

Istruzioni per l'uso

CRE ELITe MGB® Kit

reagenti per la Real-Time PCR del DNA



REF RTS200ING

UDI 08033891486



CRONOLOGIA REVISIONI

Rev.	Avviso di modifica	Data (gg/mm/aa)
05	Estensione dell'uso del prodotto in associazione con lo strumento «ELITe BeGenius®» (Cod. INT040). Aggiornamento del paragrafo "Altri prodotti richiesti". Aggiornamento del paragrafo "Avviso per l'acquirente: licenza limitata" Aggiornamento del paragrafo "Simboli" con il simbolo "Consultare le istruzioni per l'uso" Nuova impostazione grafica e del contenuto delle Istruzioni per l'uso (IFU).	24/11/25
04	Modifica della sonda utilizzata per la rilevazione dei geni OXA-48-like	14/11/18
03	Correzioni formali apportate nella sezione "Campioni e controlli".	30/07/18
02	Estensione dell'uso del prodotto con matrice per emocoltura, in associazione con lo strumento ELITe InGenius.	22/12/17
00-01	Sviluppo di nuovi prodotti e modifiche successive	-

NOTA

La revisione delle presenti istruzioni per l'uso è compatibile anche con le versioni precedenti del kit.

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	7
9 PROCEDURA ELITe InGenius.....	9
10 PROCEDURA ELITe BeGenius	14
11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI.....	18
12 BIBLIOGRAFIA.....	27
13 LIMITI DELLA PROCEDURA	28
14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI.....	29
15 LEGENDA DEI SIMBOLI.....	31
16 AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA	31
Appendix A QUICK START GUIDE.....	33

1 USO PREVISTO

Il prodotto **CRE ELITe MGB® Kit** è un dispositivo medico diagnostico in vitro destinato all'uso da parte di operatori sanitari come saggio di Real-Time PCR qualitativo degli acidi nucleici per la rilevazione del DNA dei geni di resistenza ai carbapenemi* (KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48-like) delle *Enterobacteriaceae*.

Il saggio è stato validato in associazione con gli strumenti **ELITe InGenius®** ed **ELITe BeGenius®** sistemi integrati e automatizzati per l'estrazione, la Real-Time PCR e l'interpretazione dei risultati utilizzando campioni umani prelevati tramite tamponi rettali ed emocolture.

Il prodotto è destinato all'uso come ausilio nella diagnosi e nello screening delle infezioni da *Enterobacteriaceae* positive ai geni di resistenza ai carbapenemi, in associazione con i dati clinici del paziente e altri risultati di test di laboratorio.

Il prodotto è inoltre compatibile per la caratterizzazione delle *Enterobacteriaceae* positive ai geni di resistenza ai carbapenemi in campioni di DNA estratti da isolati colturali.

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

*Per l'elenco completo delle varianti genetiche rilevate da questo prodotto, consultare [11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI](#) pagina 18

2 PRINCIPIO DEL SAGGIO

Il saggio è una Real-Time PCR qualitativa che rileva il DNA dei geni di resistenza ai carbapenemi **KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48-like** delle *Enterobacteriaceae* isolate dai campioni e amplificate utilizzando il reagente CRE PCR Mix, che contiene primer e sonde con tecnologia ELITe MGB Kit.

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).

Nelle sonde ELITe MGB Kit i fluorofori non emettono segnale quando la sonda non ibrida con il prodotto di reazione specifico. Quando la sonda ibrida con il prodotto specifico di amplificazione, il quencher viene separato dal fluoroforo ed emette il segnale di fluorescenza.

NOTA

La sonda non viene idrolizzata durante la PCR e può essere utilizzata per l'analisi di dissociazione e il calcolo della temperatura di melting.

3 DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

Il prodotto **CRE ELITe MGB Kit** fornisce il reagente **CRE PCR Mix** ossia una miscela PCR Mix ottimizzata e stabilizzata che contiene i primer e le sonde specifici per:

- la famiglia di geni **KPC**, rilevati nel Canale **KPC**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher® e marcata con il colorante FAM,
- la famiglia di geni **NDM**, rilevati nel Canale **NDM VIM IMP**; le sonde sono stabilizzate dal gruppo MGB, inattivate dall'Eclipse Dark Quencher® e marcate con il colorante AquaPhluor 593 (AP593),
- la famiglia di geni **VIM**, rilevati nel Canale **NDM VIM IMP**; le sonde sono stabilizzate dal gruppo MGB, inattivate dall'Eclipse Dark Quencher® e marcate con il colorante AquaPhluor 593 (AP593),
- la famiglia di geni **IMP**, rilevati nel Canale **NDM VIM IMP**; le sonde sono stabilizzate dal gruppo MGB, inattivate dall'Eclipse Dark Quencher® e marcate con il colorante AquaPhluor 593 (AP593),
- la famiglia di geni **OXA-48-like**, rilevati nel Canale **OXA**; le sonde sono stabilizzate dal gruppo MGB, inattivate dall'Eclipse Dark Quencher® e marcate con il colorante AquaPhluor 639 (AP639),
- l'Internal Control (**IC**), specifico per la sequenza artificiale **IC2**, rilevata nel Canale **IC**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher e marcata con il colorante AquaPhluor 525 (AP525).

La miscela **CRE PCR Mix** contiene anche buffer, magnesio cloruro, nucleosidi trifosfato, stabilizzatori e l'enzima Taq DNA polimerasi con attivazione termica (hot start).

NOTA

I tre geni della famiglia delle metallo-beta-lattamasi, NDM, VIM e IMP, vengono rilevati da sonde diverse con lo stesso colorante fluorescente e quindi rilevati dallo stesso canale NDM VIM IMP per cui non è possibile distinguerli.

Il prodotto **CRE ELITe MGB Kit** contiene reagenti sufficienti per **96 test** sugli strumenti **ELITe InGenius** ed **ELITe BeGenius (12 sessioni per ogni provetta)**, utilizzando 20 µL per reazione.

Il prodotto **CRE ELITe MGB Kit** può essere utilizzato anche in associazione con strumenti equivalenti.

4 MATERIALI INCLUSI NEL PRODOTTO

Tabella 1

Componente	Descrizione	Quantità	Classificazione dei rischi
CRE PCR Mix cod. RTS200ING	Miscela di reagenti di Real-Time PCR provetta con TAPPO NEUTRO	8 x 280 µL	-

5 MATERIALI RICHIESTI MA NON INCLUSI NEL PRODOTTO

- Cappa a flusso laminare.
- Guanti senza polvere monouso in nitrile o materiale analogo.
- Agitatore vortex.
- Centrifuga da banco (~5.000 giri/minuto).
- Microcentrifuga da banco (~13,000 giri/minuto).
- Micropipette e puntali sterili con filtro per aerosol o a spostamento positivo (intervallo di volume: 0,5-1000 µL).
- Provetta da 50 mL con tappo a vite (Sarstedt, Germania, cod. 62.547.254).
- Provetta da 15 mL con tappo a vite (Sarstedt, Germania, cod. 62.554.502).
- Provette sterili da 2,0 mL con tappo a vite (Sarstedt, cod. 72.694.005).
- Acqua per biologia molecolare.

6 ALTRI PRODOTTI RICHIESTI

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

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

Tabella 2

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) CRE ELITe_PC , Assay Protocol con parametri per l'analisi del Positive Control CRE ELITe_NC , Assay Protocol con parametri per l'analisi del Negative Control CRE ELITe_RcS_200_100 , Assay Protocol con parametri per l'analisi di campioni prelevati con tamponi nasali. CRE ELITe_BC_200_100 , Assay Protocol con parametri per l'analisi di campioni di emocoltura.	CRE — ELITe Positive Control (EG SpA, cod. CTR200ING) ELITe InGenius SP200 (EG SpA, cod. INT032SP200) ELITe InGenius ed ELITe BeGenius Consumable Set (vedere le Istruzioni per l'uso di ELITe InGenius ed ELITe BeGenius). CPE – Internal Control (EG SpA, cod. CTCRCPE) eNAT™ kit (Copan, cod. 608CS01R), FecalSwab™ (COPAN Italia S.p.A., cod. 470CE),
ELITe BeGenius (EG SpA cod. INT040) ELITe BeGenius Software versione 2.3.0. (o successiva) CRE ELITe_Be_PC , Assay Protocol con parametri per l'analisi del Positive Control CRE ELITe_Be_NC , Assay Protocol con parametri per l'analisi del Negative Control CRE ELITe_Be_RcS_200_100 , Assay Protocol con parametri per l'analisi di campioni prelevati con tamponi nasali. CRE ELITe_Be_BC_200_100 , Assay Protocol con parametri per l'analisi di campioni di emocoltura.	

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 sul posto di lavoro.

Lavarsi accuratamente le mani dopo avere maneggiato campioni e reagenti.

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

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

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

Non utilizzare il prodotto oltre la data di scadenza indicata.

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

Non utilizzare reagenti provenienti da lotti diversi.

Non utilizzare reagenti di altri fabbricanti.

7.2 Avvertenze e precauzioni per la biologia molecolare

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

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

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

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

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

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

7.3 Avvertenze e precauzioni specifiche per i componenti

Tabella 3

Componente	Temperatura di conservazione	Uso dopo la prima apertura	Cicli di congelamento/scongela-mento	Stabilità sullo strumento (ELiTe InGenius ed ELiTe BeGenius)
CRE PCR Mix	-20 °C o inferiore (al riparo dalla luce)	Un mese	Fino a quattro	Fino a quattro sessioni* indipendenti di tre ore ciascuna

* con congelamento intermedio

8 CAMPIONI E CONTROLLI

8.1 Campioni e protocolli di analisi

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

Tabella 4

Campione	Requisiti per la raccolta	Condizioni di trasporto/conservazione			
		+16/+26 °C (temperatura ambiente)	+2°/+8°C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Emocoltura	—	≤24 ore	—	—	—
Tampone rettale	raccolto in eNAT™ kit	—	≤1 mese	≤6 mesi	Lunghi periodi
Tampone rettale	raccolto in FecalSwab™ kit	—	≤3 giorni	—	—

Prima dell'analisi, diluire il campione di emocoltura 1:1000 in acqua ultrapura (almeno 10 µL di campione in 10 mL di acqua ultrapura), miscelare con vortex e trasferire 0,2 mL dei campioni diluiti in un Extraction Tube (per lo strumento ELITe InGenius) o in una provetta Sarstedt da 2 mL (per lo strumento ELITe BeGenius).

Prima di eseguire l'analisi del tampone rettale raccolto in FecalSwab™, trasferire 0,5 mL di campione addizionato nel terreno di trasporto del sistema FecalSwab™ in una provetta nuova del sistema eNAT™ con 2,0 mL di terreno di trasporto, miscelato utilizzando il vortex. Dopo aver versato 0,5 mL di campione nel terreno di trasporto del sistema FecalSwab™, è possibile caricare la provetta del sistema eNAT™ direttamente nel sistema come provetta primaria. I campioni diluiti in terreno eNAT™ possono essere conservati alle stesse condizioni riportate nella tabella di cui sopra.

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.

Questo prodotto è compatibile per l'uso con isolati colturali ed ELITe InGenius: prima dell'analisi con questo prodotto, diluire il campione in una provetta eNAT™ nuova con 2,0 mL di terreno, prelevando con un'ansa un'aliquota di colonia isolata, agitare con vortex e trasferire 0,2 mL di campione diluito nell'Extraction Tube. Quando l'estrazione dell'acido nucleico dagli isolati colturali viene eseguita con ELITe InGenius, utilizzare il protocollo di estrazione **CRE ELITe_BC_200_100**.

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

Tabella 5 Assay Protocol per CRE ELITe MGB Kit

Assay Protocols per CRE ELITe MGB Kit				
Campione	Strumento	Nome Assay Protocol	Report	Caratteristiche
Tampone rettale	ELITe InGenius	CRE ELITe_RcS_200_100	Positivo/negativo	Volume estrazione in ingresso: 200 µL Volume eluizione: 100 µL Internal Control: 10 µL Fattore di diluizione: 1 Volume di PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 20 µL
	ELITe BeGenius	CRE ELITe_Be_RcS_200_100	Positivo/negativo	Volume estrazione in ingresso: 200 µL Volume eluizione: 100 µL Internal Control: 10 µL Fattore di diluizione: 1 Volume di PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 20 µL
Emocoltura	ELITe InGenius	CRE ELITe_BC_200_100	Positivo/negativo	Volume estrazione in ingresso: 200 µL Volume eluizione: 100 µL Internal Control: 10 µL Fattore di diluizione: 1 Volume di PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 20 µL
	ELITe BeGenius	CRE ELITe_Be_BC_200_100	Positivo/negativo	Volume estrazione in ingresso: 200 µL Volume eluizione: 100 µL Internal Control: 10 µL Fattore di diluizione: 1 Volume di PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 20 µL

NOTA

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

Gli acidi nucleici purificati possono essere lasciati a temperatura ambiente per 16 ore e conservati a -20 °C o 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 18**.

La presenza di un'alta quantità di DNA genomico umano nel DNA estratto dal campione può inibire la reazione di amplificazione.

8.2 Controlli di PCR

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

- Come Positive Control, utilizzare il prodotto **CRE - ELITE Positive Control** (non fornito in questo kit) con gli Assay Protocols **CRE ELITE_PC** o **CRE ELITE_Be_PC**.
- Come Negative Control, utilizzare acqua per biologia molecolare (non fornita in questo kit) con gli Assay Protocols **CRE ELITE_NC** o **CRE ELITE_Be_NC**.

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 analizzare nuovamente il Positive Control e il Negative Control. I controlli della PCR devono essere analizzati nuovamente 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 **CRE ELITE MGB Kit** con lo strumento **ELITE InGenius** si articola in due fasi:

Tabella 6

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 (**Positive Control**, **Negative Control**) siano approvati e validi (Stato) per il lotto di **PCR Mix** da utilizzare. Se non ci sono controlli per PCR validi disponibili per il lotto di **PCR Mix**, eseguire i controlli per PCR come descritto nelle sezioni seguenti;
- 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 "Campioni e controlli").

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

9.2 FASE 2 - Impostazione della sessione

Il prodotto **CRE 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:

Scongelare i tubi di **PCR Mix** necessari a temperatura ambiente per 30 minuti. Ogni tubo contiene un volume sufficiente per **12 test** in condizioni ottimali (2 o più test per sessione). Agitare delicatamente, quindi 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.

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. Se richiesto, trasferire 200 µL di campione in un Extraction Tube precedentemente etichettato.	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 del 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	Scongelare i tubi di CPE necessari 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 12 estrazioni.	Non applicabile	Preparare il Negative Control trasferendo almeno 50 µL di acqua per biologia molecolare in un "Elution Tube", fornito in dotazione con i materiali di consumo di 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 100 µL.	Verificare che "Extraction Input Volume" sia 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia 100 µL.	Verificare che "Extraction Input Volume" sia 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia 100 µL.
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

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)
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 Positive Control 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" sia selezionato "PCR Only".
8	Nella colonna "Sample Position" selezionare "Extraction Tube" o "Primary 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 (bottom row)".	Verificare che la posizione da cui caricare il campione riportata nella colonna "Sample Position" sia "Elution Tube (bottom row)".
9	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
10	Caricare la CPE e la PCR Mix nell'"Inventory Block" facendo riferimento alla "Load List" e inserire il numero di lotto della CPE e della PCR Mix, la data di scadenza e il numero di reazioni per ciascun tubo.	Caricare la PCR Mix nell'"Inventory Block" facendo riferimento alla "Load List" e inserire il numero di lotto della PCR Mix, la data di scadenza e il numero di reazioni per ciascun tubo.	Caricare la PCR Mix nell'"Inventory Block" facendo riferimento alla "Load List" e inserire il numero di lotto della PCR Mix, la data di scadenza e il numero di reazioni 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.
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 gli Elution Tubes con i campioni estratti.	Caricare la PCR Cassette e i tubi di 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, tapparli, identificarli e conservarli a -20 ± 10 °C per non più di un mese. Evitare la fuoriuscita del campione estratto.

NOTA

Alla fine della sessione, rimuovere dallo strumento la **PCR Mix** tapparla e conservarla a -20 °C o temperatura inferiore oppure conservarla a bordo dello strumento in blocco freddo per 4 sessioni indipendenti di 3 ore ciascuna; mescolare delicatamente e centrifugare il contenuto per 5 secondi prima di iniziare la sessione successiva.

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 d'istruzioni dello strumento per maggiori dettagli.

NOTA

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

Lo strumento **ELITe InGenius** utilizza il prodotto **CRE 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

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

Il programma **ELITe InGenius Software** interpreta i risultati della PCR per il target delle reazioni del Positive Control e del Negative Control con i parametri degli Assay Protocol **ELITe_PC** ed **ELITe_NC**. 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 del lotto di reagenti della PCR, vengono registrati nel database (Controls) e possono essere visualizzati 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 d'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 or 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.

9.5 Validazione dei risultati dei campioni

Il programma con **ELITe InGenius software** interpreta i risultati della PCR per i target (Canali **KPC**, **NDM**, **VIM**, **IMP**, **OXA**) e l'Internal Control (Canale **IC**) con i parametri degli Assay Protocols **CRE ELITe_RcS_200_100** e **CRE ELITe_BC_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) Positive Control	Stato
CRE Positive Control	APPROVATO
2) Negative Control	Stato
CRE- Negative Control	APPROVATO

I risultati del campione vengono interpretati automaticamente dal programma con **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 sono stati rilevati i DNA dei patogeni.

Tabella 9

Risultato di una sessione sul campione	Interpretazione
KPC:DNA detected (KPC: DNA rilevato)	Nel campione è stato rilevato il DNA del gene KPC .
NDM VIM IMP:DNA detected (NDM VIM IMP:DNA rilevato)	Nel campione è stato rilevato il DNA del gene NDM, VIM o IMP .
OXA: DNA detected (OXA:DNA rilevato)	Nel campione è stato rilevato il DNA del gene OXA .
KPC:DNA Not detected or below the LoD (KPC:DNA non rilevato o inferiore LoD)	Nel campione non è stato rilevato il DNA del gene KPC . Il campione è valido e negativo per questo gene oppure la concentrazione è inferiore al limite di rilevabilità (LoD) del saggio.
NDM VIM IMP:DNA Not detected or below the LoD (NDM VIM IMP:DNA non rilevato o inferiore LoD)	Nel campione non sono stati rilevati i geni NDM, VIM e IMP . Il campione è valido e negativo per questi geni o la loro concentrazione è inferiore al limite di rilevabilità (LoD) del saggio.
OXA:DNA Not detected or below the LoD (OXA:DNA non rilevato o inferiore LoD)	Nel campione non è stato rilevato il DNA del gene OXA . Il campione è valido e negativo per questo gene oppure la concentrazione è inferiore al limite di rilevabilità (LoD) del saggio.
Invalid-Retest Sample (Non valido - Ripeti test su campione)	Risultato del saggio non valido a causa di un errore dell'Internal Control (errata estrazione o effetto carryover sugli inibitori). Il test deve essere ripetuto.

Campioni che hanno riportato il risultato “Invalid-Retest Sample” (Non valido – Ripeti test su campione): in questo caso, il DNA dell’Internal Control non è stato rilevato in modo efficace, probabilmente per problemi nella fase di campionamento, pretrattamento, estrazione o PCR (ad es. campionamento non corretto, degradazione o perdita di DNA durante l’estrazione o presenza di inibitori nell’eluato), che possono generare risultati errati. Se ne rimane un volume sufficiente, l’eluato può essere ri-analizzato mediante una sessione di amplificazione in modalità “PCR Only”. In caso di un secondo risultato non valido, il campione deve essere nuovamente analizzato partendo dall’estrazione di un nuovo campione in modalità “Extract + PCR” (vedere [“14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI pagina 29”](#)).

I campioni segnalati come: “xxx:DNA Not detected or below LoD” (xxx:DNA non rilevato o minore di LoD) sono idonei per l’analisi, ma non è stato possibile rilevare il DNA target. In tal caso non si può escludere che il DNA target sia presente in una concentrazione inferiore al limite di rilevabilità del saggio (vedere [11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI pagina 18](#)).

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”.

9.6 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 **CRE 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 (**Positive Control**, **Negative Control**) siano approvati e validi (Stato) per il lotto di **PCR Mix** da utilizzare. Se non ci sono controlli per PCR validi disponibili per il lotto di **PCR Mix**, eseguire i controlli per PCR come descritto nelle sezioni seguenti;
- scegliere il tipo di sessione analitica, seguendo le istruzioni visualizzate sull'interfaccia utente grafica (GUI) per l'allestimento della sessione e utilizzando gli Assay Protocol forniti da EG SpA (vedere “Campioni e controlli”).

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

10.2 FASE 2 - Impostazione della sessione

Il prodotto **CRE ELITe MGB Kit** può essere utilizzato su **ELITe BeGenius** per eseguire:

- Corsa dei campioni (Extract + PCR)
- Corsa dei campioni estratti (PCR Only)
- Sessione del Positive Control e del Negative Control (PCR Only).

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

NOTA

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

Prima di impostare una sessione:

Scongelare i tubi di **PCR Mix** necessari a temperatura ambiente per 30 minuti. Ciascun tubo contiene un volume sufficiente per 12 test in condizioni ottimali (2 o più test per sessione). Agitare delicatamente, quindi 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.

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

Tabella 11

	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. Se richiesto, trasferire 200 µL di campione in un Sarstedt tube da 2 mL precedentemente etichettato.	Se necessario, scongela 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.	Scongela i tubi del 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	Scongela i tubi di CPE necessari 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 12 estrazioni.	Non applicabile	Preparare il Negative Control trasferendo almeno 50 µL di acqua per biologia molecolare in un “Elution Tube”, fornito in dotazione con i materiali di consumo di 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” .

Tabella 11 (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)
4	Rimuovere tutti i Rack dalla "Cooler Unit" e posizionarli sul tavolo di preparazione.	Rimuovere i "Rack" dalle "Lane 1, 2 e 3" (L1, L2, L3) della "Cooler Unit" e posizionarli sul tavolo di preparazione.	Rimuovere i "Rack" dalle "Lane 1, 2 e 3" (L1, L2, L3) della "Cooler Unit" e posizionarli 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 del Positive Control e del Negative Control nell'"Elution Rack".
7	Inserire il "Sample Rack" nella "Cooler Unit" a partire dalla "Lane 5" (L5). Se necessario, 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). Se necessario, 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). Se necessario, per ogni "Position" inserire "Reagent name" e "S/N" (numero di serie), "Lot No." (numero di lotto), "Exp. Date" (data di scadenza) e "T/R" (numero di reazioni).
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 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
12	Caricare le "Elution tubes" nell'"Elution Rack" (gli Elution tubes 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 CPE e la PCR Mix nel "Reagent/Elution Rack".	Caricare la PCR Mix nel "Reagent/Elution Rack".	Caricare la PCR Mix nel "Reagent/Elution Rack".

Tabella 11 (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)
16	Inserire il "Reagent/Elution Rack" nella "Cooler Unit" nella "Lane 2" (L2) se disponibile o nella "Lane 1" (L1). Se necessario, per ciascun reagente PCR Mix e/o CPE, inserire "S/N" (numero di serie), "Lot No." (numero di lotto), "Exp. Date" (data di scadenza) e "T/R" (numero di reazioni).	Inserire il "Reagent/Elution Rack" nella "Cooler Unit" nella "Lane 2" (L2) se disponibile o nella "Lane 1" (L1). Se necessario, per ogni 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). Se necessario, per ogni reagente della PCR Mix, inserire "S/N" (numero di serie), "Lot No." (numero di lotto), "Exp. Date" (data di scadenza) e "T/R" (numero di reazioni).
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 "PCR Cassette" nell'Inventory Area (area di carico).	Caricare il "PCR Rack" con "PCR Cassette" nell'Inventory Area (area di carico).	Caricare il "PCR Rack" con "PCR Cassette" nell'Inventory Area (area di carico).
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, tapparli, identificarli e conservarli a -20 ± 10 °C per non più di un mese. Evitare di provocare la fuoriuscita del campione estratto.

NOTA

Alla fine della sessione, rimuovere dallo strumento la **PCR Mix** tapparla e conservarla a -20 °C o temperatura inferiore oppure conservarla a bordo in blocco freddo fino a 4 sessioni indipendenti di 3 ore ciascuna; mescolare delicatamente e centrifugare il contenuto per 5 secondi prima di iniziare la sessione successiva.

NOTA

Alla fine della sessione, rimuovere dallo strumento il **Positive Control** residuo, tapparli e conservarli 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 **CRE 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

Poiché ELITE BeGenius ha dimostrato di avere prestazioni analitiche equivalenti a ELITE InGenius, i risultati riportati nelle sezioni seguenti sono considerati applicabili anche a ELITE BeGenius.

11.1 Sensibilità analitica: Limite di rilevabilità

La sensibilità analitica, come Limite di rilevabilità (LoD) del saggio, è stata determinata su **ELITE InGenius** analizzando 6 ceppi CRE, uno per ciascuno dei seguenti tipi di geni: KPC, IMP, VIM, NDM, OXA-48 e OXA-181, in associazione a campioni di tamponi rettali.

Il LoD per ciascuno dei ceppi CRE è stato stimato mediante analisi di regressione con modello Probit dei dati come concentrazione corrispondente al 95% di probabilità di avere un risultato positivo.

I risultati finali sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 12 Limite di rilevabilità (CFU/mL) per campioni di tamponi rettali con ELITE InGenius

Target	Isolato batterico	LoD (CFU/ml)	Intervallo di confidenza 95% (CFU/ml)	
			Limite inferiore	Limite superiore
KPC	<i>C. freundii</i> , UCLA 14-13-A2	99	69	217
NDM	<i>E. coli</i> , ATCC BAA-2469	144	110	228
VIM	<i>K. pneumoniae</i> , NCTC 13439	399	338	579

Tabella 12 Limite di rilevabilità (CFU/mL) per campioni di tamponi rettali con ELITe InGenius (segue)

Target	Isolato batterico	LoD (CFU/ml)	Intervallo di confidenza 95% (CFU/ml)	
			Limite inferiore	Limite superiore
IMP	<i>E. coli</i> , NCTC 13476	273	234	351
OXA-48	<i>E. coli</i> , ATCC BAA-2523	300	241	456
OXA-181	<i>K. pneumoniae</i> , JMI 18	179	139	287

Il LoD calcolato è stato verificato su campioni di tamponi rettali con lo strumento ELITe InGenius analizzando campioni di tamponi rettali inoculati con materiale di riferimento di ciascun target alla concentrazione dichiarata.

I risultati ottenuti hanno confermato la concentrazione dichiarata per tutti i target del prodotto CRE ELITe MGB Kit con campioni di tamponi rettali su ELITe InGenius.

11.2 Efficienza della rilevazione (inclusività)

L'efficienza della rilevazione delle diverse varianti dei geni di resistenza ai carbapenemi è stata valutata mediante confronto *in silico* delle sequenze della sonda e dei primer del saggio con le sequenze disponibili nel database dei nucleotidi dell'NCBI.

L'analisi ha evidenziato un'elevata conservazione della sequenza e l'assenza di mutazioni significative per le varianti riportate nella tabella seguente.

Tabella 13

Target	Varianti che si prevede possano essere rilevate dal prodotto CRE ELITe MGB® Kit
KPC	KPC-01, KPC-02, KPC-03, KPC-04, KPC-05, KPC-06, KPC-07, KPC-08, KPC-09, KPC-10, KPC-11, KPC-12, KPC-13, KPC-14, KPC-15, KPC-16, KPC-17, KPC-18, KPC-19, KPC-21, KPC-22, KPC-25, KPC-33, KPC-47e, KPC-56a, KPC-63d, KPC-272, KPC-484, KPC-629, KPC-727, KPC-860.
NDM	NDM-01, NDM-02, NDM-03, NDM-04, NDM-05, NDM-06, NDM-07, NDM-08, NDM-09, NDM-10, NDM-12, NDM-13, NDM-15, NDM-16, NDM-17, NDM-32, NDM-40, NDM-221, NDM-255, NDM-264, NDM-265
VIM	VIM-01, VIM-02, VIM-03, VIM-04, VIM-05, VIM-06, VIM-07, VIM-08, VIM-09, VIM-10, VIM-11, VIM-12, VIM-13, VIM-14, VIM-15, VIM-16, VIM-17, VIM-18, VIM-19, VIM-20, VIM-23, VIM-24, VIM-25, VIM-26, VIM-27, VIM-28, VIM-31, VIM-33, VIM-34, VIM-35, VIM-36, VIM-37, VIM-38, VIM-39, VIM-40, VIM-42, VIM-43, VIM-44, VIM-45, VIM-46, VIM-47, VIM-49, VIM-50, VIM-51
IMP	IMP-01, IMP-02, IMP-03, IMP-04, IMP-05, IMP-06, IMP-07, IMP-08, IMP-09, IMP-10, IMP-11, IMP-13, IMP-14, IMP-15, IMP-16, IMP-18, IMP-19, IMP-20, IMP-21, IMP-22, IMP-24, IMP-25, IMP-26, IMP-28, IMP-29, IMP-32, IMP-33, IMP-34, IMP-37, IMP-38, IMP-40, IMP-41, IMP-42, IMP-45, IMP-48, IMP-49, IMP-51, IMP-54, IMP-56, IMP-58
OXA	OXA-48, OXA-162, OXA-163, OXA-181, OXA-199, OXA-204, OXA-232, OXA-244, OXA-245, OXA-370, OXA-405, OXA-416, OXA-439, OXA-484

L'efficienza della rilevazione su diverse varianti dei geni di resistenza ai carbapenemi è stata verificata anche su un set di 18 isolati CRE ben caratterizzati. Sono stati preparati campioni fittizi aggiungendo gli isolati in esame alla matrice rettale negativa a concentrazioni vicine al LoD. Sono stati testati da due a tre isolati di ciascun tipo di gene KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48-like.

I risultati finali sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 14 Efficienza della rilevazione (inclusività) del prodotto CRE ELITe MGB Kit

Microrganismo	Isolato	Marcatore CRE	Concentrazione (CFU/mL)	Risultato
<i>K. pneumoniae</i>	CDC-ARIB-0034	IMP	798	Inclusività
<i>P. aeruginosa</i>	CDC-ARIB-0103	IMP-1	762	Inclusività
<i>P. aeruginosa</i>	CDC-ARIB-0092	IMP-14	762	Inclusività
<i>K. pneumoniae</i>	NCTC 13438	KPC	297	Inclusività
<i>K. pneumoniae</i>	BAA-1898	KPC-2	297	Inclusività
<i>K. pneumoniae</i>	BAA-1904	KPC-3	347	Inclusività
<i>K. pneumoniae</i>	BAA-2146	NDM1	294	Inclusività
<i>E. coli</i>	CDC-ARIB-0150	NDM-5	294	Inclusività
<i>E. coli</i>	CDC-ARIB-0137	NDM-6	294	Inclusività
<i>K. pneumoniae</i>	ST-14 (alias R20)	OXA-181	537	Inclusività
<i>K. pneumoniae</i>	CDC-ARIB-0140	OXA-181	537	Inclusività
<i>K. pneumoniae</i>	CDC-ARIB-0066	OXA-232	900	Inclusività
<i>K. pneumoniae</i>	CDC-ARIB-0075	OXA-232	900	Inclusività
<i>K. pneumoniae</i>	BAA-2524	OXA-48	900	Inclusività
<i>K. pneumoniae</i>	CDC-ARIB-0160	OXA-48	900	Inclusività
<i>K. pneumoniae</i>	NCTC 13440	VIM-1	843	Inclusività
<i>P. aeruginosa</i>	NCTC 13437	VIM-10	843	Inclusività
<i>P. aeruginosa</i>	CDC-ARIB-0054	VIM-4	843	Inclusività

Tutti gli isolati CRE analizzati sono stati rilevati e sono risultati inclusivi dal prodotto CRE ELITe MGB Kit a concentrazioni di circa 300 - 900 CFU/mL.

L'efficienza della rilevazione su diverse varianti dei geni di resistenza ai carbapenemi è stata verificata anche per un set di 114 isolati colturali CRE caratterizzati. Ciascun campione è stato diluito nel kit eNAT™ e quindi analizzato con il prodotto CRE ELITe MGB Kit su ELITe InGenius in modalità Extraction + PCR (Estrazione + PCR). Gli isolati colturali erano rappresentativi dei diversi generi di Enterobacteriaceae (ad esempio *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. cloacae*, *C. koseri*).

I risultati sono sintetizzati nella tabella seguente.

Tabella 15 Efficienza della rilevazione (inclusività) del prodotto CRE ELITe MGB Kit

Campioni	N	Positivi	Negativi	Non valido
Isolati colturali KPC-positivi	22	22	0	0
Isolati colturali positivi per OXA-48 like	35	35	0	0
Isolati colturali NDM-positivi	23	23	0	0
Isolati colturali IMP-positivi	11	11	0	0

Tabella 15 Efficienza della rilevazione (inclusività) del prodotto CRE ELITe MGB Kit (segue)

Campioni	N	Positivi	Negativi	Non valido
Isolati colturali VIM-positivi 17 17 0 0	17	17	0	0
Isolati colturali positivi per OXA-48 e NDM	6	6	0	0

Tutti gli isolati CRE analizzati sono stati rilevati e sono risultati inclusivi dal prodotto CRE ELITe MGB Kit.

11.3 Marcatori potenzialmente interferenti

La potenziale cross-reattività del saggio con altri target involontari è stata valutata dapprima mediante analisi *in silico* delle sequenze disponibili nei database di nucleotidi NCBI.

Un allineamento delle sequenze del primer e della sonda con le sequenze disponibili nel database, includendo gli organismi che è ragionevole aspettarsi di trovare nei campioni clinici, come la comune flora di microrganismi opportunisti rettali, virus, cellule, parassiti intestinali e microrganismi strettamente correlati, produttori di beta-lattamasi, ha evidenziato l'assenza di omologie significative e non ha indicato alcuna potenziale interferenza.

L'assenza di cross-reattività con altri organismi strettamente correlati (resistenza correlata) è stata verificata anche analizzando campioni degli isolati indicati nella tabella sottostante alla concentrazione di 10^6 CFU/mL in triplicato.

Tabella 16 Potenziali marcatori interferenti del prodotto CRE ELITe MGB Kit

Microrganismo	Isolato	Marcatore di antibiotico-resistenza	Concentrazione (CFU/mL)	Risultato
K. pneumoniae	700603	SHV	10^6	Nessuna cross-reattività
E. coli	BAA-202	SHV	10^6	Nessuna cross-reattività
E. coli	BAA-201	TEM	10^6	Nessuna cross-reattività
S. marcescens	14-13-A11	SME	10^6	Nessuna cross-reattività
S. marcescens	14-13-A12	SME	10^6	Nessuna cross-reattività
A. baumannii	13301	OXA-23	10^6	Nessuna cross-reattività
A. baumannii	13302	OXA-25	10^6	Nessuna cross-reattività
A. baumannii	13303	OXA-26	10^6	Nessuna cross-reattività
A. baumannii	13304	OXA-27	10^6	Nessuna cross-reattività
A. baumannii	13305	OXA-58	10^6	Nessuna cross-reattività
A. baumannii	13420	Clone di SE di tipo OXA-51-like	10^6	Nessuna cross-reattività
K. pneumoniae	DICON-185	CTX-M-1	10^6	Nessuna cross-reattività

Tabella 16 Potenziali marcatori interferenti del prodotto CRE ELITE MGB Kit (segue)

Microrganismo	Isolato	Marcatore di antibiotico-resistenza	Concentrazione (CFU/mL)	Risultato
E. coli	DICON-003	CTX-M-1	10 ⁶	Nessuna cross-reattività
E. coli	DICON-178	CTX-M-9	10 ⁶	Nessuna cross-reattività
K. pneumoniae	DICON-005	CTX-M-9	10 ⁶	Nessuna cross-reattività
E. cloacae	NCTC 13464	CTX-M-9	10 ⁶	Nessuna cross-reattività
E. coli	13353	CTX-M-15	10 ⁶	Nessuna cross-reattività
K. pneumoniae	CDC-ARIB-0044	CTX-M-15	10 ⁶	Nessuna cross-reattività

Tutti gli isolati tranne *K. pneumoniae* DICON185 sono risultati negativi in 3 repliche su 3 quando analizzati con CRE ELITE MGB Kit. L'isolato di *K. pneumoniae* DICON185 ha dato esito positivo in una delle tre repliche. Quando è stato ripetuto il test con 5 repliche, l'isolato ha dato 5 risultati negativi su 5 ed è stato considerato privo di cross-reattività.

11.4 Sostanze interferenti

Sono state aggiunte singolarmente sostanze potenzialmente interferenti alle loro concentrazioni clinicamente rilevanti più elevate in una matrice rettale negativa contenente isolati CRE a un livello di concentrazione pari a circa 3 volte il LoD. Le sostanze analizzate sono state: clisteri (olio di vaselina), lubrificante spermicida (Nonoxynol-9), farmaci antidiarroeici (sottosalicilato di bismuto), lassativi (sennosidi), antibiotici (vancomicina), antiacidi (acido alginico / idrossido di alluminio / trisilicato di magnesio, carbonato di calcio, cimetidina, omeprazolo), componenti fecali (acido palmitico, acido stearico, mucina, DNA genomico umano, leucociti umani, sangue intero umano). Un isolato di ciascun tipo di gene KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48 e OXA-181 è stato analizzato in triplicato con il prodotto CRE ELITE MGB Kit e il sistema ELITE InGenius.

Nessuna delle sostanze analizzate ha dimostrato interferenze con il prodotto CRE ELITE MGB® Kit.

È stata valutata la possibile interferenza durante la reazione di amplificazione del 2-propanolo, utilizzato nel processo di estrazione, analizzando il DNA estratto da una matrice rettale negativa contenente isolati di CRE a una concentrazione di circa 400 CFU/mL. Un isolato di ciascun tipo di gene KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48 e OXA-181 è stato analizzato in triplicato con il prodotto CRE ELITE MGB Kit e il sistema ELITE InGenius.

Il test ha dimostrato che fino al 10% di concentrazione di 2-propanolo il prodotto CRE ELITE MGB Kit non dà alcun risultato falso negativo.

11.5 Assenza di cross-contaminazione

L'assenza di cross-contaminazione da campioni positivi a campioni negativi o di carry-over da una sessione all'altra è stata verificata eseguendo 3 sessioni integrate (estrazione del DNA dalla provetta primaria seguita da PCR) con 6 campioni altamente positivi al KPC a 10⁶ CFU/mL in terreno eNAT alternati a 6 campioni negativi in terreno eNAT.

Dopo aver analizzato 18 campioni positivi e 18 campioni negativi in una configurazione a scacchiera con il sistema ELITE InGenius™, non è stata rilevata alcuna cross-contaminazione inter-track o carry-over inter-sessione.

11.6 Tasso totale di errore di sistema

Il tasso di fallimento dell'intero sistema che porta a risultati falsi negativi è stato verificato analizzando 50 campioni inoculati con IMP preparati da isolati in matrice rettale negativa e ha fornito un risultato pari allo 0%.

I 50 campioni di matrice rettale negativa sono stati inoculati con un isolato IMP a una concentrazione finale di circa 400 CFU/mL. Ciascun campione del pannello è stato analizzato eseguendo l'intera procedura analitica partendo dalla provetta primaria con il sistema ELITE InGenius™.

Tutti i campioni sono risultati positivi con il prodotto CRE ELITE MGB Kit.

11.7 Ripetibilità

La ripetibilità del saggio è stata testata su **ELITE InGenius** mediante l'analisi di un pannello di campioni prelevati con tampone rettale, comprendente un campione negativo e tre campioni positivi (ceppi KPC + NDM + OXA, VIM e IMP CRE) a concentrazione bassa e moderata.

Di seguito è riportato un riepilogo dei risultati di ripetibilità ottenuti con ELITE InGenius.

Tabella 17 Ripetibilità su ELITE InGenius

Target	Tipo di campione	Ct media	SD	%CV
KPC	Scarsamente positivo	34,82	0,48	1,4%
	Moderatamente positivo	33,84	0,49	1,4%
NDM	Scarsamente positivo	36,87	0,51	1,4%
	Moderatamente positivo	35,21	0,24	0,7%
OXA	Scarsamente positivo	34,80	0,32	0,9%
	Moderatamente positivo	33,17	0,32	1,0%
VIM	Scarsamente positivo	35,26	0,19	0,5%
	Moderatamente positivo	33,47	0,20	0,6%
IMP	Scarsamente positivo	35,72	0,73	2,0%
	Moderatamente positivo	33,90	0,43	1,3%
IC	n.a.	29,56	0,43	1,5%
	n.a.	29,81	0,61	2,0%

La ripetibilità del saggio è stata verificata su **ELITE BeGenius** mediante l'analisi di un pannello di campioni prelevati con tampone rettale, tra cui un campione negativo e quattro campioni positivi inoculati con materiali di riferimento di ciascun ceppo a bassa concentrazione.

La tabella seguente riporta un esempio di risultati di ripetibilità ottenuti sullo strumento ELITE BeGenius.

Tabella 18 Ripetibilità intra-sessione su ELITE BeGenius

Campione	N	NDM VIM IMP			KPC			OXA			% Concor- danza
		Media Ct	SD Ct	%CV	Ct media	SD Ct	%CV	Ct media	SD Ct	%CV	
Negativi	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100%
NDM + OXA-48	6	33,85	0,15	0,44	-	-	-	33,33	0,45	1,35	100%

Tabella 18 Ripetibilità intra-sessione su ELITe BeGenius (segue)

Campione	N	NDM VIM IMP			KPC			OXA			% Concor- danza
		Media Ct	SD Ct	%CV	Ct media	SD Ct	%CV	Ct media	SD Ct	%CV	
VIM + KPC	6	30,91	0,21	0,67	30,02	0,31	1,03	-	-	-	100%
IMP + OXA-181	6	32,38	0,23	0,72	-	-	-	34,45	0,24	0,70	100%

Tabella 19 Ripetibilità inter-sessione su ELITe BeGenius

Campione	N	NDM VIM IMP			KPC			OXA			% Concor- danza
		Media Ct	SD Ct	%CV	Ct media	SD Ct	%CV	Ct media	SD Ct	%CV	
Negativi	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100%
NDM + OXA-48	12	34,01	0,31	0,92	-	-	-	33,33	0,38	1,13	100%
VIM + KPC	12	31,06	0,48	1,53	30,52	0,60	1,96	-	-	-	100%
IMP + OXA-181	12	32,94	0,68	2,05	-	-	-	34,52	0,44	1,28	100%

Nel test di ripetibilità, il prodotto CRE ELITe MGB Kit ha rilevato tutti i campioni come previsto e ha mostrato una variabilità massima dei valori di Ct del target espressa come %CV inferiore al 5%.

11.8 Riproducibilità

La riproducibilità del saggio è stata testata su **ELITe InGenius** mediante l'analisi di un pannello di campioni prelevati con tampone rettale, comprendente un campione negativo e tre campioni positivi (ceppi KPC + NDM + OXA, VIM e IMP CRE) a concentrazione bassa e moderata.

Di seguito è riportato un riepilogo dei risultati di riproducibilità ottenuti con ELITe InGenius.

Tabella 20 Riproducibilità su ELITe InGenius

Target	Tipo di campione	Ct media	Da strumento a strumento		Da lotto a lotto	
			SD	% CV	SD	% CV
KPC	Scarsamente positivo	35,00	0,289	0,83%	0,214	0,61%
	Moderatamente positivo	34,53	0,428	1,24%	0,312	0,90%
NDM	Scarsamente positivo	36,44	0,223	0,61%	0,000	0,00%
	Moderatamente positivo	35,32	0,317	0,90%	0,000	0,00%
OXA	Scarsamente positivo	33,65	0,140	0,42%	0,089	0,26%
	Moderatamente positivo	33,16	0,169	0,51%	0,207	0,62%

Tabella 20 Riproducibilità su ELITe InGenius (segue)

Target	Tipo di campione	Ct media	Da strumento a strumento		Da lotto a lotto	
			SD	% CV	SD	% CV
VIM	Scarsamente positivo	36,02	0,444	1,23%	0,489	1,36%
	Moderatamente positivo	34,50	0,289	0,84%	0,412	1,19%
IMP	Scarsamente positivo	37,18	0,291	0,78%	0,549	1,48%
	Moderatamente positivo	35,21	0,575	1,63%	0,783	2,22%
IC	n.a.	29,17	0,397	1,36%	0,911	3,12%

La riproducibilità del saggio è stata verificata su **ELITe BeGenius** mediante l'analisi di un pannello di campioni prelevati con tampone rettale, tra cui un campione negativo e quattro campioni positivi inoculati con materiali di riferimento di ciascun ceppo a bassa concentrazione.

La tabella seguente riporta un esempio di risultati di riproducibilità ottenuti sullo strumento ELITe BeGenius.

Tabella 21 Riproducibilità inter-lotto con ELITe BeGenius

Campione	N	NDM VIM IMP			KPC			OXA			% Concordanza
		Media Ct	SD Ct	%CV	Ct media	SD Ct	%CV	Ct media	SD Ct	%CV	
Negativi	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100%
NDM + OXA-48	12	34,10	0,30	0,89	-	-	-	33,34	0,40	1,20	100%
VIM + KPC	12	31,14	0,31	1,00	30,10	0,24	0,80	-	-	-	100%
IMP + OXA-181	12	32,69	0,43	1,31	-	-	-	34,35	0,25	0,74	100%

Tabella 22 Riproducibilità inter-strumento su ELITe BeGenius

Campione	N	NDM VIM IMP			KPC			OXA			% Concordanza
		Media Ct	SD Ct	%CV	Ct media	SD Ct	%CV	Ct media	SD Ct	%CV	
Negativi	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100%
NDM + OXA-48	12	34,23	0,31	0,91	-	-	-	33,49	0,48	1,43	100%
VIM + KPC	12	31,24	0,21	0,68	30,13	0,25	0,83	-	-	-	100%
IMP + OXA-181	12	34,12	1,28	3,74	-	-	-	34,89	1,18	3,37	100%

Nel test di riproducibilità, CRE ELITe MGB Kit ha rilevato tutti i campioni come previsto e ha mostrato una variabilità massima dei valori di Ct del target espressa come %CV inferiore a 5%.

11.9 Specificità diagnostica: conferma di campioni negativi

La specificità diagnostica del saggio, come conferma di campioni clinici negativi, è stata valutata analizzando alcuni campioni di tamponi rettali ed emocolture CRE-negative.

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

I risultati sono sintetizzati nella tabella seguente.

Tabella 23 Specificità diagnostica:

Campioni	N	positivo	negativo	Specificità diagnostica in %
Tampone rettale CRE negativo	52	0	52	100%
Emocoltura CRE negativa	45	2	43	95,5%

Il valore di cut-off del Ct IC è fissato a 34 per i campioni di tamponi rettali e i campioni di emocoltura quando analizzati con ELITE InGenius ed ELITE BeGenius.

11.10 Sensibilità diagnostica: conferma di campioni negativi

La sensibilità diagnostica del saggio, come conferma dei campioni clinici positivi, è stata valutata analizzando campioni di tamponi rettali e di emocoltura, positivi alla CRE o inoculati con isolati di CRE.

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

I risultati sono sintetizzati nella tabella seguente.

Tabella 24 Sensibilità diagnostica

Campioni	N	positivo	negativo	Sensibilità diagnostica in %
Tampone rettale KPC positivo	25	25	0	100%
Tampone rettale VIM positivo	4	4	0	
Tampone rettale OXA-48-positivo	1	1	0	
Tampone rettale inoculato con KPC (isolato 207-1 KPC- 3)	12	12	0	
Tampone rettale inoculato con KPC (isolato B1 KPC-2)	12	11	1	
Tampone rettale inoculato con NDM (isolato NDM-1)	12	12	0	
Tampone rettale inoculato con NDM (isolato NDM-5)	12	12	0	
Tampone rettale inoculato con VIM (isolato VIM-1)	12	12	0	
Tampone rettale inoculato con VIM (isolato VIM-4)	12	12	0	
Tampone rettale inoculato con IMP (isolato <i>K. pneumoniae</i> AR-Bank 0034)	12	12	0	
Tampone rettale inoculato con IMP (isolato <i>E. coli</i> NCTC 13476)	12	12	0	
Tampone rettale inoculato con OXA-48-like (isolato OXA-48)	12	12	0	
Tampone rettale inoculato con OXA-48 (isolato OXA-232)	12	12	0	
Emocoltura KPC positiva	16	16	0	
Emocoltura OXA-48-positiva	5	5	0	
Emocoltura NDM positiva	4	4	0	
Emocoltura IMP positiva	2	2	0	
Emocoltura VIM positiva	2	2	0	
Emocoltura inoculata con OXA-48	5	5	0	
Emocoltura inoculata con NDM	5	5	0	
Emocoltura inoculata con VIM	5	5	0	
Emocoltura inoculata con IMP	5	5	0	

NOTA

I dati e i risultati completi delle prove eseguite per la valutazione delle caratteristiche prestazionali del prodotto con le matrici e gli strumenti sono registrati al capitolo 7 del Fascicolo Tecnico del prodotto "CRE ELITe MGB® Kit", FTP RTS200ING.

12 BIBLIOGRAFIA

L. S. Tzouvelekis et al. (2012) *Clin. Microbiol. Rev.* 25(4): 682 - 707.

13 LIMITI DELLA PROCEDURA

Utilizzare questo prodotto solo con i seguenti campioni clinici: tamponi rettali ed emocoltura.

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

Non utilizzare campioni con una matrice fecale eccessiva con questo prodotto: i campioni con elevata torbidità inibiscono la reazione di amplificazione dell'acido nucleico 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 della Real Time PCR utilizzato in questo prodotto ha un'elevata sensibilità analitica che lo rende sensibile alla contaminazione da campioni clinici positivi, Positive Controls e prodotti della PCR. Le cross-contaminazioni possono produrre risultati falsi positivi. Il formato del prodotto è progettato per limitare le cross-contaminazioni. Comunque, questi fenomeni possono essere evitati solo attenendosi alle buone prassi di laboratorio e seguendo attentamente le istruzioni riportate nel presente manuale.

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

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

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

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

È necessario disporre di aree separate per l'estrazione/preparazione delle reazioni di amplificazione e per l'amplificazione/rilevazione dei prodotti della reazione di amplificazione per prevenire risultati falsi 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 il DNA target non è stato rilevato nel DNA estratto dal campione, ma non si può escludere che il DNA target sia presente a un titolo inferiore rispetto al limite di rilevabilità del prodotto (vedere "Caratteristiche prestazionali", pagina 15). In questo caso il risultato potrebbe essere un falso negativo.

Un risultato negativo dopo un precedente risultato positivo può indicare o meno la riuscita dell'eradicazione.

I risultati ottenuti con questo prodotto possono risultare talvolta "Invalid" (non validi) a causa di un mancato controllo interno e la prova deve essere ripetuta, con conseguente possibile ritardo nella comunicazione dei risultati finali.

Benché rari, i polimorfismi nella regione del genoma batterico target coperto dai primer e dalle sonde del prodotto possono compromettere la rilevazione.

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

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

14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI

Tabella 25

Reazione del Positive Control non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errore di impostazione dello strumento.	Controllare la posizione della PCR Mix e del Positive Control. Controllare i volumi della PCR Mix e del Positive Control.
Degradazione della PCR Mix.	Non utilizzare la miscela PCR Mix per più di 4 sessioni indipendenti (3 ore in blocco freddo nell'Inventory Area o nella Cooler Unit). Non lasciare la PCR Mix a temperatura ambiente per più di 30 minuti. Utilizzare una nuova aliquota di PCR Mix.
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 26

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

Tabella 27

Reazione del campione non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errata impostazione dello strumento.	Controllare la posizione della PCR Mix, del controllo interno e del campione. Controllare i volumi della PCR Mix, del controllo interno e del campione.
Degradazione della PCR Mix.	Non utilizzare la PCR Mix per più di 4 sessioni indipendenti (3 ore nell'Inventory Area o nella Cooler Unit). Non lasciare la PCR Mix a temperatura ambiente per più di 30 minuti. Utilizzare una nuova aliquota di PCR Mix.
Degradazione del template di Internal Control.	Utilizzare una nuova aliquota di Internal Control.

Tabella 27 (segue)

Reazione del campione non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Inibizione dovuta a sostanze interferenti con il campione.	Ripetere la reazione di amplificazione "tal quale" oppure con una diluizione 1:2 in acqua per biologia molecolare del campione eluito in una sessione in modalità "PCR Only" (solo PCR). Ripetere l'estrazione con una diluizione 1:2 in acqua per biologia molecolare del campione in una sessione in modalità "Extract + PCR" (estrazione + PCR).
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup.

Tabella 28

Errore nel calcolo di Ct	
Possibili cause	Soluzioni
Concentrazione troppo elevata del target nel campione o campione con segnale di fluorescenza anomalo.	Se nel PCR plot appare un'amplificazione significativa, selezionare il Track relativo al campione e approvare manualmente il risultato come positivo. Se nel PCR plot non appare nessuna amplificazione, selezionare il Track relativo al campione e approvare manualmente il risultato come negativo o lasciarlo come non valido. Se è richiesto un valore di Ct: - ripetere la reazione di amplificazione del campione eluito con una diluizione 1:10 in acqua per biologia molecolare in una sessione in modalità "PCR Only" (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 29

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. Utilizzare un nuovo tubo di PCR Mix e/o CPE.

15 LEGENDA DEI SIMBOLI



Numero di catalogo.



Limite superiore di temperatura.



Codice del lotto.



Da utilizzare prima del (ultimo giorno del mese).



Dispositivo medico-diagnostico *in vitro*.



Conforme ai requisiti della Direttiva Europea 98/79/CE relativa ai dispositivi medici diagnostici *in vitro*.



Identificazione unica del dispositivo



Contenuto sufficiente per "N" test.



Consultare le istruzioni per l'uso.



Contenuto.



Conservare al riparo dalla luce del sole.



Fabbricante.

16 AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA

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

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

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

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

MGB®, Eclipse Dark Quencher®, AquaPhluor®, ELITe MGB®, il logo ELITe MGB®, ELITe InGenius® ed ELITe BeGenius® sono marchi registrati di ELITechGroup nell'Unione Europea.
eSwab® è un marchio registrato di COPAN Italia S.p.A.

Appendix A CRE 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 **CRE ELITE MGB® Kit** è un dispositivo medico diagnostico in vitro destinato all'uso da parte di operatori sanitari come saggio di Real-Time PCR qualitativo degli acidi nucleici per la rilevazione del DNA dei geni di resistenza ai carbapenemi* (KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48-like) delle *Enterobacteriaceae*.

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

Il prodotto è destinato all'uso come ausilio nella diagnosi e nello screening delle infezioni da *Enterobacteriaceae* positive ai geni di resistenza ai carbapenemi, in associazione con i dati clinici del paziente e altri risultati di test di laboratorio.

Il prodotto è inoltre compatibile per la caratterizzazione delle *Enterobacteriaceae* positive ai geni di resistenza ai carbapenemi in campioni di DNA estratti da isolati culturali.

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

*Per l'elenco completo delle varianti genetiche rilevate da questo prodotto, consultare [11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI pagina 18](#)

Sequenza amplificata

Sequenza	Gene	Fluoroforo	Canale
Target 1	Famiglia di geni KPC	FAM	KPC
Target 2	Famiglia di geni NDM, VIM, IMP	AP593	NDM VIM IMP
Target 3	Famiglia di geni OXA-48-like	AP639	OXA
Internal Control	Sequenza artificiale IC2	AP525	IC

Matrice validata

› Tampone rettale
› Emocoltura

Contenuto del Kit e prodotti correlati

CRE ELITe MGB Kit (RTS200ING)		CRE- ELITe Positive Control (CTR200ING)	
 X 8		 X 3	
CRE PCR Mix 8 provette da 280 µL 12 reazioni per provetta 96 reazioni per kit 4 cicli di congelamento/scongelamento per provetta		CRE Positive Control 3 provette da 160 µL 4 reazioni per provetta 12 reazioni per kit 4 cicli di congelamento/scongelamento	
Validità massima:	24 mesi	Validità massima:	24 mesi
Temperatura di conservazione	≤ -20°C	Temperatura di conservazione	≤ -20°C

Altri prodotti richiesti ma non forniti nel kit

› Strumento ELITe InGenius: INT030. › Strumento ELITe BeGenius: INT040. › ELITe InGenius SP 200: INT032SP200. ELITe InGenius ed ELITe BeGenius Consumable Set (vedere le Istruzioni per l'uso relative ad ELITe InGenius ed ELITe BeGenius).	› CPE - Internal Control: CTRCPE › eNAT™ kit (Copan, cod.606CS01R), › FecalSwab™ (COPAN, cod. 470CE)
--	--

Protocollo di ELITe InGenius e ELITe BeGenius

› Volume del campione	200 µL	› Volume di eluato in PCR	20 µL
› Volume di CPE	10 µL	› Volume della PCR Mix	20 µL
› Volume eluizione totale	100 µL	› Frequenza dei controlli	15 giorni

Prestazioni di ELITe InGenius e ELITe BeGenius

Matrice	Target	Limite di rilevabilità	Sensibilità	Specificità
Tampone rettale	KPC	99 CFU/mL	100%	100%
	NDM	144 CFU/mL		
	VIM	399 CFU/mL		
	IMP	273 CFU/mL		
	OXA-48	300 CFU/mL		
	OXA-181	179 CFU/mL		
Emocoltura	KPC	N.A.	100%	95,5%
	NDM	N.A.		
	VIM	N.A.		
	IMP	N.A.		
	OXA-48	N.A.		
	OXA-181	N.A.		

N.A. = Non Applicabile

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.

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
Emocoltura	-	≤24 ore	-	-	-
Tampone rettale	raccolto in eNAT™ kit	-	≤1 mese	≤6 mesi	Lunghi periodi
Tampone rettale	raccolto in FecalSwab™ kit	-	≤3 giorni	-	-

Prima dell'analisi, diluire il campione di emocoltura 1:1000 in acqua ultrapura (almeno 10 µL di campione in 10 mL di acqua ultrapura), miscelare con vortex e trasferire 0,2 mL dei campioni diluiti in un Extraction Tube (per lo strumento ELITe InGenius) o in una provetta Sarstedt da 2 mL (per lo strumento ELITe BeGenius).

Prima di eseguire l'analisi del tampone rettale raccolto in FecalSwab™, trasferire 0,5 mL di campione addizionato nel terreno di trasporto del sistema FecalSwab™ in una provetta nuova del sistema eNAT™ con 2,0 mL di terreno di trasporto, mescolato con il vortex. Dopo aver versato 0,5 mL di campione nel terreno di trasporto del sistema FecalSwab™, è possibile caricare la provetta del sistema eNAT™ direttamente nel sistema come provetta primaria. I campioni diluiti in terreno eNAT™ possono essere conservati alle stesse condizioni riportate nella tabella di cui sopra.

Procedure di ELITe InGenius

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

Prima dell'analisi

1. Accendere ELITe InGenius. Inserire username e password. Selezionare la modalità "CLOSED" .	2. Verificare i controlli: Positive Control e Negative Control nel menu "Controls". Nota: Entrambi devono essere eseguiti, approvati e non scaduti.	3. Scongellare la PCR Mix e le provette CTRCPE Mescolare delicatamente con agitatore vortex. Centrifugare per 5 sec.
--	--	--

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

1. Selezionare "Perform Run" sul touch screen	2. Verificare i volumi di estrazione: Ingresso: "200 µL", eluizione: "100 µL"	3. Scansionare il codice a barre con l'apposito lettore manuale, o digitare l'ID del campione
4. Selezionare l'Assay Protocol di interesse: CRE ELITe RcS_200_100 o CRE ELITe BC_200_100	5. Selezionare il metodo "Extract + PCR" e la posizione del campione: Extraction Tube	6. Caricare la miscela PCR Mix e l'Internal Control (IC) nell'Inventory Block
7. Caricare la PCR Cassette, le cartucce per estrazione ELITe InGenius SP 200 e tutti i materiali di consumo richiesti e i campioni da estrarre.	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)

1. Selezionare "Perform Run" sul touch screen	2. Verificare i volumi di estrazione: Ingresso: "200 µL", eluizione: "100 µL"	3. Scansionare il codice a barre con l'apposito lettore manuale, o digitare l'ID del campione
4. Selezionare l'Assay Protocol di interesse: CRE ELITe RcS_200_100 oppure CREn ELITe BC_200_100 o CRE ELITe_PC o CRE ELITe_NC	5. Selezionare il metodo "PCR Only" e impostare la posizione del campione "Elution Tube".	6. Caricare la miscela PCR Mix nell'Inventory Block
7. Caricare: rack per cassette PCR, cartucce per estrazione, Elution Tube, cassette per puntali, Extraction Tube	8. Chiudere lo sportello. Avviare la sessione	9. Visualizzare, approvare e archiviare i risultati

Procedure di ELITe BeGenius

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

Prima dell'analisi

1. Accendere ELITe BeGenius. Inserire username e password. Selezionare la modalità "CLOSED" .	2. Verificare i controlli: Positive Control e Negative Control nel menu "Controls". Nota: Entrambi devono essere eseguiti, approvati e non scaduti.	3. Scongellare la PCR Mix e le provette CTRCPE Mescolare delicatamente con agitatore vortex. Centrifugare per 5 sec.
--	--	--

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

1. Selezionare "Perform Run" sul touch screen, quindi fare clic sul run mode «Extract + PCR»	2. Inserire il "Sample Rack" contenente i campioni con il codice a barre nella "Cooler Unit". La scansione del codice a barre è già attiva	3. Verificare i volumi di estrazione: Ingresso: "200 µL", Eluizione: "100 µL"
4. Selezionare l'Assay Protocol di interesse: CRE ELITe_Be_RcS_200_100 o CRE ELITe_Be_BC_200_100 <i>Nota:</i> se si esegue una seconda estrazione, ripetere i passaggi da 2 a 4	5. Stampare le etichette per identificare con il codice a barre gli Elution Tube vuoti. Caricare i tubi nell'Elution Rack e inserirlo nella Cooler Unit.	6. Caricare la PCR Mix e l'Internal Control nell'Elution Rack e inserirlo nella Cooler Unit.
7. Caricare il "PCR Rack" con la "PCR Cassette" e l'"Extraction Rack" con le cartucce di estrazione e i materiali di consumo richiesti per l'estrazione forniti in "ELITe InGenius SP 200 Consumable Set".	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)

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. Per i <u>Controlli</u> : 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). Per gli <u>Eluati</u> : per ogni "Position" inserire i dati relativi a "Sample ID", "Sample matrix", "Extraction kit" ed "Extracted eluate vol." (volume eluato).
4. Selezionare l'Assay Protocol di interesse: CRE ELITe_Be_RcS_200_100 o CRE ELITe_Be_BC_200_100 o CRE ELITe_Be_PC o CRE ELITe_Be_NC	5. Caricare la PCR-Mix nel Reagent/Elution Rack e inserirlo nella Cooler Unit.	6. Caricare il "PCR Rack" con la "PCR Cassette".
7. Chiudere lo sportello. Avviare la sessione	8. Visualizzare, approvare e archiviare i risultati	



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