

Istruzioni per l'uso

STI PLUS ELITe MGB® Kit

reagenti per la Real-Time PCR del DNA



REF RTS400ING

UDI 08033891486525

CE
0123

IVD

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Rev.	Notifiche dei cambiamenti	Data (dd/mm/yy)															
08-R	Modifica del valore della soglia per la rilevazione dei segnali di Tm per il target <i>Chlamydia trachomatis</i> e inserimento frase di output per campioni sottosoglia di Tm per il Target <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	28/03/25															
07-R	Aggiornamento del paragrafo "Validazione dei risultati dei campioni: allineamento alle nuove frasi di interpretazione definite nell'Assay Protocol"	06/12/24															
06-R	Marcatura CE secondo il nuovo Regolamento Europeo 2017/746 (IVDR). <table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="3">NOTA</th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td colspan="3">i lotti di prodotto sotto elencati, con marcatura CE secondo la Direttiva IVDD, rimarranno presenti sul mercato fino alla data di scadenza, in accordo all' Articolo 110 dell' IVDR. Se in possesso di questi lotti, si prega di contattare il personale di ELITech-Group per richiedere la relativa precedente versione delle IFUs.</td></tr> <tr> <th>Numero di catalogo</th><th>Numero di lotto</th><th>Data di scadenza</th></tr> <tr> <td>RTS400ING</td><td>U0824-004</td><td>31/01/26</td></tr> <tr> <td>RTS400ING</td><td>U1024-071</td><td>27/02/26</td></tr> </tbody> </table> Modifiche alla formulazione della PCR-Mix per migliorare i segnali di fluorescenza dei target MG e TV , per utilizzare un nuovo buffer senza Triton X-100, per implementare la analisi di Tm per discriminare <i>N.gonorrhoeae</i> da altre <i>Neisseria spp.</i>, per risolvere i problemi del target CT non rilevato in presenza di coinfezione con TV ad alto titolo. Sono stati effettuati nuovi studi: aggiornamento delle performance analitiche e diagnostiche al paragrafo Caratteristiche delle prestazioni (stabilità campioni clinici; limite di rilevabilità; Intervallo di misurazione lineare; cross reattività, inibizione; ripetibilità e riproducibilità, specificità e sensibilità diagnostiche) Aggiornamento dell'uso previsto: Validazione del prodotto in associazione con ELITe InGenius (REF INT030) ed ELITeBeGenius (REF INT040) con le matrici urine e tamponi cervicali Nuovo formato grafico e nuova impostazione dei contenuti dell'IFU	NOTA			i lotti di prodotto sotto elencati, con marcatura CE secondo la Direttiva IVDD, rimarranno presenti sul mercato fino alla data di scadenza, in accordo all' Articolo 110 dell' IVDR. Se in possesso di questi lotti, si prega di contattare il personale di ELITech-Group per richiedere la relativa precedente versione delle IFUs.			Numero di catalogo	Numero di lotto	Data di scadenza	RTS400ING	U0824-004	31/01/26	RTS400ING	U1024-071	27/02/26	06/11/24
NOTA																	
i lotti di prodotto sotto elencati, con marcatura CE secondo la Direttiva IVDD, rimarranno presenti sul mercato fino alla data di scadenza, in accordo all' Articolo 110 dell' IVDR. Se in possesso di questi lotti, si prega di contattare il personale di ELITech-Group per richiedere la relativa precedente versione delle IFUs.																	
Numero di catalogo	Numero di lotto	Data di scadenza															
RTS400ING	U0824-004	31/01/26															
RTS400ING	U1024-071	27/02/26															
05	Espansione dell'uso previsto del prodotto in associazione allo strumento ELITe BeGenius (REF INT040)	26/09/22															
00 — 04	Nuovo sviluppo di prodotto e cambiamenti successivi	—															

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	15
11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI	18
12 BIBLIOGRAFIA	30
13 LIMITI DELLA PROCEDURA	30
14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI	31
15 LEGENDA DEI SIMBOLI	34
16 AVVISO PER L'UTILIZZATORE	34
17 AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA.....	34
Appendix A QUICK START GUIDE.....	36

1 USO PREVISTO

Il prodotto **STI PLUS ELITE MGB® Kit** è un dispositivo medico diagnostico in vitro destinato all'uso da parte degli operatori sanitari come test di Real-Time PCR qualitativa multiplex degli acidi nucleici per la rilevazione e l'identificazione del DNA genomico di *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium* e *Trichomonas vaginalis*, estratto da campioni clinici.

Il saggio è validato in associazione agli strumenti **ELITE InGenius®** ed **ELITE BeGenius®**, sistemi integrati e automatizzati per l'estrazione, la Real-Time PCR e l'interpretazione dei risultati, a partire da campioni umani di urine primo getto raccolte senza conservanti e tamponi cervico-vaginali.

Il prodotto è destinato all'uso come ausilio nella diagnosi di infezioni del tratto urogenitale, in pazienti con sospetta infezione da *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium* o *Trichomonas vaginalis*.

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

2 PRINCIPIO DEL SAGGIO

Il saggio è una Real-Time PCR qualitativa multiplex per la rilevazione del DNA di *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium* e *Trichomonas vaginalis*, isolato dai campioni e amplificato utilizzando il reagente **STI PLUS PCR Mix** che contiene primers e sonde con tecnologia ELITE MGB.

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

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

3 DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

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

- il gene dnaB-like di *Chlamydia trachomatis*, rilevato nel canale **CT**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher® e marcata con il fluoroforo AquaPhluor 525 (AP525).
- il gene ompA di *Chlamydia trachomatis*, rilevato nel canale **CT**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher e marcata con il fluoroforo AquaPhluor 525 (AP525).
- il gene pivNG di *Neisseria gonorrhoeae*, rilevato nel canale **NG**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher e marcata con il fluoroforo AquaPhluor 593 (AP593).
- il gene 23S rRNA di *Mycoplasma genitalium*, rilevato nel canale **MG**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher e marcata con il fluoroforo AquaPhluor 639 (AP639).
- il gene sequence L23861 di *Trichomonas vaginalis*, rilevato nel canale **TV**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher e marcata con il fluoroforo FAM.
- il gene umano **Beta Globina** del Controllo Interno (IC), rilevato nel canale **IC**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher e marcata con il fluoroforo AquaPhluor 559 (AP559).

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

Il Controllo Interno monitora l'efficienza di estrazione e della PCR (nei tamponi cervicali vaginali permette anche di monitorare la cellularità del campione).

Il saggio può essere utilizzato in due modalità alternative:

- quando si testano i campioni di urine primo getto, mediante l'utilizzo del Controllo Interno esogeno (CPE – Internal Control) aggiunto dagli strumenti **ELITE InGenius** ed **ELITE BeGenius** utilizzato per il monitoraggio dell'estrazione e dell'inibizione della reazione di amplificazione real-time,

- quando si testano i campioni di tamponi cervico-vaginali, mediante l'utilizzo del DNA genomico umano del campione come Controllo Interno endogeno per il monitoraggio della cellularità del campione, del processo di estrazione e dell'efficienza della reazione di amplificazione real-time.

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

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

4 MATERIALI INCLUSI NEL PRODOTTO

Tabella 1

Componente	Descrizione	Quantità	Classificazione dei rischi
STI PLUS PCR Mix cod. RTS400ING	Miscela di reagenti per la Real-Time PCR, in provetta con tappo NATURALE	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 (0,5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Provette sterili da 2,0 mL con tappo a vite (Sarstedt cod. 72.694.005).
- Acqua per biologia molecolare.

6 ALTRI PRODOTTI RICHIESTI

I reagenti per l'estrazione del DNA dai campioni da analizzare, il controllo interno di estrazione e di inibizione, i controlli positivo e negativo di amplificazione e i materiali di consumo **non** sono inclusi in questo prodotto.

Per l'estrazione automatica degli acidi nucleici, la Real-Time PCR e l'interpretazione dei risultati delle analisi eseguite sui campioni da analizzare, sono richiesti i seguenti prodotti.

Tabella 2

Strumenti e Software	Prodotti e Reagenti
ELITe InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, cod. INT030) ELITe InGenius Software versione 1.3.0.19 (o successiva) STI PLUS ELITe_PC , Assay Protocol (Protocollo di Saggio) con i parametri per l'analisi del Controllo Positivo STI PLUS ELITe_NC , Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Controllo Negativo STI PLUS ELITe_U_200_100 , Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di urine STI PLUS ELITe_CS_200_100 , Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di tamponi cervico-vaginali	ELITe InGenius SP 200 (EG SpA, cod. INT032SP200) ELITe InGenius SP 200 Consumable Set (EG SpA, cod. INT032CS) ELITe InGenius PCR Cassette (EG SpA, cod. INT035PCR) ELITe InGenius Waste Box (EG SpA, cod. F2102-000) 300 µL Filter Tips Axygen (Corning Life Sciences Inc., cod. TF-350-L-R-S) solo per ELITe InGenius. 1000 µL Filter Tips Tecan (Tecan, Switzerland, cod. 30180118) solo per ELITe BeGenius. CPE - Internal Control (EG SpA, cod. CTCPE) STI PLUS — ELITe Positive Control (EG SpA, cod. CTR400ING) eSWAB® (COPAN Italia S.p.A) con campioni di tamponi cervico-vaginali
ELITe BeGenius (EG SpA, cod. INT040) ELITe BeGenius Software versione 2.2.1 (o successiva) STI PLUS ELITe_Be_PC , Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Controllo Positivo STI PLUS ELITe_Be_NC , Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Controllo Negativo STI PLUS ELITe_Be_U_200_100 , Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di urine STI PLUS ELITe_Be_CS_200_100 , Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di tamponi cervico-vaginali	

7 AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Questo prodotto è riservato esclusivamente all'uso *in vitro*.

7.1 Avvertenze e precauzioni generali

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

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

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

Non pipettare mai le soluzioni con la bocca.

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

Lavarsi accuratamente le mani dopo avere maneggiato campioni e reagenti.

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

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

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

Non utilizzare il prodotto oltre la data di scadenza indicata.

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

Non utilizzare reagenti provenienti da lotti diversi.

Non utilizzare reagenti di altri fabbricanti.

7.2 Avvertenze e precauzioni per la biologia molecolare

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

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

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

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

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

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

7.3 Avvertenze e precauzioni specifiche per i componenti

Tabella 3

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

*con congelamento intermedio

8 CAMPIONI E CONTROLLI

8.1 Campioni

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

Tabella 4

Campione	Requisiti per la raccolta	Condizioni di trasporto e conservazione			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Urine primo getto	raccolte senza conservanti	≤ 1 giorno	≤ 2 giorni	≤ 1 mese	≤ 1 mese
Tamponi cervico-vaginali	eSwab® Kit (COPAN)	≤ 2 giorni	≤ 2 giorni	≤ 1 mese	≤ 1 mese

Le urine primo getto possono essere utilizzate “tal quali” o dopo essere state concentrate 10 volte tramite centrifugazione a ~1,000 RCF per 10 minuti.

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

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

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

Tabella 5 Assay Protocols per STI PLUS ELITE MGB Kit

Campione	Strumento	Nome Assay Protocol	Report	Caratteristiche
Urine primo getto	ELITE InGenius	STI PLUS ELITE_U_200_100	Positivo / Negativo	Volume estrazione in ingresso: 200 µL Volume eluizione: 100 µL Controllo Interno: 10 µL Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1 Volume PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 20 µL
	ELITE BeGenius	STI PLUS ELITE_Be_U_200_100	Positivo / Negativo	
Tamponi cervico-vaginali	ELITE InGenius	STI PLUS ELITE_CS_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: 20 µL
	ELITE BeGenius	STI PLUS ELITE_Be_CS_200_100	Positivo / Negativo	

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

NOTA

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

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

I dati relativi all'inibizione indotta da farmaci e altre sostanze sono riportati nel paragrafo “Sostanze potenzialmente interferenti” al capitolo “Caratteristiche delle Prestazioni”.

8.2 Controlli di PCR

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

- come Controllo Positivo di PCR utilizzare il prodotto **STI PLUS - ELITE Positive Control** (non fornito in questo kit), in associazione con gli Assay Protocols **STI PLUS ELITE_PC** e **STI PLUS ELITE_Be_PC**.
- come Controllo Negativo di PCR utilizzare acqua per biologia molecolare (non fornita in questo kit) in associazione con gli Assay Protocols **STI PLUS ELITE_NC** e **STI PLUS ELITE_Be_NC**.

NOTA

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

- quando si utilizza un nuovo lotto di reagenti di PCR,
- quando i risultati delle analisi di controllo qualità (vedi paragrafo successivo) non rientrano nelle specifiche,
- quando **ELITE InGenius** o **ELITE BeGenius** deve essere sottoposto ad un intervento di manutenzione principale.

8.3 Controlli di qualità

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

9 PROCEDURA ELITE InGenius

La procedura per l'uso del prodotto **STI PLUS ELITE MGB Kit** con **ELITE InGenius** si articola in tre 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 Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR Only).
FASE 3	Esame ed approvazione dei risultati	1) Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo
		2) Validazione dei risultati dei campioni
		3) Refertazione dei risultati dei campioni

9.1 FASE 1 - Verifica che il sistema sia pronto

Prima di iniziare la sessione:

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

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

9.2 FASE 2 - Impostazione della sessione

Il prodotto **STI PLUS ELITe MGB Kit** può essere utilizzato con **ELITe InGenius** per eseguire:

- A. Corsa dei campioni (Extract + PCR),
- B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only),
- C. Corsa del Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR Only).

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

NOTA

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

Prima di impostare una sessione:

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

NOTA

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

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

Tabella 7

	A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)	B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)	C. Corsa del Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR Only)
1	Identificare i campioni e, se necessario, scongelarli a temperatura ambiente. Per l'analisi, 200 µL di campione devono essere trasferiti in un Extraction tube (tubo di estrazione) precedentemente etichettato.	Scongelare a temperatura ambiente gli Elution tube (Provetta con eluato) con i campioni di DNA estratti da analizzare. Mescolare delicatamente, centrifugare le provette per 5 secondi e conservare in ghiaccio o in blocco freddo.	Scongelare le provette di Controllo Positivo a temperatura ambiente per 30 minuti. Mescolare delicatamente, centrifugare le provette per 5 secondi e conservare in ghiaccio o in blocco freddo. (Ogni provetta contiene un volume sufficiente per 4 reazioni).
2	Se richiesto, scongela le provette necessarie di controllo interno CPE a temperatura ambiente per 30 minuti. Mescolare delicatamente, centrifugare le provette per 5 secondi e conservare in ghiaccio o in blocco freddo. Ogni provetta contiene un volume sufficiente per 12 reazioni.	Non applicabile	Preparare il Controllo Negativo trasferendo almeno 50 µL di acqua per biologia molecolare in un Elution tube (Provetta eluato), fornito con il prodotto ELITe InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Nella schermata Home, selezionare "Perform Run" (Esegui sessione)	Nella schermata Home, selezionare "Perform Run" (Esegui sessione).	Nella schermata Home, selezionare "Perform Run" (Esegui sessione).
4	Verificare che l'"Extraction Input Volume" (volume estrazione input) sia 200 µL e che l'"Extracted Elute Volume" (Volume di eluato estratto) sia 100 µL.	Verificare che l'"Extraction Input Volume" (volume estrazione input) sia 200 µL e che l'"Extracted Elute Volume" (Volume di eluato estratto) sia 100 µL.	Verificare che l'"Extraction Input Volume" (volume estrazione input) sia 200 µL e che l'"Extracted Elute Volume" (Volume di eluato estratto) sia 100 µL.

Tabella 7 (segue)

	A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)	B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)	C. Corsa del Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR Only)
5	Per ogni campione, assegnare un "Track" d'interesse e compilare il "SampleID" (ID campione, SID) digitando o scansionando il codice a barre.	Per ogni campione, assegnare un "Track" d'interesse e compilare il "SampleID" (ID campione, SID) digitando o scansionando il codice a barre.	Non applicabile
6	Nella colonna "Assay" (Saggio) selezionare gli Assay Protocol da utilizzare (si veda paragrafo "Campioni e Controlli").	Nella colonna "Assay" (Saggio) selezionare gli Assay Protocol da utilizzare (si veda paragrafo "Campioni e Controlli").	Nella colonna "Assay" (Saggio) selezionare gli Assay Protocol da utilizzare (si veda paragrafo "Campioni e Controlli") e digitare il numero di lotto e la data di scadenza del Positive Control e dell'acqua per biologia molecolare.
7	Verificare che nella colonna "Protocol" (Protocollo) il protocollo visualizzato sia: "Extract + PCR".	Nella colonna "Protocol" (Protocollo) selezionare "PCR Only".	Verificare che nella colonna "Protocol" (Protocollo) il protocollo visualizzato sia: "PCR Only".
8	Nella colonna "Sample Position" (Posizione campione) selezionare "Extraction Tube" (Tubo di estrazione) come posizione in cui caricare il campione.	Verificare nella colonna "Sample Position" (Posizione campione) che la posizione sia "Elution Tube".	Verificare nella colonna "Sample Position" (Posizione campione) che la posizione sia "Elution Tube".
9	Fare clic su "Next" (Avanti) per proseguire.	Fare clic su "Next" (Avanti) per proseguire.	Fare clic su "Next" (Avanti) per proseguire.
10	Caricare il CPE (se richiesto) e la PCR Mix nell' "Inventory Block" (Area reagenti) selezionato e digitare il numero di lotto, la data di scadenza e il numero di reazioni dei tubi	Caricare la PCR Mix nell' "Inventory Block" (Area reagenti) selezionato e digitare il numero di lotto, la data di scadenza e il numero di reazioni dei tubi.	Caricare la PCR Mix nell' "Inventory Block" (Area reagenti) selezionato e digitare il numero di lotto, la data di scadenza e il numero di reazioni dei tubi.
11	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
12	Nell'"Inventory Area" (Area di carico) controllare/caricare i Tip Rack (Rack puntali)	Nell'"Inventory Area" (Area di carico) controllare/caricare i Tip Rack (Rack puntali).	Nell'"Inventory Area" (Area di carico) controllare/caricare i Tip Rack (Rack puntali).
13	Fare clic su "Next" per proseguire	Fare clic su "Next" per proseguire	Fare clic su "Next" per proseguire
14	Caricare le PCR cassette , le cartucce di estrazione "ELITE InGenius SP 200", tutti i materiali di consumo necessari e i campioni da estrarre.	Caricare le PCR cassette e gli Elution tube con i campioni da analizzare.	Caricare le PCR cassette e le provette per il Controllo Positivo ed il Controllo Negativo.
15	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
16	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.
17	Premere "Start" (Inizio).	Premere "Start" (Inizio).	Premere "Start" (Inizio).

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

NOTA

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

NOTA

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

NOTA

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

NOTA

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

NOTA

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

9.3 FASE 3 - Esame ed approvazione dei risultati

ELiTe InGenius monitora i segnali di fluorescenza del target e del controllo interno per ciascuna reazione e applica automaticamente i parametri dell'Assay Protocol per generare curve di PCR e di dissociazione che sono poi interpretate nei risultati.

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

NOTA

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

ELiTe InGenius genera i risultati del prodotto **STI PLUS ELiTe MGB Kit** attraverso la seguente procedura:

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

Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo

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

I risultati del **Controllo Positivo** e **Controllo Negativo**, specifici per il lotto del reagente di PCR, sono memorizzati nel database (Controls) e possono essere consultati e approvati da personale avente la qualifica di "Administrator" o "Analyst", seguendo le istruzioni visualizzate sulla GUI.

I risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo scadono **dopo 15 giorni**.

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

NOTA

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

NOTA

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

Validazione dei risultati dei campioni

Il **software ELite InGenius** interpreta i risultati di amplificazione dei target (canali **CT, NG, MG, TV**) e del controllo Interno (canale **IC**) con i parametri inclusi negli Assay Protocol **STI PLUS ELite_U_200_100** e **STI PLUS ELite_CS_200_100**.

I risultati vengono mostrati nella schermata "Results Display".

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

Tabella 8

1) Controllo Positivo	Status
STI PLUS Positive Control	APPROVATO
2) Controllo Negativo	Status
STI PLUS Negative Control	APPROVATO

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

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

Tabella 9

Risultato di una sessione sul campione	Interpretazione
CT:DNA Rilevato	Il DNA di <i>C. trachomatis</i> è stato rilevato nel campione.
NG: DNA Rilevato Neisseria gonorrhoeae	Il DNA di <i>N. gonorrhoeae</i> è stato rilevato nel campione.
NG: DNA Determinato, Specie non determinata	Rilevata la presenza di DNA di Neisseria nel campione, tuttavia la specie non può essere determinata. Possibile presenza di DNA da specie correlate alla Neisseria. La presenza di <i>N. gonorrhoeae</i> a basse copie non può essere esclusa.
NG: DNA Determinato, Specie non determinata DNA Rilevato Neisseria gonorrhoeae	Il DNA di <i>N. gonorrhoeae</i> è stato rilevato nel campione, rilevata anche la possibile presenza di DNA da altre specie correlate alla Neisseria.
MG:DNA Rilevato	Il DNA di <i>M. genitalium</i> è stato rilevato nel campione.
TV:DNA Rilevato	Il DNA di <i>T. vaginalis</i> è stato rilevato nel campione.
CT:DNA Non rilevato o inferiore a LoD	Il DNA di <i>C. trachomatis</i> non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per il DNA di <i>C. trachomatis</i> oppure la sua concentrazione è inferiore al Limite di Rilevazione (LoD) del saggio.

Tabella 9 (segue)

NG:DNA Non rilevato o inferiore a LoD	Il DNA di <i>N. gonorrhoeae</i> non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per il DNA di <i>N. gonorrhoeae</i> oppure la sua concentrazione è inferiore al Limite di Rilevazione (LoD) del saggio.
MG:DNA Non rilevato o inferiore a LoD	Il DNA di <i>M. genitalium</i> non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per il DNA di <i>M. genitalium</i> oppure la sua concentrazione è inferiore al Limite di Rilevazione (LoD) del saggio.
TV:DNA Non rilevato o inferiore a LoD	Il DNA di <i>T. vaginalis</i> non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per il DNA di <i>T. vaginalis</i> oppure la sua concentrazione è inferiore al Limite di Rilevazione (LoD) del saggio.
Non valido – Ripeti test su campione	Risultato del saggio non valido per un errore del controllo interno (estrazione errata, presenza di un inibitore). Il test deve essere ripetuto.

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

Quando il volume è sufficiente, il campione estratto può essere ritestato, tal quale oppure diluito, mediante una sessione di amplificazione in modalità "PCR Only". In caso di un secondo risultato non valido, il campione deve essere ritestato a partire dall'estrazione di una nuova aliquota in modalità "Extract + PCR" (vedi "Risoluzione dei problemi").

NOTA

Quando, con i tamponi cervico-vaginali, viene utilizzato il controllo interno endogeno, il numero di cellule nel campione potrebbe non essere sufficiente a causa di un campionamento errato

NOTA

Quando un campione viene riportato come "NG: DNA Determinato, Specie non determinata", il campione deve essere testato con altri metodi di analisi.

I campioni segnalati come "XX:DNA Non rilevato o inferiore a LoD" sono idonei per l'analisi, ma non è stato possibile rilevare il DNA dei target. In tal caso non si può escludere che il DNA dei target di interesse sia presente ad una concentrazione inferiore al limite di rilevabilità del saggio (vedi "Caratteristiche delle prestazioni").

NOTA

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

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

Refertazione dei risultati dei campioni

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

Il "Sample Report" mostra i dettagli di una sessione di lavoro per campione selezionato (SID).

Il "Track Report" mostra i dettagli di una sessione di lavoro per track selezionato.

Il "Sample Report" e il "Track Report" possono essere stampati e firmati da personale autorizzato.

10 PROCEDURA ELITE BeGenius

La procedura di utilizzo del prodotto **STI PLUS ELITE MGB Kit** con **ELITE BeGenius** si articola in tre 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 Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR Only).
FASE 3	Esame ed approvazione dei risultati	1) Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo
		2) Validazione dei risultati dei campioni
		3) Refertazione dei risultati dei campioni

10.1 FASE 1 - Verifica che il sistema sia pronto

Prima di iniziare la sessione:

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

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

10.2 FASE 2 - Impostazione della sessione

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

- A. Corsa dei campioni (Extract + PCR),
- B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only),
- C. Corsa del Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR Only).

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

NOTA

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

Prima di impostare una sessione:

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

NOTA

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

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

Tabella 11

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

Tabella 11 (segue)

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

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

NOTA

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

NOTA

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

NOTA

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

NOTA

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

NOTA

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

10.3 FASE 3 - Esame ed approvazione dei risultati

ELite BeGenius monitora i segnali di fluorescenza del target e del controllo interno per ciascuna reazione e applica automaticamente i parametri dell'Assay Protocol per generare curve di PCR e di dissociazione che sono poi interpretate nei risultati.

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

NOTA

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

ELite BeGenius genera i risultati del prodotto **STI PLUS ELite MGB Kit** attraverso la seguente procedura:

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

NOTA

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

11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

11.1 Limite di Rilevazione

Il Limite di Rilevamento (LoD) del saggio è stato definito con gli strumenti **ELite BeGenius** ed **ELite InGenius**, testando un pannello di urine primo getto positivizzate con materiali di riferimento di *C. trachomatis* (ZeptoMetrix, USA), *N. gonorrhoeae* (ZeptoMetrix, USA), *M. genitalium* (DSMZ, DE) e *T. vaginalis* (ZeptoMetrix, USA).

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

I risultati sono riportati nella seguente tabella.

Tabella 12

Limite di rilevazione per i campioni di Urine ed ELITE InGenius			
Target	LoD (organismi / mL)	95% confidence interval	
		Limite Inferiore	Limite Superiore
<i>C. trachomatis</i>	21	11	73
<i>N. gonorrhoeae</i>	59	32	276
<i>M. genitalium</i>	244	160	647
<i>T. vaginalis</i>	17	8	73

Il valore di LoD calcolato è stato verificato testando con gli strumenti ELITE BeGenius e ELITE InGenius un pool negativo di urine primo getto, urine primo getto concentrate e tamponi cervico-vaginali positivizzati con materiale di riferimento certificato *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium* e *T. vaginalis* alla concentrazione dichiarata.

I risultati ottenuti hanno confermato i valori di LoD dichiarati per tutti i target di STI PLUS ELITE MGB Kit nelle tre matrici, sia su ELITE BeGenius che su ELITE InGenius

11.2 Inclusività: Efficienza di rilevazione su differenti ceppi o isolati

L'inclusività del saggio, come efficienza di rilevazione su diversi ceppi o isolati di *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium* e *T. vaginalis*, è stata valutata mediante analisi in silico.

L'analisi ha mostrato una sufficiente conservazione di sequenza e l'assenza di mutazioni significative. Quindi si prevede un'efficiente rilevazione per i diversi ceppi o isolati.

L'inclusività è stata verificata anche attraverso l'analisi di materiali di riferimento di DNA genomici e colture batteriche di diversi fornitori (Zeptomatrix e DSMZ).

I risultati sono riportati nella tabella seguente

Tabella 13

Reference material			
Target	Ceppo	Pos. / Rep.	Esito
<i>C. trachomatis</i>	Z054; D-UW3	12/12	CT detected
<i>N. gonorrhoeae</i>	Z001	12/12	NG detected
<i>M. genitalium</i>	G-37	12/12	MG detected
<i>T. vaginalis</i>	Z159	12/12	TV detected

Tutti i campioni sono stati correttamente rilevati con il STI PLUS ELITE MGB Kit.

11.3 Interferenza tra targets

La potenziale interferenza tra i target del saggio è stata valutata mediante un test di co-amplificazione di *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium* e *T. vaginalis*.

Per ciascun target, la concentrazione più bassa rilevabile in tutte le repliche è riportata nella seguente tabella.

Tabella 14

Interferenza tra target				
Target in test (basse copie)	Target interferente a ~10 ⁵ copie / reazione			
	<i>C. trachomatis</i>	<i>N. gonorrhoeae</i>	<i>M. genitalium</i>	<i>T. vaginalis</i>
<i>C. trachomatis</i>	-	10 c. / rxn	10 c. / rxn	10 c. / rxn
<i>N. gonorrhoeae</i>	10 c. / rxn	-	10 c. / rxn	10 c. / rxn
<i>M. genitalium</i>	50 c. / rxn	500 c. / rxn	-	2,500 c. / rxn
<i>T. vaginalis</i>	10 c. / rxn	10 c. / rxn	10 c. / rxn	-

11.4 Organismi potenzialmente interferenti: cross-reattività

La potenziale cross-reattività di microrganismi indesiderati che possono essere trovati nei campioni clinici è stata valutata per il saggio mediante analisi in silico. L'analisi non ha mostrato alcuna omologia significativa con altri organismi indesiderati (virus, batteri, protozoi e funghi). Pertanto, non è attesa alcuna cross-reattività

L'assenza di cross-reattività con organismi potenzialmente interferenti è stata anche verificata attraverso l'analisi di un pannello di organismi non intenzionali (ATCC, Vircell e DSMZ).

I risultati finali sono riportati nella tabella seguente.

Tabella 15

Campione	Positivi / Replicati					Esito
	TV	CT	IC	NG	MG	
<i>Mycoplasma hominis</i>	0 / 5	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna crossreattività
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	0 / 5	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna crossreattività
<i>Ureaplasma parvum</i>	0 / 5	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna crossreattività
<i>Treponema pallidum</i>	0 / 5	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna crossreattività
<i>Gardnerella vaginalis</i>	0 / 5	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna crossreattività
<i>Mobiluncus mulieris</i>	0 / 5	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna crossreattività
<i>Bacteroides fragilis</i>	0 / 5	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna crossreattività
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	0 / 5	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna crossreattività
<i>Candida albicans</i>	0 / 5	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna crossreattività
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	0 / 5	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna crossreattività
HSV1	0 / 5	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna crossreattività
HSV2	0 / 5	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna crossreattività
<i>Neisseria meningitidis</i>	0 / 5	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna crossreattività
<i>Neisseria lactamica</i>	0 / 5	0 / 5	5 / 5	5 / 5 (Tm 5 / 5 < 64.5° C)	0 / 5	Nessuna crossreattività

NOTA

Neisseria gonorrhoeae viene discriminata dal resto delle altre *Neisseria species* attraverso l'analisi della temperatura di fusione (T_m). Se il valore T_m è maggiore o uguale a 64,5°C il campione è *Neisseria gonorrhoeae* rilevato. Se il valore T_m è inferiore a 64,5°C il campione è *Neisseria* DNA determinato, specie non determinata, il campione deve essere testato con altri metodi di analisi.

11.5 Organismi potenzialmente interferenti: Inibizione

La potenziale inibizione da parte di microrganismi indesiderati che possono essere trovati nei campioni clinici è stata verificata per il saggio attraverso l'analisi di un pannello di microrganismi indesiderati (ATCC, Vircel, NTC and DSMZ), addizionato con materiali di riferimento di *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium* e *T. vaginalis*.

I risultati sono riportati nella tabella seguente

Tabella 16

Campione	Positivi / Replicati					Esito
	TV	CT	IC	NG	MG	
<i>Mycoplasma hominis</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna interferenza
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna interferenza
<i>Ureaplasma parvum</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna interferenza
<i>Treponema pallidum</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna interferenza
<i>Gardnerella vaginalis</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna interferenza
<i>Mobiluncus mulieris</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna interferenza
<i>Bacteroides fragilis</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna interferenza
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna interferenza
<i>Candida albicans</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna interferenza
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna interferenza
HSV1	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna interferenza
HSV2	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna interferenza
<i>Neisseria meningitidis</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna interferenza
<i>Neisseria lactamica</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5 (T _m 5 / 5 < 64.5°C)	5 / 5	Interferenza con NG

Tutte le sostanze potenzialmente interferenti testate non hanno mostrato alcuna cross-reattività per l'amplificazione dei target utilizzando STI PLUS ELITe MGB Kit, ad eccezione di *N. lactamica*

NOTA

Nel caso di coinfezione di *N. Gonorrhoeae* e *N. lactamica*, in presenza di un titolo elevato di *N. lactamica* (100.000 copie/reazione), possiamo rilevare la presenza di *N. Gonorrhoeae* tramite T_m quando quest'ultimo si trova a concentrazioni superiori a 3.000 copie/reazione

11.6 Sostanze potenzialmente interferenti: cross-reattività

La cross-reattività da sostanze potenzialmente interferenti (endogene ed esogene) che potrebbero essere trovate nei campioni clinici è stata valutata per il saggio mediante analisi di un pannello di sostanze a concentrazione rilevante.

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

Tabella 17

Campione	Positivi / Replicati					Esito
	TV	CT	IC	NG	MG	
Reference	0 / 6	0 / 6	6 / 6	0 / 6	0 / 6	Nessuna crossreattività
Acid Urine	0 / 6	0 / 6	6 / 6	0 / 6	0 / 6	Nessuna crossreattività
Alkaline Urine	0 / 6	0 / 6	6 / 6	0 / 6	0 / 6	Nessuna crossreattività
Mucin	0 / 6	0 / 6	6 / 6	0 / 6	0 / 6	Nessuna crossreattività
Semen	0 / 6	0 / 6	6 / 6	0 / 6	0 / 6	Nessuna crossreattività
Whole Blood	0 / 6	0 / 6	6 / 6	0 / 6	0 / 6	Nessuna crossreattività
Acyclovir	0 / 6	0 / 6	6 / 6	0 / 6	0 / 6	Nessuna crossreattività
Azithromycin	0 / 6	0 / 6	6 / 6	0 / 6	0 / 6	Nessuna crossreattività
Clotrimazole	0 / 6	0 / 6	6 / 6	0 / 6	0 / 6	Nessuna crossreattività
Fosfomycin	0 / 6	0 / 6	6 / 6	0 / 6	0 / 6	Nessuna crossreattività
Nonoxinol-9	0 / 6	0 / 6	6 / 6	0 / 6	0 / 6	Nessuna crossreattività
Vaseline Oil	0 / 6	0 / 6	6 / 6	0 / 6	0 / 6	Nessuna crossreattività

Tutte le sostanze potenzialmente interferenti testate non hanno mostrato alcuna cross-reattività per l'amplificazione dei target utilizzando il STI PLUS ELITE MGB Kit.

11.7 Sostanze potenzialmente interferenti: Inibizione

La potenziale inibizione di sostanze interferenti (endogene ed esogene) che potrebbero essere presenti nei campioni clinici è stata valutata per il saggio mediante l'analisi di un pannello di sostanze a concentrazione rilevante in campioni di prima urina raccolti senza conservanti e addizionati con i target.

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

Tabella 18

Campione	Positivi / Replicati					Esito
	TV	CT	IC	NG	MG	
Reference	6 / 6	6 / 6	6 / 6	6 / 6	6 / 6	Nessuna interferenza
Acid Urine	6 / 6	6 / 6	6 / 6	6 / 6	6 / 6	Nessuna interferenza
Alkaline Urine	6 / 6	6 / 6	6 / 6	6 / 6	6 / 6	Nessuna interferenza
Mucin	6 / 6	6 / 6	6 / 6	6 / 6	6 / 6	Nessuna interferenza
Semen	6 / 6	6 / 6	6 / 6	6 / 6	6 / 6	Nessuna interferenza
Whole Blood	6 / 6	6 / 6	6 / 6	6 / 6	6 / 6	Nessuna interferenza
Acyclovir	6 / 6	6 / 6	6 / 6	6 / 6	6 / 6	Nessuna interferenza
Azithromycin	6 / 6	6 / 6	6 / 6	6 / 6	6 / 6	Nessuna interferenza
Clotrimazole	6 / 6	6 / 6	6 / 6	6 / 6	6 / 6	Nessuna interferenza
Fosfomycin	6 / 6	6 / 6	6 / 6	6 / 6	6 / 6	Nessuna interferenza
Nonoxinol-9	6 / 6	6 / 6	6 / 6	6 / 6	6 / 6	Nessuna interferenza
Vaseline Oil	6 / 6	6 / 6	6 / 6	6 / 6	6 / 6	Nessuna interferenza

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

11.8 Ripetibilità

La ripetibilità del saggio è stata valutata su ELITE BeGenius e ELITE InGenius mediante l'analisi di un pannello di campioni di urina del primo getto negativi o addizionati con materiale di riferimento certificato di *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium* e *T. vaginalis* (Zeptomatrix e Qnostics).

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

Tabella 19 Ripetibilità Intra-Sessione su ELITE BeGenius (giorno 1)

Campione	N	Ct Media	SD	%CV	% Concordezza
3 X LOD <i>T. vaginalis</i>	9	32.78	0.85	2.58	100%
3 X LOD <i>C. trachomatis</i>	9	38.07	1.08	2.84	100%
3 X LOD <i>N. gonorrhoeae</i>	9	31.47	0.27	0.86	100%
3 X LOD <i>M. genitalium</i>	9	33.30	0.52	1.58	100%
IC	36	26.88	0.75	2.80	-

Tabella 20 Ripetibilità Intra-Sessione su ELITE InGenius (giorno 1)

Campione	N	Ct Media	SD	%CV	% Concordezza
3 X LOD <i>T. vaginalis</i>	9	32.24	0.98	3.05	100%
3 X LOD <i>C. trachomatis</i>	9	37.49	0.66	1.76	100%
3 X LOD <i>N. gonorrhoeae</i>	9	31.46	0.58	1.86	100%

Tabella 20 Ripetibilità Intra-Sessione su ELITE InGenius (giorno 1) (segue)

Campione	N	Ct Media	SD	%CV	% Concordanza
3 X LOD <i>M. genitalium</i>	9	33.12	0.70	2.11	100%
IC	36	25.59	0.22	0.85	-

Un esempio dei risultati di Ripetibilità Inter-Sessione (su due giorni) è riportato nelle tabelle seguenti.

Tabella 21 Ripetibilità Inter-Sessione su ELITE BeGenius (giorno 1 + giorno 3)

Campione	N	Ct Media	SD	%CV	% Concordanza
3 X LOD <i>T. vaginalis</i>	18	32.37	0.98	3.04	100%
3 X LOD <i>C. trachomatis</i>	18	37.12	1.34	3.61	100%
3 X LOD <i>N. gonorrhoeae</i>	18	30.86	0.69	2.22	100%
3 X LOD <i>M. genitalium</i>	18	33.06	0.59	1.78	100%
IC	71	26.94	0.74	2.75	-

Tabella 22 Ripetibilità Inter-Sessione su ELITE InGenius (giorno 1 + giorno 3)

Campione	N	Ct Media	SD	%CV	% Concordanza
3 X LOD <i>T. vaginalis</i>	18	31.80	1.04	3.26	100%
3 X LOD <i>C. trachomatis</i>	18	36.36	1.43	3.92	100%
3 X LOD <i>N. gonorrhoeae</i>	18	30.68	0.91	2.96	100%
3 X LOD <i>M. genitalium</i>	18	32.59	1.01	3.09	100%
IC	72	25.66	0.24	0.93	-

Nel test di Ripetibilità, il STI PLUS ELITE MGB Kit ha rilevato tutti i campioni come previsto e ha mostrato una variabilità dei valori di Ct come Coefficiente di Variazione CV% $\leq 5\%$

11.9 Riproducibilità

La riproducibilità del saggio è stata valutata su ELITE BeGenius ed ELITE InGenius mediante l'analisi di un pannello di campioni di urine primo getto, negative o positivate con *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium* e *T. vaginalis* (Zeptomatrix, NCTC e ATCC).

Un esempio dei risultati di Riproducibilità Inter-Lotto (su tre lotti) è riportato nelle tabelle seguenti.

Tabella 23 Riproducibilità Inter-Lotto su ELITE BeGenius

Campione	N	Ct Media	SD	%CV	% Concordanza
3 X LOD <i>T. vaginalis</i>	18	33.18	1.05	3.16	100%
3 X LOD <i>C. trachomatis</i>	18	37.72	1.23	3.26	100%
3 X LOD <i>N. gonorrhoeae</i>	18	31.81	0.49	1.55	100%
3 X LOD <i>M. genitalium</i>	18	33.56	0.50	1.49	100%
IC	72	26.95	0.75	2.78	-

Tabella 24 Riproducibilità Inter-Lotto su ELITE InGenius

Campione	N	Ct Media	SD	%CV	% Concordanza
3 X LOD <i>T. vaginalis</i>	18	32.34	0.85	2.63	100%
3 X LOD <i>C. trachomatis</i>	18	37.07	1.06	2.86	100%
3 X LOD <i>N. gonorrhoeae</i>	18	31.48	0.45	1.44	100%
3 X LOD <i>M. genitalium</i>	18	33.46	0.68	2.03	100%
IC	72	25.68	0.27	1.04	-

Un esempio di riproducibilità Inter-Strumento (su due strumenti) è mostrato nelle tabelle seguenti.

Tabella 25 Riproducibilità Inter-Strumento su ELITE BeGenius

Campione	N	Ct Media	SD	%CV	% Concordanza
3 X LOD <i>T. vaginalis</i>	18	32.66	1.17	3.57	100%
3 X LOD <i>C. trachomatis</i>	18	36.93	1.64	4.43	100%
3 X LOD <i>N. gonorrhoeae</i>	18	31.67	0.36	1.15	100%
3 X LOD <i>M. genitalium</i>	18	32.84	0.81	2.46	100%
IC	72	26.76	0.63	2.34	-

Tabella 26 Riproducibilità Inter-Strumento su ELITE InGenius

Campione	N	Ct Media	SD	%CV	% Concordanza
3 X LOD <i>T. vaginalis</i>	18	32.45	1.13	3.48	100%
3 X LOD <i>C. trachomatis</i>	18	36.44	1.70	4.67	100%
3 X LOD <i>N. gonorrhoeae</i>	18	31.42	0.47	1.49	100%
3 X LOD <i>M. genitalium</i>	18	32.82	1.17	3.58	100%
IC	72	25.71	0.35	1.35	

Nel test di Riproducibilità, STI PLUS ELITE MGB Kit ha rilevato tutti i campioni come previsto e ha mostrato una variabilità dei valori di Ct come Coefficiente di Variazione CV% $\leq 5\%$.

11.10 Specificità Diagnostica: conferma dei campioni negativi

La Specificità Diagnostica del saggio, come conferma dei campioni negativi, è stata valutata in associazione ad ELITE InGenius testando campioni clinici di urine primo getto raccolte senza conservanti, urine primo getto concentrate e tamponi cervico-vaginali, certificati negativi per ciascun target. Poiché ELITE InGenius possiede performance analitiche equivalenti a ELITE BeGenius, le performance diagnostiche del saggio eseguito sui due strumenti sono anch'esse considerate equivalenti. Quindi la Specificità Diagnostica del saggio ottenuta in associazione con ELITE InGenius è anche riferibile ad ELITE BeGenius.

I risultati sono riassunti nella tabella seguente.

Tabella 27

Urine primo getto negative	N	Positivi	Negativi	% Specificità Diagnostica
<i>C. trachomatis</i>	62	0	62	100%
<i>N. gonorrhoeae</i>	63	0	63	100%
<i>M. genitalium</i>	63	0	63	100%
<i>T. vaginalis</i>	63	0	63	100%

Tabella 28

Urine primo getto concentrate negative	N	Positivi	Negativi	% Specificità Diagnostica
<i>C. trachomatis</i>	61	0	61	100%
<i>N. gonorrhoeae</i>	63	0	63	100%
<i>M. genitalium</i>	62	0	62	100%
<i>T. vaginalis</i>	63	0	63	100%

Tabella 29

Tamponi cervico-vaginali negativi	N	Positivi	Negativi	% Specificità Diagnostica
<i>C. trachomatis</i>	69	0	69	100%
<i>N. gonorrhoeae</i>	69	0	69	100%
<i>M. genitalium</i>	69	0	69	100%
<i>T. vaginalis</i>	69	0	69	100%

Il cut-off del Ct del Controllo Interno è impostato a 31 per tutte le matrici.

11.11 Sensibilità Diagnostica: conferma dei campioni positivi

La Sensibilità Diagnostica del saggio, come conferma dei campioni positivi, è stata valutata in associazione ad ELITE InGenius testando campioni clinici di urine primo getto raccolte senza conservanti, urine primo getto concentrate e tamponi cervico-vaginali, certificati positivi per ciascun target o positivizzati con materiali di riferimento. Poiché ELITE InGenius possiede performance analitiche equivalenti a ELITE BeGenius, le performance diagnostiche del saggio eseguito sui due strumenti sono anch'esse considerate equivalenti. Quindi la Sensibilità Diagnostica del saggio ottenuta in associazione con ELITE InGenius è anche riferibile ad ELITE BeGenius.

I risultati sono riassunti nella tabella seguente

Tabella 30

Urine primo getto positive / positivizzate	N	Positivi	Negativi	%Sensibilità Diagnostica
Positive per <i>C. trachomatis</i>	58	56	2	96.6%
Positive per <i>N. gonorrhoeae</i>	59	58	1	98.3%

Tabella 30 (segue)

Urine primo getto positive / positivizzate	N	Positivi	Negativi	%Sensibilità Diagnostica
Positive per <i>M. genitalium</i>	11	7	4	93%
Positivizzate per <i>M. genitalium</i>	46	46	0	
Positive per <i>T. vaginalis</i>	12	11	1	98%
Positivizzate per <i>T. vaginalis</i>	38	38	0	

Tabella 31

Urine primo getto concentrate positive / positivizzate	N	Positivi	Negativi	%Sensibilità Diagnostica
Positive per <i>C. trachomatis</i>	58	58	0	100%
Positive per <i>N. gonorrhoeae</i>	59	58	1	98.3%
Positive per <i>M. genitalium</i>	11	8	3	94.8%
Positivizzate per <i>M. genitalium</i>	47	47	0	
Positive per <i>T. vaginalis</i>	12	11	1	98%
Positivizzate per <i>T. vaginalis</i>	38	38	0	

Tabella 32

Tamponi cervico-vaginali positivi / positivizzati	N	Positivi	Negativi	%Sensibilità Diagnostica
Positive per <i>C. trachomatis</i>	52	52	0	100%
Positive per <i>N. gonorrhoeae</i>	19	19	0	100%
Positivizzate per <i>N. gonorrhoeae</i>	36	36	0	
Positive per <i>M. genitalium</i>	39	31	8	87.3%
Positivizzate per <i>M. genitalium</i>	24	24	0	
Positive per <i>T. vaginalis</i>	17	17	0	100%
Positivizzate per <i>T. vaginalis</i>	33	33	0	

I risultati sopra riportati per tutti e quattro i target e in tutte le matrici, si riferiscono a campioni con infezione singola e con infezione multipla. In caso di infezione singola la sensibilità è almeno il 96%.

11.12 Concordeza tra metodi

Le prestazioni diagnostiche del saggio, come concordanza con il metodo di riferimento, sono state valutate con il valore kappa di Cohen.

Il confronto dei risultati è riassunto nelle tabelle seguenti.

Tabella 33 Urine primo getto

		<i>C. trachomatis</i>				
		Metodo di riferimento			AUC	Kappa di Cohen
		Pos	Neg	Tot		
STI PLUS ELITe MGB Kit	Pos	56	0	56	98.3%	0.967
	Neg	2	62	64		
	Tot	58	62	120		
		<i>N. gonorrhoeae</i>				
		Metodo di riferimento			AUC	Kappa di Cohen
		Pos	Neg	Tot		
STI PLUS ELITe MGB Kit	Pos	58	0	58	99.2%	0.984
	Neg	1	63	64		
	Tot	59	63	122		
		<i>M. genitalium</i>				
		Metodo di riferimento			AUC	Kappa di Cohen
		Pos	Neg	Tot		
STI PLUS ELITe MGB Kit	Pos	53	0	53	96.7%	0.933
	Neg	4	63	67		
	Tot	57	63	120		
		<i>T. vaginalis</i>				
		Metodo di riferimento			AUC	Kappa di Cohen
		Pos	Neg	Tot		
STI PLUS ELITe MGB Kit	Pos	49	0	49	99.1%	0.982
	Neg	1	63	64		
	Tot	50	63	113		

Tabella 34 Urine primo getto concentrate

		<i>C. trachomatis</i>				
		Metodo di riferimento			AUC	Kappa di Cohen
		Pos	Neg	Tot		
STI PLUS ELITe MGB Kit	Pos	58	0	58	100%	1.000
	Neg	0	61	61		
	Tot	58	61	119		

		<i>N. gonorrhoeae</i>				
		Metodo di riferimento			AUC	Kappa di Cohen
		Pos	Neg	Tot		
STI PLUS ELITe MGB Kit	Pos	58	0	58	99.2%	0.984
	Neg	1	63	64		
	Tot	59	63	122		

		<i>M. genitalium</i>				
		Metodo di riferimento			AUC	Kappa di Cohen
		Pos	Neg	Tot		
STI PLUS ELITe MGB Kit	Pos	55	0	55	97.5%	0.950
	Neg	3	62	65		
	Tot	58	62	120		

		<i>T. vaginalis</i>				
		Metodo di riferimento			AUC	Kappa di Cohen
		Pos	Neg	Tot		
STI PLUS ELITe MGB Kit	Pos	49	0	49	99.1%	0.982
	Neg	1	63	64		
	Tot	50	63	113		

Tabella 35 Tamponi cervico- vaginali

		<i>C. trachomatis</i>				
		Metodo di riferimento			AUC	Kappa di Cohen
		Pos	Neg	Tot		
STI PLUS ELITe MGB Kit	Pos	52	0	52	100%	1.000
	Neg	0	69	69		
	Tot	52	69	121		

		<i>N. gonorrhoeae</i>				
		Metodo di riferimento			AUC	Kappa di Cohen
		Pos	Neg	Tot		
STI PLUS ELITe MGB Kit	Pos	55	0	55	100%	1.000
	Neg	0	69	69		
	Tot	55	69	124		

		<i>M. genitalium</i>				
		Metodo di riferimento			AUC	Kappa di Cohen
		Pos	Neg	Tot		
STI PLUS ELITe MGB Kit	Pos	55	0	55	93.9%	0.878
	Neg	8	69	77		
	Tot	63	69	132		

		<i>T. vaginalis</i>				
		Metodo di riferimento			AUC	Kappa di Cohen
		Pos	Neg	Tot		
STI PLUS ELITe MGB Kit	Pos	50	0	50	100%	1.000
	Neg	0	69	69		
	Tot	50	69	119		

Il STI PLUS ELITE MGB Kit ha generato un'area sotto la curva (AUC) e un valore kappa di Cohen corrispondenti a un perfetto accordo con i risultati ottenuti con il metodo di riferimento, per tutti e tre i target e per tutte le matrici.

NOTA

I dati ed i risultati completi delle prove eseguite per la valutazione delle caratteristiche delle prestazioni del prodotto con le matrici e gli strumenti sono registrati nel Fascicolo Tecnico di Prodotto "STI PLUS ELITE MGB Kit", FTP 400ING.

12 BIBLIOGRAFIA

- K.S. Sriprakash et al. (1987) Plasmid 18: 205 – 214
- L. J. Hayes et al. (1990) J. Gen. Microbiol. 136: 1559 – 1566
- R.H. Nijhuis et al. (2015) J Antimicrob Chemother 70: 2515 – 2518
- P. Kengne et al. (1994) Cell. Mol. Biol. 40: 819-831
- E. A. Lukhtanov et al. (2007) Nucleic Acids Res. 35: e30

13 LIMITI DELLA PROCEDURA

Utilizzare questo prodotto soltanto con i seguenti campioni clinici: urine primo getto raccolte senza conservanti, tamponi cervico-vaginali.

Non utilizzare questo prodotto con campioni contenenti mucina ad alta concentrazione: la mucina inibisce la reazione di amplificazione degli acidi nucleici e causa risultati non validi.

Al momento non sono disponibili dati riguardanti le prestazioni del prodotto con altri campioni clinici come tamponi uretrali, tamponi rettali e sperma.

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

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

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

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

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

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

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

Un risultato negativo ottenuto con questo prodotto indica che il DNA dei target non è stato rilevato nel DNA estratto dal campione, ma non si può escludere che il DNA target abbia un titolo più basso del limite di rilevabilità del prodotto (si veda "Caratteristiche delle Prestazioni"). In questo caso il risultato potrebbe essere un falso negativo.

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

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

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

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

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

14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI

Tabella 36

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

Tabella 36 (segue)

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

Tabella 37

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

Tabella 38

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 7 sessioni indipendenti (3 ore ciascuna nell'area reagenti o nell'unità refrigerata). Non utilizzare la PCR Mix per più di tre sessioni consecutive (7 ore nel blocco refrigerato dell'area reagenti o nell'unità refrigerata). Non lasciare la PCR Mix a temperatura ambiente per più di 30 minuti. Utilizzare una nuova aliquota della PCR Mix.
Inibizione dovuta a sostanze interferenti con il campione.	Ripetere la reazione di amplificazione con una diluizione 1:2 in acqua per biologia molecolare del campione eluito in una sessione in modalità "PCR Only" (solo PCR). Ripetere l'estrazione con una diluizione 1:2 in acqua per biologia molecolare del campione in una sessione in modalità "Extract + PCR".
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup S.p.A..

Tabella 39

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

Tabella 40

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

Tabella 41

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

15 LEGENDA DEI SIMBOLI



Numero di catalogo



Limite superiore di temperatura



Codice del lotto.



Da utilizzare prima del (ultimo giorno del mese).



Dispositivo medico diagnostico *in vitro*.



Conforme ai requisiti del Regolamento Europeo 2017/746/EC relativo ai dispositivi medici diagnostici *in vitro*. Certificazione rilasciata da TÜV SÜD Product Service GmbH, Germany.



Numero Unico Identificativo del dispositivo



Contenuto sufficiente per "N" test.



Consultare le istruzioni per l'uso



Contenuto.



Tenere lontano dalla luce solare.



Fabbricante.

16 AVVISO PER L'UTILIZZATORE

Qualsiasi incidente grave che si verifichi in relazione al dispositivo deve essere segnalato al fabbricante e all'autorità competente dello Stato membro in cui risiedono l'utilizzatore e/o il paziente.

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

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

17 AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA

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

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

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

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

Appendix A STI PLUS ELITE MGB Kit used in association with Genius series® platforms



CAUTION

This document is a simplified version of the official instruction for use. Please refer to the complete document before use at www.elitechgroup.com.

INTENDED USE

The product **STI PLUS ELITE MGB® Kit** is an in vitro diagnostic medical device intended to be used by healthcare professionals as qualitative multiplex nucleic acids Real-Time PCR assay **for the detection and identification of the DNA of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium* and *Trichomonas vaginalis*** extracted from clinical specimens.

The assay is validated in association with the **ELITE InGenius®** and **ELITE BeGenius®** instruments, automated and integrated systems for extraction, Real-Time PCR and results interpretation, using human specimens of first void urine collected without preservatives and cervical-vaginal swabs.

The product is intended for use as an aid in the diagnosis of urogenital tract infections in patients suspected of having *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium* or *Trichomonas vaginalis* infections.

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

Amplified sequence

Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
C. trachomatis	dnaB-like and ompA	AP525	CT
N. gonorrhoeae	pivNG	AP593	NG
M. genitalium	23S rRNA	AP639	MG
T. vaginalis	L23861	FAM	TV
Internal Control	Human Beta Globin	AP559	IC

Validated matrix

first void urine collected without preservatives
cervical-vaginal swabs

Kit content and related products

STI PLUS PLUS ELITE MGB Kit Kit (RTS400ING)		STI PLUS PLUS - ELITE Positive Control (CTR400ING)	
 X 8		 X 3	
STI PLUS PLUS PCR Mix 8 tubes of 280 µL 12 reactions per tube 96 reactions per kit 7 freeze-thaw cycles per tube		STI PLUS PLUS Positive Control 3 tubes of 160 µL 4 reactions per tube 12 reactions per kit 4 freeze-thaw cycles	
Maximum shelf-life:	24 months	Maximum shelf-life	24 months
Storage temperature	≤ -20°C	Storage temperature	≤ -20°C

Other products required not provided in the kit

› ELITE InGenius instrument: INT030. › ELITE BeGenius instrument: INT040. › ELITE InGenius SP 200: INT032SP200. › ELITE InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS. › ELITE InGenius PCR Cassette: INT035PCR. › ELITE InGenius Waste Box: F2102-000. › 300 µL Filter Tips Axigen: TF-350-L-R-S. › 1000 µL Filter Tips Tecan: 30180118.	ThinPrep® Pap Test PreservCyt® Solution (Hologic, Inc., code 70098-002, 20 mL of PreservCyt® Solution). BD SurePath™ Collection Vial 10 mL (Becton, Dickinson and Company, codes 491439 / 491438 / 491440, 10 mL of SurePath® Preservative Fluid).
--	---

ELITE InGenius and ELITE BeGenius Protocol

› Sample volume	200 µL	› Eluate PCR input volume	20 µL
› Total elution volume	100 µL	› PCR Mix volume	20 µL
		› Frequency of controls	15 days

ELiTe InGenius and ELiTe BeGenius Performances

Matrix	Target	Limit of Detection	Diagnostic Sensitivity	Diagnostic Specificity	Method Agreement	
					AUC	Cohen's kappa
First Void Urine	CT	21 organism/mL	96.6% (56/58)	100%	98.3%	0.967
	NG	59 organism/mL	98.3% (58/59)	100%	99.2%	0.984
	MG	244 organism/mL	93% (53/57)	100%	96.7%	0.933
	TV	17 organism/mL	98% (49/50)	100%	99.1%	0.982
Concentrated First Void Urine	CT	21 organism/mL	100% (58/58)	100%	100%	1.000
	NG	59 organism/mL	98.3% (58/59)	100%	99.2%	0.984
	MG	244 organism/mL	94.8% (55/58)	100%	97.5%	0.950
	TV	17 organism/mL	98% (49/50)	100%	99.1%	0.982
Cervical-vaginal swab	CT	21 organism/mL	100% (52/52)	100%	100%	1.000
	NG	59 organism/mL	100% (55/55)	100%	100%	1.000
	MG	244 organism/mL	87.3 (55/63)	100%	93.9%	0.878
	TV	17 organism/mL	100% (50/50)	100%	100%	1.000

Sample preparation

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

Sample type	Collection requirements	Transport/Storage conditions			
		+16 / +26 °C (room temperature)	+2 / +8 °C	- 20 ± 10 °C	- 70 ± 15 °C
First Void Urine	collected without preservatives	≤ 1 day	≤ 2 days	≤ 1 month	≤ 1 month
Cervical-vaginal swab	eSwab® (COPAN)	≤ 2 days	≤ 2 days	≤ 1 month	≤ 1 month

Even if longer storage periods at -70 ° C are possible, as extensively reported by scientific literature, their application should be evaluated internally by the end-users of this product.

ELiTe InGenius Procedures

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

Before analysis

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

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

1. Select “Perform Run” on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: “200 µL”, elution: “100 µL”	3. Scan the sample barcodes with hand-barcode reader or type the sample ID
4. Select the “Assay Protocol” of interest: STI PLUS ELiTe_U_200_100 or STI PLUS ELiTe_CS_200_100	5. Select the method “Extract + PCR” and the sample position: Extraction Tube	6. Load the PCR Mix in the Inventory Block
7. Load PCR Cassettes, ELiTe InGenius SP 200 extraction cartridges, and all required consumables and samples to be extracted	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results

NOTE

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

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

1. Select “Perform Run” on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: “200 µL”, elution: “100 µL”	3. Scan the sample barcodes with hand-barcode reader or type the sample ID
4. Select the “Assay Protocol” of interest: STI PLUS ELiTe_PC or STI PLUS ELiTe_NC or STI PLUS ELiTe_U_200_100 or STI PLUS ELiTe_CS_200_100	5. Select the method “PCR Only” and the sample position “Elution Tube”	6. Load the PCR Mix in the Inventory Block
7. Load: PCR cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip Cassette, Extraction Tube racks	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results

ELiTe BeGenius Procedures

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

Before analysis

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

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «Extract + PCR»	2. Insert the Sample Rack with the barcoded samples in the Cooler Unit. The barcode scan is already active	3. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "100 µL"
4. Select the "Assay Protocol" of interest: STI PLUS ELITe_Be_U_200_100 or STI PLUS ELITe_Be_CS_200_100 <u>Note:</u> if a second extraction is performed repeat steps from 2 to 4	5. Print the labels to barcode the empty elution tubes. Load the tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit	6. Load the PCR Mix in the Reagent/ Elution Rack and insert it in the Cooler Unit
7. Load "PCR Rack" with "PCR Cassette" and the "Extraction Rack" with the "ELITe InGenius SP 200" extraction cartridges and the required extraction consumables	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results

NOTE

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

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «PCR Only»	2. Load the extracted nucleic acid or controls barcoded tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit.	3. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "100 µL"
4. Select the "Assay Protocol" of interest: STI PLUS ELITe_Be_PC or STI PLUS ELITe_Be_NC or STI PLUS ELITe_Be_U_200_100 or STI PLUS ELITe_Be_CS_200_100	5. Load the PCR-Mix in the Reagent/ Elution Rack and insert it in the Cooler Unit	6. Load "PCR Rack" with "PCR Cassette"
7. Close the door. Start the run	8. View, approve and store the results	



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