

Istruzioni per l'uso

SARS-CoV-2 PLUS ELITe MGB® Kit

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



REF RTS180ING

UDI 08033891487201

CE **IVD**
0123

CRONOLOGIA REVISIONI

Rev.	Avviso di modifica	Data (gg/mm/aa)
07-R	Ampliamento dell'uso dei prodotti SARS-CoV-2 PLUS in associazione con gli strumenti ELITE InGenius® (cod. INT030) ed ELITE BeGenius® (cod. INT040), i nuovi Assay Protocol con nuovo metodo di estrazione 200:100 e campioni di Tampone nasofaringeo (RsS). Verifica dell'attuale LoD rispetto al nuovo materiale di riferimento dell'OMS e dell'impatto del sottotipo Influenza A H9N2 Nuova grafica e impostazione del contenuto delle Istruzioni per l'uso (IFU).	14/07/25
06-R	Aggiornamento per la conformità ai requisiti del Regolamento (UE) 2017/746 relativo ai dispositivi medico-diagnostici in vitro (IVDR). Modifica della classificazione IVDR dei prodotti target SARS-CoV-2 dalla Classe D alla Classe B.	06/05/25
05-R	Aggiornamento per la conformità ai requisiti del Regolamento (UE) 2017/746 relativo ai dispositivi medico-diagnostici in vitro (IVDR).	17/04/25
04	Aggiornamento del paragrafo "Avvertenze e precauzioni" con le indicazioni di pericolo e le precauzioni GHS applicate ai componenti.	24/01/25
03	Aggiornamento relativo all'uso del prodotto per matrici di tamponi respiratori in associazione allo strumento «ELITE BeGenius®» (REF INT040). Aggiornamento del limite di rilevabilità, della riproducibilità e ripetibilità. Introduzione del test relativo ai guasti dell'intero sistema.	22/09/23
00-02	Sviluppo di nuovo prodotto e successive modifiche	—

NOTA

I lotti di prodotti identificati mediante i seguenti numeri di LOTTO continuano a essere immessi sul mercato ai sensi della Direttiva IVDD fino alla data di scadenza, secondo l'articolo 110 dell'IVDR. Se si è in possesso di tali lotti di prodotto, si prega di contattare il personale di ELITechGroup per richiedere la revisione precedente delle IFU corrispondenti.

<u>CODICE PRODOTTO</u>	<u>Numero di lotto</u>	<u>Data di scadenza</u>
RTS180ING	U0425-098	30/11/2026
RTS180ING	U0125-209	31/08/2026
RTS180ING	U0425-031	30/10/2025
RTS180ING	U0225-052	31/08/2025
RTS180ING	U1124-042	31/08/2025
RTS180ING	U1024-047	31/08/2025
RTS180ING	U0224-008	31/08/2025
RTS180ING	U1024-019	31/07/2025
RTS180ING	U0824-002	31/07/2025
RTS180ING	U0524-030	31/07/2025
RTS180ING	U1223-063	30/06/2025

I lotti del prodotto Positive Control che continuano ad essere immessi sul mercato come da Direttiva IVDD (identificati dai numeri di LOTTO indicati nelle istruzioni per l'uso del Positive Control) sono tecnicamente compatibili con la nuova versione del kit di amplificazione e possono essere utilizzati, fino a esaurimento, in associazione alla nuova versione dell'IVDR del kit di amplificazione e in conformità al suo uso previsto.

INDICE

1 USO PREVISTO	4
2 PRINCIPIO DEL SAGGIO.....	4
3 DESCRIZIONE DEL PRODOTTO	4
4 MATERIALI INCLUSI NEL PRODOTTO	5
5 MATERIALI RICHIESTI MA NON INCLUSI NEL PRODOTTO	5
6 ALTRI PRODOTTI RICHIESTI	5
7 AVVERTENZE E PRECAUZIONI	6
8 CAMPIONI E CONTROLLI	8
9 PROCEDURA ELITe InGenius.....	10
10 PROCEDURA ELITe BeGenius	16
11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI	20
12 BIBLIOGRAFIA	33
13 LIMITI DELLA PROCEDURA	34
14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI	35
15 LEGENDA DEI SIMBOLI	37
16 AVVISO PER L'UTILIZZATORE	38
17 AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA.....	38
Appendix A QUICK START GUIDE.....	39

1 USO PREVISTO

Il prodotto **SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB® Kit** è un dispositivo medico diagnostico *in vitro* destinato all'uso da parte di operatori sanitari come saggio qualitativo multiplex di trascrizione inversa degli acidi nucleici e della Real-Time PCR per la rilevazione e l'identificazione dell'RNA della **Sindrome respiratoria acuta grave da Coronavirus 2 (SARS-CoV-2), del virus dell'influenza A (FluA), del virus dell'influenza B Virus (FluB), del virus respiratorio sinciziale (RSV)**, estratti da campioni clinici.

Il saggio è stato validato in associazione con gli strumenti **ELITE InGenius®** ed **ELITE BeGenius®**, sistemi integrati e automatizzati per l'estrazione, la trascrizione inversa, la Real-Time PCR e l'interpretazione dei risultati utilizzando campioni di tamponi nasofaringei.

Il prodotto è destinato all'uso come ausilio nello screening dell'infezione da Sindrome respiratoria acuta grave da Coronavirus 2 in soggetti asintomatici, come ausilio nella diagnosi della Sindrome respiratoria acuta grave da Coronavirus 2, del Virus dell'influenza A, del Virus dell'influenza B, del Virus respiratorio sinciziale in pazienti con sospetta infezione virale respiratoria e come ausilio nel monitoraggio dell'infezione da Sindrome respiratoria acuta grave da Coronavirus 2 in pazienti con infezione da SARS-CoV-2 confermata.

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

2 PRINCIPIO DEL SAGGIO

Il saggio è un test PCR multiplex in tempo reale con trascrizione inversa in un unico passaggio che rileva l'RNA di SARS-CoV-2, il FluA, il FluB e l'RSV RNA isolato dai campioni, retrotrascritto e quindi amplificato utilizzando una miscela di reazione completa, che contiene primer e sonde con tecnologia ELITE MGB.

Le sonde ELITE MGB Kit vengono 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).

Le sonde sono progettate con tecnologia DSQ® e marcate con diversi fluorofori che vengono idrolizzati e attivati dall'enzima DNA polimerasi, dopo l'ibridazione con il prodotto specifico della reazione di amplificazione. L'emissione della fluorescenza viene misurata e registrata dall'apparecchio. Alla fine del ciclo di amplificazione, si analizzano gli spettri della fluorescenza allo scopo di identificare i cicli soglia (Ct). L'interpretazione del risultato consente di rilevare la presenza di patogeni d'interesse nel campione iniziale.

La tecnologia DSQ® (Duplex-Stabilizing Quencher) è un'evoluzione della chimica MGB®. DSQ® è una singola molecola che agisce contemporaneamente come MGB® e come quencher di fluorescenza universale. È stata progettata convertendo una parte della molecola MGB® originale in un quencher senza compromettere le proprietà di stabilizzazione duplex dell'MGB®.

3 DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

Il prodotto **SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit** fornisce i seguenti componenti:

- **CoV-2 PLUS PCR Mix**, una miscela PCR ottimizzata e stabilizzata che contiene primer e sonde specifici per:
 - **S-CoV2**, geni ORF8 e ORF1ab, rilevati nel canale **S-CoV2**; la sonda viene stabilizzata e inattivata dal gruppo DSQ e marcata con colorante FAM.
 - **FluA**, sequenza genica della proteina matrice, rilevata nel canale **FluA**; le sonde vengono stabilizzate e spente dal gruppo DSQ e marcate con colorante AP639.
 - **FluB**, sequenza genica della proteina matrice, rilevata nel canale **FluB**; la sonda viene stabilizzata e inattivata dal gruppo DSQ e marcata con colorante AP593.
 - **RSV**, sequenza genica della proteina matrice dell'RSV, rilevata nel canale **RSV**; la sonda viene stabilizzata e inattivata dal gruppo DSQ e marcata con il colorante AP690.
 - Internal Control (**IC**), sequenza del gene dell'**RNase P** umano come Internal Control, controllo interno endogeno, rilevato nel canale **IC**; la sonda viene stabilizzata e inattivata dal gruppo DSQ e marcata con colorante AP525.

Il prodotto **CoV-2 PLUS PCR Mix** contiene anche il buffer, il magnesio cloruro, i nucleosidi trifosfato, gli stabilizzatori e l'enzima DNA polimerasi con attivazione termica (avvio a caldo).

Il prodotto **CoV-2 PLUS RT EnzymeMix**, contiene una miscela ottimizzata e stabilizzata di enzimi per trascrizione inversa.

Il prodotto **SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit** contiene reagenti sufficienti per **96 test** su **ELITE InGenius** ed **ELITE BeGenius**, utilizzando 19,3 µL di **CoV-2 PLUS PCR Mix** e 0,7 µL di **CoV-2 PLUS RT EnzymeMix** per reazione

4 MATERIALI INCLUSI NEL PRODOTTO

Componente	Descrizione	Quantità	Classificazione dei rischi
CoV-2 PLUS PCR Mix cod. RTS180ING	Miscela di reagenti per trascrizione inversa e Real-Time PCR in tubo con tappo NEUTRO	2 x 1200 µL	-
CoV-2 PLUS RT EnzymeMix cod. RTS004-RT	Enzimi per trascrittasi inversa in tubo con tappo con inserto NERO	1 x 80 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 (circa 5.000 giri/minuto).
- Microcentrifuga da banco (circa 13.000 giri/minuto).
- Micropipette e puntali sterili con filtro per aerosol o a spostamento positivo (intervallo di volume: 0,5-1000 µL)
- Tubi sterili da 2,0 mL con tappo a vite (Sarstedt, Germania, cod. 72.694.005)
- Tubi sterili da 0,5 mL con tappo a vite (Sarstedt, Germania, cod. 72.730.005)
- Acqua per biologia molecolare.

6 ALTRI PRODOTTI RICHIESTI

I reagenti per l'estrazione del campione, i controlli positivi e negativi di amplificazione e i materiali di consumo **non** sono inclusi in questo prodotto.

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

Tabella 1

Strumenti e software	Prodotti e reagenti
ELITE InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, cod. INT030) ELITE InGenius Software versione 1.3.0.19 (o successiva) SARS-CoV-2 PLUS ELITE_PC , Assay Protocol con parametri per l'analisi del Positive Control SARS-CoV-2 PLUS ELITE_NC , Assay Protocol con parametri per l'analisi del Negative Control SARS-CoV-2 PLUS ELITE_RsS_200_50 , Assay Protocol con parametri per l'analisi dei campioni prelevati con tampone nasofaringeo SARS-CoV-2 PLUS ELITE_PC_200_100 , Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Positive Control SARS-CoV-2 PLUS ELITE_NC_200_100 , Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Negative Control SARS-CoV-2 PLUS ELITE_RsS_200_100 , Assay Protocol con parametri per l'analisi dei campioni prelevati con tampone nasofaringeo	SARS-CoV-2 PLUS - ELITE Positive Control (EG SpA., cod. CTR180ING) ELITE InGenius SP200 (EG SpA, cod. INT032SP200) UTM® (COPAN Italia S.p.A., cod. 360C o 305C), o un dispositivo equivalente, solo per campioni prelevati con tampone nasofaringeo Materiali di consumo per ELITE InGenius ed ELITE BeGenius (vedere i Manuali di Istruzioni per l'uso di ELITE InGenius ed ELITE BeGenius)
ELITE BeGenius (EG SpA, cod. INT040) ELITE BeGenius Software versione 2.3.0 (o successiva) SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_PC , Assay Protocol con parametri per l'analisi del Positive Control SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_NC , Assay Protocol con parametri per l'analisi del Negative Control SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_RsS_200_50 , Assay Protocol con parametri per l'analisi dei campioni prelevati con tampone nasofaringeo SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_PC_200_100 , Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Positive Control SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_NC_200_100 , Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Negative Control SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_RsS_200_100 , Assay Protocol con parametri per l'analisi dei campioni prelevati con tampone nasofaringeo	

7 AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Questo prodotto è riservato esclusivamente all'uso in vitro.

7.1 Avvertenze e precauzioni generali

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

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

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

Non pipettare mai le soluzioni con la bocca.

Non mangiare, bere, fumare o applicare cosmetici nelle aree di lavoro.

Lavarsi accuratamente le mani dopo avere maneggiato campioni e reagenti.

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

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

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

Non utilizzare il prodotto oltre la data di scadenza indicata.

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

Non utilizzare reagenti provenienti da lotti diversi.

Non utilizzare reagenti di altri fabbricanti.

7.2 Avvertenze e precauzioni per la biologia molecolare

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

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

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

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

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

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

7.3 Avvertenze e precauzioni specifiche per i componenti

Tabella 2

Componente	Temperatura di conservazione	Uso dopo la prima apertura	Cicli di congelamento/scongelo
CoV-2 PLUS PCR Mix	-20 °C o inferiore (al riparo dalla luce)	Un mese	Fino a otto
CoV-2 PLUS RT EnzymeMix	-20 °C o inferiore	Un mese	Fino a dieci cicli, per fino a dieci minuti, a +2 / +8 °C

Il prodotto **CoV-2 PLUS PCR Mix** contiene reagenti pericolosi. Si riportano di seguito le frasi del sistema GHS e le precauzioni applicate a questo componente.

Tenere presente che l'etichettatura di pericolo non è necessaria per quantità inferiori a 125 g o 125 mL.

Il prodotto **CoV-2 PLUS PCR Mix** contiene Triton X-100:



Punto esclamativo

H319 - Provoca grave irritazione oculare.
 H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.
 P264 - Lavare accuratamente le mani, gli avambracci e il viso dopo l'uso.
 P273 - Non disperdere nell'ambiente.
 P280 - Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/proteggere il viso/proteggere l'udito.
 P305+P351+P338 - IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: Sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.
 P337+P313 - Se l'irritazione degli occhi persiste, consultare un medico.
 P501 - Smaltire il prodotto e recipiente in un punto di raccolta di rifiuti pericolosi o speciali, in conformità con le normative locali, regionali, nazionali e/o internazionali.

EUH 21: Scheda di sicurezza disponibile su richiesta.

8 CAMPIONI E CONTROLLI

8.1 Campioni e protocolli di analisi

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

Tabella 3

Campioni	Requisiti per la raccolta	Condizioni di trasporto e conservazione			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ±10 °C	-70 ±15 °C
Tamponi nasofaringei	UTM (COPAN)	≤24 ore	≤5 giorni	≤1 mese	≤1 mese

NOTA

L'equivalenza tra UTM (COPAN) e altri dispositivi di raccolta simili (con lo stesso scopo e le stesse specifiche) deve essere dimostrata e convalidata dal laboratorio.

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

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

Tabella 4 Protocolli di saggio per SARS CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit

Campione	Strumento	Nome Assay Protocol	Report	Caratteristiche
Campioni di tamponi nasofaringei	ELITE InGenius	SARS-CoV-2 PLUS ELITE_RsS_200_50	Positivo/negativo	Volume estrazione in ingresso: 200 µL Volume eluizione: 50 µL Internal Control: NO Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1 Volume di PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 10 µL
	ELITE InGenius	SARS-CoV-2 PLUS ELITE_RsS_200_100	Positivo/negativo	Volume estrazione in ingresso: 200 µL Volume eluizione: 100 µL Controllo interno: NO Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1 Volume PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 10 µL
	ELITE BeGenius	SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_RsS_200_50	Positivo/negativo	Volume estrazione in ingresso: 200 µL Volume eluizione: 50 µL Internal Control: NO Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1 Volume di PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 10 µL
	ELITE BeGenius	SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_RsS_200_100	Positivo/negativo	Volume estrazione in ingresso: 200 µL Volume eluizione: 100 µL Controllo interno: NO Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1 Volume PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 10 µL

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

NOTA

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

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

Per controllare i dati relativi alle sostanze interferenti, fare riferimento a "Sostanze potenzialmente interferenti" nella sezione [11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI pagina 20](#).

8.2 Controlli di PCR

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

- Per il Positive Control, utilizzare il prodotto **SARS-CoV-2 PLUS - ELITE Positive Control** (non fornito in questo kit) con gli Assay Protocol **SARS-CoV-2 PLUS_PC** o **SARS-CoV-2 PLUS_PC_200_100** per **ELITE InGenius** e gli Assay Protocol **SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_PC** o **SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_PC_200_100** per **ELITE BeGenius**

- Per il Negative Control, utilizzare acqua per biologia molecolare (non fornita in questo kit) con gli Assay Protocol **SARS-CoV-2 PLUS ELITE_NC** o **SARS-CoV-2 PLUS ELITE_NC_200_100** per **ELITE InGenius** e gli Assay Protocol **SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_NC** o **SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_NC_200_100** per **ELITE BeGenius**.

NOTA

Gli strumenti **ELITE InGenius** ed **ELITE BeGenius** consentono di generare e memorizzare la convalida dei controlli della PCR per ogni lotto di reagente per PCR. I risultati dei controlli per PCR scadono dopo **15 giorni**; trascorso questo termine, è necessario rianalizzare il Positive Control e il Negative Control. I controlli della PCR devono essere rianalizzati qualora si presenti uno dei seguenti eventi:

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

8.3 Controlli di qualità

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

9 PROCEDURA ELITE InGenius

La procedura per l'uso del prodotto **SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit** con lo strumento **ELITE InGenius** si articola in due 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 del Positive Control e del Negative Control (PCR only)
FASE 3	Esame ed approvazione dei risultati	1) Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo
		2) Validazione dei risultati del campione
		3) Refertazione dei risultati del campione

9.1 FASE 1 - Verifica che il sistema sia pronto

Prima di iniziare la sessione:

- accendere lo strumento **ELITE InGenius** e selezionare la modalità **"CLOSED"**;
- nel menu **"Controls"** della home page, verificare che i controlli per PCR (**CoV-2 PLUS Positive Control**, **CoV-2 PLUS Negative Control**) siano approvati e validi (Stato) per il lotto di **CoV-2 PLUS PCR Mix** da utilizzare. Se non ci sono controlli per PCR validi disponibili per il lotto di **CoV-2 PLUS PCR Mix**, eseguire i controlli per PCR come descritto nelle sezioni seguenti;
- scegliere il tipo di sessione analitica, seguendo le istruzioni visualizzate sull'interfaccia utente grafica (GUI) per l'allestimento della sessione e utilizzare gli Assay Protocol forniti da EG SpA (vedere **"8 CAMPIONI E CONTROLLI pagina 8"**).

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 **SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit** può essere utilizzato su **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 negli Assay Protocol disponibili sullo strumento e vengono richiamati automaticamente nel momento in cui li si seleziona.

NOTA

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

Prima di impostare una sessione:

1. Scongela i tubi di **PCR Mix** necessari a temperatura ambiente per 30 minuti. Ciascun tubo contiene un volume sufficiente per **48 test**. Mescolare con il vortex a bassa velocità per 10 secondi ripetendo l'operazione per tre volte, centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.

NOTA

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

2. Prelevare i tubi necessari di **RT EnzymeMix**. Ciascun tubo contiene un volume sufficiente per **96 test**. Agitare delicatamente, quindi centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.

NOTA

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

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

Tabella 6

Numero di campioni (N)	CoV-2 PLUS PCR Mix	CoV-2 PLUS RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 19,3 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,7 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 12$	$(N + 2) \times 19,3 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,7 \mu\text{L}$

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

NOTA

La miscela di reazione completa deve essere appena preparata per ogni sessione di lavoro e **non** può essere conservata per essere riutilizzata.

NOTA

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

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

Tabella 7

	A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)	B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)	C. Corsa del Positive Control e del Negative Control (PCR only)
1	Identificare i campioni e, se necessario, scongelare a temperatura ambiente. Per questo test trasferire 200 µL di campione pre-trattato in un Extraction tube precedentemente etichettato.	Scongellare gli Elution Tube contenenti gli acidi nucleici estratti a temperatura ambiente. Agitare delicatamente, quindi centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.	Scongellare i tubi di Positive Control a temperatura ambiente per 30 minuti. Agitare delicatamente, quindi centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo. Ciascun tubo contiene un volume sufficiente per preparare 4 reazioni.
2	Non applicabile.	Non applicabile.	Preparare il Negative Control trasferendo almeno 50 µL di acqua per biologia molecolare in un "Elution Tube", fornito in dotazione con l'ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Nella schermata "Home", selezionare "Perform Run".	Nella schermata "Home", selezionare "Perform Run".	Nella schermata "Home", selezionare "Perform Run".
4	Verificare che "Extraction Input Volume" sia 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia 50 o 100 µL.	Verificare che "Extraction Input Volume" sia 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia 50 o 100 µL.	Verificare che "Extraction Input Volume" sia 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia 50 o 100 µL.
5	Per ogni campione, assegnare un "Track" e compilare il "SampleID" (SID) digitando o scansionando il codice a barre.	Per ogni campione, assegnare un "Track" e compilare il "SampleID" (SID) digitando o scansionando il codice a barre.	Non applicabile.
6	Selezionare l'Assay Protocol nella colonna "Assay" (vedere "Provini e controlli").	Selezionare l'Assay Protocol nella colonna "Assay" (vedere "Provini e controlli").	Selezionare l'Assay Protocol nella colonna "Assay" (vedere "Provini e controlli"). Inserire il numero di lotto e la data di scadenza del controllo positivo e dell'acqua per biologia molecolare.
7	Verificare che il protocollo visualizzato sia: "Extract + PCR".	Nella colonna "Protocol" (protocollo) selezionare "PCR Only".	Verificare che nella colonna "Protocol" (Protocollo) sia selezionato "PCR Only".
8	Nella colonna "Sample Position" selezionare "Extraction tube" come posizione da cui caricare il campione.	Verificare che la posizione da cui caricare il campione riportata nella colonna "Sample Position" sia "Elution Tube (ultima riga)".	Verificare che la posizione da cui caricare il campione riportata nella colonna "Sample Position" sia "Elution Tube (ultima riga)".
9	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
10	Caricare la miscela di reazione completa nell'"Inventory Block" facendo riferimento alla "Load List" e inserire il numero di lotto di CPE e PCR Mix, la data di scadenza e il numero di reazione per ciascun tubo.	Caricare la miscela di reazione completa nell'"Inventory Block" (area reagenti) facendo riferimento alla "Load List" e inserire il numero di lotto della PCR Mix, la data di scadenza e il numero di reazione per ciascun tubo.	Caricare la miscela di reazione completa nell'"Inventory Block" (area reagenti) facendo riferimento alla "Load List" e inserire il numero di lotto della PCR Mix, la data di scadenza e il numero di reazione per ciascun tubo.
11	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
12	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'"Inventory Area" e sostituire i Tip Racks se necessario.	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'"Inventory Area" e sostituire i Tip Racks se necessario.	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'"Inventory Area" e sostituire i Tip Racks se necessario.
13	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 Positive Control e del Negative Control (PCR only)
14	Caricare la PCR Cassette, le cartucce per estrazione ELITE InGenius SP 200 e tutti i materiali di consumo richiesti e i campioni da estrarre.	Caricare la PCR Cassette e l'Elution Tube con i campioni estratti.	Caricare la PCR Cassette, i tubi del Positive Control e Negative Control.
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".	Premere "Start".	Premere "Start".

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

NOTA

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

NOTA

La miscela di reazione completa deve essere appena preparata per ogni sessione di lavoro e **non** può essere conservata per essere riutilizzata.

NOTA

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

NOTA

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

NOTA

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

9.3 FASE 3 - Esame e approvazione dei risultati

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

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

NOTA

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

Lo strumento **ELITE InGenius** utilizza il prodotto **SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit** per generare risultati tramite la seguente procedura:

1. Validazione dei risultati del Positive Control e del Negative Control,
2. Validazione dei risultati ottenuti sul campione
3. Refertazione dei risultati del campione

9.3.1 Validazione dell'amplificazione dei risultati del Positive Control e del Negative Control

Il **software ELITE InGenius** interpreta i risultati della PCR per i target delle reazioni del Positive Control e del Negative Control con i parametri degli Assay Protocol **SARS-CoV-2 PLUS ELITE_PC** o **SARS-CoV-2 PLUS ELITE_PC_200_100** e **SARS-CoV-2 PLUS ELITE_NC** o **SARS-CoV-2 PLUS ELITE_NC_200_100**. I valori di Ct risultanti vengono utilizzati per verificare il sistema (lotto di reagenti e strumento).

I risultati del Positive Control e del Negative Control, specifici per i lotto di reagenti per PCR, vengono registrati nel database (Controls). Essi possono essere consultati e approvati da personale avente la qualifica di "Administrator" o "Analyst", seguendo le istruzioni visualizzate sulla GUI.

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

I risultati dell'amplificazione del Positive Control e del Negative Control vengono utilizzati dal **software ELITE InGenius** per impostare i "Control Charts" (grafici di controllo) monitorando le prestazioni della fase di amplificazione. Consultare il manuale di istruzioni dello strumento per maggiori dettagli.

NOTA

Se il risultato del Positive Control o del Negative Control non soddisfa i criteri di accettazione, sulla schermata "Calibration" appare il messaggio "Failed". In questo caso, i risultati non possono essere approvati e si devono ripetere le sessioni del Positive Control o del Negative Control.

NOTA

Se il risultato del Positive Control o Negative Control non è valido e i campioni erano inclusi nella medesima sessione, i campioni possono essere approvati ma i loro risultati non sono validati. In tal caso, il controllo o i controlli che hanno fallito e i campioni devono essere ripetuti.

9.3.2 Validazione dei risultati dei campioni

Il **software ELITE InGenius** interpreta i risultati della PCR per i target (canali **SCoV2**, **FluA**, **FluB** e **RSV**) e l'Internal Control (canale **IC**) con i parametri degli Assay Protocol **SARS-CoV-2 PLUS ELITE_RsS_200_50** o **SARS-CoV-2 PLUS ELITE_RsS_200_100**.

I risultati vengono visualizzati sulla schermata "Results Display".

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

Tabella 8

1) Controllo positivo	Stato
CoV-2 PLUS Positive Control	APPROVATO
2) Controllo negativo	Stato
CoV-2 PLUS Negative Control	APPROVATO

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

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

Tabella 9

Risultato di una sessione sul campione	Interpretazione
SCoV2:RNA detected (SCoV2: RNA Rilevato).	SARS RNA è stato rilevato nel campione.
FluA:RNA detected (FluA: RNA Rilevato).	FluA RNA è stato rilevato nel campione.
FluB:RNA detected (FluB: RNA Rilevato).	FluB RNA è stato rilevato nel campione.
RSV:RNA detected (RSV: RNA Rilevato).	RSV RNA è stato rilevato nel campione.
SCoV2:RNA not detected or below the LoD (SCoV2: RNA non Rilevato o minore di LoD).	SARS-CoV-2 RNA non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per il SARS-CoV-2 RNA oppure la sua concentrazione è inferiore al Limite di rilevabilità (LoD) del saggio.
FluA:RNA not detected or below the LoD (FluA: RNA non Rilevato o minore di LoD).	FluA RNA non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per il FluA RNA oppure la sua concentrazione è inferiore al Limite di rilevabilità (LoD) del saggio.
FluB:RNA not detected or below the LoD (FluB: RNA non Rilevato o minore di LoD).	FluB RNA non è stato rilevato nel campione. Il campione è per l'RNA FluB, oppure la sua concentrazione è inferiore al limite di rilevabilità (LoD) del saggio.
RSV:RNA not detected or below the LoD (RSV: RNA non Rilevato o minore di LoD).	RSV RNA non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per il RSV RNA oppure la sua concentrazione è inferiore al Limite di rilevabilità (LoD) del saggio.
Invalid - Retest Sample (Invalido – Ripetere il campione).	Risultato del saggio non valido per un errore dell'Internal Control (dovuto ad esempio a errata estrazione o effetto carryover degli inibitori). Il test deve essere ripetuto.

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

Se ne rimane un volume sufficiente, l'eluato può essere ritestato (tal quale oppure diluito) mediante una sessione di amplificazione in modalità “PCR Only” (solo PCR). In caso di un secondo risultato non valido, il campione deve essere ritestato partendo dall'estrazione di un nuovo campione in modalità “Extract + PCR” (estrazione + PCR), (vedere 14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI pagina 30 [14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI pagina 35](#)).

I campioni segnalati come “Xxx: RNA non rilevato o inferiore a LoD” sono idonei all'analisi, ma non è stato possibile rilevare l'RNA. In questo caso, il campione può essere negativo per l'RNA dei target oppure l'RNA dei target è presente in una concentrazione inferiore al limite di rilevabilità del saggio (vedere “[11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI pagina 20](#)”).

Il SARS CoV 2 che presenta una delezione del gene ORF8, come nel ceppo SARS-CoV-2 Δ382 (Y. C. F. Su et al., 2020, B. E. Young et al., 2020), può essere rilevato correttamente perché il saggio rileva due target patogeni e la reazione specifica della regione ORF1ab fornisce un risultato positivo.

NOTA

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

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

9.3.3 Refertazione dei risultati dei campioni

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

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

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

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

10 PROCEDURA ELITE BeGenius

La procedura per l'uso del prodotto **SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit** con lo strumento **ELITE BeGenius** si articola in due fasi:

Tabella 10

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 del Positive Control e del Negative Control (PCR only)
FASE 3	Esame ed approvazione dei risultati	1) Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo
		2) Validazione dei risultati del campione
		3) Refertazione dei risultati del campione

10.1 FASE 1 - Verifica che il sistema sia pronto

Prima di iniziare la sessione:

- accendere lo strumento ELITE BeGenius e selezionare la modalità "**CLOSED**";
- nel menu "Controls" della home page, verificare che i controlli per PCR (**CoV-2 PLUS Positive Control, CoV-2 PLUS Negative Control**) siano approvati e validi (Stato) per il lotto di **CoV-2 PLUS PCR Mix** da utilizzare. Se non ci sono controlli per PCR validi disponibili per il lotto di **CoV-2 PLUS PCR Mix**, eseguire i controlli per PCR come descritto nelle sezioni seguenti;
- scegliere il tipo di sessione analitica, seguendo le istruzioni visualizzate sull'interfaccia utente grafica (GUI) per l'allestimento della sessione e utilizzare gli Assay Protocol forniti da EG SpA (vedere "**8 CAMPIONI E CONTROLLI** pagina 8").

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 **SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit** può essere utilizzato su **ELITE BeGenius** per eseguire:

- Corsa dei campioni (Extract + PCR)
- Corsa dei campioni estratti (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 vengono richiamati automaticamente nel momento in cui li si seleziona.

NOTA

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

Prima di impostare una sessione:

1. Scongellare i tubi di **PCR Mix** necessari a temperatura ambiente per 30 minuti. Ciascun tubo contiene un volume sufficiente per **48 test**. Mescolare con il vortex a bassa velocità per 10 secondi ripetendo l'operazione per tre volte, centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.

NOTA

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

2. Prelevare i tubi necessari di **RT EnzymeMix**. Ciascun tubo contiene un volume sufficiente per **96 test**. Agitare delicatamente, quindi centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.

NOTA

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

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

Tabella 11

Numero di campioni (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 19,3 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,7 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 12$	$(N + 2) \times 19,3 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,7 \mu\text{L}$
$13 \leq N \leq 24$	$(N + 4) \times 19,3 \mu\text{L}$	$(N + 4) \times 0,7 \mu\text{L}$

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

NOTA

La miscela di reazione completa deve essere appena preparata per ogni sessione di lavoro e **non** può essere conservata per essere riutilizzata.

NOTA

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

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

Tabella 12

	A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)	B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)	C. Corsa del Positive Control e del Negative Control (PCR only)
1	Identificare i campioni e, se necessario, scongelare a temperatura ambiente. Per questo saggio trasferire 200 µL di campione in un Sarstedt Tube da 2 mL precedentemente etichettato.	Se necessario, scongelare gli Elution tube contenenti gli acidi nucleici estratti a temperatura ambiente. Agitare delicatamente, quindi centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.	Scongelare i tubi di Positive Control a temperatura ambiente per 30 minuti. Ciascun tubo contiene un volume sufficiente per preparare 4 reazioni. Agitare delicatamente, quindi centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.
2	Non applicabile	Non applicabile	Preparare il Negative Control trasferendo almeno 50 µL di acqua per biologia molecolare in un "Elution tube", fornito in dotazione con l'ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Nella schermata "Home", selezionare "Perform Run" .	Nella schermata "Home", selezionare "Perform Run" .	Nella schermata "Home", selezionare "Perform Run" .
4	Rimuovere tutti i Rack dalla "Cooler Unit" e posizzionarli sul tavolo di preparazione.	Rimuovere i "Rack" dalle "Lane 1, 2 e 3" (L1, L2, L3) della "Cooler Unit" e posizzionarli sul tavolo di preparazione.	Rimuovere i "Rack" dalle "Lane 1, 2 e 3" (L1, L2, L3) della "Cooler Unit" e posizzionarli sul tavolo di preparazione.
5	Selezionare il "run mode": "Extract + PCR" .	Selezionare il "run mode": "PCR Only" .	Selezionare il "run mode": "PCR Only" .
6	Caricare i campioni nel "Sample Rack". Quando si caricano tubi secondari "2 mL Tubes", utilizzare gli adattatori blu per il "Sample Rack".	Caricare i campioni nell'"Elution Rack".	Caricare i tubi di Positive Control e Negative Control nell'"Elution Rack".
7	Inserire il "Sample Rack" nella "Cooler Unit" a partire dalla "Lane 5" (L5). Inserire il "Sample ID" (SID) per ciascuna "Posizione" utilizzata (se si caricano tubi secondari, contrassegnare "2 mL Tube". Se i tubi secondari non hanno codice a barre, digitare manualmente il "Sample ID").	Inserire l'"Elution Rack" nella "Cooler Unit" a partire dalla "Lane 3" (L3). Per ogni "Position" inserire il "Sample ID", la "Sample matrix", l'"Extraction kit" e l'"Extracted eluate vol." (volume eluato).	Inserire l'"Elution Rack" nella "Cooler Unit" a partire dalla "Lane 3" (L3). Per ogni "Position" inserire "Reagent name" e "S/N" (numero di serie), "Lot No." (numero di lotto), "Exp. Date" (data di scadenza) e "T/R" (numero di reazioni).
8	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
9	Verificare che "Extraction Input Volume" sia 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia 50 o 100 µL.	Non applicabile.	Non applicabile.
10	Nella colonna "Assay" selezionare l'Assay Protocol da utilizzare (vedere "Campioni e controlli").	Nella colonna "Assay" selezionare l'Assay Protocol da utilizzare (vedere "Campioni e controlli").	Nella colonna "Assay" selezionare l'Assay Protocol da utilizzare (vedere "Campioni e controlli").
11	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
	Nota: Quando si processano più di 12 campioni, ripetere la procedura dal punto 6.		Non applicabile

Tabella 12 (segue)

	A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)	B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)	C. Corsa del Positive Control e del Negative Control (PCR only)
12	Caricare gli "Elution Tube" nell'"Elution Rack" (gli Elution Tube possono essere etichettati con il codice a barre per una miglior tracciabilità).	Non applicabile	Non applicabile
13	Inserire l'"Elution Rack" nella "Cooler Unit" a partire dalla "Lane 3" (L3). Quando si processano più di 12 campioni, ripetere la procedura utilizzando la "Lane 2" (L2).	Non applicabile	Non applicabile
14	Fare clic su "Next" per proseguire.	Non applicabile	Non applicabile
15	Caricare la miscela di reazione completa nel "Reagent/Elution Rack".	Caricare la miscela di reazione completa nel "Reagent/Elution Rack".	Caricare la miscela di reazione completa nel "Reagent/Elution Rack".
16	Inserire il "Reagent/Elution Rack" nella "Cooler Unit" nella "Lane 2" (L2) se disponibile o nella "Lane 1" (L1). Per ogni reagente della PCR Mix e/ o CPE, inserire "S/N" (numero di serie), "Lot No." (numero di lotto), "Exp. Date" (data di scadenza) e "T/R" (numero di reazioni).	Inserire il "Reagent/Elution Rack" nella "Cooler Unit" nella "Lane 2" (L2) se disponibile o nella "Lane 1" (L1). Per ogni reagente della PCR Mix, inserire "S/N" (numero di serie), "Lot No." (numero di lotto), "Exp. Date" (data di scadenza) e "T/R" (numero di reazioni).	Inserire il "Reagent/Elution Rack" nella "Cooler Unit" nella "Lane 2" (L2) se disponibile o nella "Lane 1" (L1). Per ogni reagente della PCR Mix, inserire "S/N" (numero di serie), "Lot No." (numero di lotto), "Exp. Date" (data di scadenza) e "T/R" (numero di reazioni).
17	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
18	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'"Inventory Area" e sostituire i Tip Racks se necessario.	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'"Inventory Area" e sostituire i Tip Racks se necessario.	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'"Inventory Area" e sostituire i Tip Racks se necessario.
19	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
20	Caricare il " PCR Rack " con la "PCR Cassette" nell'"Inventory Area".	Caricare il " PCR Rack " con la "PCR Cassette" nell'"Inventory Area".	Caricare il " PCR Rack " con la "PCR Cassette" nell'"Inventory Area".
21	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
22	Caricare l'"Extraction Rack" con le cartucce di estrazione "ELITE InGenius SP 200" e i materiali di consumo per l'estrazione richiesti.	Non applicabile.	Non applicabile.
23	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.
24	Premere "Start".	Premere "Start".	Premere "Start".

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

NOTA

Alla fine della sessione, rimuovere dallo strumento gli **Elution tube** con il campione estratto residuo, tapparlo, identificarlo e conservarlo a -20 °C o a temperatura inferiore per non più di un mese. Evitare di provocare la fuoriuscita del campione estratto.

NOTA

La miscela di reazione completa deve essere appena preparata per ogni sessione di lavoro e **non** può essere conservata per essere riutilizzata.

NOTA

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

NOTA

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

NOTA

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

10.3 FASE 3 - Esame e approvazione dei risultati

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

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

NOTA

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

ELITE BeGenius utilizza il prodotto **SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit** per generare i risultati tramite la seguente procedura:

1. Validazione dei risultati del Positive Control e del Negative Control,
2. Validazione dei risultati ottenuti sul campione
3. Refertazione dei risultati del campione

NOTA

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

11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

11.1 Limite di rilevazione (LoD)

Il limite di rilevabilità (LoD) del saggio è stato determinato per lo strumento **ELITE InGenius**, testando un pannello di tamponi nasofaringei raccolti in UTM (COPAN Italia S.p.A.) addizionati con quattro materiali di riferimento del SARS-CoV-2 RNA (standard internazionale OMS, NIBSC), FluA (A H1N1pdm, ceppo Michigan 45/15, ZeptoMetrix, Stati Uniti), di FluB (ceppo Yamagata Lineage, Massachusetts/2/1, ZeptoMetrix, Stati Uniti) e di RSV (ceppo RSV A 3/2015, isolato n. 3, ZeptoMetrix, Stati Uniti). È stata eseguita un'analisi di regressione Probit sui risultati e il LoD è stato stimato come la concentrazione corrispondente al 95% di probabilità di un risultato positivo.

I risultati sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 13 Limite di rilevabilità (LoD)

Metodo di estrazione	Patogeno	LoD (copie/mL o IU/mL)	Limiti dell'intervallo di confidenza 95%	
			Limite inferiore	Limite superiore
200_50	SARS-CoV-2	673 IU/mL	484 IU/mL	1154 IU/mL
	FluA	189 copie/mL	131 copie/mL	351 copie/mL
	FluB	225 copie/mL	170 copie/mL	386 copie/mL
	RSV	184 copie/mL	133 copie/mL	443 copie/mL
200_100	SARS-CoV-2	1328 IU/mL	982 IU/mL	2191 IU/mL
	FluA	189 copie/mL	131 copie/mL	351 copie/mL
	FluB	225 copie/mL	170 copie/mL	386 copie/mL
	RSV	184 copie/mL	133 copie/mL	443 copie/mL

Il valore LoD calcolato è stato verificato, con entrambi i metodi di estrazione, analizzando su ELITE BeGenius ed ELITE InGenius un pool di tamponi nasofaringei raccolti in UTM, addizionati con materiale di riferimento certificato SARS-CoV-2, FluA, FluB e RSV RNA alla concentrazione dichiarata.

I risultati ottenuti hanno confermato la concentrazione dichiarata per tutti i target del SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit sia su ELITE BeGenius che su ELITE InGenius e con entrambi i metodi di estrazione.

11.2 Inclusività: Efficienza della rilevazione

L'inclusività del test, ovvero l'efficacia di rilevamento per diversi isolati di SARS-CoV-2, FluA, FluB e RSV, è stata valutata mediante analisi in silico. L'analisi ha evidenziato la conservazione della sequenza e l'assenza di mutazioni significative, ad eccezione di alcuni ceppi del sottotipo H9N2 dell'influenza A. Pertanto, ci si aspetta una rilevazione efficace dei diversi isolati di questi target.

Inoltre, l'inclusività è stata verificata su ELITE InGenius attraverso l'analisi di un pannello di diversi isolati positivi per i target.

I risultati sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 14 Efficienza della rilevazione (inclusività)

Virus (tipo/sottotipo)	Ceppo	N	Positivi	Negativi
SARS-CoV-2	Italy-INMI1	3	3	0
SARS-CoV-2 (A Lineage)	Hong Kong/VM20001061/2020	3	3	0
SARS-CoV-2 (A.2 Lineage)	Chile/Santiago_op4d1/2020	3	3	0
SARS-CoV-2 (B.1 Lineage)	New York-PV08410/2020	3	3	0
SARS-CoV-2 (B Lineage)	USA-IL1/2020	3	3	0
SARS-CoV-2 (A Lineage)	USA-CA1/2020	3	3	0
SARS-CoV-2 (A Lineage)	USA-AZ1/2020	3	3	0
SARS-CoV-2 (B.2 Lineage)	USA-CA2/2020	3	3	0
SARS-CoV-2 (B.1.1.7 Lineage)	USA/CA_CDC_5574/2020	3	3	0
SARS-CoV-2 (D614G cDNA)	NA	3	3	0

Tabella 14 Efficienza della rilevazione (inclusività) (segue)

Virus (tipo/sottotipo)	Ceppo	N	Positivi	Negativi
SARS-CoV-2 (B.1.1.7 cDNA)	NA	3	3	0
SARS-CoV-2 (B.1.351 cDNA)	NA	3	3	0
SARS-CoV-2 (P.1 cDNA)	NA	3	3	0
Influenza A (H1N1pdm09)	A/Dominican Republic/7293/2013	3	3	0
Influenza A (H1N1pdm09)	A/Massachusetts/15/2013	3	3	0
Influenza A (H1N1pdm09)	A/North Carolina/4/2014	3	3	0
Influenza A (H1N1pdm09)	A/Bangladesh/3002/2015	3	3	0
Influenza A (H1N1pdm09)	A/Iowa/53/2015	3	3	0
Influenza A (H1N1pdm09)	A/St. Petersburg/61/2015	3	3	0
Influenza A (H1N1pdm09)	A/Michigan/272/2017	3	3	0
Influenza A (H1N1pdm09)	A/Idaho/07/2018	3	3	0
Influenza A (H1N1pdm09)	A/Wisconsin/505/2018	3	3	0
Influenza A (H1N1pdm09)	A/Hawaii/66/2019	3	3	0
Influenza A (H1N1pdm09)	A/Christ Church/16/2010	3	3	0
Influenza A (H3N2)	A/Guangdong-Maonan/1536/2019	3	3	0
Influenza A (H3N2)	A/California/02/2014	3	3	0
Influenza A (H3N2)	A/Michigan/15/2014	3	3	0
Influenza A (H3N2)	A/Hong Kong/4801/2014	3	3	0
Influenza A (H3N2)	A/Alaska/232/2015	3	3	0
Influenza A (H3N2)	A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016	3	3	0
Influenza A (H3N2)	A/Texas/71/2017	3	3	0
Influenza A (H3N2)	A/Kansas/14/2014	3	3	0
Influenza A (H3N2)	A/Wisconsin/04/2018	3	3	0
Influenza A (H3N2)	A/Arizona/45/2018	3	3	0
Influenza A (H3N2*)	A/Hong Kong/45/2019	3	3	0
Influenza A (H3N2)	A/Perth/16/2009	3	3	0
Influenza A (H3N2)	A/Hong Kong/2671/2019	6	5	1
Influenza B (Victoria)	B/Florida/78/2015	3	3	0
Influenza B (Victoria)	B/Maryland/15/2016	3	3	0
Influenza B (Victoria)	B/Hong Kong/286/2017	3	3	0
Influenza B (Victoria)	B/Hawaii/01/2018 (NA D197N)	3	3	0

Tabella 14 Efficienza della rilevazione (inclusività) (segue)

Virus (tipo/sottotipo)	Ceppo	N	Positivi	Negativi
Influenza B (Victoria)	B/Missouri/122018 (NA D197E)	3	3	0
Influenza B (Victoria)	B/Michigan/09/2011	3	3	0
Influenza B (Yamagata)	B/Washington/02/2019	3	3	0
Influenza B (Yamagata)	B/Texas/06/2011	3	3	0
Influenza B (Yamagata)	B/Utah/09/2014	3	3	0
Influenza B (Yamagata)	B/Oklahoma/10/2018 (NA D197N)	3	3	0
Influenza B (Yamagata)	B/Indiana/17/2017 (NA I221T)	3	3	0
Influenza B (Yamagata)	B/Wisconsin/10/2016 (NA I221V)	3	3	0
Influenza B (Yamagata)	B/Texas/81/2016	3	3	0
Influenza B (Yamagata)	B/Phuket/3073/2013	3	3	0
RSV-A	1/2015 Isolate 1	3	3	0
RSV-A	12/2014 Isolate #2	3	3	0
RSV-A	2014 Isolate 342	3	3	0
RSV-B	12/2014 Isolate#1	6	5	1
RSV-B	11/2014 Isolate #2	3	3	0
RSV-B	3/2015 Isolate #1	3	3	0

Tutti i campioni sono stati rilevati correttamente mediante il prodotto SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit.

11.3 Organismi potenzialmente interferenti: Cross-reattività

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

È stata inoltre verificata l'assenza di reattività crociata con potenziali organismi interferenti su ELITE InGenius attraverso l'analisi del pannello di organismi non intenzionali.

I risultati sono illustrati nelle tabelle seguenti.

Tabella 15

Microrganismo	Positivo/replicati				Esito
	SARS-CoV-2	Flu B	Flu A	RSV	
Adenovirus 1	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
Adenovirus tipo 2	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
Adenovirus tipo 7A	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
<i>Bordetella pertussis</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
<i>Candida albicans</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività

Tabella 15 (segue)

Microrganismo	Positivo/replicati				Esito
	SARS-CoV-2	Flu B	Flu A	RSV	
<i>Corynebacterium genitalium</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
<i>Chlamydomophila pneumonia</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
Cytomegalovirus	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
Coronavirus OC43	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
Coronavirus 229E	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
Coronavirus NL63	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
<i>Haemophilus influenzae</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
Metapneumovirus umano 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
Enterovirus 68	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
Epstein-Barr Virus	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
<i>Escherichia coli</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
<i>Lactobacillus jensenii</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
<i>Legionella pneumophila</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
MERS Coronavirus	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
<i>Moraxella catarrhalis</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
<i>Mycoplasma pneumonia</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
<i>Neisseria meningitidis</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
Virus della parainfluenza 1	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
Virus della parainfluenza 2	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
Virus della parainfluenza 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
Virus parainfluenzale 4A	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
<i>Pneumocystis carinii</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
Rhinovirus 1A	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
<i>Staphylococcus aureus MRSA</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
<i>Streptococcus pneumonia</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività
<i>Streptococcus salivarius</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Nessuna crossreattività

I risultati del test di cross-reattività effettuato dal gruppo di organismi potenzialmente interferenti ad alta concentrazione sono riassunti nella tabella seguente:

Tabella 16

Campione	Positivo/replicati	Esito
	SCoV2	
Nessun interferente (Riferimento)	0 / 5	Nessuna crossreattività
Coronavirus umano 229E	0 / 5	Nessuna crossreattività
Coronavirus umano HKU1	0 / 5	Nessuna crossreattività
Coronavirus umano OC43	0 / 5	Nessuna crossreattività
Coronavirus umano NL63	0 / 5	Nessuna crossreattività
MERS coronavirus	0 / 5	Nessuna crossreattività
Influenza virus A	0 / 5	Nessuna crossreattività
Influenza virus B	0 / 5	Nessuna crossreattività
RSV A	0 / 5	Nessuna crossreattività
<i>Legionella pneumophila</i>	0 / 5	Nessuna crossreattività

I risultati del test di cross-reattività effettuato dal gruppo di organismi potenzialmente interferenti a media concentrazione sono riassunti nella tabella seguente:

Tabella 17

Campione	Positivo/replicati	Esito
	SCoV2	
Coronavirus umano 229E	0 / 5	Nessuna crossreattività
Coronavirus umano HKU1	0 / 5	Nessuna crossreattività
Coronavirus umano OC43	0 / 5	Nessuna crossreattività
Coronavirus umano NL63	0 / 5	Nessuna crossreattività
MERS coronavirus	0 / 5	Nessuna crossreattività
Influenza virus A	0 / 5	Nessuna crossreattività
Influenza virus B	0 / 5	Nessuna crossreattività
RSV A	0 / 5	Nessuna crossreattività
<i>Legionella pneumophila</i>	0 / 5	Nessuna crossreattività

Tutti i marcatori potenzialmente interferenti analizzati non hanno evidenziato alcuna crossreattività per l'amplificazione del target SARS-CoV-2 quando analizzati con SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit.

11.4 Organismi potenzialmente interferenti: Inibizione

La potenziale inibizione dei marcatori interferenti che potrebbero essere presenti nei campioni clinici è stata valutata su ELITE InGenius per il saggio attraverso l'analisi di un pannello di organismi non desiderati mediante l'analisi di un pannello di marcatori a concentrazioni rilevanti in campioni di tamponi nasofaringei positivi per i target.

I risultati sono illustrati nella tabella seguente.

Microrganismo	Positivo/replicati				Esito
	SARS-CoV-2	Flu B	Flu A	RSV	
Adenovirus 1	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Adenovirus tipo 2	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Adenovirus tipo 7A	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
<i>Bordetella pertussis</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
<i>Candida albicans</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
<i>Corynebacterium genitalium</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
<i>Chlamydomphila pneumonia</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Cytomegalovirus	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Coronavirus OC43	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Coronavirus 229E	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Coronavirus NL63	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
<i>Haemophilus influenzae</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Metapneumovirus umano 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Enterovirus 68	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Epstein-Barr Virus	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
<i>Escherichia coli</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
<i>Lactobacillus jensenii</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
<i>Legionella pneumophila</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
MERS Coronavirus	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
<i>Moraxella catarrhalis</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza

Mycoplasma pneumonia	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
<i>Neisseria meningitidis</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Virus della parainfluenza 1	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Virus della parainfluenza 2	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Virus della parainfluenza 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Virus parainfluenzale 4A	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
<i>Pneumocystis carinii</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Rhinovirus 1A	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
<i>Streptococcus pneumonia</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
<i>Streptococcus pyogenes</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
<i>Streptococcus salivarius</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza

Tutti i potenziali organismi interferenti testati non hanno dimostrato alcuna inibizione nella rilevazione di tutti i target utilizzando il SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit.

11.5 Sostanze potenzialmente interferenti: Inibizione

La potenziale inibizione delle sostanze interferenti (endogene ed esogene) che potrebbero essere presenti nei campioni clinici prelevati con tampone nasofaringeo è stata valutata per il saggio su ELITE InGenius mediante l'analisi di un pannello di sostanze a concentrazioni rilevanti in campioni addizionati con FluA, FluB, RSV e SARS-CoV-2

I risultati sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 18

Sostanza	Positivo/replicati				Esito
	SARS-CoV-2	Flu B	Flu A	RSV	
Mucina	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Sangue intero	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Benzocaina	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza

Tabella 18 (segue)

Sostanza	Positivo/replicati				Esito
	SARS-CoV-2	Flu B	Flu A	RSV	
Beclometasone	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Chloraseptic	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Nasacort	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Zicam	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Fluticasone Propionate	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Mometasone furoate	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Triamcinolone	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Fenilefrina spray nasale	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Ossimetazolina	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Ocean Saline Spray	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Zanamivir	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Tobramicina	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Mupirocina	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Budesonide	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Desametasone	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza
Flunisolide	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Nessuna interferenza

Il test ha dimostrato che le sostanze analizzate non inibiscono il rilevamento dei target utilizzando SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit.

11.6 Cross-contaminazione

La possibile **cross-contaminazione** durante l'analisi è stata valutata per il saggio analizzando su ELITE InGenius 30 repliche di un campione negativo prelevato con tampone nasofaringeo alternate a 30 repliche dello stesso campione addizionato con SARS-COV-2 (NIBSC) a una concentrazione di 1.000.000 IU/mL in 5 sessioni.

I risultati sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 19

Campioni	N	Positivi	Negativi	%Concordanza
Positivi	30	30	0	100%
Negativi	30	0	30	100%

Non è stata rilevata alcuna contaminazione incrociata né all'interno delle sessioni né tra una sessione e l'altra con SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit.

11.7 Tasso totale di errore di sistema

La percentuale di errore dell'intero sistema relativa a questo saggio è stata valutata su ELITE InGenius ed ELITE BeGenius con entrambi i metodi di estrazione, testando un pannello di campioni di tamponi nasofaringei addizionati con materiale di riferimento certificato di SARS-CoV-2 (standard internazionale OMS per materiale di riferimento SARS-CoV-2 RNA, NIBSC, UK) a una concentrazione pari a 3 volte il LoD (2019 IU / mL).

I risultati sono sintetizzati nella tabella seguente.

Tabella 20

ELITE InGenius					
Metodo di estrazione	Campioni	N	Positivi	Negativi	Tasso totale di errore di sistema
200_50	Tamponi nasofaringei addizionati da SARS- CoV-2	100	100	0	0%
200_100	Tamponi nasofaringei addizionati da SARS- CoV-2	100	99	1	1%

Nessuno dei campioni risultati positivi ha dato risultati falsi negativi in associazione con ELITE InGenius e il metodo di estrazione 200_50 utilizzando SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit. La percentuale di errore di sistema totale è stata pari allo 0%.

Un campione positivo ha dato risultati falsi negativi in associazione con ELITE InGenius e il metodo di estrazione 200_100 utilizzando SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit. La percentuale di errore di sistema totale è stata pari allo 1%.

Tabella 21

ELITE BeGenius					
Metodo di estrazione	Campioni	N	Positivi	Negativi	Tasso totale di errore di sistema
200_50	Tamponi nasofaringei addizionati da SARS- CoV-2	100	99	1	1%
200_100	Tamponi nasofaringei addizionati da SARS- CoV-2	100	99	1	1%

Un campione positivo ha dato risultati falsi negativi in associazione con ELITE BeGenius ed entrambi i metodi di estrazione utilizzando SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit. La percentuale di errore di sistema totale è stata pari allo 1%.

11.8 Ripetibilità

La ripetibilità intra-sessione e inter-sessione del saggio è stata valutata su ELITE InGenius ed ELITE BeGenius con entrambi i metodi di estrazione mediante analisi di un pannello di campioni di tamponi nasofaringei, tra cui un campione negativo e un campione addizionato a 3 volte il LoD con il materiale di riferimento certificato SARS-CoV-2, FluA, FluB e RSV (NIBSC e Zeptometrix).

Un esempio dei risultati di ripetibilità intra-sessione (in un giorno) con il metodo di estrazione 200_50 è illustrato nelle tabelle seguenti.

Tabella 22 Ripetibilità intra-sessione con ELITE InGenius (un giorno)

Campione	N	Media Ct	SD	%CV	%Concordanza
3x LoD SARS-CoV-2	8	34,35	0,18	0,53	100%
3x LoD FluA	8	35,30	0,34	0,97	100%
3x LoD FluB	8	34,10	0,37	1,10	100%
3x LoD RSV	8	35,40	0,33	0,94	100%
Negativi	8	-	-	-	100%

Tabella 23 Ripetibilità intra-sessione con ELITE BeGenius (un giorno)

Campione	N	Media Ct	SD	%CV	%Concordanza
3x LoD SARS-CoV-2	8	35,52	0,38	1,08	100%
3x LoD FluA	8	36,56	0,50	1,38	100%
3x LoD FluB	8	35,07	0,25	0,72	100%
3x LoD RSV	8	36,91	0,24	0,64	100%
Negativi	8	-	-	-	100%

Un esempio dei risultati di ripetibilità inter-sessione (su due giorni) con il metodo di estrazione 200_50 è illustrato nelle tabelle seguenti.

Tabella 24 Ripetibilità inter-sessione con ELITE InGenius (due giorni)

Campione	N	Media Ct	SD	%CV	%Concordanza
3x LoD SARS-CoV-2	16	34,21	0,34	1,00	100%
3x LoD FluA	16	35,10	0,44	1,25	100%
3x LoD FluB	16	34,15	0,36	1,05	100%
3x LoD RSV	16	35,49	0,35	0,99	100%
Negativi	16	-	-	-	100%

Tabella 25 Ripetibilità inter-sessione con ELITE BeGenius (due giorni)

Campione	N	Media Ct	SD	%CV	%Concordanza
3x LoD SARS-CoV-2	16	35,44	0,44	1,24	100%
3x LoD FluA	16	36,50	0,39	1,07	100%
3x LoD FluB	16	35,19	0,40	1,13	100%
3x LoD RSV	16	37,05	0,60	1,61	100%
Negativi	16	-	-	-	100%

Nel test di ripetibilità, SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit ha rilevato tutti i target come previsto e ha mostrato una variabilità massima dei valori di Ct del target espressa come %CV inferiore a 5%.

11.9 Riproducibilità

La riproducibilità inter-lotto e inter-strumento del saggio è stata valutata con entrambi i metodi di estrazione su ELITE InGenius ed ELITE BeGenius mediante l'analisi di un pannello di campioni di tamponi nasofaringei negativi o addizionati con il materiale di riferimento certificato SARS-CoV-2, FluA, FluB e RSV (NIBSC e Zeptometrix).

Un esempio dei risultati della riproducibilità inter-lotto (su due lotti) con il metodo di estrazione 200_50 è riportato nelle tabelle sottostanti.

Tabella 26 Riproducibilità inter-lotto con ELITE InGenius

Campione	N	Media Ct	SD	%CV	%Concordanza
3x LoD SARS-CoV-2	8	34,86	0,66	1,88	100%
3x LoD FluA	8	35,97	0,82	2,27	100%
3x LoD FluB	8	34,46	0,69	2,01	100%
3x LoD RSV	8	36,16	1,12	3,10	100%
Negativi	8	-	-	-	100%

Tabella 27 Riproducibilità inter-lotto con ELITE BeGenius

Campione	N	Media Ct	SD	%CV	%Concordanza
3x LoD SARS-CoV-2	8	35,81	0,84	2,35	100%
3x LoD FluA	8	37,83	1,34	3,54	100%
3x LoD FluB	8	35,55	0,72	2,02	100%
3x LoD RSV	8	37,62	0,80	2,13	100%
Negativi	8	-	-	-	100%

Un esempio dei risultati della riproducibilità inter-strumento (su due strumenti) con il metodo di estrazione 200_50 è riportato nelle tabelle sottostanti.

Tabella 28 Riproducibilità inter-strumento con ELITE InGenius

Campione	N	Media Ct	SD	%CV	%Concordanza
3x LoD SARS-CoV-2	8	34,79	1,40	4,01	100%
3x LoD FluA	8	35,73	0,53	1,47	100%
3x LoD FluB	8	35,19	1,19	3,39	100%
3x LoD RSV	8	35,99	1,34	3,74	100%
Negativi	8	-	-	-	100%

Tabella 29 Riproducibilità inter-strumento con ELITE BeGenius

Campione	N	Media Ct	SD	%CV	%Concordanza
3x LoD SARS-CoV-2	8	35,31	0,79	2,23	100%
3x LoD FluA	8	36,61	0,50	1,36	100%
3x LoD FluB	8	35,91	0,77	2,15	100%
3x LoD RSV	8	38,17	1,63	4,28	100%
Negativi	8	-	-	-	100%

Nel test di riproducibilità inter-lotto e inter-strumento, SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit ha rilevato tutti i target come previsto e ha mostrato una variabilità massima dei valori di Ct del target espressa come %CV inferiore a 5%.

11.10 Specificità diagnostica: conferma di campioni negativi

La specificità diagnostica del saggio, come conferma dei campioni clinici negativi, è stata valutata in associazione con ELITE InGenius ed entrambi i metodi di estrazione, analizzando campioni clinici di tamponi nasofaringei raccolti da diversi soggetti, certificati negativi per l'RNA di ciascun target.

Poiché ELITE BeGenius ha prestazioni analitiche equivalenti a ELITE InGenius, anche le prestazioni diagnostiche del saggio eseguito sui due strumenti sono considerate equivalenti. Pertanto, la specificità diagnostica del saggio ottenuta su ELITE InGenius è applicabile anche a ELITE BeGenius.

I risultati sono sintetizzati nella tabella seguente.

Tabella 30

Metodo di estrazione	Campioni di tamponi nasofaringei	N	Positivi	Negativi	Specificità diagnostica
200_50	SARS-CoV-2 negativo	551	1	550	99,8%
	FluA negativo	50	0	50	100%
	FluB negativo	50	0	50	100%
	RSV negativo	49	0	49	100%
200_100	SARS-CoV-2 negativo	513	0	513	100%
	FluA negativo	51	0	51	100%
	FluB negativo	52	0	52	100%
	RSV negativo	52	0	52	100%

Il valore di cut-off dell'IC Ct è fissato a 35 per i campioni prelevati con tampone nasofaringeo.

11.11 Sensibilità diagnostica: conferma di campioni positivi

La sensibilità diagnostica del saggio, come conferma dei campioni clinici positivi, è stata valutata in associazione con ELITE InGenius ed entrambi i metodi di estrazione, analizzando campioni clinici di tamponi nasofaringei raccolti da diversi soggetti, certificati positivi per l'RNA dei target o addizionati con materiali di riferimento.

Poiché ELITE BeGenius ha prestazioni analitiche equivalenti a ELITE InGenius, anche le prestazioni diagnostiche del saggio eseguito sui due strumenti sono considerate equivalenti. Pertanto, la sensibilità diagnostica del saggio ottenuta su ELITE InGenius è applicabile anche a ELITE BeGenius.

I risultati sono sintetizzati nella tabella seguente.

Tabella 31

Metodo di estrazione	Campioni di tamponi nasofaringei	N	Positivi	Negativi	Sensibilità diagnostica
200_50	SARS-CoV-2 positivo	150	146	4	97,7%
	SARS-CoV-2 forzato	24	24	0	
	FluA positivo	75	73	2	97,3%
	FluB positivo	48	48	0	100%
	FluB forzato	9	9	0	
	RSV positivo	72	71	1	98,6%
200_100	SARS-CoV-2 positivo	108	107	1	99,2%
	SARS-CoV-2 forzato	24	24	0	
	FluA positivo	67	67	0	100%
	FluB positivo	38	38	0	100%
	FluB forzato	24	24	0	
	RSV positivo	72	70	2	97,2%

La sensibilità diagnostica di SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit in associazione ai tamponi nasofaringei è pari al 97,7 % per SARS-CoV-2, al 97,3 % per FluA, al 100 % per FluB e al 98,6 % per RSV.

NOTA

I dati e i risultati completi delle prove eseguite per la valutazione delle caratteristiche prestazionali del prodotto con la matrice e gli strumenti sono registrati nel Fascicolo Tecnico di Prodotto "SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit", FTP 180ING.

12 BIBLIOGRAFIA

Zhou P. et al. (2020) Nature 579: 270 – 273

W. Zhang et al. (1991) J. Virol. Methods 33: 165 – 189

J. Stockton et al. (1998) J. Clin. Microbiol. 36: 2990 – 2995

Y. C. F. Su et al. (2020) American Society for Microbiology 11, 4: 1610 – 1620

B. E. Young et al. (2020) The Lancet Journal 396, 10251: 603 – 611

Riferimento OMS: "Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases, 19 marzo 2020"

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

A. Rogers et al. (2020) J. Clin Microbiol 58:e00708-20

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

<https://www.aruplab.com/>

<https://www.geisingermedicallabs.com/><https://www.questdiagnostics.com/>

13 LIMITI DELLA PROCEDURA

Utilizzare questo prodotto soltanto con i seguenti campioni clinici: tamponi nasofaringei

Attualmente non sono disponibili dati relativi alle prestazioni del prodotto con altri campioni clinici: espettorato, lavaggio broncoalveolare (BAL), aspirati nasofaringei e surnatante di colture cellulari.

Non utilizzare questo prodotto con quantità di DNA o RNA estratto superiori a 1 µg per reazione: quantità elevate di acidi nucleici possono inibire la trascrizione inversa e la reazione di amplificazione degli acidi nucleici e possono causare risultati non validi.

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

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

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

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

Questo prodotto richiede l'uso di dispositivi di protezione individuale e di strumenti dedicati alla preparazione 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.

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

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

Un risultato negativo ottenuto con questo prodotto indica che l'RNA del target non è stato rilevato nell'RNA estratto dal campione, ma non si può escludere che l'RNA del target abbia un titolo più basso del limite di rilevabilità del prodotto (vedere [11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI pagina 20](#)). In questo caso il risultato potrebbe essere un falso negativo.

In caso di coinfezioni, la sensibilità per un target può essere compromessa dall'amplificazione di un secondo target (vedere [11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI pagina 20](#)).

Talvolta, i risultati ottenuti con questo prodotto possono non essere validi a causa di un difetto dell'Internal Control. In questo caso il campione dovrà essere analizzato di nuovo, a cominciare dall'estrazione, con conseguente possibile ritardo nel conseguimento dei risultati finali.

Durante la preparazione della miscela, è necessario prestare particolare attenzione all'aggiunta dell'enzima RT. Il gene RNase P umano, utilizzato come controllo interno endogeno, è concepito per amplificare la sequenza di DNA endogena presente nel campione. Se l'RT non viene aggiunto correttamente alla miscela di reazione completa, potrebbe comunque essere generato un segnale target RNasi P, che porta a una convalida errata del campione.

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

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

Come per qualunque altro dispositivo medico-diagnostico, vi è un rischio residuo di ottenere con questo prodotto risultati non validi o errati. Tale rischio residuo non può essere eliminato né ulteriormente ridotto. In taluni casi, potrebbe indurre decisioni sbagliate con effetti potenzialmente pericolosi per il paziente. Tuttavia, tale rischio residuo associato all'uso previsto del prodotto è stato ponderato a fronte dei potenziali benefici per il paziente ed è stato ritenuto accettabile.

14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI

Tabella 32

Reazione del Positive Control non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errore di impostazione dello strumento.	Controllare la posizione della miscela di reazione completa e del Positive Control. Controllare i volumi della miscela di reazione completa e del Positive Control.
Errore di preparazione della miscela di reazione completa.	Controllare i volumi dei reagenti utilizzata durante la preparazione della miscela di reazione completa.
Degradazione della miscela di reazione completa o dei suoi componenti.	Non riutilizzare la miscela di reazione completa, prepararla di fresco per ogni sessione di lavoro. Non lasciare il PCR Mix a temperatura ambiente per più di 30 minuti. Non lasciare il prodotto RT EnzymeMix a temperature superiori a -20 °C per più di 10 minuti. Preparare di nuovo la miscela di reazione completa. Utilizzare una nuova aliquota dei componenti.
Degradazione della Positive Control.	Non utilizzare il Positive Control per più di 4 sessioni indipendenti (3 ore ciascuna nell'area di estrazione o nella Cooler Unit). Utilizzare una nuova aliquota di Positive Control.
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup.

Tabella 33

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

Tabella 34

Reazione del campione non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errore di impostazione dello strumento.	Controllare la posizione della miscela di reazione completa e del campione. Controllare i volumi della miscela di reazione completa e del campione.
Errore di preparazione della miscela di reazione completa.	Controllare i volumi dei reagenti utilizzata durante la preparazione della miscela di reazione completa.
Degradazione della miscela di reazione completa o dei suoi componenti.	Non riutilizzare la miscela di reazione completa, prepararla di fresco per ogni sessione di lavoro. Non lasciare il PCR Mix a temperatura ambiente per più di 30 minuti. Non lasciare il prodotto RT EnzymeMix a temperature superiori a -20 °C per più di 10 minuti. Preparare di nuovo la miscela di reazione completa. Utilizzare una nuova aliquota dei componenti.
Inibizione dovuta a sostanze interferenti nel campione.	Ripetere la reazione di amplificazione del campione con una diluizione 1:2 in acqua per biologia molecolare del campione eluito in una sessione in modalità "PCR Only". Ripetere l'estrazione con una diluizione 1:2 in acqua per biologia molecolare del campione eluito in una sessione in modalità "Extract + PCR" (estrazione + PCR).
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup.

Tabella 35

Errore nel calcolo di Ct	
Possibili cause	Soluzioni
Concentrazione troppo elevata del target nel campione o campione con segnale di fluorescenza anomalo.	Se nel grafico della PCR si osserva un'amplificazione significativa, selezionare il tracciato correlato al campione e approvare manualmente il risultato come positivo. Se nel grafico della PCR non si osserva alcuna amplificazione, selezionare il tracciato correlato al campione e approvare manualmente il risultato come negativo o lasciarlo come non valido. Se è richiesto un valore di ciclo-soglia (Ct): - ripetere la reazione di amplificazione del campione eluito con una diluizione 1:10 in acqua per biologia molecolare in una sessione in modalità "PCR Only" (solo PCR); - ripetere l'estrazione del campione primario con una diluizione 1:10 in acqua per biologia molecolare in una sessione in modalità "Extract + PCR" (estrazione + PCR).

Tabella 36

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

15 LEGENDA DEI SIMBOLI



Numero di catalogo.



Limite superiore di temperatura.



Codice del lotto.



Da utilizzare prima del (ultimo giorno del mese).



Dispositivo medico-diagnostico *in vitro*.



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



Identificazione unica del dispositivo



Contenuto sufficiente per "N" test.



Consultare le istruzioni per l'uso.



Punto esclamativo



Contenuto.



Conservare al riparo dalla luce del sole.



Fabbricante.

16 AVVISO PER L'UTILIZZATORE

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

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

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

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

Appendix A SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit utilizzato in associazione alle piattaforme della serie ®



ATTENZIONE

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

USO PREVISTO

Il prodotto **SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB® Kit** è un dispositivo medico diagnostico *in vitro* destinato all'uso da parte di operatori sanitari come saggio qualitativo multiplex di trascrizione inversa degli acidi nucleici e della Real-Time PCR per la rilevazione e l'identificazione dell'RNA della **Sindrome respiratoria acuta grave da Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)**, del **virus dell'influenza A (FluA)**, del **virus dell'influenza B Virus (FluB)**, del **virus respiratorio sinciziale (RSV)**, estratti da campioni clinici.

Il saggio è stato validato in associazione con gli strumenti **ELITE InGenius®** ed **ELITE BeGenius®**, sistemi integrati e automatizzati per l'estrazione, la trascrizione inversa, la Real-Time PCR e l'interpretazione dei risultati utilizzando campioni di sangue umano di tamponi nasofaringei.

Il prodotto è destinato all'uso come ausilio nello screening dell'infezione da Sindrome respiratoria acuta grave da Coronavirus 2 in soggetti asintomatici, come ausilio nella diagnosi della Sindrome respiratoria acuta grave da Coronavirus 2, del Virus dell'influenza A, del Virus dell'influenza B, del Virus respiratorio sinciziale in pazienti con sospetta infezione virale respiratoria e come ausilio nel monitoraggio dell'infezione da Sindrome respiratoria acuta grave da Coronavirus 2 in pazienti con infezione da SARS-CoV-2 confermata.

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

Sequenza amplificata

Tabella 37

Sequenza	Gene	Fluoroforo	Canale
SCoV2	ORF8 e ORF1ab	FAM	SCoV2
FluA	Gene della proteina di matrice FluA	AP639	FluA
FluB	Gene della proteina di matrice FluB	AP593	FluB
RSV	Gene della proteina di matrice RSV	AP690	RSV
Controllo interno	RNase P umano	AP525	Controllo interno

Matrice validata

› Tamponi nasofaringei

Contenuto del Kit e prodotti correlati

Tabella 38

SARS CoV-2 PLUS ELiTe MGB Kit (RTS180ING)		SARS CoV-2 PLUS - ELiTe Positive Control (CTR180ING)
 X 2	 X 1	 X 3
CoV-2 PLUS PCR Mix 2 tubi da 1200 µL 96 reazioni per kit 8 cicli di congelamento/ scongelamento per tubo	CoV-2 PLUS RT EnzymeMix 1 tubo da 80 µL 96 reazioni per kit 8 cicli di congelamento/ scongelamento per tubo	CoV-2 PLUS Positive Control 3 tubi da 160 µL 4 reazioni per tubo 12 reazioni per kit 4 cicli di congelamento/scongelamento
Validità massima: 18 mesi		Validità massima: 24 mesi
Temperatura di conservazione: ≤ -20°C		Temperatura di conservazione: ≤ -20°C

Altri prodotti richiesti ma non forniti nel kit

Tabella 39

› Strumento ELiTe InGenius: INT030. › Strumento ELiTe BeGenius: INT040. › ELiTe InGenius SP 200: INT032SP200.	UTM® (COPAN Italia S.p.A., cod. 360C o 305C), o un dispositivo equivalente, solo per campioni prelevati con tampone nasofaringeo Materiali di consumo per ELiTe InGenius ed ELiTe BeGenius (vedere i Manuali di Istruzioni per l'uso di ELiTe InGenius ed ELiTe BeGenius)
---	--

Protocollo ELiTe InGenius ed ELiTe BeGenius

Tabella 40

› Volume del campione › Volume eluizione totale › Volume eluizione PCR › Volume PCR Mix completa	200 µL 50 o 100 µL 10 µL 20 µL	› Frequenza dei controlli	15 giorni
---	---	---------------------------	-----------

Prestazioni di ELITE InGenius e ELITE BeGenius

Tabella 41

Matrice	Metodo di estrazione	Patogeno	LoD (copie/mL o IU/mL)	Sensibilità diagnostica	Specificità diagnostica
Tampone nasofaringeo	200_50	SARS-CoV-2	673 IU/mL	97,7%	99,8%
		FluA	189 copie/mL	97,3%	100%
		FluB	225 copie/mL	100%	100%
		RSV	184 copie/mL	98,6%	100%
	200_100	SARS-CoV-2	1328 IU/mL	99,2%	100%
		FluA	189 copie/mL	100%	100%
		FluB	225 copie/mL	100%	100%
		RSV	184 copie/mL	97,2%	100%

Preparazione dei campioni

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

Tabella 42

Tipo di campione	Requisiti per la raccolta	Condizioni di trasporto/conservazione			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ±10 °C	-70 ±15 °C
Tampone nasofaringeo	UTM (COPAN)	≤24 ore	≤5 giorni	≤1 mese	≤1 mese

Procedure di ELITE InGenius

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

Prima dell'analisi

Tabella 43

1. Accendere ELITE InGenius. Inserire username e password. Selezionare la modalità "CLOSED".	2. Verificare i controlli: CoV-2 PLUS Positive Control e CoV-2 PLUS Negative Control nel menu "Controls". Nota: Entrambi devono essere eseguiti, approvati e non scaduti.	3. Scongellare. CoV-2 PLUS PCR Mix Mescolare delicatamente con l'agitatore vortex. Centrifugare per 5 secondi. Mantenere RT EnzymeMix in ghiaccio.
--	--	---

Tabella 44

4. Preparare la miscela di reazione completa.			5. Mescolare delicatamente con l'agitatore vortex.
Numero di campioni (N)	CoV-2 PLUS PCR Mix	CoV-2 PLUS RT EnzymeMix	Centrifugare per 5 secondi. Conservare la miscela di reazione completa in ghiaccio. Non esporre alla luce diretta.
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 19,3 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,7 \mu\text{L}$	
$6 \leq N \leq 12$	$(N + 2) \times 19,3 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,7 \mu\text{L}$	

Procedura 1 - Sessione completa: Extract + PCR (ad es. campioni)**Tabella 45**

1. Selezionare "Perform Run" sul touch screen.	2. Verificare i volumi di estrazione: Ingresso: "200 μL ", eluizione: "50 μL " o "100 μL ".	3. Scansionare il codice a barre con l'apposito lettore manuale o digitare l'ID del campione.
4. Selezionare l'"Assay Protocol" di interesse: SARS-CoV-2 PLUS ELITE RsS_200_50 o SARS-CoV-2 PLUS ELITE_RsS_200_100.	5. Selezionare il metodo "Extract + PCR" e la posizione del campione: Tubo di estrazione.	6. Caricare la miscela di reazione completa e il controllo interno nell'Inventory Block.
7. Caricare: PCR Cassette, cartuccia di estrazione, Elution Tube, cassette per puntali, rack per tubi di estrazione.	8. Chiudere lo sportello. Avviare la sessione.	9. Visualizzare, approvare e archiviare i risultati.

NOTA

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

Procedura 2 - PCR Only (ad es. eluati, controlli).**Tabella 46**

1 - 4: Seguire la procedura completa descritta sopra (selezionare gli Assay Protocol: SARS-CoV-2 PLUS_PC o SARS-CoV-2 PLUS_PC_200_100, SARS-CoV-2 PLUS ELITE_NC o SARS-CoV-2 PLUS ELITE_NC_200_100, o SARS-CoV-2 PLUS ELITE_RsS_200_50 o SARS-CoV-2 PLUS ELITE_RsS_200_100.	5. Selezionare il metodo "PCR Only" e impostare la posizione del campione "Elution Tube".	6. Caricare la miscela di reazione completa nell'Inventory Block.
7. Caricare: il rack della PCR Cassette, i rack degli Elution Tube con gli acidi nucleici estratti.	8. Chiudere lo sportello. Avviare la sessione.	9. Visualizzare, approvare e archiviare i risultati.

Procedure di ELITE BeGenius

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

Prima dell'analisi

Tabella 47

1. Accendere ELITE BeGenius. Inserire username e password. Selezionare la modalità "CLOSED".	2. Verificare i controlli: CoV-2 PLUS Positive Control e CoV-2 PLUS Negative Control nel menu "Controls". Nota: Entrambi devono essere eseguiti, approvati e non scaduti.	3. Scongellare. CoV-2 PLUS PCR Mix Mescolare delicatamente con l'agitatore vortex. Centrifugare per 5 secondi. Mantenere il prodotto RT EnzymeMix in ghiaccio.

Tabella 48

4. Preparare la miscela di reazione completa.			5. Mescolare delicatamente con l'agitatore vortex.
Numero di campioni (N)	CoV-2 PLUS PCR Mix	CoV-2 PLUS RT EnzymeMix	Centrifugare per 5 secondi. Conservare la miscela di reazione completa in ghiaccio. Non esporre alla luce diretta.
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 19,3 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,7 \mu\text{L}$	
$6 \leq N \leq 12$	$(N + 2) \times 19,3 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,7 \mu\text{L}$	
$13 \leq N \leq 24$	$(N + 4) \times 19,3 \mu\text{L}$	$(N + 4) \times 0,7 \mu\text{L}$	

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

Tabella 49

1. Selezionare "Perform Run" sul touch screen e fare clic sulla modalità di esecuzione «Extract+ PCR».	2. Inserire il Sample Rack con il codice a barre nella Cooler Unit. Il lettore di codici a barre è già attivo.	3. Verificare i volumi di estrazione: Ingresso: "200 μL ", Eluato: "50 μL " o "100 μL ".
4. Selezionare l'"Assay Protocol" di interesse: SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_RsS_200_50 oppure SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_RsS_200_100	5. Stampare le etichette per identificare con il codice a barre gli Elution Tube vuoti. Caricare i tubi nell'Elution Rack e inserirlo nella Cooler Unit.	6. Caricare la miscela di reazione completa nel rack per reagenti e inserirlo nella Cooler Unit.
7. Caricare il "PCR Basket" con la "PCR Cassette" e l'"Extraction Basket" con le cartucce di estrazione "ELITE InGenius SP 200" e i materiali di consumo per l'estrazione richiesti.	8. Chiudere lo sportello. Avviare la sessione.	9. Visualizzare, approvare e archiviare i risultati.

NOTA

Se si esegue una seconda estrazione, ripetere i passaggi da 2 a 4.

Procedura 2: PCR Only (ad es. eluati, controlli)**Tabella 50**

1. Selezionare "Perform Run" sul touch screen e fare clic sulla modalità di esecuzione «PCR Only».	2. Caricare i tubi di acidi nucleici estratti o i tubi con i controlli dotati di codice a barre nell'Elution Rack e inserirlo nella Cooler Unit.	3. Verificare i volumi di estrazione: Ingresso: "200 µL", Eluato: "50 µL" o "100 µL".
4. Selezionare l'"Assay Protocol" di interesse: SARS-CoV-2 PLUS_Be_PC o SARS-CoV-2 PLUS_Be_PC_200_100, SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_NC o SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_NC_200_100, o SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_RsS_200_50 o SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_RsS_200_100).	5. Caricare la miscela di reazione completa nel rack per reagenti e inserirlo nell'area di raffreddamento. Caricare i puntali con filtro e il rack PCR.	6. Caricare il "PCR Basket" con la "PCR Cassette".
7. Chiudere lo sportello. Avviare la sessione.	8. Visualizzare, approvare e archiviare i risultati.	



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