</b>  |
| <b>7 AVVERTENZE E PRECAUZIONI .....</b>                        | <b>6</b>  |
| <b>8 CAMPIONI E CONTROLLI .....</b>                            | <b>7</b>  |
| <b>9 PROCEDURA ELITe InGenius.....</b>                         | <b>8</b>  |
| <b>10 PROCEDURA ELITe BeGenius .....</b>                       | <b>15</b> |
| <b>11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI .....</b>              | <b>18</b> |
| <b>12 BIBLIOGRAFIA .....</b>                                   | <b>27</b> |
| <b>13 LIMITI DELLA PROCEDURA .....</b>                         | <b>27</b> |
| <b>14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI .....</b>                       | <b>28</b> |
| <b>15 LEGENDA DEI SIMBOLI .....</b>                            | <b>31</b> |
| <b>16 AVVISO PER L'UTILIZZATORE .....</b>                      | <b>31</b> |
| <b>17 AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA.....</b>       | <b>31</b> |
| <b>Appendix A QUICK START GUIDE.....</b>                       | <b>33</b> |

## 1 USO PREVISTO

Il prodotto **Bordetella ELITE MGB® Kit** è un dispositivo medico diagnostico in vitro destinato all'uso da parte degli operatori sanitari come test di real-time PCR qualitativa multiplex degli acidi nucleici per la rilevazione e l'identificazione del DNA genomico di ***Bordetella pertussis* (BP)**, ***Bordetella parapertussis* (BPP)** e ***Bordetella holmesii* (BH)**, estratto da campioni clinici.

Il saggio è validato in associazione agli strumenti **ELITE InGenius®** ed **ELITE BeGenius®**, sistemi integrati e automatizzati per l'estrazione, la Real-Time PCR e l'interpretazione dei risultati, a partire da campioni di aspirati nasofaringei.

Il prodotto è destinato all'uso come ausilio nella diagnosi di infezioni da *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* e *Bordetella holmesii* in pazienti con sospetta infezione da Bordetella.

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

## 2 PRINCIPIO DEL SAGGIO

Il saggio è una Real-Time PCR qualitativa multiplex per la rilevazione del DNA di *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* e *Bordetella holmesii*, isolato dai campioni e amplificato utilizzando il reagente **BORD PCR Mix** che contiene primers e sonde con tecnologia ELITE MGB.

Le sonde ELITE MGB sono attivate quando ibridano con i prodotti specifici della PCR. **ELITE InGenius** ed **ELITE BeGenius** monitorano l'incremento di fluorescenza emessa e calcolano i "cicli soglia" (Ct).

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

## 3 DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

Il prodotto **Bordetella ELITE MGB Kit** fornisce il reagente **BORD PCR Mix** una miscela ottimizzata e stabilizzata di oligonucleotidi e reagenti per PCR, che contiene i primers e le sonde specifici per:

- la sequenza ripetuta **IS481** di *B. pertussis* e *B. holmesii* rilevata nel canale **IS481**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher®, e marcata con il fluoroforo FAM,
- il promotore del gene **ptxA** di *B. pertussis*, rilevato nel canale **BP**; le sonde sono stabilizzate dal gruppo MGB, inattivate dall'Eclipse Dark Quencher, e marcate con il fluoroforo AquaPhluor® 639 (AP639),
- il gene **recA** di *B. holmesii*, rilevato nel canale **BH**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher, e marcata con il fluoroforo AquaPhluor 690 (AP690),
- la sequenza ripetuta **IS1001** di *B. parapertussis*, rilevato nel canale **BPP**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher, e marcata con il fluoroforo AquaPhluor 593 (AP593),
- la sequenza artificiale IC2 del Controllo Interno (**IC**), rilevato nel canale **IC**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher, e marcata con il fluoroforo AquaPhluor 525 (AP525).

La **BORD PCR Mix** contiene inoltre il buffer, il cloruro di magnesio, i nucleotidi trifosfato e la DNA polimerasi ad attivazione termica (hot start).

Il prodotto **Bordetella ELITE MGB Kit** consente di effettuare **96 test** in associazione con **ELITE InGenius** e **ELITE BeGenius** (12 test per tubo) utilizzando 20 µL per reazione.

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

## 4 MATERIALI INCLUSI NEL PRODOTTO

Tabella 1

| Componente                            | Descrizione                                                                      | Quantità   | Classificazione dei rischi |
|---------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|------------|----------------------------|
| <b>BORD PCR Mix</b><br>cod. RTS140ING | Miscela di reagenti per la Real-Time PCR,<br>in provetta con <b>tappo NEUTRO</b> | 8 x 280 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 cod. 72.694.005).
- Provette sterili da 0,5 mL con tappo a vite (Sarstedt cod. 72.730.005)
- Acqua per biologia molecolare.

## 6 ALTRI PRODOTTI RICHIESTI

I reagenti per l'estrazione del DNA dai campioni da analizzare, il controllo interno di estrazione e di inibizione, i controlli positivo e negativo di amplificazione 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 delle analisi eseguite sui campioni da analizzare, sono richiesti i seguenti prodotti:

Tabella 2

| Strumenti e Software                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Prodotti e Reagenti                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>ELiTe InGenius</b> (ELiTechGroup S.p.A., EG SpA cod. INT030)<br><b>ELiTe InGenius Software</b> versione 1.3.0.19 (o successiva)<br><b>BORD ELiTe_PC</b> , Assay Protocol (Protocollo di Saggio) con i parametri per l'analisi del Controllo Positivo<br><b>BORD ELiTe_NC</b> , Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Controllo Negativo<br><b>BORD ELiTe_NPA_200_100</b> , Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di aspirati nasofaringei. | <b>Bordetella - ELiTe Positive Control</b> (EG SpA, cod. CTR140ING).<br><b>CPE - Internal Control</b> (EG SpA, cod. CTRCPE)<br><b>ELiTe InGenius SP 200</b> (EG SpA, cod. INT032SP200)<br>Materiali di consumo per <b>ELiTe InGenius</b> ed <b>ELiTe BeGenius</b> (vedere i Manuali di Istruzioni per l'uso di ELiTe InGenius ed ELiTe BeGenius) |
| <b>ELiTe BeGenius</b> (EG SpA, cod. INT040)<br><b>ELiTe BeGenius Software</b> versione 2.3.0 (o successiva)<br><b>BORD ELiTe_Be_PC</b> , Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Controllo Positivo<br><b>BORD ELiTe_Be_NC</b> , Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Controllo Negativo<br><b>BORD ELiTe_Be_NPA_200_100</b> , Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di aspirati nasofaringei.                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |

## 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 i campioni biologici. Evitare di produrre schizzi o aerosol. Trattare provette, puntali, e gli altri materiali che vengono a contatto con i campioni biologici per almeno 30 minuti con ipoclorito di sodio al 3% (candeggina) o in autoclave a 121 °C per un'ora prima di smaltirlo.

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

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

Non pipettare mai le soluzioni con la bocca.

Non mangiare, bere, fumare o applicare cosmetici sul posto di lavoro.

Lavarsi accuratamente le mani dopo avere maneggiato campioni e reagenti.

Eliminare i reagenti avanzati e i rifiuti secondo le norme vigenti.

Prima di eseguire il saggio, leggere attentamente tutte le istruzioni fornite con il prodotto.

Durante l'esecuzione del saggio attenersi alle istruzioni fornite con il prodotto.

Non utilizzare il prodotto oltre la data di scadenza indicata.

Utilizzare solo i reagenti in dotazione con il prodotto e quelli consigliati dal fabbricante.

Non utilizzare reagenti provenienti da lotti diversi.

Non utilizzare reagenti di altri fabbricanti.

### 7.2 Avvertenze e precauzioni per la biologia molecolare

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

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

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

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

Manipolare i campioni estratti in modo tale da ridurre quanto più possibile la dispersione nell'ambiente per prevenire il rischio di contaminazione.

Gestire le cassette PCR in modo tale da ridurre quanto più possibile la diffusione dei prodotti di amplificazione nell'ambiente come pure la contaminazione dei campioni e dei reagenti.

### 7.3 Avvertenze e precauzioni specifiche per i componenti

**Tabella 3**

| Componente          | Temperatura di conservazione             | Utilizzo dalla prima apertura | Cicli di congelamento / scongelamento | Stabilità On board (ELiTe InGenius ed ELiTe BeGenius)                                                                                                                                                        |
|---------------------|------------------------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>BORD PCR Mix</b> | -20 °C o inferiore (protetta dalla luce) | entro un mese                 | fino a sette                          | fino a sette sessioni di lavoro indipendenti* da tre ore ciascuna oppure fino a 7 ore consecutive (2 sessioni di lavoro da 3 ore ciascuna più il tempo necessario per iniziare una terza sessione di lavoro) |

\*con congelamento intermedio

## 8 CAMPIONI E CONTROLLI

### 8.1 Campioni

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

**Tabella 4**

| Campione              | Requisiti per la raccolta | Condizioni di trasporto e conservazione |             |             |             |
|-----------------------|---------------------------|-----------------------------------------|-------------|-------------|-------------|
|                       |                           | +16 / +26 °C (temperatura ambiente )    | + 2 / +8 °C | -20 ± 10 °C | -70 ± 15 °C |
| Aspirati nasofaringei | —                         | ≤ 2 giorni                              | ≤ 7 giorni  | ≤ 1 mese    | > 1 mese    |

Si consiglia di suddividere in più aliquote i campioni da conservare congelati in modo da non sottoporli a cicli di congelamento / scongelamento ripetuti. Quando si utilizzano campioni congelati, scongelare i campioni immediatamente prima dell'estrazione per evitare la possibile degradazione degli acidi nucleici.

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

**Tabella 5 Assay Protocols per Bordetella ELiTe MGB Kit**

| Campione              | Strumento             | Nome Assay Protocol              | Esito               | Caratteristiche                                                                                                                              |
|-----------------------|-----------------------|----------------------------------|---------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Aspirati nasofaringei | <b>ELiTe InGenius</b> | <b>BORD ELiTe_NPA_200_100</b>    | Positivo / Negativo | Volume estrazione in ingresso: 200 µL<br>Volume eluizione: 100 µL<br>Controllo Interno: 10 µL<br>Sonicazione: NO<br>Fattore di diluizione: 1 |
|                       | <b>ELiTe BeGenius</b> | <b>BORD ELiTe_Be_NPA_200_100</b> |                     | Volume PCR Mix: 20 µL<br>Volume del campione in PCR: 20 µL                                                                                   |

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

**NOTA**

Il trasferimento con le pipette dei campioni nell' **Extraction Tube** o nella **provetta Sarstedt da 2 mL** potrebbe **generare contaminazione**. Utilizzare le pipette appropriate e seguire tutte le raccomandazioni riportate 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 temperatura inferiore per periodi non più lunghi di un mese.

I dati relativi all'inibizione indotta da farmaci e altre sostanze sono riportati nel paragrafo "sostanze potenzialmente interferenti" alla sezione [11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI](#) pagina 18

## 8.2 Controlli di PCR

Prima di analizzare ogni campione è obbligatorio generare e approvare i controlli di amplificazione per ogni lotto di reagente di amplificazione:

- come Controllo Positivo di PCR, utilizzare il prodotto **Bordetella - ELITE Positive Control** (non fornito in questo kit), in associazione con gli Assay Protocols **BORD ELITE\_PC** o **BORD ELITE\_Be\_PC**.
- come Controllo Negativo di PCR, utilizzare acqua per biologia molecolare (non fornita in questo kit) in associazione con gli Assay Protocols **BORD ELITE\_NC** o **BORD ELITE\_Be\_NC**.

**NOTA**

**ELITE InGenius** ed **ELITE BeGenius** richiedono risultati approvati e validi dei controlli di amplificazione per ciascun lotto di reagente di PCR. La validazione dei risultati dei controlli di PCR, approvati e memorizzati nel database, scade dopo **15 giorni**. Alla data di scadenza è necessario eseguire nuovamente l'analisi dei controlli positivi e negativi. Inoltre, i controlli di amplificazione devono essere ritestati nei seguenti casi:

quando si utilizza un nuovo lotto di reagenti di PCR,

quando i risultati delle analisi di controllo qualità (vedi paragrafo successivo) non rientrano nelle specifiche,

quando **ELITE InGenius** o **ELITE BeGenius** è stato sottoposto ad un intervento di manutenzione.

## 8.3 Controlli di qualità

Si consiglia la verifica programmata della procedura di estrazione e amplificazione. Si possono utilizzare campioni testati o materiale di riferimento certificato. Quando disponibili, utilizzare i controlli esterni in conformità a leggi locali, statali, organizzazioni di accreditamento federali.

# 9 PROCEDURA ELITE InGenius

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

**Tabella 6**

|               |                                     |                                                                              |
|---------------|-------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| <b>FASE 1</b> | Verifica che il sistema sia pronto  |                                                                              |
| <b>FASE 2</b> | Impostazione della sessione         | A) Corsa dei campioni (Extract + PCR)                                        |
|               |                                     | B) Corsa dei campioni estratti (PCR Only),                                   |
|               |                                     | C) Corsa del Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR Only).         |
| <b>FASE 3</b> | Esame ed approvazione dei risultati | 1) Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo |
|               |                                     | 2) Validazione dei risultati dei campioni                                    |
|               |                                     | 3) Refertazione dei risultati dei campioni                                   |

## 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**”,
- Nella sezione “Controls” della schermata Home, verificare che i controlli di PCR (**Positive Control, Negative Control**) siano processati, approvati e non scaduti (Status) per il lotto di **PCR Mix** da utilizzare. Se non sono disponibili Controlli validi, eseguire la sessione dei controlli come descritto di seguito,
- Selezionare il tipo di corsa, seguendo le istruzioni visualizzate sull'interfaccia grafica (GUI) per impostare la sessione e utilizzando gli Assay Protocols forniti da EG SpA (si veda paragrafo “Campioni e Controlli”).

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

## 9.2 FASE 2 - Impostazione della sessione

Il prodotto **Bordetella ELiTe MGB Kit** può essere utilizzato con **ELiTe InGenius** per eseguire:

- A. Corsa dei campioni (Extract + PCR),
- B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only),
- C. 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 sono richiamati automaticamente quando si seleziona l'Assay Protocol.

### NOTA

**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 necessarie di **PCR Mix** a temperatura ambiente per 30 minuti. Ogni provetta contiene un volume sufficiente per **12 test** in condizioni ottimali (2 o più test per sessione). Mescolare delicatamente, centrifugare le provette per 5 secondi, conservare in ghiaccio o in blocco freddo.

### NOTA

La miscela **PCR Mix** è fotosensibile per cui non va esposta alla luce diretta.

Per l'impostazione dei tre tipi di sessione procedere con i seguenti passaggi seguendo le istruzioni visualizzate sull'interfaccia grafica (GUI).

Tabella 7

|    | A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)                                                                                                                                                                                                                                                   | B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)                                                                                                                                                                                                | C. Corsa del Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR Only)                                                                                                                                                                                          |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1  | <b>Identificare i campioni</b> e, se necessario, scongelarli a temperatura ambiente.<br>Per l'analisi, <b>200 µL di campione</b> devono essere trasferiti in un Extraction tube (tubo di estrazione) precedentemente etichettato.                                                       | Scongela a temperatura ambiente gli <b>Elution tube</b> (Provetta con eluato) con i campioni di DNA estratti da analizzare. Mescolare delicatamente, centrifugare le provette per 5 secondi e conservare in ghiaccio o in blocco freddo. | Scongela le provette di Controllo Positivo a temperatura ambiente per 30 minuti. Mescolare delicatamente, centrifugare le provette per 5 secondi e conservare in ghiaccio o in blocco freddo. (Ogni provetta contiene un volume sufficiente per 4 reazioni). |
| 2  | <b>Scongela</b> le provette necessarie di controllo interno <b>CPE</b> a temperatura ambiente per 30 minuti. Mescolare delicatamente, centrifugare le provette per 5 secondi e conservare in ghiaccio o in blocco freddo. Ogni provetta contiene un volume sufficiente per 12 reazioni. | Non applicabile                                                                                                                                                                                                                          | <b>Preparare il Controllo Negativo</b> trasferendo almeno 50 µL di acqua per biologia molecolare in un Elution tube (Provetta eluato), fornito con il prodotto ELiTe InGenius SP 200 Consumable Set.                                                         |
| 3  | Nella schermata Home, selezionare <b>"Perform Run"</b> (Esegui sessione)                                                                                                                                                                                                                | Nella schermata Home, selezionare <b>"Perform Run"</b> (Esegui sessione).                                                                                                                                                                | Nella schermata Home, selezionare <b>"Perform Run"</b> (Esegui sessione).                                                                                                                                                                                    |
| 4  | Verificare che l'"Extraction Input Volume" (volume estrazione input) sia 200 µL e che l'"Extracted Elute Volume" (Volume di eluato estratto) sia 100 µL.                                                                                                                                | Verificare che l'"Extraction Input Volume" (volume estrazione input) sia 200 µL e che l'"Extracted Elute Volume" (Volume di eluato estratto) sia 100 µL.                                                                                 | Verificare che l'"Extraction Input Volume" (volume estrazione input) sia 200 µL e che l'"Extracted Elute Volume" (Volume di eluato estratto) sia 100 µL.                                                                                                     |
| 5  | Per ogni campione, assegnare un "Track" d'interesse e compilare il "SampleID" (ID campione, SID) digitando o scansionando il codice a barre.                                                                                                                                            | Per ogni campione, assegnare un "Track" d'interesse e compilare il "SampleID" (ID campione, SID) digitando o scansionando il codice a barre.                                                                                             | Non applicabile                                                                                                                                                                                                                                              |
| 6  | Nella colonna "Assay" (Saggio) <b>selezionare gli Assay Protocol</b> da utilizzare (si veda paragrafo "Campioni e Controlli").                                                                                                                                                          | Nella colonna "Assay" (Saggio) <b>selezionare gli Assay Protocol</b> da utilizzare (si veda paragrafo "Campioni e Controlli").                                                                                                           | Nella colonna "Assay" (Saggio) <b>selezionare gli Assay Protocol</b> da utilizzare (si veda paragrafo "Campioni e Controlli") e digitare il numero di lotto e la data di scadenza del Positive Control e dell'acqua per biologia molecolare.                 |
| 7  | Verificare che nella colonna "Protocol" (Protocollo) il protocollo visualizzato sia: "Extract + PCR".                                                                                                                                                                                   | Nella colonna "Protocol" (Protocollo) selezionare "PCR Only".                                                                                                                                                                            | Verificare che nella colonna "Protocol" (Protocollo) il protocollo visualizzato sia: "PCR Only".                                                                                                                                                             |
| 8  | Nella colonna "Sample Position" (Posizione campione) selezionare "Extraction Tube" (Tubo di estrazione) come posizione in cui caricare il campione.                                                                                                                                     | Verificare nella colonna "Sample Position" (Posizione campione) che la posizione sia "Elution Tube".                                                                                                                                     | Verificare nella colonna "Sample Position" (Posizione campione) che la posizione sia "Elution Tube".                                                                                                                                                         |
| 9  | Fare clic su "Next" (Avanti) per proseguire.                                                                                                                                                                                                                                            | Fare clic su "Next" (Avanti) per proseguire.                                                                                                                                                                                             | Fare clic su "Next" (Avanti) per proseguire.                                                                                                                                                                                                                 |
| 10 | <b>Caricare il CPE</b> e la <b>PCR Mix</b> nell' "Inventory Block" (Area reagenti) selezionato e digitare il numero di lotto, la data di scadenza e il numero di reazioni dei tubi                                                                                                      | <b>Caricare la PCR Mix</b> nell' "Inventory Block" (Area reagenti) selezionato e digitare il numero di lotto, la data di scadenza e il numero di reazioni dei tubi.                                                                      | <b>Caricare la PCR Mix</b> nell' "Inventory Block" (Area reagenti) selezionato e digitare il numero di lotto, la data di scadenza e il numero di reazioni dei tubi.                                                                                          |
| 11 | Fare clic su "Next" per proseguire.                                                                                                                                                                                                                                                     | Fare clic su "Next" per proseguire.                                                                                                                                                                                                      | Fare clic su "Next" per proseguire.                                                                                                                                                                                                                          |

Tabella 7 (segue)

|    | A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)                                                                                                                 | B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)                                                     | C. Corsa del Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR Only)                               |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 12 | Nell'"Inventory Area" (Area di carico) controllare/caricare i <b>Tip Rack</b> (Rack puntali)                                                          | Nell'"Inventory Area" (Area di carico) controllare/caricare i <b>Tip Rack</b> (Rack puntali). | Nell'"Inventory Area" (Area di carico) controllare/caricare i <b>Tip Rack</b> (Rack puntali).     |
| 13 | Fare clic su "Next" per proseguire                                                                                                                    | Fare clic su "Next" per proseguire                                                            | Fare clic su "Next" per proseguire                                                                |
| 14 | Caricare le <b>PCR cassette</b> , le cartucce di estrazione "ELITE InGenius SP 200", tutti i materiali di consumo necessari e i campioni da estrarre. | Caricare le <b>PCR cassette</b> e gli Elution tube con i campioni da analizzare.              | Caricare le <b>PCR cassette</b> e le provette per il Controllo Positivo ed il Controllo Negativo. |
| 15 | Fare clic su "Next" per proseguire.                                                                                                                   | Fare clic su "Next" per proseguire.                                                           | Fare clic su "Next" per proseguire.                                                               |
| 16 | Chiudere lo sportello dello strumento.                                                                                                                | Chiudere lo sportello dello strumento.                                                        | Chiudere lo sportello dello strumento.                                                            |
| 17 | Premere "Start" (Inizio).                                                                                                                             | Premere "Start" (Inizio).                                                                     | Premere "Start" (Inizio).                                                                         |

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

#### NOTA

Alla fine della corsa, prelevare dallo strumento gli **Elution tube** con il campione estratto residuo, chiuderlo, identificarlo e conservarlo a  $-20 \pm 10$  °C al massimo per un mese. Evitare la fuoriuscita del campione estratto.

#### NOTA

Alla fine della corsa la **PCR Mix** può essere rimossa dallo strumento, tappata e conservata a  $-20$  °C o temperatura inferiore, o può essere conservata nel blocco refrigerato fino a 7 ore (2 sessioni di lavoro consecutive da 3 ore circa ciascuna e il tempo necessario per iniziare una terza sessione di lavoro), mescolare delicatamente e centrifugare il contenuto per 5 secondi prima di iniziare la sessione successiva.

#### NOTA

Alla fine della corsa, prelevare dallo strumento le provette di **Controllo Positivo**, chiuderle e conservarle a  $-20$  °C o temperatura inferiore. Evitare la fuoriuscita accidentale del Controllo Positivo. Smaltire le provette di **Controllo Negativo**.

#### NOTA

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

#### NOTA

Alla fine della corsa, rimuovere dallo strumento le **PCR Cassette** e gli altri materiali di consumo e smaltirli facendo attenzione a non contaminare l'ambiente. Evitare la fuoriuscita accidentale dei prodotti di reazione.

### 9.3 FASE 3 - Esame ed approvazione dei risultati

**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 curve di PCR e di dissociazione che sono poi interpretate nei risultati.

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

**NOTA**

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

**ELITE InGenius** genera i risultati del prodotto **Bordetella ELITE MGB Kit** attraverso la seguente procedura:

1. Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo,
2. Validazione dei risultati dei campioni,
3. Refertazione dei risultati dei campioni.

### 9.3.1 Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo

Il **software ELITE InGenius** interpreta i risultati di PCR dei target del Controllo Positivo e del Controllo Negativo con i parametri inclusi negli Assay Protocol "**ELITE\_PC**" e "**ELITE\_NC**". I valori di Ct ottenuti sono utilizzati per validare il sistema (lotto di reagenti e strumento).

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

I risultati di amplificazione del Controllo Positivo e del Controllo Negativo vengono utilizzati dal **software ELITE InGenius** per impostare i grafici di controllo che monitorano le prestazioni delle fasi di amplificazione. Per maggiori dettagli, consultare il manuale dello strumento.

**NOTA**

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

**NOTA**

Se il Controllo Positivo o il Controllo Negativo sono amplificati insieme ai campioni da analizzare e il risultato non è valido, i campioni possono essere approvati, ma i risultati non sono validati. In tal caso, l'amplificazione dei Controlli non validi e di tutti i campioni deve essere ripetuta.

### 9.3.2 Validazione dei risultati dei campioni

Il **software ELITE InGenius** interpreta i risultati di amplificazione del target (Canali **IS481**, **BP**, **BH** e **BPP**) e del controllo Interno (Canale **IC**) con i parametri inclusi nell' Assay Protocol **BORD ELITE\_NPA\_200\_100**.

I risultati vengono mostrati nella schermata "Results Display".

La sessione del campione può essere approvata quando sono soddisfatte le due condizioni riportate nella tabella sottostante.

**Tabella 8**

| 1) Controllo Positivo | Status    |
|-----------------------|-----------|
| BORD Positive Control | APPROVATO |
| 2) Controllo Negativo | Status    |
| BORD Negative Control | APPROVATO |

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

Per ogni campione il sistema riporta una combinazione dei seguenti messaggi specificando se il DNA dei patogeni è stato rilevato o non rilevato.

**Tabella 9**

| Risultato di una sessione sul campione      | Interpretazione                                                                                                                                                                                                                                 |
|---------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| IS481: DNA rilevato.                        | Il DNA di <i>B. pertussis</i> or <i>B. holmesii</i> (IS481) è stato rilevato nel campione.<br><b>Nota:</b> quando viene rilevato il DNA di IS481, potrebbe essere tipizzato anche il DNA di <i>B. pertussis</i> (BP) o <i>B. holmesii</i> (BH). |
| IS481: DNA rilevato altre specie correlate. | Il DNA simile al DNA di <i>B. pertussis</i> o <i>B. holmesii</i> (IS481) proveniente da altri organismi è stato rilevato nel campione.                                                                                                          |
| IS481: DNA non rilevato o inferiore a LoD.  | Il DNA di <i>B. pertussis</i> e <i>B. holmesii</i> (IS481) non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per questi patogeni oppure la loro concentrazione è inferiore al limite di rilevabilità del saggio.                        |
| BP: tipizzazione positiva.                  | Il DNA di <i>B. pertussis</i> è stato rilevato nel campione. <b>Nota:</b> quando viene rilevato il target di BP, deve essere rilevato anche il target di IS481.                                                                                 |
| BP: tipizzazione non disponibile.           | Questo specifico target per <i>B. pertussis</i> non è stato rilevato nel campione. Controllare anche i risultati relativi al target IS481.                                                                                                      |
| BH: tipizzazione positiva.                  | Il DNA di <i>B. holmesii</i> è stato rilevato nel campione. <b>Nota:</b> quando viene rilevato il target di BH, deve essere rilevato anche il target di IS481.                                                                                  |
| BH: tipizzazione non disponibile.           | Questo specifico target per <i>B. holmesii</i> non è stato rilevato nel campione. Controllare anche i risultati relativi al target IS481.                                                                                                       |
| BPP: DNA rilevato.                          | Il DNA di <i>B. paraptussis</i> è stato rilevato nel campione.                                                                                                                                                                                  |
| BPP: DNA non rilevato o inferiore a LoD.    | Il DNA di <i>B. paraptussis</i> non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per questo patogeno oppure la concentrazione è inferiore al limite di rilevabilità (LoD) del saggio.                                                  |
| Non valido - Ripeti test su campione.       | Risultato del saggio <b>non valido</b> per un errore del controllo interno (estrazione errata, presenza di un inibitore). Il test deve essere ripetuto.                                                                                         |

Campioni che riportano il risultato “Non valido - Ripeti test su campione”: in questo caso, il DNA del Controllo Interno non è stato rilevato in maniera efficace per problemi nella fase di campionamento, pretrattamento, estrazione o amplificazione (es. errato campionamento, degradazione o perdita di DNA durante l'estrazione o presenza di inibitori nell'eluato), che possono generare risultati errati.

Quando il volume è sufficiente, il campione estratto può essere ritestato tal quale oppure diluito mediante una sessione di amplificazione in modalità “PCR Only”. In caso di un secondo risultato non valido, il campione deve essere ritestato a partire dall'estrazione di una nuova aliquota in modalità “Extract + PCR” (vedi [14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI pagina 28](#)).

Campioni che riportano il risultato “IS481:DNA non rilevato o inferiore a LoD” or “BPP: non rilevato o inferiore a LoD” sono idonei per l'analisi, ma non è stato possibile rilevare il DNA target. In tal caso non si può escludere che il DNA target sia presente in una concentrazione inferiore al limite di rilevabilità del saggio (vedi [11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI pagina 18](#)).

I campioni con risultato “IS481:DNA rilevato altre specie correlate” sono idonei per l'analisi ed è stato possibile rilevare DNA simile al DNA di *B. pertussis* o *B. holmesii* (IS481) proveniente da altri organismi. In tal caso il campione è risultato positivo per il target IS481 ma non è stato rilevato il DNA target specifico di *B. pertussis* (BP) o di *B. holmesii* (BH).

Quando viene rilevato il DNA del gene multicopia IS481, in campioni a bassa positività il DNA target specifico di *B. pertussis* (BP) o il DNA target specifico di *B. holmesii* (BH) potrebbero non essere rilevati a causa delle differenze nel numero di copie dei geni target specifici (ad es. il promotore del gene *ptxA* e il gene *recA* sono presenti in copia singola in BP e BH, rispettivamente). Tuttavia, il campione è positivo per *B. pertussis* o per *B. holmesii*, ma l'identificazione non sarà possibile.

#### NOTA

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

I risultati della sessione analitica 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".

### 9.3.3 Refertazione dei risultati dei campioni

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

- Il "Sample Report" mostra i dettagli di una sessione di lavoro per campione selezionato (SID).
- Il "Track Report" mostra i dettagli di una sessione di lavoro per track selezionato.
- Il "Sample Report" e il "Track Report" possono essere stampati e firmati da personale autorizzato.

## 10 PROCEDURA ELITE BeGenius

La procedura di utilizzo del prodotto **Bordetella ELITE MGB Kit** con **ELITE BeGenius** si articola in tre fasi:

**Tabella 10**

|               |                                     |                                                                              |
|---------------|-------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| <b>FASE 1</b> | Verifica che il sistema sia pronto  |                                                                              |
| <b>FASE 2</b> | Impostazione della sessione         | A) Corsa dei campioni (Extract + PCR)                                        |
|               |                                     | B) Corsa dei campioni estratti (PCR Only),                                   |
|               |                                     | C) Corsa del Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR Only).         |
| <b>FASE 3</b> | Esame ed approvazione dei risultati | 1) Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo |
|               |                                     | 2) Validazione dei risultati dei campioni                                    |
|               |                                     | 3) Refertazione dei risultati dei campioni                                   |

### 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**”,
- nella sezione “Controls” della schermata Home, verificare che i controlli di PCR (**Positive Control**, **Negative Control**) siano processati, approvati e non scaduti (Status) per il lotto di **PCR Mix** da utilizzare. Se non sono disponibili controlli validi, eseguire la sessione dei controlli come descritto di seguito,
- selezionare il tipo di corsa, seguendo le istruzioni visualizzate sull'interfaccia grafica (GUI) per impostare la sessione e utilizzando gli Assay Protocols forniti da EG SpA (si veda paragrafo “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 FASE 2 - Impostazione della sessione

Il prodotto **Bordetella ELITE MGB Kit** può essere utilizzato con il sistema **ELITE BeGenius** per eseguire:

- A. Corsa dei campioni (Extract + PCR),
- B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only),
- C. 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 lo si seleziona.

#### NOTA

**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 necessarie di **PCR Mix** a temperatura ambiente per 30 minuti. Ogni provetta contiene un volume sufficiente per **12 test** in condizioni ottimali (2 o più test per sessione). Mescolare delicatamente, centrifugare le provette per 5 secondi, conservare in ghiaccio o in blocco freddo.

#### NOTA

La miscela **PCR Mix** è fotosensibile per cui non va esposta alla luce diretta.

Per l'impostazione dei tre tipi di sessione procedere con i seguenti passaggi seguendo le istruzioni visualizzate sull'interfaccia grafica (GUI).

Tabella 11

|    | A. Corsa dei campioni<br>(Extract + PCR)                                                                                                                                                                                                                                                                                 | B. Corsa dei campioni estratti (PCR<br>Only)                                                                                                                                                                                                        | C. Corsa del Controllo Positivo e del<br>Controllo Negativo (PCR Only)                                                                                                                                                                                                    |
|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1  | <b>Identificare i campioni</b> e, se necessario, scongelarli a temperatura ambiente.<br>Per l'analisi, 200 µL di campione devono essere trasferiti in un Tubo Sarstedt da 2 mL precedentemente etichettato.                                                                                                              | <b>Scongellare</b> a temperatura ambiente gli <b>"Elution tube"</b> (Provetta con eluato) con i campioni di DNA estratti da analizzare. Mescolare delicatamente, centrifugare le provette per 5 secondi, conservare in ghiaccio o in blocco freddo. | <b>Scongellare</b> le provette di <b>Controllo Positivo</b> a temperatura ambiente per 30 minuti. Mescolare delicatamente, centrifugare per 5 secondi e conservare in ghiaccio o in blocco freddo. Ogni provetta contiene un volume sufficiente per preparare 4 reazioni. |
| 2  | <b>Scongellare</b> le provette necessarie di controllo interno <b>CPE</b> a temperatura ambiente per 30 minuti. Mescolare delicatamente, centrifugare le provette per 5 secondi e conservare in ghiaccio o in blocco freddo. Ogni provetta contiene volume sufficiente per 12 reazioni.                                  | Non applicabile                                                                                                                                                                                                                                     | <b>Preparare il Controllo Negativo</b> trasferendo almeno 50 µL di acqua per biologia molecolare in un <b>"Elution tube"</b> (Provetta con eluato), fornito con il prodotto ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.                                                         |
| 3  | Nella schermata Home, selezionare <b>"Perform Run"</b> (Esegui sessione).                                                                                                                                                                                                                                                | Nella schermata Home, selezionare <b>"Perform Run"</b> (Esegui sessione).                                                                                                                                                                           | Nella schermata Home, selezionare <b>"Perform Run"</b> (Esegui sessione).                                                                                                                                                                                                 |
| 4  | Rimuovere tutti i Racks dalla "Cooler Unit" e posizionarli sul tavolo di preparazione.                                                                                                                                                                                                                                   | Rimuovere i Racks dalla "Lane 1, 2 e 3" (L1, L2, L3) della "Cooler Unit" e posizionarli sul tavolo di preparazione.                                                                                                                                 | Rimuovere i Racks dalla "Lane 1, 2 e 3" (L1, L2, L3) della "Cooler Unit" e posizionarli sul tavolo di preparazione.                                                                                                                                                       |
| 5  | Selezionare il "Run mode": <b>"Extract + PCR"</b> .                                                                                                                                                                                                                                                                      | Selezionare il "Run mode": <b>"PCR Only"</b> .                                                                                                                                                                                                      | Selezionare il "Run mode": <b>"PCR Only"</b> .                                                                                                                                                                                                                            |
| 6  | <b>Caricare i campioni</b> nel <b>"Sample Rack"</b> (Rack campioni). Quando si utilizzano tubi secondari "2 mL Tube" utilizzare gli adattatori blu per il "Sample Rack".                                                                                                                                                 | <b>Caricare gli eluati</b> dei campioni estratti nell' <b>"Elution Rack"</b> (Rack di eluizione).                                                                                                                                                   | <b>Caricare</b> le provette di <b>Controllo Positivo</b> e di <b>Controllo Negativo</b> nell' <b>"Elution Rack"</b> (Rack di eluizione).                                                                                                                                  |
| 7  | Inserire il <b>"Sample Rack"</b> nella "Cooler Unit" partendo dalla "Lane 5" (L5). Se necessario, per ogni "Position" d'interesse inserire il "SampleID" (ID campione, SID). (Se si utilizzano tubi secondari, selezionare "2 mL Tube". Se il tubo secondario non ha etichetta o barcode, digitare manualmente il "SID". | Inserire l' <b>"Elution Rack"</b> nella "Cooler Unit" partendo dalla "Lane 3" (L3).<br>Se necessario, per ogni "Position" d'interesse compilare il "SampleID" (ID campione, SID), "Sample Matrix", "Extraction Kit", "Extracted Eluate Vol.".       | Inserire l' <b>"Elution Rack"</b> nella "Cooler Unit" partendo dalla "Lane 3" (L3).<br>Se necessario, per ogni "Position" d'interesse compilare il "SampleID" (ID campione, SID), "Sample Matrix", "Extraction Kit", "Extracted Eluate Vol.".                             |
| 8  | Fare clic su "Next" (Avanti) per proseguire.                                                                                                                                                                                                                                                                             | Fare clic su "Next" (Avanti) per proseguire.                                                                                                                                                                                                        | Fare clic su "Next" (Avanti) per proseguire.                                                                                                                                                                                                                              |
| 9  | Verificare che "Extraction Input Volume" (volume estrazione input) sia impostato a 200 µL e che l'"Extracted Elute Volume" (volume di eluato estratto) sia impostato a 100 µL.                                                                                                                                           | Non applicabile                                                                                                                                                                                                                                     | Non applicabile                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 10 | Nella colonna "Assay" (Saggio) selezionare gli Assay Protocol da utilizzare.                                                                                                                                                                                                                                             | Nella colonna "Assay" (Saggio) selezionare gli Assay Protocol da utilizzare.                                                                                                                                                                        | Nella colonna "Assay" (Saggio) selezionare gli Assay Protocol da utilizzare.                                                                                                                                                                                              |
| 11 | Fare clic su "Next" per proseguire.                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Fare clic su "Next" per proseguire.                                                                                                                                                                                                                 | Fare clic su "Next" per proseguire.                                                                                                                                                                                                                                       |

Tabella 11 (segue)

|    | A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)                                                                                                                                                                                                                                                              | B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)                                                                                                                                                                                                                                                | C. Corsa del Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR Only)                                                                                                                                                                                                                                      |
|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    | <b>Nota:</b> Quando devono essere analizzati più di 12 campioni, ripetere la procedura dal punto 6.                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Non applicabile                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 12 | Caricare gli <b>"Elution tube"</b> (Provetta eluato) nell' <b>"Elution Rack"</b> (Rack di eluizione).                                                                                                                                                                                              | Non applicabile                                                                                                                                                                                                                                                                          | Non applicabile                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 13 | Inserire l' <b>"Elution Rack"</b> nella <b>"Cooler Unit"</b> partendo dalla <b>"Lane 3"</b> (L3). In caso di un numero di campioni maggiore di 12, ripetere usando <b>"Lane 2"</b> (L2).                                                                                                           | Non applicabile                                                                                                                                                                                                                                                                          | Non applicabile                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 14 | Fare clic su <b>"Next"</b> per proseguire.                                                                                                                                                                                                                                                         | Non applicabile                                                                                                                                                                                                                                                                          | Non applicabile                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 15 | <b>Caricare il CPE e la PCR Mix</b> nel <b>"Reagent/Elution Rack"</b> .                                                                                                                                                                                                                            | <b>Caricare la PCR Mix</b> nel <b>"Reagent/Elution Rack"</b> .                                                                                                                                                                                                                           | <b>Caricare la PCR Mix</b> nel <b>"Reagent/Elution Rack"</b> .                                                                                                                                                                                                                                           |
| 16 | Inserire il <b>"Reagent/Elution Rack"</b> nella <b>"Cooler Unit"</b> nella <b>"Lane 2"</b> (L2) se disponibile o nella <b>"Lane 1"</b> (L1).<br>Se necessario, per ogni PCR MIX e / o CPE inserire <b>"S/N"</b> , <b>"Lot No."</b> , <b>"Exp. Date"</b> , <b>"T/R"</b> (numero reazioni del tubo). | Inserire il <b>"Reagent/Elution Rack"</b> nella <b>"Cooler Unit"</b> nella <b>"Lane 2"</b> (L2) se disponibile o nella <b>"Lane 1"</b> (L1).<br>Se necessario, per ogni PCR MIX inserire <b>"S/N"</b> , <b>"Lot No."</b> , <b>"Exp. Date"</b> , <b>"T/R"</b> (numero reazioni del tubo). | Inserire il <b>"Reagent/Elution Rack"</b> nella <b>"Cooler Unit"</b> nella <b>"Lane 2"</b> (L2) se disponibile o nella <b>"Lane 1"</b> (L1).<br>Se necessario, per ogni PCR MIX inserire <b>"S/N"</b> (numero seriale), <b>"Lot No."</b> , <b>"Exp. Date"</b> , <b>"T/R"</b> (numero reazioni del tubo). |
| 17 | Fare clic su <b>"Next"</b> per proseguire.                                                                                                                                                                                                                                                         | Fare clic su <b>"Next"</b> per proseguire.                                                                                                                                                                                                                                               | Fare clic su <b>"Next"</b> per proseguire.                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 18 | Nell' <b>"Inventory Area"</b> controllare / caricare i <b>"Tip Rack"</b> (Rack Puntali).                                                                                                                                                                                                           | Nell' <b>"Inventory Area"</b> controllare / caricare i <b>"Tip Rack"</b> (Rack Puntali).                                                                                                                                                                                                 | Nell' <b>"Inventory Area"</b> controllare / caricare i <b>"Tip Rack"</b> . (Rack Puntali).                                                                                                                                                                                                               |
| 19 | Fare clic su <b>"Next"</b> per proseguire.                                                                                                                                                                                                                                                         | Fare clic su <b>"Next"</b> per proseguire.                                                                                                                                                                                                                                               | Fare clic su <b>"Next"</b> per proseguire.                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 20 | Caricare il <b>"PCR Rack"</b> con le <b>"PCR Cassette"</b> nell' <b>Inventory Area</b> .                                                                                                                                                                                                           | Caricare il <b>"PCR Rack"</b> con le <b>"PCR Cassette"</b> nell' <b>Inventory Area</b> .                                                                                                                                                                                                 | Caricare il <b>"PCR Rack"</b> con le <b>"PCR Cassette"</b> nell' <b>Inventory Area</b> .                                                                                                                                                                                                                 |
| 21 | Fare clic su <b>"Next"</b> per proseguire                                                                                                                                                                                                                                                          | Fare clic su <b>"Next"</b> per proseguire                                                                                                                                                                                                                                                | Fare clic su <b>"Next"</b> per proseguire                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 22 | Caricare l' <b>"Extraction Rack"</b> (rack di estrazione) con le cartucce di estrazione <b>"ELITe InGenius SP 200"</b> e i consumabili richiesti.                                                                                                                                                  | Non applicabile                                                                                                                                                                                                                                                                          | Non applicabile                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 23 | Chiudere lo sportello dello strumento.                                                                                                                                                                                                                                                             | Chiudere lo sportello dello strumento.                                                                                                                                                                                                                                                   | Chiudere lo sportello dello strumento.                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 24 | Premere <b>"Start"</b> (inizio).                                                                                                                                                                                                                                                                   | Premere <b>"Start"</b> (inizio).                                                                                                                                                                                                                                                         | Premere <b>"Start"</b> (inizio).                                                                                                                                                                                                                                                                         |

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

### NOTA

Alla fine della corsa, prelevare dallo strumento gli **Elution tube** con il campione estratto residuo, chiuderlo, identificarlo e conservarlo a  $-20 \pm 10$  °C al massimo per un mese. Evitare la fuoriuscita del campione estratto.

**NOTA**

Alla fine della corsa, la **PCR Mix** può essere rimossa dallo strumento, tappata e conservata a -20 °C o temperatura inferiore, o può essere conservata nel blocco refrigerato fino a 7 ore (2 sessioni di lavoro consecutive da 3 ore circa ciascuna e il tempo necessario per iniziare una terza sessione di lavoro), mescolare delicatamente e centrifugare il contenuto per 5 secondi prima di iniziare la sessione successiva.

**NOTA**

Alla fine della corsa, prelevare dallo strumento le provette di **Controllo Positivo**, chiuderle e conservarle a -20 °C o temperatura inferiore. Evitare la fuoriuscita accidentale del Controllo Positivo. Smaltire le provette di **Controllo Negativo**.

**NOTA**

Il **Controllo Positivo** può essere utilizzato per 4 sessioni di lavoro indipendenti da 3 ore ciascuna.

**NOTA**

Alla fine della corsa, rimuovere dallo strumento le **PCR Cassette** e gli altri materiali di consumo e smaltirli facendo attenzione a non contaminare l'ambiente. Evitare la fuoriuscita accidentale dei prodotti di reazione.

### 10.3 FASE 3 - Esame ed approvazione dei risultati

**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 curve di PCR e di dissociazione che sono poi interpretate nei risultati.

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

**NOTA**

**ELITE BeGenius** può essere collegato al "Laboratory Information System" (LIS) tramite il quale è possibile inviare i risultati della sessione di lavoro al centro elaborazione dati del laboratorio. Consultare il manuale d'istruzioni dello strumento per maggiori dettagli.

**ELITE BeGenius** genera i risultati del prodotto **Bordetella ELITE MGB Kit** attraverso la seguente procedura:

1. Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo,
2. Validazione dei risultati dei campioni,
3. Refertazione dei risultati dei campioni.

**NOTA**

Per i dettagli fare riferimento agli stessi paragrafi della "Procedura" dello strumento **ELITE InGenius**.

## 11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

### 11.1 Limite del Bianco (LoB)

Il Limite del Bianco (LoB) del saggio è stato determinato per **ELITE InGenius** testando campioni di aspirati nasofaringei (NPA).

Il LoB è stato verificato testando un pannello di 60 campioni clinici di NPA testati negativi per il target IS481 (*B. pertussis* e *B. holmesii*) e per IS1001 (*B. parapertussis*). A causa dell'alta sensibilità analitica, il LoB è stato definito applicando un Ct Cut-off pari a 40 per il target IS481 (*B. pertussis* e *B. holmesii*) e per il target BPP (IS1001, *B. parapertussis*) al fine di ottenere una negatività del 95%.

I risultati finali sono riportati nella seguente tabella.

**Tabella 12 Limite del Bianco**

| <i>B. pertussis</i> / <i>B. holmesii</i> (target IS481) |    |          |          |              |
|---------------------------------------------------------|----|----------|----------|--------------|
| Matrice                                                 | N  | Positivo | Negativo | % negatività |
| Aspirati Nasofaringei Negativi                          | 60 | 3        | 57       | 95           |
| <i>B. parapertussis</i> (target BPP)                    |    |          |          |              |
| Matrice                                                 | N  | Positivo | Negativo | % negatività |
| Aspirati Nasofaringei Negativi                          | 60 | 1        | 59       | 98           |

I campioni che hanno dato un risultato positivo in associazione a Bordetella ELITE MGB Kit ed ELITE InGenius hanno mostrato alti valori di Ct (tra 37 e 40) e quindi erano a concentrazione molto bassa.

Il Ct Cut-off è stato confermato in associazione a ELITE BeGenius.

## 11.2 Limite di rilevazione (LoD)

Il limite di rilevazione (LoD) del saggio è stato definito con ELITE InGenius testando campioni di aspirati nasofaringei (NPA) positivizzati con materiali di riferimento di *B. pertussis*, *B. parapertussis* and *B. holmesii* (DMSZ, Germany).

L'analisi di regressione Probit dei dati è stata eseguita sui risultati e il LoD è stato stimato come la concentrazione del campione che ha una probabilità del 95% di risultare positivo.

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

**Tabella 13 Limite di Rilevazione**

| Patogeno                                | LoD (CFU/mL) | Intervallo di confidenza 95% |                  |
|-----------------------------------------|--------------|------------------------------|------------------|
|                                         |              | Limite inferiore             | Limite superiore |
| <i>B. pertussis</i> (target IS481)      | 12           | 7                            | 58               |
| <i>B. parapertussis</i> (target IS1001) | 11           | 6                            | 19               |
| <i>B. holmesii</i> (target IS481)       | 12           | 5                            | 34               |

Il valore di LoD calcolato è stato verificato testando con ELITE BeGenius ed ELITE InGenius campioni di aspirati nasofaringei (NPA) positivizzati con materiale di riferimento di *B. pertussis*, *B. parapertussis* e *B. holmesii* alla concentrazione dichiarata.

I risultati ottenuti hanno confermato i valori di LoD dichiarati per tutti i target di Bordetella ELITE MGB Kit sia su ELITE BeGenius che su ELITE InGenius.

## 11.3 Inclusività: Efficienza di rilevazione su differenti ceppi e isolati

L'inclusività del saggio, come efficienza di rilevazione su diversi ceppi o isolati di *B. pertussis*, *B. parapertussis* e *B. holmesii* è stata valutata mediante analisi *in silico*. L'analisi ha mostrato una conservazione di sequenza e l'assenza di mutazioni significative. Quindi si prevede un'efficiente rilevazione dei diversi ceppi o isolati.

L'inclusività è stata verificata anche mediante l'analisi di materiali di riferimento di *B. pertussis*, *B. parapertussis* and *B. holmesii* (Vircell, DSMZ and ATCC). I risultati sono riportati nella tabella seguente.

**Tabella 14 Tabella 14 Materiale di riferimento DNA genomico**

| Organismo               | Ceppo            | Target | Pos. / Rep. | Esito                 |
|-------------------------|------------------|--------|-------------|-----------------------|
| <i>B. pertussis</i>     | F-strain         | IS481  | 3 / 3       | IS481 rilevato        |
|                         |                  | BP     | 3 / 3       | BP tipizzato positivo |
| <i>B. parapertussis</i> | CDC F5101        | BPP    | 3 / 3       | BPP rilevato          |
| <i>B. holmesii</i>      | clinical isolate | IS481  | 3 / 3       | IS481 rilevato        |
|                         |                  | BH     | 3 / 3       | BH tipizzato positivo |
| <i>B. pertussis</i>     | Tohama I         | IS481  | 3 / 3       | IS481 rilevato        |
|                         |                  | BP     | 3 / 3       | BP tipizzato positivo |
| <i>B. parapertussis</i> | 12822            | BPP    | 3 / 3       | BPP rilevato          |

**Tabella 15 Materiale di riferimento Culture batteriche**

| Organismo               | Ceppo           | Target | Pos. / Rep. | Esito                 |
|-------------------------|-----------------|--------|-------------|-----------------------|
| <i>B. pertussis</i>     | Isolato clinico | IS481  | 3 / 3       | IS481 rilevato        |
|                         |                 | BP     | 2 / 3       | BP tipizzato positivo |
| <i>B. parapertussis</i> | Isolato clinico | BPP    | 3 / 3       | BPP rilevato          |
| <i>B. holmesii</i>      | Isolato clinico | IS481  | 3 / 3       | IS481 rilevato        |
|                         |                 | BH     | 3 / 3       | BH tipizzato positivo |

Tutti i campioni testati sono stati rilevati correttamente come positivi per il patogeno corretto con il Bordetella ELITe MGB Kit.

#### 11.4 Organismi potenzialmente interferenti: Cross-reattività

La potenziale cross-reattività con organismi diversi che possono essere trovati in campioni clinici è stata valutata per il saggio mediante analisi *in silico*.

L'analisi non ha mostrato alcuna omologia significativa con altri organismi (virus, batteri, protozoi e funghi) e pertanto non sono attese cross-reattività. Tuttavia, sono state osservate omologie significative e potenziali interferenze con alcuni ceppi di *B. hinzii*, *B. bronchialis* e *B. bronchiseptica* per la rilevazione del target IS481, con alcuni ceppi di *B. pertussis* per la rilevazione del target recA e con *Achromobacter denitrificans* per la rilevazione del target IS1001.

L'assenza di cross-reattività con potenziali organismi interferenti è stata verificata anche attraverso l'analisi di un pannello di materiali di riferimento (ATCC, DSMZ).

I campioni di DNA genomico sono stati analizzati in triplicato per ogni microrganismo potenzialmente interferente in associazione con il sistema ELITe InGenius in modalità "PCR Only".

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

**Tabella 16 Organismi potenzialmente interferenti: Cross-reattività**

| Campione                              | Positivi / Replicati |          |           |        |       | Esito                    |
|---------------------------------------|----------------------|----------|-----------|--------|-------|--------------------------|
|                                       | IS481                | BP (ptx) | BH (recA) | IS1001 | IC    |                          |
| <i>Aspergillus fumigatus</i>          | 0 / 3                | 0 / 3    | 0 / 3     | 0 / 3  | 3 / 3 | Nessuna cross-reattività |
| <i>Candida albicans</i>               | 0 / 3                | 0 / 3    | 0 / 3     | 0 / 3  | 3 / 3 | Nessuna cross-reattività |
| <i>Staphylococcus aureus</i>          | 0 / 3                | 0 / 3    | 0 / 3     | 0 / 3  | 3 / 3 | Nessuna cross-reattività |
| <i>Escherichia coli</i>               | 0 / 3                | 0 / 3    | 0 / 3     | 0 / 3  | 3 / 3 | Nessuna cross-reattività |
| <i>Bordetella bronchiseptica</i>      | 0 / 3                | 0 / 3    | 0 / 3     | 0 / 3  | 3 / 3 | Nessuna cross-reattività |
| <i>Haemophilus influenzae</i>         | 0 / 3                | 0 / 3    | 0 / 3     | 0 / 3  | 3 / 3 | Nessuna cross-reattività |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i>       | 0 / 3                | 0 / 3    | 0 / 3     | 0 / 3  | 3 / 3 | Nessuna cross-reattività |
| <i>Legionella pneumophila</i>         | 0 / 3                | 0 / 3    | 0 / 3     | 0 / 3  | 3 / 3 | Nessuna cross-reattività |
| <i>Mycoplasma pneumoniae</i>          | 0 / 3                | 0 / 3    | 0 / 3     | 0 / 3  | 3 / 3 | Nessuna cross-reattività |
| <i>Chlamydomphila pneumoniae</i>      | 0 / 3                | 0 / 3    | 0 / 3     | 0 / 3  | 3 / 3 | Nessuna cross-reattività |
| <i>Mycobacterium tuberculosis</i>     | 0 / 3                | 0 / 3    | 0 / 3     | 0 / 3  | 3 / 3 | Nessuna cross-reattività |
| CMV                                   | 0 / 3                | 0 / 3    | 0 / 3     | 0 / 3  | 3 / 3 | Nessuna cross-reattività |
| Enterovirus                           | 0 / 3                | 0 / 3    | 0 / 3     | 0 / 3  | 3 / 3 | Nessuna cross-reattività |
| ADV                                   | 0 / 3                | 0 / 3    | 0 / 3     | 0 / 3  | 3 / 3 | Nessuna cross-reattività |
| FluA                                  | 0 / 3                | 0 / 3    | 0 / 3     | 0 / 3  | 3 / 3 | Nessuna cross-reattività |
| FluB                                  | 0 / 3                | 0 / 3    | 0 / 3     | 0 / 3  | 3 / 3 | Nessuna cross-reattività |
| RSV                                   | 0 / 3                | 0 / 3    | 0 / 3     | 0 / 3  | 3 / 3 | Nessuna cross-reattività |
| <i>Bordetella petrii</i> (DSM 12804)  | 0 / 3                | 0 / 3    | 0 / 3     | 0 / 3  | 3 / 3 | Nessuna cross-reattività |
| <i>Bordetella petrii</i> (REF504)     | 0 / 3                | 0 / 3    | 0 / 3     | 0 / 3  | 3 / 3 | Nessuna cross-reattività |
| <i>Bordetella petrii</i> (REF505)     | 0 / 3                | 0 / 3    | 0 / 3     | 0 / 3  | 3 / 3 | Nessuna cross-reattività |
| <i>Bordetella petrii</i> (BORD1836)   | 0 / 3                | 0 / 3    | 0 / 3     | 0 / 3  | 3 / 3 | Nessuna cross-reattività |
| <i>Bordetella petrii</i> (BUR-15-132) | 0 / 3                | 0 / 3    | 0 / 3     | 0 / 3  | 3 / 3 | Nessuna cross-reattività |
| <i>Bordetella petrii</i> (BUR-19-174) | 0 / 3                | 0 / 3    | 0 / 3     | 0 / 3  | 3 / 3 | Nessuna cross-reattività |

I principali organismi potenzialmente interferenti testati non hanno mostrato cross-reattività per l'amplificazione dei target utilizzando il Bordetella ELiTe MGB Kit.

Come osservato nell'analisi di sequenza, alcuni ceppi di *Bordetella petrii* (\*) sono risultati positivi per il target BH. Tuttavia, per la diversa temperatura di fusione (Tm) tra recA di *B. holmesii* e recA di altre specie di *Bordetella*, l'Assay Protocol restituisce il risultato "Typing not feasible".

Inoltre, altri ceppi di *Bordetella petrii* (\*\*) hanno una sequenza simile a IS481 e sono risultati positivi per il target IS481. Tuttavia, per la diversa temperatura di fusione (Tm) tra IS481 di *B. pertussis* e *B. holmesii* e IS481-like di altre specie di *Bordetella*, l'Assay Protocol restituisce il risultato "altre specie correlate".

### 11.5 Organismi potenzialmente interferenti: Inibizione

La potenziale inibizione da parte di organismi diversi che possono essere trovati nei campioni clinici è stata verificata per il saggio attraverso l'analisi di un pannello di organismi interferenti (ATCC, e DSMZ) positivizzati con materiale di riferimento di *B. pertussis* (ATCC) o *B. parapertussis* (ATCC) o *B. holmesii* (DSMZ).

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

**Tabella 17 Organismi potenzialmente interferenti: Inibizione**

| Campione                              | Positivi / Replicati |          |           |        |       | Esito              |
|---------------------------------------|----------------------|----------|-----------|--------|-------|--------------------|
|                                       | IS481                | BP (ptx) | BH (recA) | IS1001 | IC    |                    |
| <i>Aspergillus fumigatus</i>          | 3 / 3                | 3 / 3    | 3 / 3     | 3 / 3  | 3 / 3 | Nessuna inibizione |
| <i>Candida albicans</i>               | 3 / 3                | 3 / 3    | 3 / 3     | 3 / 3  | 3 / 3 | Nessuna inibizione |
| <i>Staphylococcus aureus</i>          | 3 / 3                | 3 / 3    | 3 / 3     | 3 / 3  | 3 / 3 | Nessuna inibizione |
| <i>Escherichia coli</i>               | 3 / 3                | 3 / 3    | 3 / 3     | 3 / 3  | 3 / 3 | Nessuna inibizione |
| <i>Bordetella bronchiseptica</i>      | 3 / 3                | 3 / 3    | 3 / 3     | 3 / 3  | 3 / 3 | Nessuna inibizione |
| <i>Haemophilus influenzae</i>         | 3 / 3                | 3 / 3    | 3 / 3     | 3 / 3  | 3 / 3 | Nessuna inibizione |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i>       | 3 / 3                | 3 / 3    | 3 / 3     | 3 / 3  | 3 / 3 | Nessuna inibizione |
| <i>Legionella pneumophila</i>         | 3 / 3                | 3 / 3    | 3 / 3     | 3 / 3  | 3 / 3 | Nessuna inibizione |
| <i>Mycoplasma pneumoniae</i>          | 3 / 3                | 3 / 3    | 3 / 3     | 3 / 3  | 3 / 3 | Nessuna inibizione |
| <i>Chlamydomphila pneumoniae</i>      | 3 / 3                | 3 / 3    | 3 / 3     | 3 / 3  | 3 / 3 | Nessuna inibizione |
| <i>Mycobacterium tuberculosis</i>     | 3 / 3                | 3 / 3    | 3 / 3     | 3 / 3  | 3 / 3 | Nessuna inibizione |
| CMV                                   | 3 / 3                | 3 / 3    | 3 / 3     | 3 / 3  | 3 / 3 | Nessuna inibizione |
| Enterovirus                           | 3 / 3                | 3 / 3    | 3 / 3     | 3 / 3  | 3 / 3 | Nessuna inibizione |
| ADV                                   | 3 / 3                | 3 / 3    | 3 / 3     | 3 / 3  | 3 / 3 | Nessuna inibizione |
| FluA                                  | 3 / 3                | 3 / 3    | 3 / 3     | 3 / 3  | 3 / 3 | Nessuna inibizione |
| FluB                                  | 3 / 3                | 3 / 3    | 3 / 3     | 3 / 3  | 3 / 3 | Nessuna inibizione |
| RSV                                   | 3 / 3                | 3 / 3    | 3 / 3     | 3 / 3  | 3 / 3 | Nessuna inibizione |
| <i>Bordetella petrii</i> (DSM 12804)  | 3 / 3                | 3 / 3    | 3 / 3     | 3 / 3  | 3 / 3 | Nessuna inibizione |
| <i>Bordetella petrii</i> (REF504)     | 3 / 3                | 3 / 3    | 3 / 3     | 3 / 3  | 3 / 3 | Nessuna inibizione |
| <i>Bordetella petrii</i> (REF505)     | 3 / 3                | 3 / 3    | 3 / 3     | 3 / 3  | 3 / 3 | Nessuna inibizione |
| <i>Bordetella petrii</i> (BORD1836)   | 3 / 3                | 3 / 3    | 3 / 3     | 3 / 3  | 3 / 3 | Nessuna inibizione |
| <i>Bordetella petrii</i> (BUR-15-132) | 3 / 3                | 3 / 3    | 3 / 3     | 3 / 3  | 3 / 3 | Nessuna inibizione |
| <i>Bordetella petrii</i> (BUR-19-174) | 3 / 3                | 3 / 3    | 3 / 3     | 3 / 3  | 3 / 3 | Nessuna inibizione |

Tutti gli organismi potenzialmente interferenti testati non hanno mostrato alcuna inibizione dell'amplificazione dei target utilizzando il prodotto Bordetella ELITE MGB Kit.

## 11.6 Interferenza tra target

La potenziale interferenza tra target del saggio è stata valutata mediante un test di co-amplificazione di materiali di riferimento di *B. pertussis*, *B. parapertussis* e *B. holmesii*.

Per ciascuno la più bassa concentrazione rilevabile in tutti i replicati è riportata nella tabella seguente.

**Tabella 18 Interferenza tra target**

| Target nel test (basse copie)   | target interferente a $\sim 10^5$ copie / reazione |                         |                    |
|---------------------------------|----------------------------------------------------|-------------------------|--------------------|
|                                 | <i>B. pertussis</i>                                | <i>B. parapertussis</i> | <i>B. holmesii</i> |
| IS481 ( <i>B. pertussis</i> )   | -                                                  | 10 c. / reazione        | -                  |
| BPP ( <i>B. parapertussis</i> ) | 10 c. / reazione                                   | -                       | 100 c. / reazione  |
| IS481 ( <i>B. holmesii</i> )    | -                                                  | 10 c. / reazione        | -                  |

**Tabella 19 Interferenza tra target: typing**

| Target nel test (basse copie) | target interferente a $\sim 10^5$ copie / reazione |                         |                               |
|-------------------------------|----------------------------------------------------|-------------------------|-------------------------------|
|                               | <i>B. pertussis</i>                                | <i>B. parapertussis</i> | <i>B. holmesii</i>            |
| ptxA ( <i>B. pertussis</i> )  | -                                                  | 100 c. / reazione       | $2 \times 10^3$ c. / reazione |
| recA ( <i>B. holmesii</i> )   | $10^3$ c. / reazione                               | 10 c. / reazione        | -                             |

Il Bordetella ELiTe MGB Kit non mostra alcuna interferenza significativa tra target.

## 11.7 Sostanze potenzialmente interferenti: Inibizione

La potenziale inibizione di sostanze potenzialmente interferenti (endogene ed esogene) che potrebbero trovarsi nei campioni clinici è stata valutata per il saggio mediante analisi di un pannello di sostanze a concentrazione rilevante in campioni di aspirati nasofaringei positivamente con i target.

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

**Tabella 20**

| Campione      | Pos. / Rep.         |                         |                    |       | Esito                |
|---------------|---------------------|-------------------------|--------------------|-------|----------------------|
|               | <i>B. pertussis</i> | <i>B. parapertussis</i> | <i>B. holmesii</i> | IC    |                      |
| Mucina        | 3 / 3               | 3 / 3                   | 3 / 3              | 3 / 3 | Nessuna interferenza |
| Sangue inero  | 3 / 3               | 3 / 3                   | 3 / 3              | 3 / 3 | Nessuna interferenza |
| Azithromicina | 3 / 3               | 3 / 3                   | 3 / 3              | 3 / 3 | Nessuna interferenza |
| Beclometasone | 3 / 3               | 3 / 3                   | 3 / 3              | 3 / 3 | Nessuna interferenza |
| Ebastina      | 3 / 3               | 3 / 3                   | 3 / 3              | 3 / 3 | Nessuna interferenza |
| Ambroxol      | 3 / 3               | 3 / 3                   | 3 / 3              | 3 / 3 | Nessuna interferenza |

Tutte le sostanze potenzialmente interferenti testate non hanno mostrato alcuna inibizione dell'amplificazione dei target utilizzando il Bordetella ELITE MGB Kit.

### 11.8 Ripetibilità

La ripetibilità del saggio è stata valutata su ELITE BeGenius ed ELITE InGenius mediante l'analisi di un pannello di campioni di aspirati nasofaringei negativi o positivizzati con materiale di riferimento di *B. pertussis* (DSMZ), *B. parapertussis* (DSMZ) or *B. holmesii* (DSMZ) alla concentrazione di 3 x LoD.

Un esempio dei risultati di ripetibilità Intra-Sessione (su un giorno) è riportato nella tabella seguente.

**Tabella 21 ELITE InGenius Ripetibilità Intra-sessione**

| Campione                      | N | IS481 / BPP target |      |      | Concordanza % |
|-------------------------------|---|--------------------|------|------|---------------|
|                               |   | Media              | SD   | %CV  |               |
| Negativo                      | 8 | -                  | -    | -    | 100%          |
| <i>B. pertussis</i> (IS481)   | 8 | 36,82              | 0,53 | 1,45 | 100%          |
| <i>B. parapertussis</i> (BPP) | 8 | 36,17              | 0,54 | 1,48 | 100%          |
| <i>B. holmesii</i> (IS481)    | 8 | 35,67              | 0,32 | 0,91 | 100%          |

**Tabella 22 ELITE BeGenius Ripetibilità Intra-sessione**

| Campione                      | N | IS481 / BPP target |      |      | Concordanza % |
|-------------------------------|---|--------------------|------|------|---------------|
|                               |   | Media              | SD   | %CV  |               |
| Negativo                      | 8 | -                  | -    | -    | 100%          |
| <i>B. pertussis</i> (IS481)   | 8 | 36,51              | 0,40 | 1,11 | 100%          |
| <i>B. parapertussis</i> (BPP) | 8 | 36,20              | 0,36 | 0,98 | 100%          |
| <i>B. holmesii</i> (IS481)    | 8 | 35,54              | 0,37 | 1,05 | 100%          |

Un esempio dei risultati di ripetibilità Inter-Sessione (su due giorni) è riportato nella tabella seguente.

**Tabella 23 ELITE InGenius Ripetibilità Inter-sessione (giorno 1 + giorno 2)**

| Campione                      | N  | IS481 / BPP target |      |      | Concordanza % |
|-------------------------------|----|--------------------|------|------|---------------|
|                               |    | Media              | SD   | %CV  |               |
| Negativo                      | 16 | -                  | -    | -    | 100%          |
| <i>B. pertussis</i> (IS481)   | 16 | 36,69              | 0,52 | 1,42 | 100%          |
| <i>B. parapertussis</i> (BPP) | 16 | 36,25              | 0,50 | 1,39 | 100%          |
| <i>B. holmesii</i> (IS481)    | 16 | 35,47              | 0,33 | 0,92 | 100%          |

**Tabella 24 ELITE BeGenius Ripetibilità Inter-sessione (giorno 1 + giorno 2)**

| Campione               | N  | IS481 / BPP target |      |      | Concordanza % |
|------------------------|----|--------------------|------|------|---------------|
|                        |    | Media              | SD   | %CV  |               |
| Negativo               | 16 | -                  | -    | -    | 100%          |
| B. pertussis (IS481)   | 16 | 36,59              | 0,38 | 1,04 | 100%          |
| B. parapertussis (BPP) | 16 | 36,22              | 0,44 | 1,21 | 100%          |
| B. holmesii (IS481)    | 16 | 35,38              | 0,33 | 0,92 | 100%          |

Nel test di ripetibilità, Bordetella ELITE MGB Kit ha rilevato tutti i campioni come previsto e ha mostrato una variabilità massima di valori di Ct come %CV inferiore al 5%.

### 11.9 Riproducibilità

La riproducibilità del saggio è stata valutata su ELITE BeGenius ed ELITE InGenius mediante l'analisi di un pannello di campioni di aspirati nasofaringei negativi o positivizzati con materiali di riferimento di *B. pertussis* (DSMZ), *B. parapertussis* (DSMZ) and *B. holmesii* (DSMZ) alla concentrazione di 3 x LoD.

Un esempio dei risultati di Riproducibilità Inter lotto (su due lotti) è riportato nella tabella seguente.

**Tabella 25 ELITE InGenius Riproducibilità Inter lotto**

| Campione               | N | IS481 / BPP target |      |      | Concordanza % |
|------------------------|---|--------------------|------|------|---------------|
|                        |   | Media              | SD   | %CV  |               |
| Negativo               | 8 | -                  | -    | -    | 100%          |
| B. pertussis (IS481)   | 8 | 36,87              | 0,32 | 0,88 | 100%          |
| B. parapertussis (BPP) | 8 | 35,97              | 0,53 | 1,47 | 100%          |
| B. holmesii (IS481)    | 8 | 35,46              | 0,61 | 1,72 | 100%          |

**Tabella 26 ELITE BeGenius Riproducibilità Inter lotto**

| Campione               | N | IS481 / BPP target |      |      | Concordanza % |
|------------------------|---|--------------------|------|------|---------------|
|                        |   | Media              | SD   | %CV  |               |
| Negativo               | 8 | -                  | -    | -    | 100%          |
| B. pertussis (IS481)   | 8 | 37,20              | 0,49 | 1,31 | 100%          |
| B. parapertussis (BPP) | 8 | 36,19              | 0,53 | 1,45 | 100%          |
| B. holmesii (IS481)    | 8 | 35,59              | 0,39 | 1,08 | 100%          |

Un esempio dei risultati di Riproducibilità Inter-Strumento (su due strumenti) è riportato nella tabella seguente.

**Tabella 27 ELITE InGenius Riproducibilità Inter-Strumento**

| Campione               |   | IS481 / BPP target |      |      | Concordanza % |
|------------------------|---|--------------------|------|------|---------------|
|                        | N | Media              | SD   | %CV  |               |
| Negativo               | 8 | -                  | -    | -    | 100%          |
| B. pertussis (IS481)   | 8 | 36,73              | 0,28 | 0,76 | 100%          |
| B. parapertussis (BPP) | 8 | 35,80              | 0,53 | 1,47 | 100%          |
| B. holmesii (IS481)    | 8 | 35,15              | 0,39 | 1,12 | 100%          |

**Tabella 28 ELITE BeGenius Riproducibilità Inter-Strumento**

| Campione               |   | IS481 / BPP target |      |      | Concordanza % |
|------------------------|---|--------------------|------|------|---------------|
|                        | N | Media              | SD   | %CV  |               |
| Negativo               | 8 | -                  | -    | -    | 100%          |
| B. pertussis (IS481)   | 8 | 37,12              | 0,45 | 1,22 | 100%          |
| B. parapertussis (BPP) | 8 | 36,10              | 0,62 | 1,71 | 100%          |
| B. holmesii (IS481)    | 8 | 35,40              | 0,45 | 1,26 | 100%          |

Nel test di Riproducibilità, il Bordetella ELITE MGB Kit ha rilevato tutti i campioni come previsto e ha mostrato una variabilità massima di valori di Ct come %CV inferiore al 5%.

### 11.10 Specificità Diagnostica: Conferma dei campioni negativi

La Specificità Diagnostica del saggio, come conferma dei campioni negativi, è stata valutata in associazione ad ELITE InGenius testando campioni clinici di aspirati nasofaringei, certificati negativi per *B. pertussis*, *B. parapertussis* e *B. holmesii* tramite metodo colturale e tramite un saggio commerciale CE IVD presso un laboratorio esterno.

Poiché ELITE BeGenius possiede performance analitiche equivalenti a ELITE InGenius, le performance diagnostiche del saggio eseguito sui due strumenti sono anch'esse considerate equivalenti. Quindi la Specificità Diagnostica del saggio ottenuta in associazione con ELITE InGenius è anche riferibile ad ELITE BeGenius.

I risultati sono riassunti nella tabella seguente.

**Tabella 29 Specificità Diagnostica**

| aspirati nasofaringei negativi                   | N  | Positivi | Negativi | Specificità Diagnostica % |
|--------------------------------------------------|----|----------|----------|---------------------------|
| <i>B. pertussis</i> / <i>B. holmesii</i> (IS481) | 59 | 0        | 59       | 100%                      |
| <i>B. parapertussis</i>                          | 83 | 1        | 82       | 98,8%                     |

Il cut-off del Ct del Controllo Interno è impostato a 30.

### 11.11 Sensibilità Diagnostica: Conferma dei campioni positivi

La Sensibilità Diagnostica del saggio, come conferma dei campioni positivi, è stata valutata in associazione ad ELITE InGenius testando campioni clinici di aspirati nasofaringei, certificati positivi per ciascun target o positivizzati con materiali di riferimento (DSMZ e BCCM).

I campioni positivi e i campioni negativi utilizzati per la positivizzazione sono stati certificati con metodi colturali e/o saggi commerciali CE IVD. I campioni sono stati positivizzati per *B. parapertussis* e *B. holmesii* a varie concentrazioni per coprire un ampio range di Ct.

Poiché ELITE BeGenius possiede performance analitiche equivalenti a ELITE InGenius, le performance diagnostiche del saggio eseguito sui due strumenti sono anch'esse considerate equivalenti. Quindi la Sensibilità Diagnostica del saggio ottenuta in associazione con ELITE InGenius è anche riferibile ad ELITE BeGenius.

I risultati sono riassunti nella tabella seguente.

**Tabella 30 Sensibilità Diagnostica**

| Aspirati nasofaringei positivi / positivizzati | N  | Positivi | Negativi | Sensibilità Diagnostica % |
|------------------------------------------------|----|----------|----------|---------------------------|
| Positivi per <i>B. pertussis</i>               | 58 | 57       | 1        | 98,3%                     |
| Positivizzati con <i>B. parapertussis</i>      | 58 | 58       | 0        | 100%                      |
| Positivizzati con <i>B. holmesii</i>           | 54 | 54       | 0        | 100%                      |
| Positivi per <i>B. holmesii</i>                | 1  | 1        | 0        |                           |

#### NOTA

I dati ed i risultati completi delle prove eseguite per la valutazione delle caratteristiche delle prestazioni del prodotto con le matrici e gli strumenti sono registrati nel Fascicolo Tecnico di Prodotto "Bordetella ELITE MGB® Kit", FTP 140ING

## 12 BIBLIOGRAFIA

U. Reischl et al. (2001) J Clin Microbiol. 39: 1963–1966.

N. K. Fry et al. (2009) J Med Microbiol. 58: 1023-9.

A. Van der Zee (1993) J Bacteriol. 175: 141-7.

J. L. Guthrie et al. (2010) J Clin Microbiol. 48: 1435-7

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

<https://www.mayocliniclabs.com/> - BPRPV

<https://www.questdiagnostics.com/healthcare-professionals/test-directory>

Laboratory Manual for the diagnosis of Whooping Cough caused by Bordetella pertussis/

*Bordetella parapertussis* Update 2014 – ISBN WHO\_IVB\_14.03\_eng

## 13 LIMITI DELLA PROCEDURA

Utilizzare questo prodotto soltanto con i seguenti campioni clinici: aspirati nasofaringei.

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

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

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

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

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

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

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

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 target non è stato rilevato nel DNA estratto dal campione, ma non si può escludere che il DNA target abbia un titolo più basso del limite di rilevabilità del prodotto [11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI pagina 18](#). In questo caso il risultato potrebbe essere un falso negativo.

In caso di coinfezioni, la sensibilità per un target può essere influenzata dall'amplificazione di un secondo target [11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI pagina 18](#).

In alcuni casi, *B. bronchiseptica*, *B. hinzii* and *B. bronchialis* can harbour the IS481 repeated sequence and so it can generate positive results for this target.

In alcuni casi, *B. bronchiseptica* and *Achromobacter denitrificans* can harbour the IS1001 repeated sequences and so it can generate positive results for the BPP target.

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

Possibili polimorfismi, 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 target.

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

Come per qualunque altro dispositivo medico-diagnostico, vi è un rischio residuo di ottenere con questo prodotto risultati non validi, falsi positivi e falsi negativi. Tale rischio residuo non può essere eliminato né ulteriormente ridotto. In taluni casi, potrebbe indurre decisioni sbagliate con effetti potenzialmente pericolosi per il paziente. Comunque, questo rischio residuo associato all'uso previsto del prodotto è stato valutato in rapporto ai benefici potenziali per il paziente ed è stato considerato accettabile.

## 14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI

**Tabella 31**

| Reazione del Controllo Positivo non valida |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|--------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Possibili cause                            | Soluzioni                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Errata impostazione dello strumento.       | Controllare la posizione della PCR Mix e del Controllo Positivo.<br>Controllare i volumi della PCR Mix e del Controllo Positivo.                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| Degradazione della PCR Mix.                | Non utilizzare la PCR Mix per più di 7 sessioni indipendenti (3 ore ciascuna nel blocco refrigerato dell'area reagenti o nell'unità refrigerata).<br>Non utilizzare la PCR Mix per più di tre sessioni consecutive (7 ore nel blocco refrigerato dell'area reagenti o nell'unità refrigerata).<br>Non lasciare la PCR Mix a temperatura ambiente per più di 30 minuti.<br>Utilizzare una nuova aliquota della PCR Mix. |

**Tabella 31 (segue)**

| Reazione del Controllo Positivo non valida |                                                                                                                                                                                                |
|--------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Possibili cause                            | Soluzioni                                                                                                                                                                                      |
| Degradazione del Controllo Positivo.       | Non utilizzare il Controllo Positivo per più di 4 sessioni indipendenti (3 ore ciascuna nell'area di estrazione o nel blocco refrigerato).<br>Utilizzare nuove aliquote di Controllo Positivo. |
| Errore dello strumento.                    | Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup S.p.A.                                                                                                                                         |

**Tabella 32**

| Reazione del Controllo Negativo non valida                                                      |                                                                                                                                  |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Possibili cause                                                                                 | Soluzioni                                                                                                                        |
| Errata impostazione dello strumento.                                                            | Controllare la posizione della PCR Mix e del Controllo Negativo.<br>Controllare i volumi della PCR Mix e del Controllo Negativo. |
| Contaminazione del Controllo Negativo.                                                          | Non utilizzare il Controllo Negativo per più di 1 sessione.<br>Utilizzare una nuova aliquota di acqua per biologia molecolare.   |
| Contaminazione della PCR Mix.                                                                   | Utilizzare una nuova aliquota di PCR Mix.                                                                                        |
| Contaminazione dell'area di estrazione, dei rack e dell'area reagenti o dell'unità refrigerata. | Pulire le superfici con detergenti acquosi, lavare i camici, sostituire provette e puntali in uso.                               |
| Errore dello strumento.                                                                         | Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup S.p.A..                                                                          |

**Tabella 33**

| Reazione del campione non valida                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Possibili cause                                            | Soluzioni                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| Errata impostazione dello strumento.                       | Controllare la posizione della PCR Mix, del Controllo Interno e del campione.<br>Controllare i volumi della PCR Mix, del Controllo Interno e del campione.                                                                                                                                                                                                                                      |
| Degradazione della PCR Mix.                                | Non utilizzare la PCR Mix per più di 7 sessioni indipendenti (3 ore ciascuna nell'area reagenti o nell'unità refrigerata).<br>Non utilizzare la PCR Mix per più di tre sessioni consecutive (7 ore nel blocco refrigerato dell'area reagenti o nell'unità refrigerata).<br>Non lasciare la PCR Mix a temperatura ambiente per più di 30 minuti.<br>Utilizzare una nuova aliquota della PCR Mix. |
| Degradazione del Controllo Interno.                        | Utilizzare una nuova aliquota di Controllo Interno.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Inibizione dovuta a sostanze interferenti con il campione. | Ripetere la reazione di amplificazione con una diluizione 1:2 in acqua per biologia molecolare del campione eluito in una sessione in modalità "PCR Only" (solo PCR).<br>Ripetere l'estrazione con una diluizione 1:2 in acqua per biologia molecolare del campione in una sessione in modalità "Extract + PCR".                                                                                |
| Errore dello strumento.                                    | Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup S.p.A..                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |

Tabella 34

| Curva di dissociazione anomala                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Possibili cause                                                                                                                     | Soluzioni                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| Assenza di un picco definito.<br>Picco definito ma Tm differenti da quelle degli altri campioni e da quelle del Controllo Positivo. | Controllare che il Ct del target sia inferiore a 30.<br>Elevate quantità del prodotto di amplificazione alla fine della reazione possono interferire con l'analisi della curva di dissociazione.<br>Ripetere l'amplificazione del campione per confermare la presenza del target con una possibile mutazione.<br>Il target nel campione deve essere sequenziato per confermare la mutazione. |

Tabella 35

| Errore nel calcolo del Ct                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Possibili cause                                                                              | Soluzioni                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Concentrazione troppo elevata del target nel campione o campione con anomala forma del plot. | Se nel PCR plot appare un'amplificazione significativa selezionare il track relativo al campione e approvare manualmente il risultato come positivo.<br>Se nel PCR plot non appare nessuna amplificazione selezionare il rack relativo al campione e approvare manualmente il risultato come negativo o lasciarlo invalido.<br>Se è richiesto un valore di Ct:<br>- ripetere la reazione di amplificazione del campione eluito con una diluizione 1:10 in acqua per biologia molecolare in una sessione in modalità "PCR Only" (solo PCR) oppure<br>- ripetere l'estrazione del campione con una diluizione 1:10 in acqua per biologia molecolare in una sessione in modalità "Extract + PCR" (Estrazione + PCR). |

Tabella 36

| Alto tasso anormale di risultati positivi nella stessa sessione (reazioni con valori Ct tardivi simili) |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Possibili cause                                                                                         | Soluzioni                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| Contaminazione da campione a campione durante le fasi preanalitiche.                                    | Pulire la micropipetta, con una soluzione fresca di ipoclorito di sodio al 3% (candeggina) o un detergente per DNA/RNA, dopo aver pipettato ciascun campione.<br>Non utilizzare pipette Pasteur. Le pipette devono essere del tipo a spostamento positivo o utilizzate con puntali con filtro per aerosol.<br>Introdurre campioni nelle ultime posizioni degli strumenti, come indicato dalla GUI. Seguire la sequenza di caricamento indicata dal software. |
| Contaminazione ambientale di laboratorio                                                                | Pulire tutte le superfici a contatto con l'operatore e i campioni (comprese le pipette) con una soluzione fresca di ipoclorito di sodio al 3% (candeggina) o un detergente per DNA/RNA.<br>Eseguire un ciclo di decontaminazione UV.<br>Utilizzare una nuova provetta di PCR Mix e / o CTR 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 Europeo 2017/746/EC relativo ai dispositivi medici diagnostici *in vitro*. Certificazione rilasciata da TÜV SÜD Product Service GmbH, Germany.



Numero Unico Identificativo del dispositivo



Contenuto sufficiente per "N" test.



Consultare le istruzioni per l'uso



Contenuto.



Tenere lontano dalla luce solare.



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., fabbricante di questo dispositivo, si prega di utilizzare il seguente indirizzo e-mail: [egspa.vigilance@elitechgroup.com](mailto:egspa.vigilance@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](mailto:outlicensing@thermofisher.com).

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

Le tecnologie ELiTe InGenius® e ELiTe BeGenius® sono coperte da brevetti e oggetto di domande di brevetto.

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 all'interno dell'Unione Europea.  
Minitip Flocked Swab® è un marchio registrato di COPAN Italia S.p.A., FecalSwab™ è un marchio di COPAN Italia S.p.A.

## Appendix A Bordetella ELITE MGB Kit used in association with Genius series platforms



### CAUTION

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

### Intended use

The product **Bordetella ELITE MGB® Kit** is an *in vitro* diagnostic medical device intended to be used by healthcare professionals as qualitative multiplex nucleic acids Real-Time PCR assay for the detection and identification of the genomic DNA of ***Bordetella pertussis* (BP)**, ***Bordetella parapertussis* (BPP)** and ***Bordetella holmesii* (BH)**, extracted from clinical specimens.

The assay is validated in association with the **ELITE InGenius®** and **ELITE BeGenius®** instruments, automated and integrated systems for extraction, Real-Time PCR and results interpretation, using human specimens of nasopharyngeal aspirate.

The product is intended for use as an aid in the diagnosis of *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* and *Bordetella holmesii* infections in patients suspected of having a Bordetella infection.

The results must be interpreted in combination with all relevant clinical observations and laboratory outcomes.

### Amplified sequence

| Target for Qualitative Application | Gene                  | Fluorophore  |
|------------------------------------|-----------------------|--------------|
| B. pertussis and B. holmesii       | IS481                 | FAM (CH 1)   |
| B. pertussis                       | promoter of ptxA gene | AP639 (CH 5) |
| B. holmesii                        | recA                  | AP690 (CH 6) |
| B. parapertussis                   | IS1001                | AP593 (CH 4) |
| Internal Control                   | IC2                   | AP525 (CH 2) |

### Validated matrix

- Nasopharyngeal aspirate

### Kit content and related products

| Bordetella ELITE MGB Kit<br>(RTS140ING)                                                                                    | Bordetella - ELITE Positive Control<br>(CTR140ING)                                                                        |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  X 8                                    |  X 3                                   |
| <b>BORD PCR Mix</b><br>8 tubes of 280 µL<br>12 reactions per tube<br>96 reactions per kit<br>7 freeze-thaw cycles per tube | <b>BORD Positive Control</b><br>3 tubes of 160 µL<br>4 reactions per tube<br>12 reactions per kit<br>4 freeze-thaw cycles |

| Bordetella ELITE MGB Kit<br>(RTS140ING) |                  | Bordetella - ELITE Positive Control<br>(CTR140ING) |                  |
|-----------------------------------------|------------------|----------------------------------------------------|------------------|
| Maximum shelf-life:                     | <b>24 months</b> | Maximum shelf-life                                 | <b>24 months</b> |
| Storage temperature                     | <b>≤ -20°C</b>   | Storage temperature                                | <b>≤ -20°C</b>   |

### Other products required not provided in the kit

|                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>ELITE InGenius instrument: INT030</li> <li>ELITE BeGenius instrument: INT040</li> <li>ELITE InGenius SP 200: INT032SP200</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>CPE - Internal Control: CTRCPE</li> <li>ELITE InGenius and ELITE BeGenius Consumables (see ELITE InGenius and ELITE BeGenius Instruction for Use)</li> </ul> |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

### ELITE InGenius and ELITE BeGenius Protocol

|                                                                                                                   |                           |                                                                                                                                  |                           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>Sample volume</li> <li>CPE volume</li> <li>Total elution volume</li> </ul> | 200 µL<br>10 µL<br>100 µL | <ul style="list-style-type: none"> <li>Eluate PCR input volume</li> <li>PCR Mix volume</li> <li>Frequency of controls</li> </ul> | 20 µL<br>20 µL<br>15 days |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|

### ELITE InGenius and ELITE BeGenius Performances

| Target         | Limit of Detection | Sensitivity     | Specificity     |
|----------------|--------------------|-----------------|-----------------|
| B. pertussis   | 12 CFU/mL          | 98.3%<br>57/58* | 100%<br>59/59*  |
| B. holmesii    | 12 CFU/mL          | 100%<br>55/55*  | 100%<br>59/59*  |
| B. paraptussis | 11 CFU/mL          | 100%<br>58/58*  | 98.8%<br>82/83* |

\*confirmed samples / tested samples

### Sample preparation

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

| Sample type             | Transport/Storage conditions    |            |             |             |
|-------------------------|---------------------------------|------------|-------------|-------------|
|                         | +16 / +26 °C (room temperature) | +2 / +8 °C | -20 ± 10 °C | -70 ± 15 °C |
| Nasopharyngeal aspirate | ≤ 2 days                        | ≤ 7 days   | ≤ 1 month   | > 1 month   |

### ELITE InGenius Procedures

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

**Before analysis**

|                                                                                                          |                                                                                                                                                             |                                                                                               |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. Switch on ELiTe InGenius.<br>Log in with username and password.<br>Select the mode “ <b>CLOSED</b> ”. | 2. Verify controls: <b>Positive Control</b> and <b>Negative Control</b> in the “Controls” menu.<br>Note: Both must have been run, approved and not expired. | 3. Thaw the <b>PCR Mix</b> and the <b>CTRCPE</b> tubes.<br>Vortex gently.<br>Spin down 5 sec. |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|

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

|                                                                                                |                                                                               |                                                                            |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|
| 1. Select “Perform Run” on the touch screen                                                    | 2. Verify the extraction volumes:<br>Input: “200 µL”, elution: “100 µL”       | 3. Scan the sample barcodes with hand-barcode reader or type the sample ID |
| 4. Select the “Assay Protocol” of interest: BORD ELiTe_NPA_200_100                             | 5. Select the method “Extract + PCR” and the sample position: Extraction Tube | 6. Load the PCR Mix and the Internal Control in the Inventory Block        |
| 7. Load: PCR Cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip Cassette, Extraction Tube racks | 8. Close the door. Start the run                                              | 9. View, approve and store the results                                     |

**NOTE**

If an Extract Only mode is needed, refer to the instrument user’s manual for procedure.

**Procedure 2: PCR Only (e.g., eluates, controls)**

|                                                                                                      |                                                                         |                                                                            |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|
| 1. Select “Perform Run” on the touch screen                                                          | 2. Verify the extraction volumes:<br>Input: “200 µL”, elution: “100 µL” | 3. Scan the sample barcodes with hand-barcode reader or type the sample ID |
| 4. Select the “Assay Protocol” of interest: BORD ELiTe_NPA_200_100 or BORD ELiTe_PC or BORD ELiTe_NC | 5. Select the method “PCR Only” and the sample position “Elution Tube”  | 6. Load the PCR Mix in the Inventory Block                                 |
| 7. Load: PCR Cassette rack and the Elution tube rack with the extracted nucleic acid                 | 8. Close the door. Start the run                                        | 9. View, approve and store the results                                     |

**ELiTe BeGenius Procedures**

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

**Before analysis**

|                                                                                                          |                                                                                                                                                             |                                                                                               |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. Switch on ELiTe InGenius.<br>Log in with username and password.<br>Select the mode “ <b>CLOSED</b> ”. | 2. Verify controls: <b>Positive Control</b> and <b>Negative Control</b> in the “Controls” menu.<br>Note: Both must have been run, approved and not expired. | 3. Thaw the <b>PCR Mix</b> and the <b>CTRCPE</b> tubes.<br>Vortex gently.<br>Spin down 5 sec. |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|

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

|                                                                                                                                                                   |                                                                                                                             |                                                                                                           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «Extract + PCR»                                                                        | 2. Insert the Sample Rack with the barcoded samples in the Cooler Unit. The barcode scan is already active                  | 3. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "100 µL"                                       |
| 4. Select the "Assay Protocol" of interest: BORD ELiTe_Be_NPA_200_100<br><b>Note:</b> If a second extraction is performed repeat steps from 2 to 4                | 5. Print the labels to barcode the empty elution tubes. Load the tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit | 6. Load the PCR Mix and the Internal Control in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit |
| 7. Load "PCR Rack" with "PCR Cassette" and the "Extraction Basket" with the "ELiTe InGenius SP 200" extraction cartridges and the required extraction consumables | 8. Close the door. Start the run                                                                                            | 9. View, approve and store the results                                                                    |

**NOTE**

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

**Procedure 2: PCR Only (e.g., eluates, controls)**

|                                                                                                               |                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «PCR Only»                         | 2. Load the extracted nucleic acid or controls barcoded tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit | 3. For Controls: for each "Position" enter the "Reagent name" and the "S/N" (serial number), the "Lot No." (lot number), the "Exp.Date" (expiry date) and the "T/R" (number of reactions).<br>For eluates: for each "Position" enter the "Sample ID", the "Sample matrix", the "Extraction kit" and the "Extracted eluate vol." (eluate volume). |
| 4. Select the "Assay Protocol" of interest: BORD ELiTe_Be_NPA_200_100 or BORD ELiTe_Be_PC or BORD ELiTe_Be_NC | 5. Load the PCR-Mix in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit                                   | 6. Load "PCR Rack" with "PCR Cassette"                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 7. Close the door. Start the run                                                                              | 8. View, approve and store the results                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |



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](mailto:emd.support@elitechgroup.com)  
WEB site: [www.elitechgroup.com](http://www.elitechgroup.com)