

Istruzioni per l'uso

JCV ELITe MGB® Kit

reagenti per la Real-Time PCR del DNA



REF RTS176PLD

UDI 08033891484514

CE
0123

IVD

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Rev.	Notifiche dei cambiamenti	Data (gg/mm/aa)
10-R	Aggiornamento per la conformità al Regolamento (UE) 2017/746 sui requisiti dei dispositivi medico-diagnostici in vitro (IVDR). Aggiornamento della destinazione d'uso Allineamento del valore del limite superiore di quantificazione (ULoQ) alle linee guida di Kotton et al. 2024.	25/03/25
09	Aggiornamento dell' Uso Previsto con la descrizione degli strumenti Applied (7300 e 7500 Fast DX).	05/12/24
08	Espansione dell'uso del prodotto in associazione con lo strumento «ELITe BeGenius» (REF INT040) e matrici Liquido cefalorachidiano (CSF) e Urine. Aggiornamento delle CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI: <ul style="list-style-type: none"> aggiornamento valore di LoD per le matrici CSF e urine aggiornamento dell'Intervallo di misurazione lineare per CSF e urine Nuovo formato grafico e nuova impostazione dei contenuti dell' IFU.	13/11/24
07	Espansione dell'uso del prodotto in associazione con lo strumento «ELITe BeGenius» (REF INT040) e matrice Plasma	23/06/22
00-06	Nuovo sviluppo di prodotto e cambiamenti successivi	—

NOTA

I lotti di prodotto identificati dai seguenti numeri di LOT sono ancora sul mercato come da IVDD fino alla loro data di scadenza, secondo l'articolo 110 dell'IVDR. Se disponete di questi lotti di prodotto, contattate il personale di ELITechGroup per richiedere le relative revisioni precedenti delle IFU.

<u>CODICE PRODOTTO</u>	<u>Numero di Lotto</u>	<u>Data di scadenza</u>
RTS176PLD	U1023-033	31/05/2025
RTS176PLD	U0424-106	31/12/2025
RTS176PLD	U1224-058	31/12/2026

I lotti di prodotto del Controllo Positivo e dello Standard ancora immessi sul mercato come da IVDD (identificati dai numeri di LOT riportati nell'IFU del Controllo Positivo e nell'IFU dello Standard) sono tecnicamente compatibili con la nuova versione IVDR del kit di amplificazione e possono essere utilizzati, fino a esaurimento, in associazione con la nuova versione IVDR del kit di amplificazione e in conformità all'uso previsto.

INDICE

1 USO PREVISTO	4
2 PRINCIPIO DEL SAGGIO.....	4
3 DESCRIZIONE DEL PRODOTTO	4
4 MATERIALI INCLUSI NEL PRODOTTO	5
5 MATERIALI RICHIESTI MA NON INCLUSI NEL PRODOTTO.....	5
6 ALTRI PRODOTTI RICHIESTI	5
7 AVVERTENZE E PRECAUZIONI	7
8 CAMPIONI E CONTROLLI	8
9 PROCEDURA ELITe InGenius.....	10
10 PROCEDURA ELITe BeGenius	17
11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI.....	22
12 BIBLIOGRAFIA.....	31
13 LIMITI DELLA PROCEDURA	31
14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI.....	33
15 LEGENDA DEI SIMBOLI	35
16 AVVISO PER L'UTILIZZATORE.....	36
17 AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA	36
Appendix A QUICK START GUIDE.....	37

1 USO PREVISTO

Il prodotto **JCV ELITe MGB® Kit** è un dispositivo medico diagnostico in vitro destinato all'uso da parte degli operatori sanitari come un saggio quantitativo Real Time PCR degli acidi nucleici per **la rilevazione e quantificazione del DNA** del Poliomavirus umano JC (JCV) su campioni di DNA 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 plasma raccolto in EDTA, urine raccolte senza conservanti e liquido cefalorachidiano (CSF).

Il prodotto è destinato all'uso come ausilio nella diagnosi e nel monitoraggio delle infezioni da JCV in pazienti che si sospetta abbiano un'infezione da JCV o che sono sottoposti a monitoraggio.

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 quantitativa per la rilevazione del DNA di JCV, isolato da campioni e amplificato utilizzando il reagente **JCV Q PCR Mix**, che contiene primers e sonde con tecnologia MGB.

Le sonde ELITe MGB sono attivate quando ibridano con il prodotto specifico della PCR. **ELITe InGenius** ed **ELITe BeGenius** monitorano l'incremento di fluorescenza emessa e calcolano i "cicli soglia" (Ct) e le temperature di melting (Tm). La concentrazione del DNA di JCV è calcolata rispetto ad una curva di calibrazione.

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

3 DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

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

- la regione Large T antigen del gene di JCV, rilevata nel canale **JCV**: la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher®, e marcata con il fluoroforo FAM.
- la sequenza artificiale **IC2** del Controllo Interno esogeno, rilevata nel canale **IC**: la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher, e marcata con il fluoroforo AquaPhluor® 525 (AP525).

La **JCV Q — PCR Mix** contiene inoltre il buffer, il cloruro di magnesio, i nucleotidi trifosfati, il fluoroforo AP593 (analogo di ROX o Cy5) come riferimento passivo per la normalizzazione della fluorescenza, l'enzima Uracile-N-glicosidasi (UNG) per inattivare la contaminazione da parte del prodotto di amplificazione e la DNA polimerasi hot-start.

Il prodotto **JCV ELITe MGB Kit** consente di effettuare **96 test** in associazione con **ELITe InGenius** e **ELITe BeGenius**, utilizzando 20 µL per reazione.

NOTA

È necessario un fattore di conversione per esprimere i risultati dell'analisi quantitativa in unità internazionali di JCV, in accordo con il "1st WHO International Standard for JC virus DNA" (codice NIBSC 14/114, Regno Unito).

4 MATERIALI INCLUSI NEL PRODOTTO

Tabella 1

Componente	Descrizione	Quantità	Classificazione dei rischi
JCV Q — PCR Mix cod. RTS176PLD	Miscela di reagenti per la Real-Time PCR, in provetta con tappo naturale	4 x 540 µL	-

5 MATERIALI RICHIESTI MA NON INCLUSI NEL PRODOTTO

- Cappa a flusso laminare.
- Guanti senza polvere monouso in nitrile o materiale analogo.
- Agitatore Vortex.
- Centrifuga da banco (~5,000 giri/minuto).
- Microcentrifuga da banco (~13,000 giri/minuto).
- Micropipette e puntali sterili con filtro per aerosol o a spostamento positivo (0,5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Provette sterili da 2,0 mL con tappo a vite (Sarstedt cod. 72.694.005).
- 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, i DNA standard e i materiali di consumo **non** sono inclusi in questo prodotto.

Per l'estrazione 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
<p>ELITE InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA cod. INT030) ELITE InGenius Software versione 1.3.0.19 (o successiva) JCV ELITE_STD, Assay Protocol (Protocollo di saggio) con i parametri per l'analisi dei Calibratori JCV ELITE_PC, Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Controllo Positivo JCV ELITE_NC, Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Controllo Negativo JCV ELITE_U_200_100, Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di urine JCV ELITE_PL_200_100, Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di plasma JCV ELITE_CSF_200_100, Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di CSF</p>	<p>ELITE InGenius SP 200 (EG SpA, cod. INT032SP200) ELITE InGenius SP 200 Consumable Set (EG SpA, cod. INT032CS) ELITE InGenius PCR Cassette (EG SpA, cod. INT035PCR) ELITE InGenius Waste Box (EG SpA, cod. F2102-000) 300 µL Filter Tips Axygen (Corning Life Sciences Inc., cod. TF-350-L-R-S) solo per ELITE InGenius 1000 µL Filter Tips Tecan (Tecan, Switzerland, cod. 30180118) solo per ELITE BeGenius CPE - Internal Control (EG SpA, cod. CTRCPE) JCV ELITE Standard (EG SpA, cod. STD176PLD) JCV ELITE Positive Control (EG SpA, cod. CTR176PLD)</p>
<p>ELITE BeGenius (EG SpA cod. INT040) ELITE BeGenius Software versione 2.2.1. (o successiva) JCV ELITE_Be_STD, Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei Calibratori JCV ELITE_Be_PC, Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Controllo Positivo JCV ELITE_Be_NC, Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Controllo Negativo JCV ELITE_Be_U_200_100, Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di urine JCV ELITE_Be_PL_200_100, Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di plasma JCV ELITE_Be_CSF_200_100, Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di CSF</p>	

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 di PCR (PCR Cassette) 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

Componente	Temperatura di conservazione	Utilizzo dalla prima apertura	Cicli di congelamento/ scongelamento	Stabilità On board (ELITe InGenius ed ELITe BeGenius)
JCV Q- PCR Mix	-20 °C o inferiore (protetta dalla luce)	entro un mese	fino a cinque	fino a cinque sessioni indipendenti* da tre ore circa ciascuna oppure fino a 7 ore consecutive (2 sessioni di lavoro da 3 ore circa 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** ed **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 3

Campione	Requisiti per la raccolta	Condizioni di trasporto e conservazione			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °CC
urine	senza conservanti	≤ 4 ore	≤ 4 ore	≤ 30 gg	≤ 30 gg
CSF	Evitare la contaminazione con sangue del paziente	≤ 4 ore	≤ 4 ore	≤ 30 gg	≤ 30 gg
plasma	EDTA	≤ 1 g	≤ 3 gg	≤ 30 gg	≤ 30 gg

EDTA, acido etilendiamminotetraacetico, g, giorno

Anche se sono possibili periodi di conservazione più lunghi a -70 °C, come ampiamente riportato dalla letteratura scientifica, la loro applicazione deve essere valutata internamente dagli utilizzatori finali di questo prodotto.

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 4 Assay Protocols per JCV ELITe MGB Kit

Campione	Strumento	Nome Assay Protocol	Report	Caratteristiche
urine	ELITe InGenius	JCV ELITe_U_200_100	copie / mL o IU / mL	Volume estrazione in ingresso: 200 µL Volume eluizione: 100 µL Controllo Interno: 10 µL Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1 Volume PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 10 µL
	ELITe BeGenius	JCV ELITe_Be_U_200_100		
Plasma in EDTA	ELITe InGenius	JCV ELITe_PL_200_100	copie / mL o IU / mL	Volume estrazione in ingresso: 200 µL Volume eluizione: 100 µL Controllo Interno: 10 µL Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1 Volume PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 10 µL
	ELITe BeGenius	JCV ELITe_Be_PL_200_100		
CSF	ELITe InGenius	JCV ELITe_CSF_200_100	copie / mL o IU / mL	Volume estrazione in ingresso: 200 µL Volume eluizione: 100 µL Controllo Interno: 10 µL Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1 Volume PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 10 µL
	ELITe BeGenius	JCV ELITe_Be_CSF_200_100		

IU, unità internazionali

NOTA

Verificare se il tubo primario e il volume del campione sono compatibili con ELITe InGenius o ELITe BeGenius, seguendo le Istruzioni per l'uso del kit di estrazione ELITe InGenius SP200 (EG SpA, rif. INT032SP200).

Quando si usa il tubo primario, il volume del campione varia in base al tipo di tubo caricato, fare riferimento alle istruzioni per l'uso del kit di estrazione per ulteriori informazioni

Quando richiesto, trasferire 200 µL di campione in un Extraction tube (per ELITe InGenius) o in una provetta Sarstedt da 2 mL (per ELITe BeGenius).

NOTA

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

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 disponibili relativi all'inibizione indotta da farmaci e altre sostanze sono riportati al capitolo [11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI pagina 22](#).

Il DNA estratto dal campione non deve contenere eparina, al fine di prevenire il problema dell'inibizione e la possibilità di risultati non validi frequenti.

8.2 Calibratori e Controlli di PCR

Prima di analizzare ogni campione, è obbligatorio generare e approvare la curva di calibrazione per ogni lotto di reagente di PCR:

- come Curva di Calibrazione, utilizzare il prodotto **JCV ELITe Standard** (non fornito in questo kit), in associazione con gli Assay Protocols **JCV ELITe_STD** o **JCV ELITe_Be_STD**

NOTA

Le concentrazioni dei Q – PCR Standards sono espresse in copie / reazione (10^5 copie / rxn, 10^4 copie / rxn, 10^3 copie / rxn, 10^2 copie / rxn). Fare riferimento a “Incertezza della curva standard” nel 11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI pagina 22.

E' obbligatorio generare e approvare i controlli di amplificazione per ogni lotto di reagente di amplificazione:

- come Controllo Positivo di PCR utilizzare il prodotto **JCV - ELITe Positive Control** (non fornito in questo kit), in associazione con gli Assay Protocols **JCV ELITe_PC** e **JCV ELITe_Be_PC**.
- come Controllo Negativo di PCR utilizzare acqua per biologia molecolare (non fornita in questo kit) in associazione con gli Assay Protocols **JCV ELITe_NC** e **JCV ELITe_Be_NC**.

NOTA

ELITe InGenius ed **ELITe BeGenius** richiedono la generazione e l'approvazione della curva di calibrazione e risultati approvati e validi dei controlli di amplificazione per ciascun lotto di reagente di PCR. Le curve di calibrazione scadono dopo **60 giorni** e 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 la curva di calibrazione e l'analisi dei controlli positivi e negativi.

Inoltre, i calibratori e 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** deve essere sottoposto ad un intervento di manutenzione principale.

8.3 Controlli di qualità

Si consiglia la verifica programmata della procedura di estrazione e amplificazione. Si possono utilizzare campioni d'archivio 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 **JCV ELITe MGB Kit** con **ELITe InGenius** si articola in tre fasi:

Tabella 5

FASE 1	Verifica che il sistema sia pronto	
FASE 2	Impostazione della sessione	A) Corsa dei campioni (Extract + PCR)
		B) Corsa dei campioni estratti (PCR Only)
		C) Corsa di Calibrazione (PCR Only)
		D) Corsa del Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR Only)
FASE 3	Esame ed approvazione dei risultati	1) Validazione della curva di calibrazione
		2) Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo
		3) Validazione dei risultati dei campioni
		4) 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 "Calibration" della schermata Home, verificare che i calibratori (**Q - PCR Standard**) siano processati, approvati e validi (Status) per il lotto di **PCR Mix** da utilizzare. Se non sono disponibili Calibratori validi, eseguire la sessione dei calibratori come descritto di seguito
- 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 **JCV 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 di Calibrazione (PCR Only),
- D. Corsa del Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR Only).

Tutti i parametri necessari per la sessione sono inclusi nell'Assay Protocol disponibile sullo strumento e 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 **Q - PCR Mix** a temperatura ambiente per 30 minuti. Ogni provetta contiene un volume sufficiente per **24 test**. 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 quattro tipi di sessione procedere con i seguenti passaggi seguendo le istruzioni visualizzate sull'interfaccia grafica (GUI).

	A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)	B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)
1	<p>Identificare i campioni e, se necessario, scongelarli a temperatura ambiente.</p> <p>Quando richiesto, trasferire 200 µL di campione in un Extraction tube precedentemente etichettato.</p> <p>Scongellare le provette necessarie di controllo interno CPE 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.</p>	<p>Scongellare a temperatura ambiente gli Elution tube con i campioni di DNA estratti da analizzare. Mescolare delicatamente, centrifugare le provette per 5 secondi e conservare in ghiaccio o in blocco freddo.</p>
2	Nella schermata Home, selezionare " Perform Run ".	Nella schermata Home, selezionare " Perform Run ".
3	Verificare che l'"Extraction Input Volume" sia 200 µL e che l'"Extracted Elute Volume" sia 100 µL.	Verificare che l'"Extraction Input Volume" sia 200 µL e che l'"Extracted Elute Volume" sia 100 µL.
4	Per ogni campione, assegnare un "Track" d'interesse e compilare il "SampleID" (SID) digitando o scansionando il codice a barre.	Per ogni campione, assegnare un "Track" d'interesse e compilare il "SampleID" (SID) digitando o scansionando il codice a barre.
5	Nella colonna "Assay" selezionare gli Assay Protocol da utilizzare (si veda paragrafo "Campioni e Controlli").	Nella colonna "Assay" selezionare gli Assay Protocol da utilizzare (si veda paragrafo "Campioni e Controlli").
6	Verificare che nella colonna "Protocol" il protocollo visualizzato sia: "Extract + PCR".	Nella colonna "Protocol" selezionare "PCR Only".
7	Selezionare "Primary tube" o Extraction tube" nella colonna "Sample Position". Verificare che il " Dilution factor " sia "1".	Nella colonna "Sample Position" selezionare "Elution Tube" (bottom row) come posizione in cui caricare il campione. Verificare che il " Dilution factor " sia "1".
8	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
9	Caricare il CPE e la PCR Mix nell' "Inventory Block" selezionato e digitare il numero di lotto, la data di scadenza e il numero di reazioni dei tubi	Caricare la PCR Mix nell' "Inventory Block" selezionato e digitare il numero di lotto, la data di scadenza e il numero di reazioni dei tubi.
10	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
11	Nell'"Inventory Area" controllare/caricare i Tip Rack .	Nell'"Inventory Area" controllare/caricare i Tip Rack .
12	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
13	Caricare le PCR cassette , le cartucce di estrazione "ELITe InGenius SP 200", tutti i materiali di consumo necessari e i campioni da estrarre.	Caricare le PCR cassette e gli Elution tube con i campioni da analizzare.
14	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
15	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.
16	Premere "Start".	Premere "Start".

	C. Corsa di Calibrazione (PCR Only)	D. Corsa del Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR Only)
1	Scongellare le provette di Q-PCR Standard (Cal1: Q-PCR Standard 10 ² , Cal2: Q-PCR Standard 10 ³ , Cal3: Q-PCR Standard 10 ⁴ , Cal4: Q-PCR Standard 10 ⁵) a temperatura ambiente per 30 minuti. Mescolare delicatamente, centrifugare le provette per 5 secondi e conservare in ghiaccio o in blocco freddo.	Scongellare 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). Preparare il Controllo Negativo trasferendo almeno 50 µL di acqua per biologia molecolare in un Elution tube, fornito con il prodotto ELITe InGenius SP 200 Consumable Set.
2	Nella schermata Home, selezionare " Perform Run ".	Nella schermata Home, selezionare " Perform Run ".
3	Verificare che l'"Extraction Input Volume" sia 200 µL e che l'"Extracted Elute Volume" sia 100 µL.	Verificare che l'"Extraction Input Volume" sia 200 µL e che l'"Extracted Elute Volume" sia 100 µL.
4	Nella colonna "Assay" selezionare gli Assay Protocol da utilizzare (si veda paragrafo "Campioni e Controlli") e digitare il numero di lotto e la data di scadenza del Q-PCR Standard.	Nella colonna "Assay" selezionare gli Assay Protocol 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.
5	Verificare che nella colonna "Protocol" il protocollo visualizzato sia: "PCR Only".	Verificare che nella colonna "Protocol" il protocollo visualizzato sia: "PCR Only".
6	Verificare nella colonna "Sample Position" che la posizione sia "Elution Tube".	Verificare nella colonna "Sample Position" che la posizione sia "Elution Tube".
7	Caricare la PCR Mix nell' "Inventory Block" selezionato e digitare il numero di lotto della PCR Mix, la data di scadenza e il numero di reazioni dei tubi.	Caricare la PCR Mix nell' "Inventory Block" selezionato e digitare il numero di lotto della PCR Mix, la data di scadenza e il numero di reazioni dei tubi.
8	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
9	Nell'"Inventory Area" controllare/caricare i Tip Rack .	Nell'"Inventory Area" controllare/caricare i Tip Rack .
10	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
11	Caricare le PCR cassette e le provette per il Q-PCR Standard.	Caricare le PCR cassette e le provette per il Controllo Positivo ed il Controllo Negativo.
12	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
13	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.
14	Premere "Start".	Premere "Start".

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 ± 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 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 **Q - PCR Standard**, chiuderle e conservarle a -20 °C o temperatura inferiore. Evitare la fuoriuscita accidentale del Q - PCR Standards.

NOTA

I **Q-PCR Standard** possono essere utilizzati per 4 sessioni di lavoro indipendenti da 2 ore ciascuna.

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 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 **JCV ELITE MGB Kit** attraverso la seguente procedura:

1. Validazione della Curva di Calibrazione,
2. Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo,
3. Validazione dei risultati dei campioni,
4. Refertazione dei risultati dei campioni.

9.3.1 Validazione della Curva di Calibrazione

Il **software di ELITE InGenius** interpreta i risultati di PCR per il target dei calibratori con i parametri inclusi nell'Assay Protocol **ELITE_STD**. Il Ct risultante rispetto alla concentrazione genera la curva di calibrazione.

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

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

NOTA

Se la curva di calibrazione non soddisfa i criteri di accettazione, sulla schermata "Calibration" si visualizza il messaggio "Failed" che ne impedisce l'approvazione. Le reazioni di amplificazione del calibratore devono essere ripetute. Se la curva di calibrazione viene processata insieme ai campioni da testare e il risultato non è valido, l'intera sessione non è valida. In tal caso, anche l'amplificazione di tutti i campioni deve essere ripetuta.

9.3.2 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 convertiti in concentrazione e 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 le Carte di Controllo. Quattro risultati approvati di controllo positivo e controllo negativo vengono utilizzati per impostare la carta di controllo iniziale. Per i controlli successivi, i risultati vengono analizzati dal software per garantire che le prestazioni del sistema rientrino nei criteri di accettazione, mostrati nei grafici della Carta di controllo. 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, anche l'amplificazione di tutti i campioni deve essere ripetuta.

9.3.3 Validazione dei risultati dei campioni

Il software **ELITE InGenius** interpreta i risultati di amplificazione del target (Canale **JCV**) e del controllo Interno (Canale **IC**) con i parametri inclusi negli Assay Protocol **JCV ELITE_U_200_100**, **JCV ELITE_PL_200_100** e **JCV ELITE_CSF_200_100**. I valori dei Ct ottenuti sono convertiti in valori di concentrazione.

I risultati vengono mostrati nella schermata "Results Display".

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

Tabella 6

1) Curva di Calibrazione	Stato
JCV Q-PCR Standard	APPROVATA
2) Controllo Positivo	Stato
JCV Positive Control	APPROVATO
3) Controllo Negativo	Stato
JCV 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 7

Risultato di una sessione sul campione	Interpretazione
JCV:DNA rilevato, quantità pari a "XXX" copie / mL o IU/mL	Il DNA di JCV è stato rilevato nel campione nell'intervallo di misurazione del saggio, nella quantità mostrata.
JCV:DNA rilevato, quantità inferiore a LLoQ copie/mL o IU/mL	Il DNA di JCV è stato rilevato nel campione al di sotto del limite inferiore di quantificazione (LLoQ) del saggio
JCV:DNA rilevato, quantità oltre ULoQ copie/mL o IU/mL	Il DNA di JCV è stato rilevato nel campione oltre il limite superiore di quantificazione (ULoQ) del saggio.
JCV:DNA non rilevato o inferiore a LoD copie/mL o IU/mL	Il DNA di JCV non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per il DNA di JCV oppure la sua concentrazione è inferiore al Limite di Rilevazione (LoD) del saggio.
Non Valido-Ripeti test su campione	Risultato del saggio non valido per un errore del controllo interno (es: 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, estrazione o amplificazione (e. g. 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 33](#)).

I campioni segnalati come "JCV:DNA non rilevato o inferiore a LoD copie/mL o IU/mL" sono idonei per l'analisi, ma non è stato possibile rilevare il DNA di JCV". In tal caso non si può escludere che il DNA di JCV sia presente ad una concentrazione inferiore al limite di rilevabilità del saggio (vedi [11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI pagina 22](#)).

I campioni positivi per il DNA di JCV ad una concentrazione inferiore al limite di rilevazione (e al limite inferiore di quantificazione), quando sono rilevati dal saggio, sono identificati nel report come "JCV: DNA Rilevato, quantità inferiore a LLoQ copie/mL o IU/mL" (vedi [11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI pagina 22](#)).

I campioni positivi per il DNA di JCV ad una concentrazione all'interno del Range di misurazione lineare sono identificati nel report come "JCV: DNA rilevato, quantità pari a "XXX" copie / mL o IU/mL" (vedi [11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI pagina 22](#)).

I campioni positivi per il DNA di JCV ad una concentrazione oltre il limite superiore di quantificazione (ULoQ) del saggio sono identificati nel report come "JCV:DNA rilevato, quantità oltre ULoQ copie / mL o IU/mL" e non sono validi ai fini della quantificazione (vedi [11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI pagina 22](#)). Se necessario, il campione può essere diluito prima dell'estrazione o la PCR e ritestato al fine di ottenere risultati all'interno del range di misurazione lineare del saggio.

NOTA

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

9.3.4 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 per l'utilizzo del prodotto **JCV ELITe MGB Kit** con **ELITe BeGenius** si articola in tre fasi:

Tabella 8

FASE 1	Verifica che il sistema sia pronto	
FASE 2	Impostazione della sessione	A) Corsa dei campioni (Extract + PCR)
		B) Corsa dei campioni estratti (PCR Only)
		C) Corsa di Calibrazione (PCR Only)
		D) Corsa del Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR Only)
FASE 3	Esame ed approvazione dei risultati	1) Validazione della curva di calibrazione
		2) Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo
		3) Validazione dei risultati dei campioni
		4) 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 "Calibration" della schermata Home, verificare che i Calibratori (**Q - PCR Standard**) siano processati, approvati e validi (Status) per il lotto di **PCR Mix** da utilizzare. Se non sono disponibili Calibratori validi, eseguire la sessione dei calibratori come descritto di seguito.
- 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 **JCV ELITe MGB Kit** può essere utilizzato con **ELITe BeGenius** per eseguire:

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

Tutti i parametri necessari per la sessione sono inclusi nell'Assay Protocol disponibile sullo strumento e sono richiamati automaticamente quando si seleziona l'Assay Protocol.

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 **Q - PCR Mix** a temperatura ambiente per 30 minuti. Ogni provetta contiene un volume sufficiente per **24 test**. 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 quattro tipi di sessione procedere con i seguenti passaggi seguendo le istruzioni visualizzate sull'interfaccia grafica (GUI).

	A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)	B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)
1	Identificare i campioni e, se necessario, scongelarli a temperatura ambiente. Quando richiesto, trasferire 200 µL di campione in un Tubo Sarstedt da 2 mL precedentemente etichettato Scongela le provette necessarie di controllo interno CPE 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.	Scongela a temperatura ambiente gli "Elution tube" con i campioni di DNA estratti da analizzare. Mescolare delicatamente, centrifugare le provette per 5 secondi, conservare in ghiaccio o in blocco freddo.
2	Nella schermata Home, selezionare "Perform Run" .	Nella schermata Home, selezionare "Perform Run" .
3	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.
4	Selezionare il "Run mode": "Extract + PCR" .	Selezionare il "Run mode": "PCR Only" .
5	Caricare i campioni nel "Sample Rack" . (Nota: quando si utilizzano tubi secondari "2 mL Tube" utilizzare gli adattatori blu per il "Sample Rack").	Caricare gli eluati dei campioni estratti nell' "Elution Rack" .
6	Inserire il "Sample Rack" nella "Cooler Unit" partendo dalla "Lane 5" (L5). Se necessario, per ogni "Position" d'interesse inserire il "SampleID" (SID). (Se si utilizzano tubi secondari, selezionare "2 mL Tube". Se il tubo secondario non ha etichetta o barcode, digitare manualmente il SID).	Inserire il "Elution Rack" nella "Cooler Unit" partendo dalla "Lane 3" (L3). Se necessario, per ogni "Position" d'interesse compilare il "SampleID" (SID), "Sample Matrix", "Extraction Kit", "Extracted Eluate Vol.".
7	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
8	Verificare che "Extraction Input Volume" sia impostato a 200 µL e che l'"Extracted Elute Volume" sia impostato a 100 µL.	Verificare che "Extraction Input Volume" sia impostato a 200 µL e che l'"Extracted Elute Volume" sia impostato a 100 µL.
9	Nella colonna "Assay" selezionare gli Assay Protocol da utilizzare.	Nella colonna "Assay" selezionare gli Assay Protocol da utilizzare.
10	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
11	Quando devono essere analizzati più di 12 campioni, ripetere la procedura dal punto 6.	Quando devono essere analizzati più di 12 campioni, ripetere la procedura dal punto 6.

	A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)	B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)
12	Caricare gli “Elution tube” nell’ “Elution Rack” .	Non applicabile
13	Inserire l’ “Elution Rack” nella “Cooler Unit” partendo dalla “Lane 3” (L3). In caso di un numero di campioni maggiore di 12, ripetere usando “Lane 2” (L2).	Non applicabile
14	Fare clic su “Next” per proseguire.	Non applicabile
15	Caricare il CPE e la PCR Mix nel “Reagent/Elution Rack” .	Caricare la PCR Mix nel “Reagent/Elution Rack” .
16	Inserire il “Reagent/Elution Rack” nella “Cooler Unit” nella “Lane 2” (L2) se disponibile o nella “Lane 1” (L1). Se necessario, per ogni PCR Mix e / o CPE inserire “S/N”, “Lot No.”, “Exp. Date”, “T/R” (numero reazioni del tubo).	Inserire il “Reagent/Elution Rack” nella “Cooler Unit” nella “Lane 2” (L2) se disponibile o nella “Lane 1” (L1). Se necessario, per ogni PCR Mix inserire “S/N”, “Lot No.”, “Exp. Date”, “T/R” (numero reazioni del tubo).
17	Fare clic su “Next” per proseguire.	Fare clic su “Next” per proseguire.
18	Nell’ “Inventory Area” controllare / caricare i “Tip Rack” .	Nell’ “Inventory Area” controllare / caricare i “Tip Rack” .
19	Fare clic su “Next” per proseguire.	Fare clic su “Next” per proseguire.
20	Caricare il “PCR Rack” con le “PCR Cassette” nell’ Inventory Area .	Caricare il “PCR Rack” con le “PCR Cassette” nell’ Inventory Area .
21	Fare clic su “Next” per proseguire	Fare clic su “Next” per proseguire
22	Caricare l’ “Extraction Rack” con le cartucce di estrazione “ELITe InGenius SP 200” e i consumabili richiesti.	Non applicabile
23	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.
24	Premere “Start” .	Premere “Start” .

	C. Corsa di Calibrazione (PCR Only)	D. Corsa del Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR Only)
1	Scongellare le provette di Q-PCR Standard (Cal1: Q-PCR Standard 10 ² , Cal2: Q-PCR Standard 10 ³ , Cal3: Q-PCR Standard 10 ⁴ , Cal4: Q-PCR Standard 10 ⁵) a temperatura ambiente per 30 minuti. Mescolare delicatamente, centrifugare le provette per 5 secondi e conservare in ghiaccio o in blocco freddo.	Scongellare 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 preparare 4 reazioni). Preparare il Controllo Negativo trasferendo almeno 50 µL di acqua per biologia molecolare in un "Elution tube" , fornito con il prodotto ELITe InGenius SP 200 Consumable Set.
2	Nella schermata Home, selezionare "Perform Run" .	Nella schermata Home, selezionare "Perform Run" .
3	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.
4	Selezionare il "Run mode": "PCR Only" .	Selezionare il "Run mode": "PCR Only" .
5	Caricare le provette di Q-PCR Standard nell' "Elution Rack".	Caricare le provette di Controllo Positivo e di Controllo Negativo nell' "Elution Rack".
6	Inserire l' "Elution Rack" nella "Cooler Unit" partendo dalla "Lane 3" (L3). Se necessario, per ogni "Position" d'interesse compilare il "SampleID" (SID), "Sample Matrix", "Extraction Kit", "Extracted Eluate Vol.".	Inserire l' "Elution Rack" nella "Cooler Unit" partendo dalla "Lane 3" (L3). Se necessario, per ogni "Position" d'interesse compilare il "SampleID" (SID), "Sample Matrix", "Extraction Kit", "Extracted Eluate Vol.".
7	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
8	Verificare che "Extraction Input Volume" sia impostato a 200 µL e che l' "Extracted Elute Volume" sia impostato a 100 µL.	Verificare che "Extraction Input Volume" sia impostato a 200 µL e che l' "Extracted Elute Volume" sia impostato a 100 µL.
9	Nella colonna "Assay" selezionare gli Assay Protocol da utilizzare.	Nella colonna "Assay" selezionare gli Assay Protocol da utilizzare.
10	Click "Next" to continue.	Fare clic su "Next" per proseguire.
11	Caricare la PCR Mix nel "Reagent/Elution Rack".	Caricare la PCR Mix nel "Reagent/Elution Rack".
12	Inserire il "Reagent/Elution Rack" nella "Cooler Unit" nella "Lane 2" (L2) se disponibile o nella "Lane 1" (L1). Se necessario, per ogni PCR Mix inserire "S/N" (numero seriale), "Lot No.", "Exp. Date", "T/R" (numero reazioni del tubo).	Inserire il "Reagent/Elution Rack" nella "Cooler Unit" nella "Lane 2" (L2). Se necessario, per ogni PCR Mix inserire "S/N" (numero seriale), "Lot No.", "Exp. Date", "T/R" (numero reazioni del tubo).
13	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
14	Nell' "Inventory Area" controllare / caricare i "Tip Rack" .	Nell' "Inventory Area" controllare / caricare i "Tip Rack" .
15	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
16	Caricare il "PCR Rack" con le "PCR Cassette" nell' Inventory Area.	Caricare il "PCR Rack" con le "PCR Cassette" nell' Inventory Area.
17	Fare clic su "Next" per proseguire	Fare clic su "Next" per proseguire
18	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.
19	Premere "Start".	Premere "Start".

Dopo il completamento della procedura, **ELITe BeGenius** 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 ± 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 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 **Q - PCR Standard**, chiuderle e conservarle a -20 °C o temperatura inferiore. Evitare la fuoriuscita accidentale del Q - PCR Standards.

NOTA

I **Q-PCR Standard** possono essere utilizzati per 4 sessioni di lavoro indipendenti da 2 ore ciascuna.

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.

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 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 **JCV ELiTe MGB Kit** attraverso la seguente procedura:

1. Validazione della Curva di Calibrazione
2. Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo
3. Validazione dei risultati dei campioni
4. 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 di rilevabilità

Il Limite di Rilevazione (LoD) del saggio in associazione con Plasma EDTA e Urine è stato determinato in associazione a ELITe GALAXY e verificato su ELITe InGenius ed ELITe BeGenius su tutte e tre le matrici (Plasma EDTA, Urine e CSF), testando 20 replicati di ciascuna matrice positivizzati con materiale di riferimento certificato per JCV (1st WHO International Standard, NIBSC, code 14/114, United Kingdom).

I risultati sono riportati nella tabella seguente. I risultati per ciascuna matrice sono riportati nella tabella seguente.

Tabella 9 Limite di Rilevazione

campionii	Titolo (IU / mL)
Plasma EDTA	275
Urine	215
liquido cefalorachidiano	215

campionii	Titolo (copies / mL)
Plasma EDTA	306
Urine	165
liquido cefalorachidiano	239

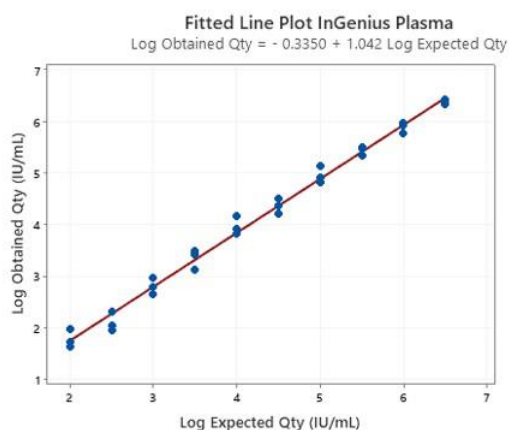
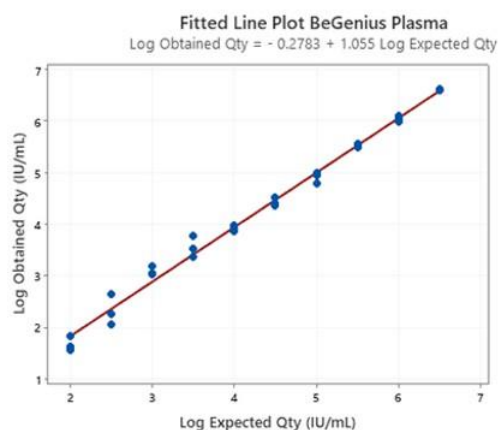
Il valore in copie / mL per ciascuna matrice è stato calcolato applicando il fattore di conversione specifico riportato in [11.10 Fattore di Conversione alle Unità Internazionali pagina 27](#)

11.2 Intervallo di misurazione lineare e Limite di Quantificazione

L'intervallo di misurazione lineare del saggio è stato determinato in associazione con le matrici Plasma EDTA, Urine e CSF su ELITe InGenius ed ELITe BeGenius, utilizzando un pannello di diluizioni di materiale di riferimento (1st WHO International Standard, NIBSC) in campioni negativi per JCV.

I risultati, per ciascuna matrice, sono riportati nei paragrafi seguenti.

Plasma raccolto in EDTA



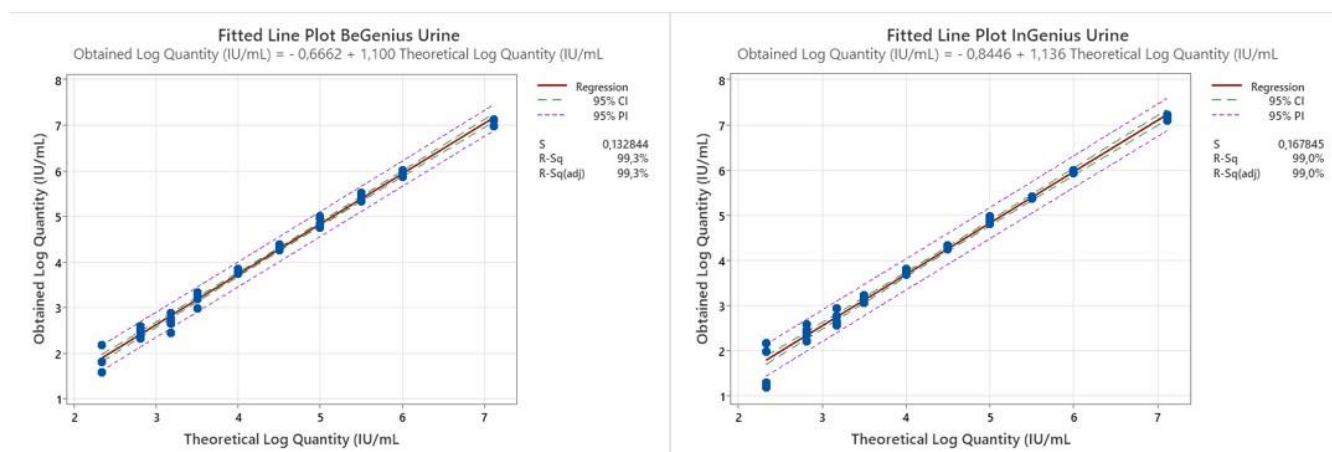
L'intervallo di misurazione lineare in copie / mL per Plasma è stato calcolato applicando il fattore di conversione specifico riportato al paragrafo [11.10 Fattore di Conversione alle Unità Internazionali pagina 27](#)

I risultati finali sono riportati nella tabella seguente.

Tabella 10 Intervallo di misurazione lineare per plasma

Unità di misura	Limite inferiore	Limite superiore
IU / mL	275	3,162,000
copie / mL	306	3,513,333

Urine

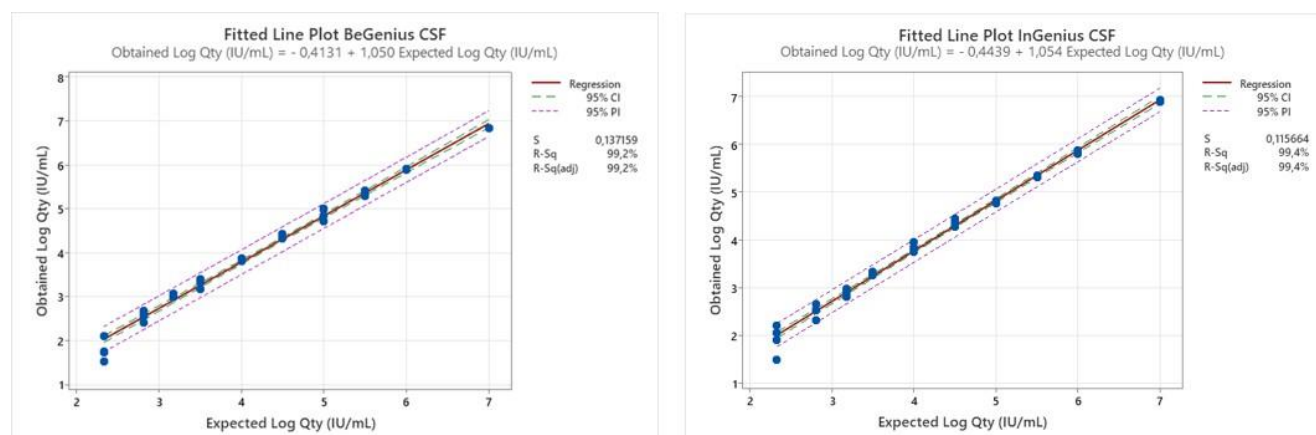


L'intervallo di misurazione lineare in copie / mL per Urine è stato calcolato applicando il fattore di conversione specifico riportato al paragrafo [11.10 Fattore di Conversione alle Unità Internazionali pagina 27](#)

I risultati finali sono riassunti nella tabella seguente.

Unità di misura	Limite inferiore	Limite superiore
IU / mL	215	13,000,000
copie / mL	165	10,000,000

CSF



L'intervallo di misurazione lineare in copie / mL per CSF è stato calcolato applicando il fattore di conversione specifico riportato al paragrafo [11.10 Fattore di Conversione alle Unità Internazionali pagina 27](#)

I risultati finali sono riassunti nella seguente tabella.

Unità di misura	Limite inferiore	Limite superiore
IU/ mL	215	10,000,000
copie / mL	239	11,111,111

11.3 Incertezza della Curva Standard

Il valore di incertezza della Curva Standard è stato calcolato combinando gli errori casuali (SD) di tutte le quantificazioni dei livelli e moltiplicandoli per il fattore di copertura $k = 2$ (Incertezza Combinata Estesa) ed è pari a 0,2036 Log copie / reazione.

Tabella 11

Livelli di curva standard	Teorico	SD	Incertezza Combinata Estesa
	Log c/rxn		
JCV Q -PCR Standard 10^5	5,0000	0,0439	0,2036
JCV Q -PCR Standard 10^4	4,0000	0,0379	
JCV Q -PCR Standard 10^3	3,0000	0,0330	
JCV Q -PCR Standard 10^2	2,0000	0,0769	

11.4 Inclusività

L'inclusività del saggio, come efficienza di rilevazione su ceppi ed isolati differenti di *Polyomavirus JC* è stata valutata mediante analisi *in silico* delle sequenze disponibili nei database dei nucleotidi. L'analisi ha mostrato conservazione di sequenza e assenza di mutazioni significative. Pertanto, è prevedibile l'efficienza di rilevazione per i diversi ceppi o isolati.

11.5 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 indesiderati (virus, batteri, protozoi e funghi) e pertanto non sono attese cross-reattività,

11.6 Organismi potenzialmente interferenti: Inibizione

La potenziale inibizione da parte di organismi diversi che possono essere trovati nei campioni clinici è stata valutata per il saggio mediante analisi *in silico*.

L'analisi non ha mostrato alcuna omologia significativa con altri organismi indesiderati (virus, batteri, fagi, funghi e invertebrati). Pertanto, non sono attese inibizioni.

11.7 Sostanze potenzialmente interferenti: Inibizione

La potenziale inibizione di sostanze interferenti (endogene e 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 positivi per JCV.

I risultati, per ciascuna matrice, sono riportati nelle tabelle seguenti.

Tabella 12 Plasma

Campioni	JCV Pos. / Rep.	Esito
Azitromicina	5/5	Nessuna interferenza
Ganciclovir	5/5	Nessuna interferenza
Ribavirin	5/5	Nessuna interferenza
Abacavir Sulphate	5/5	Nessuna interferenza
Cidofovir	5/5	Nessuna interferenza
Cyclosporine A	5/5	Nessuna interferenza
Heparin	5/5	Interferenza*
EDTA	5/5	Nessuna interferenza
Bilirubin	5/5	Nessuna interferenza

*nonostante 5/5 replicati siano risultati positivi, l'inibizione da eparina è stata osservata durante il calcolo del bias (bias: 0,8979).

Tutte le sostanze testate, con l'eccezione dell'eparina, non interferiscono con la rilevazione e quantificazione di JCV o del Controllo Interno utilizzando il JCV ELITe MGB Kit con campioni di plasma.

Tabella 13 Urine

Campioni	JCV Pos. / Rep.	Esito
Whole Human Blood	5/5	Nessuna interferenza
Phenazopyridine hydrochloride	5/5	Nessuna interferenza
Azithromycin	5/5	Nessuna interferenza
Bilirubin	5/5	Nessuna interferenza

Tutte le sostanze testate non interferiscono con la rilevazione e la quantificazione di JCV o del Controllo Interno utilizzando il JCV ELITe MGB Kit con campioni di Urine.

Tabella 14 CSF

Campioni	JCV Pos. / Rep.	Esito
Ethanol	5/5	Nessuna interferenza
Whole Human Blood	5/5	Nessuna interferenza
Ganciclovir	5/5	Nessuna interferenza
Vancomycin	5/5	Nessuna interferenza
Azithromycin	5/5	Nessuna interferenza
Acyclovir	5/5	Nessuna interferenza
Ampicillin	5/5	Nessuna interferenza
Fluconazole	5/5	Nessuna interferenza
Cyclosporine A	5/5	Nessuna interferenza

Tutte le sostanze testate non interferiscono con la rilevazione e la quantificazione di JCV o del Controllo Interno utilizzando il JCV ELITE MGB Kit con campioni di CSF.

11.8 Ripetibilità

La ripetibilità Intra-Sessione e Inter-Sessione del saggio è stata valutata su ELITE InGenius ed ELITE BeGenius mediante l'analisi di un pannello di campioni di Plasma raccolti in EDTA, comprendente un campione negativo e due campioni positivizzati con materiale di riferimento certificato di JCV (1st WHO International Standard, NIBSC).

Un esempio di risultati di ripetibilità Intra-Sessione (su un giorno) è mostrato nelle tabelle seguenti.

Tabella 15 Ripetibilità Intra-Sessione su ELITE InGenius

Campione	N	Ct medio	DS	% CV	% Concordanza
Negativo	8	N.A.	N.A.	N.A.	100%
3 x LoD	8	35,38	0,82	2,33	
10 x LoD	8	33,75	0,62	1,84	

Tabella 16 Ripetibilità Intra-Sessione su ELITE BeGenius

Campione	N	Ct medio	DS	% CV	% Concordanza
Negativo	8	N.A.	N.A.	N.A.	100%
3 x LoD	8	35,61	0,60	1,68	
10 x LoD	8	33,89	0,20	0,60	

Un esempio di risultati di ripetibilità Inter-Sessione (su due giorni) è mostrato nelle tabelle seguenti.

Tabella 17 Ripetibilità Inter – Sessione su ELITE InGenius

Campione	N	Ct medio	DS	% CV	% Concordanza
Negativo	16	N.A.	N.A.	N.A.	100%
3 x LoD	16	35,40	0,75	2,11	
10 x LoD	16	33,66	0,69	2,05	

Tabella 18 Ripetibilità Inter – Sessione su ELITE BeGenius

Campione	N	Ct medio	DS	% CV	% Concordanza
Negativo	16	N.A.	N.A.	N.A.	100%
3 x LoD	16	35,60	0,56	1,57	
10 x LoD	16	33,78	0,29	0,86	

Nel test di Ripetibilità, il JCV ELITE MGB Kit ha rilevato tutti i campioni come atteso e ha mostrato una variabilità massima dei valori di target Ct come %CV inferiore al 5%.

11.9 Riproducibilità

La riproducibilità del saggio è stata valutata su **ELITe InGenius** ed **ELITe BeGenius** mediante l'analisi di un pannello di campioni di Plasma, comprendente un campione negativo e due campioni positivizzati con materiale di riferimento certificato di JCV (1st WHO International Standard, NIBSC).

Un riassunto dei risultati di Riproducibilità Inter-Strumento (su due strumenti) è mostrato nelle tabelle seguenti.

Tabella 19 Riproducibilità Inter-Strumento con ELITe InGenius

Campione	N	Ct medio	DS	% CV	% Concordanza
Negative	8	N.A.	N.A.	N.A.	100%
3 x LoD	8	35,88	0,24	0,66	
10 x LoD	8	33,56	0,52	1,55	

Tabella 20 Riproducibilità Inter-Strumento con ELITe BeGenius

Campione	N	Ct medio	DS	% CV	% Concordanza
Negative	8	N.A.	N.A.	N.A.	100%
3 x LoD	8	35,54	0,75	2,12	
10 x LoD	8	33,78	0,51	1,50	

Un riassunto dei risultati di Riproducibilità Inter-Lotto (su due lotti) è mostrato nelle tabelle seguenti.

Tabella 21 Riproducibilità Inter-Lotto con ELITe InGenius

Campione	N	Ct medio	DS	% CV	% Concordanza
Negative	8	N.A.	N.A.	N.A.	100%
3 x LoD	8	35,76	0,35	0,98	
10 x LoD	8	33,77	0,45	1,34	

Tabella 22 Riproducibilità Inter-Lotto con ELITe BeGenius

Campione	N	Ct medio	DS	% CV	% Concordanza
Negative	8	N.A.	N.A.	N.A.	100%
3 x LoD	8	35,74	0,59	1,65	
10 x LoD	8	33,64	0,49	1,46	

Nel test di Riproducibilità il JCV ELITe MGB Kit ha rilevato tutti i campioni come atteso ed ha mostrato una variabilità massima dei valori del target Ct come %CV inferiore al 5%.

11.10 Fattore di Conversione alle Unità Internazionali

Il fattore di conversione per riportare il risultato quantitativo in Unità Internazionali / mL partendo da copie / mL, è stato calcolato per ciascuna matrice testando un pannello di diluizioni di materiale di riferimento calibrato certificato (1st WHO International Standard, NIBSC).

I risultati per ciascuna matrice sono riassunti nella tabella seguente.

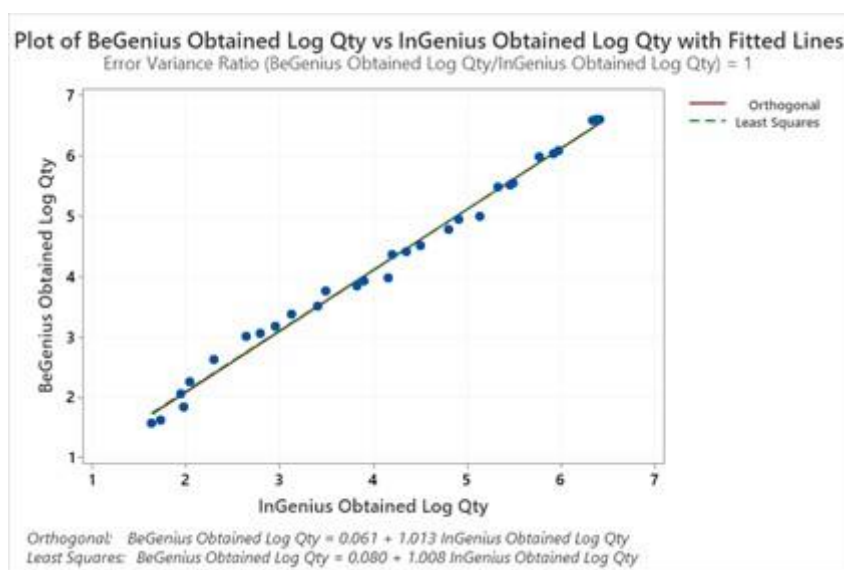
Tabella 23 Fattore di Conversione alle Unità Internazionali con ELITe InGenius

Matrice	Fc (IU / copie)
urine	1,3
plasma	0,9
liquido cerebrospinale	0,9

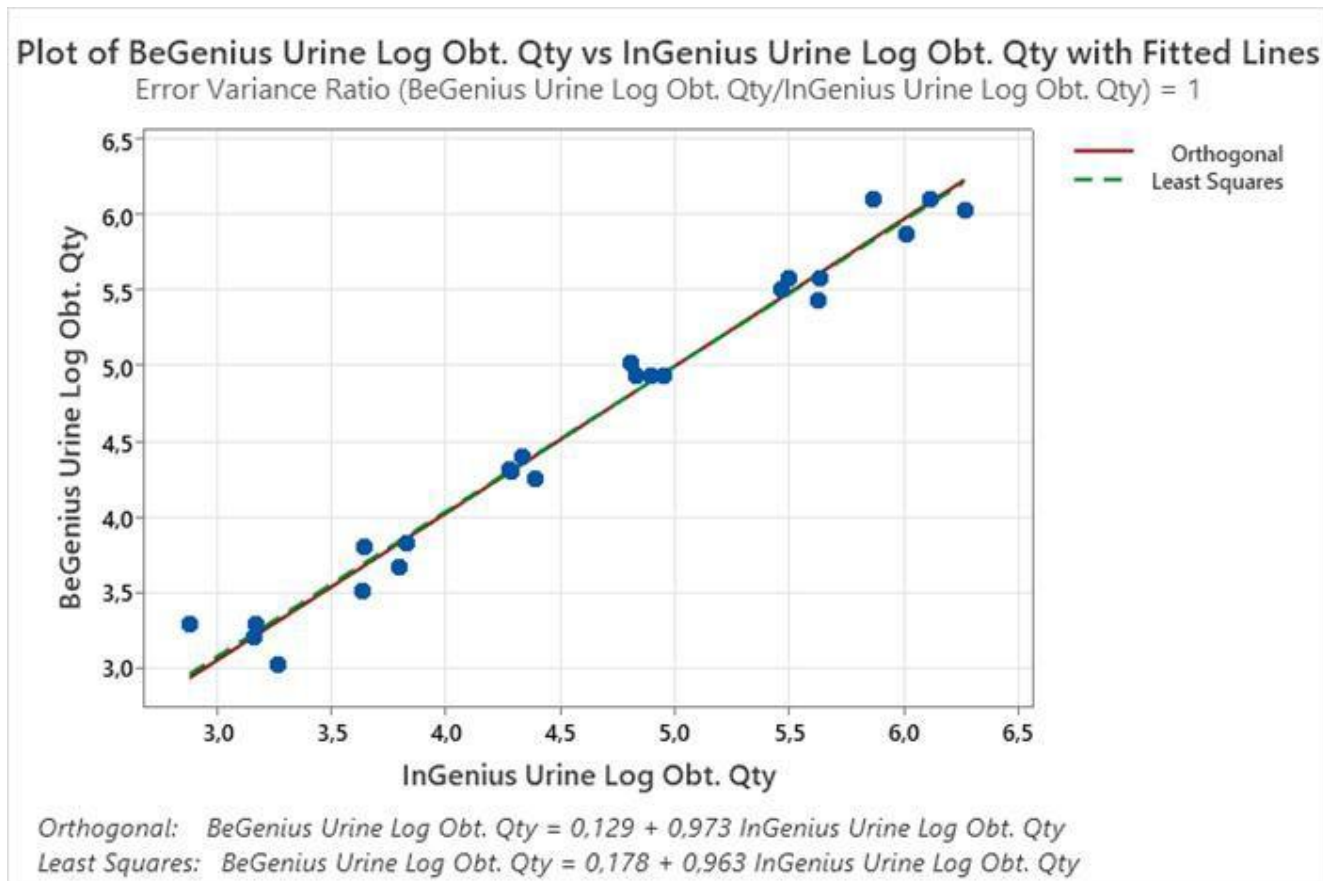
I risultati ottenuti sono stati analizzati mediante regressione ortogonale e lineare al fine di calcolare la correlazione tra i due metodi.

I risultati, per ogni matrice, sono riportati nei paragrafi seguenti.

Plasma

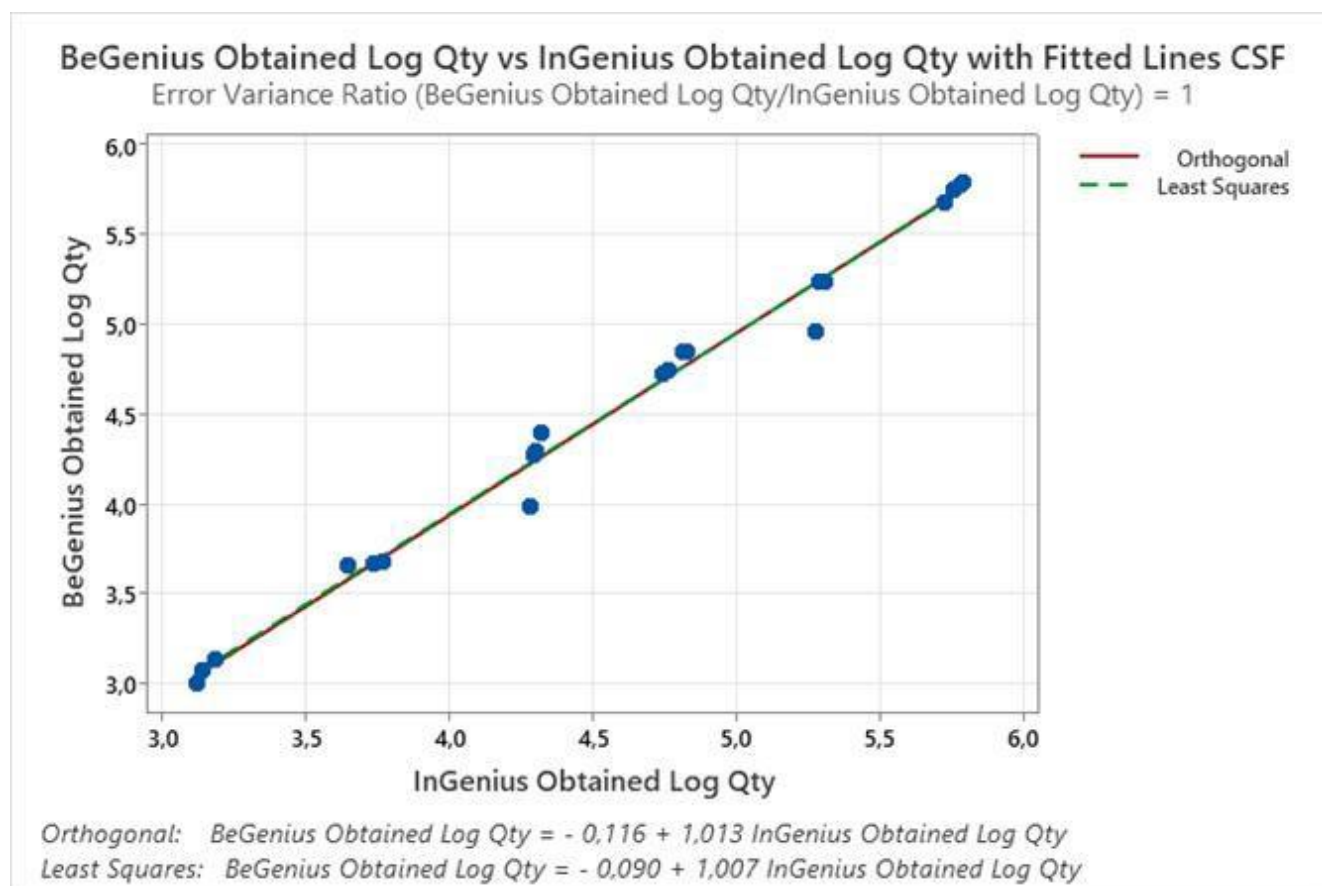


L'analisi della regressione ortogonale ha generato un'intercetta pari a 0.061 (95% CI: -0.093; 0.215) e una pendenza pari a 1.013 (95% CI: 0.977; 1.048).

Urine

L'analisi della regressione ortogonale ha generato un'intercetta pari a 0.129 (95% CI: 0.161, 0.419) e una pendenza pari a 0.973 (95% CI: 0.912, 1.035).

CSF



L'analisi della regressione ortogonale ha generato un'intercetta pari a 0.116 (95% CI: 0.331; 0.100) e una pendenza pari a 1.013 (95% CI: 0.967; 1.059).

11.11 Sensibilità Diagnostica: conferma dei campioni positivi

La Sensibilità Diagnostica del saggio, come conferma dei campioni clinici positivi, è stata valutata in associazione con ELITe InGenius testando campioni clinici certificati positivi per il DNA di JCV o positivizzati per il DNA di JCV con materiale di riferimento. Poiché ELITe BeGenius ha mostrato prestazioni analitiche equivalenti a ELITe InGenius, si può assumere che i risultati della Sensibilità Diagnostica ottenuti in associazione con ELITe InGenius siano anche applicabili ad ELITe BeGenius.

I risultati sono riassunti nella tabella seguente.

Tabella 24

Campioni	N	positivi	negativi	Sensibilità Diagnostica %
Plasma raccolto in EDTA positivo per JCV DNA,	1	1	0	98%
Plasma raccolto in EDTA positivizzato per JCV DNA	50	49	1	
Urine raccolte senza conservanti positivo per JCV DNA	33	31	2	96,5%
Urine raccolte senza conservanti positivizzate per JCV DNA	24	24	0	

Tabella 24 (segue)

Campioni	N	positivi	negativi	Sensibilità Diagnostica %
Liquido Cerebrospinale positivizzato per JCV DNA	11	11	0	100%
Liquido Cerebrospinale positivo per JCV DNA	48	48	0	

11.12 Specificità Diagnostica: conferma dei campioni negativi

La Specificità Diagnostica del saggio, come conferma dei campioni clinici negativi, è stata valutata in associazione con ELITE InGenius testando campioni clinici certificati negativi per il DNA di JCV. Poiché ELITE BeGenius ha mostrato prestazioni analitiche equivalenti a ELITE InGenius, si può assumere che i risultati della Specificità Diagnostica ottenuti in associazione con ELITE InGenius siano anche applicabili ad ELITE BeGenius.

I risultati sono riassunti nella tabella seguente.

Tabella 25

Campioni	N	positivi	negativi	Specificità Diagnostica %
Plasma raccolto in EDTA negativo per JCV DNA	62	1	61	98.4%
Urine raccolte senza conservanti negativo per JCV DNA	60	0	60	100%
Liquido Cerebrospinale negativo per JCV DNA	76	0	76	100%

Il valore di cut-off del Ct del Controllo Interno (IC Ct) è fissato a 36 con ELITE InGenius ed ELITE BeGenius per i campioni di PLASMA.

Il valore di cut-off del Ct del Controllo Interno (IC Ct) è fissato a 34 con ELITE InGenius ed ELITE BeGenius per i campioni di Urine.

Il valore di cut-off del Ct del Controllo Interno (IC Ct) è fissato a 33 con ELITE InGenius e a 35 con ELITE BeGenius per i campioni di CSF.

12 BIBLIOGRAFIA

P. Ferrante et al. (1995) J Med Vir 47: 219 - 225

K. Linnet et al. (2004) Clin. Chem. 50: 732 – 740

C. N. Kotton et al. (2024) Transplantation 00: 00 - 00

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

13 LIMITI DELLA PROCEDURA

Utilizzare questo prodotto soltanto con i seguenti campioni clinici: plasma raccolto in EDTA, urine raccolte senza conservanti e liquido cefalorachidiano (CSF).

Il plasma raccolto in EDTA deve essere ottenuto da sangue intero conservato a temperatura ambiente o a +2 / +8 °C per non più di 24 ore.

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

Con questo prodotto non utilizzare DNA contaminato con emoglobina, destrano, Ficoll®, etanolo o 2-propanolo: queste sostanze inibiscono la reazione di amplificazione degli acidi nucleici e possono causare risultati invalidi.

Con questo prodotto non utilizzare DNA contenente alte quantità di DNA genomico umano che può inibire la reazione di amplificazione degli acidi nucleici.

Al momento, non sono disponibili dati riguardanti le prestazioni del prodotto con i seguenti campioni clinici: sangue intero, sospensioni di leucociti e sospensioni di granulociti.

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 (si veda [11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI pagina 22](#)); in questo caso il risultato potrebbe essere un falso negativo.

Talvolta, i risultati ottenuti con questo prodotto possono non essere validi per via di un difetto del controllo interno. In questo caso il campione dovrà essere analizzato di nuovo, a cominciare dall'estrazione, con conseguente possibile ritardo nel conseguimento dei risultati finali. Possibili polimorfismi, 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 26

Reazione del Controllo Positivo o dei Q - PCR Standard o della Curva standard non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errata impostazione dello strumento.	Controllare la posizione della PCR Mix, Q-PCR Standard e del Controllo Positivo. Controllare i volumi della PCR Mix, Q-PCR Standard e del Controllo Positivo.
Degradazione della PCR Mix	Non utilizzare la PCR Mix per più di 5 sessioni indipendenti (3 ore ciascuna nel blocco refrigerato dell'area reagenti o nell'unità refrigerata). Non utilizzare la PCR Mix per più di tre sessioni consecutive (7 ore nel blocco refrigerato dell'area reagenti o nell'unità refrigerata). Non lasciare la PCR Mix a temperatura ambiente per più di 30 minuti. Utilizzare una nuova aliquota della PCR Mix.
Degradazione del Controllo Positivo o dei Q-PCR Standards.	Non utilizzare i Q-PCR Standard per più di 4 sessioni indipendenti (2 ore ciascuna nell'area di estrazione o nel blocco refrigerato) Non utilizzare il Controllo Positivo per più di 4 sessioni indipendenti (3 ore ciascuna nell'area di estrazione o nel blocco refrigerato). Utilizzare nuove aliquote di Q-PCR Standard o Controllo Positivo
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup.

Tabella 27

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

Tabella 28

Reazione del campione non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errata impostazione dello strumento.	Controllare la posizione della PCR Mix e del campione e del controllo interno Controllare i volumi della PCR Mix e del campione e del controllo interno.
Degradazione della PCR Mix.	Non utilizzare il PCR Mix per più di 5 sessioni indipendenti (3 ore ciascuna nell'area reagenti o nell'unità refrigerata). Non utilizzare la PCR Mix per più di tre sessioni consecutive (7 ore nel blocco refrigerato dell'area reagenti o nell'unità refrigerata). Non lasciare la PCR Mix a temperatura ambiente per più di 30 minuti. Preparare 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). 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.

Tabella 29

Curva di dissociazione anomala	
Possibili cause	Soluzioni
Assenza di un picco definito. 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. Elevate quantità del prodotto di amplificazione alla fine della reazione possono interferire con l'analisi della curva di dissociazione. Ripetere l'amplificazione del campione per confermare la presenza del target con una possibile mutazione. Il target nel campione deve essere sequenziato per confermare la mutazione.

Tabella 30

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. Se nel PCR plot non appare nessuna amplificazione selezionare il rack relativo al campione e approvare manualmente il risultato come negativo o lasciarlo invalido. Se è richiesto un valore di Ct: - ripetere la reazione di amplificazione del campione eluito con una diluizione 1:10 in acqua per biologia molecolare in una sessione in modalità "PCR Only" (solo PCR) oppure - 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 31

Alto tasso anormale di risultati positivi nella stessa sessione (reazioni con valori Ct tardivi simili)	
Possibili cause	Soluzioni
Contaminazione da campione a campione durante le fasi pre-analitiche.	Pulire la micropipetta, con una soluzione fresca di ipoclorito di sodio al 3% (candeggina) o un detergente per DNA/RNA, dopo aver pipettato ciascun campione. Non utilizzare pipette Pasteur. Le pipette devono essere del tipo a spostamento positivo o utilizzate con puntali con filtro per aerosol. Introdurre campioni nelle ultime posizioni degli strumenti, come indicato dalla GUI. Seguire la sequenza di caricamento indicata dal software.
Contaminazione ambientale 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. Eseguire un ciclo di decontaminazione UV. 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.

Al momento dell'attuale revisione dell'IFU, non si sono verificati incidenti gravi o richiami del dispositivo, aventi un impatto sulle prestazioni e sulla sicurezza del dispositivo.

Una "Sintesi della Sicurezza e delle Prestazioni" (Summary of Safety and Performance) sarà resa disponibile al pubblico attraverso la Banca Dati Europea sui Dispositivi Medici (Eudamed) quando questo sistema informatico sarà operativo. Prima della pubblicazione dell'avviso di piena funzionalità di Eudamed, il "Summary of Safety and Performance" sarà resa disponibile al pubblico su richiesta via e-mail all'indirizzo emd.support@elitechgroup.com, senza indebito ritardo.

17 AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA

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

I reagenti di rilevazione ELITe MGB® sono coperti da uno o più brevetti U. S. A. numero 7319022, 7348146, 7381818, 7541454, 7671218, 7723038, 7767834, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529, e brevetti EP numero 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.

Appendix A JCV 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

Intended use

The product **JCV ELITe MGB® Kit** is an in vitro diagnostic medical device intended to be used by healthcare professionals as quantitative nucleic acids Real-Time PCR assay for the **detection and quantification of the DNA of Human Polyomavirus JC (JCV)** 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 plasma collected in EDTA, urine collected without preservatives and cerebrospinal fluid (CSF).

The product is intended for use as an aid in the diagnosis and monitoring of JCV infections in patients suspected of having or undergoing monitoring of JCV infections.

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


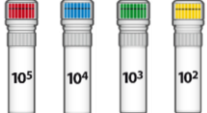

Amplified sequence

Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
Target	Large T antigen	FAM	JCV
Internal Control	IC2	AP525	IC

Validated matrix

- Plasma collected in EDTA
- Urine collected without preservatives
- Cerebrospinal fluid CSF

Kit content and related products

JCV ELITe MGB Kit	JCV ELITe Standard	JCV - ELITe Positive Control
 X 4	 X 2	 X 1
Ready-to-use PCR Mix 4 tubes of 540 µL 96 reactions per kit 5 freeze-thaw cycles	Ready-to-use 4 levels: 10 ⁵ copies/rxn, 10 ⁴ copies/rxn, 10 ³ copies/rxn, 10 ² copies/rxn 2 sets of 4 tubes of 160 µL 4 freeze-thaw cycles	Ready-to-use Positive Control 1 tube of 160 µL 4 reactions per kit 4 freeze-thaw cycles

Maximum shelf-life: **24 months**

Storage Temperature: **-20 °C**

Other products required not provided in the kit

<ul style="list-style-type: none"> • ELITE InGenius instrument: INT030. • ELITE BeGenius instrument: INT040. • ELITE InGenius SP 200: INT032SP200. • ELITE InGenius SP1000: INT033SP1000 • ELITE InGenius SP 200 Consumable Set: INT032CS. 	<ul style="list-style-type: none"> • ELITE InGenius PCR Cassette: INT035PCR. • ELITE InGenius Waste Box: F2102-000. • CPE - Internal Control: CTRCPE • 300 µL Filter Tips Axigen: TF-350-L-R-S. • 1000 µL Filter Tips Tecan: 30180118.
---	---

ELITE InGenius and ELITE BeGenius protocol

› Sample volume	200 µL
› Total elution volume	100 µL
›CPE volume	10 µL
eluate PCR input volume	10 µL
›Q- PCR Mix volume	20 µL
› Frequency of controls	15 days

ELITE InGenius and ELITE BeGenius Performances

Matrix	Limit of Detection	Diagnostic Sensitivity	Diagnostic Specificity	Linearity	CF cp/mL to IU/mL
plasma	275 IU / mL 306 cp/mL	98% 50/51	98.4% 61/62	275 – 3,162,000 (IU/mL) 306 – 3,513,333 (copies/mL)	0.9
urine	215 IU / mL 165 cp/mL	96.5% 55/57	100% 60/60	215 - 13,000,000 (IU/mL) 165 – 10,000,000 (copies/mL)	1.3
CSF	215 IU / mL 239 cp/mL	100% 59/59	100% 76/76	215 - 10,000,000 (IU/mL) 239 - 11,111,111 (copies/mL)	0.9

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.

Table 32

Sample type	Collection requirements	Transport/Storage conditions			
		+16 / +26 °C (room temperature)	+2° / +8° C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
urine	Preservative-free	≤ 4 h	≤ 4 h	≤ 30d	≤ 30d
plasma	EDTA	≤ 1 d	≤ 3 d	≤ 30d	≤ 30d
CSF	minimal patient blood contamination	≤ 4 h	≤ 4 h	≤ 30d	≤ 30d

CSF, cerebrospinal fluid; EDTA, Ethylenediaminetetraacetic acid; d, day, h, hours

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. Log in with username and password. Select the mode " CLOSED ".	2. Verify controls: Positive Control and Negative Control in the "Controls" menu. Note: Both must have been run, approved and not expired.	3. Thaw the PCR Mix and the CTRCPE tubes. Vortex gently. Spin down 5 sec.
--	---	---

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", elution: "100 µL"	3. Scan the sample barcodes with hand-barcode reader or type the sample ID
4. Select the "Assay Protocol" of interest: JCV ELITe_U_200_100, JCV ELITe_PL_200_100 JCV ELITe_CSF_200_100 JCV ELITe_PL_1000_100	5. Select the method "Extract + PCR" and the sample position: Primary tube or 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 and primary sample racks	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results

NOTE

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

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: 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: JCV ELITe_PC, JCV ELITe_NC or JCV ELITe_STD or JCV ELITe_U_200_100, JCV ELITe_PL_200_100 JCV ELITe_CSF_200_100 JCV ELITe_PL_1000_100	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 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 BeGenius. Log in with username and password. Select the mode " CLOSED ".	2. Verify controls: Positive Control and Negative Control in the "Controls" menu. Note: Both must have been run, approved and not expired.	3. Thaw the PCR Mix and the CTRCPE tubes. Vortex gently. 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 JCV ELITe_Be_U_200_100, JCV ELITe_Be_PL_200_100 JCV ELITe_Be_CSF_200_100 Note: 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 Rack" 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, standards, controls)

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: 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: EBV ELITe_Be_PC and EBV ELITe_Be_NC, or EBV ELITe_Be_STD.	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

Procedure 2: PCR Only (e.g., eluates, standards and 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. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "100 µL".
4. Select the "Assay Protocol" of interest: JCV ELITe_Be_PC, JCV ELITe_Be_NC or JCV ELITe_Be_STD or JCV ELITe_Be_U_200_100, JCV ELITe_Be_PL_200_100 JCV ELITe_Be_CSF_200_100	5. Load the Complete reaction mixture 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
WEB site: www.elitechgroup.com