Istruzioni per l'uso

Macrolide-R/MG ELITe MGB® Kit

---

reagenti per la Real-Time PCR del DNA

ELITechGroup
A BRUKER COMPANY

REF RTS401ING-48

UDI 08033891486686

CE 0123

IVD

CRONOLOGIA REVISIONI

Rev.	Avviso di modifica	Data (gg/mm/aa)
06–R	Aggiornamento dei paragrafi “Validazione dei risultati dei campioni” e “Limiti della procedura"	23/09/26
05–R	Conformità ai requisiti del Regolamento (UE) 2017/746 relativo ai dispositivi medico-diagnostici in vitro (IVDR). Estensione dell’utilizzo del prodotto in associazione con gli strumenti ELITe InGenius® ed ELITe BeGenius®, con matrici di tamponi cervico-vaginali. Sostituzione dell’abbreviazione MG con MYG Modifica del nome del componente mediante la rimozione di -48 Sostituzione della provetta da 2 mL 953-217 e del tappo bianco 953-223 con la provetta da 2 mL 953-065 per il componente PCR Mix. Aggiornamento del paragrafo “Bibliografia”. Aggiornamento della confezione della provetta per PCR Mix (paragrafo “Materiali inclusi nel prodotto”). Aggiornamento del paragrafo “Materiali richiesti ma non inclusi nel prodotto”. Aggiornamento del paragrafo “Altri prodotti richiesti”. Aggiornamento del paragrafo “Avviso per l’utilizzatore” Aggiornamento del paragrafo “Avviso per l’acquirente: licenza limitata” Aggiornamento del paragrafo “Simboli” con il simbolo “Consultare le istruzioni per l'uso”	27/11/25
04	Aggiunta delle informazioni UDI. Descrizione del prodotto: correzione di un errore tipografico correlato all’allineamento tra target e coloranti.	23/04/24
00–03	Sviluppo di nuovo prodotto e successive modifiche	-

NOTA

I lotti di prodotti identificati dai seguenti numeri di LOTTO continuano ad essere presenti sul mercato in conformità alla Direttiva IVDD fino alla rispettiva scadenza posticipata, ai sensi dell’articolo 110 del Regolamento IVDR. Se si è in possesso di tali lotti di prodotto, si prega di contattare il personale di ELITechGroup per richiedere la versione precedente delle Istruzioni per l’uso (IFU) da seguire per questo prodotto.

CODICE PRODOTTO	Numero di lotto	Data di scadenza
RTS401ING	U0925-055	31/07/2027

I vecchi lotti di Positive Control ancora presenti sul mercato ai sensi della Direttiva IVDD (identificati dai numeri di LOTTO indicati nelle istruzioni per l’uso del Positive Control) sono tecnicamente compatibili con la nuova versione del Regolamento IVDR del kit di amplificazione e possono essere utilizzati fino a esaurimento, in associazione con la nuova versione del Regolamento IVDR del kit di amplificazione e in conformità al suo uso previsto.

INDICE

1 USO PREVISTO 4
2 PRINCIPIO DEL SAGGIO 4
3 DESCRIZIONE DEL PRODOTTO 4
4 MATERIALI INCLUSI NEL PRODOTTO 5
5 MATERIALI RICHIESTI MA NON INCLUSI NEL PRODOTTO 5
6 ALTRI PRODOTTI RICHIESTI 5
7 AVVERTENZE E PRECAUZIONI 6
8 CAMPIONI E CONTROLLI 7
9 PROCEDURA ELITe InGenius 9
10 PROCEDURA ELITe BeGenius 15
11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI 19
12 BIBLIOGRAFIA 26
13 LIMITI DELLA PROCEDURA 26
14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI 27
15 LEGENDA DEI SIMBOLI 29
16 AVVISO PER L'UTILIZZATORE 30
17 AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA 30
Appendix A QUICK START GUIDE 31

1 USO PREVISTO

Il prodotto **Macrolide-R/MG ELITe MGB® Kit** è un dispositivo diagnostico *in vitro* destinato all'uso da parte degli operatori sanitari come test qualitativo della Real-Time PCR degli acidi nucleici per la rilevazione del DNA del ***Mycoplasma genitalium*** **(MYG)** estratto da campioni clinici e per l'identificazione delle principali mutazioni associate alla resistenza ai macrolidi.

Il saggio è stato validato in associazione con gli strumenti **ELITe InGenius®** ed **ELITe BeGenius®,** sistemi automatizzati e integrati per l'estrazione, la Real-Time PCR e l'interpretazione dei risultati, utilizzando campioni umani di urine della prima minzione mattutina raccolti senza conservanti e di tampone cervico-vaginale.

Il prodotto è destinato all'uso come ausilio nella diagnosi delle infezioni del tratto urogenitale in pazienti con sospetta infezione da *Mycoplasma genitalium*.

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

2 PRINCIPIO DEL SAGGIO

Il saggio è un test di Real-Time PCR qualitativo che rileva il DNA di Mycoplasma genitalium e le principali mutazioni associate alla resistenza ai macrolidi nel DNA isolato dai campioni e amplificato utilizzando il reagente R/MG PCR Mix, che contiene primer e sonde con tecnologia ELITe MGB.

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

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 esse utilizzata per l'analisi di dissociazione e il calcolo della temperatura di melting.

3 DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

Il prodotto **Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit** fornisce il reagente **R/MG PCR Mix**, una miscela di reazione PCR ottimizzata e stabilizzata che contiene primer e sonde specifici per:

- il gene 23S rRNA di M. genitalium, rilevato nel Canale **MYG**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher®, e marcata con il fluoroforo AquaPhluor® 525 (AP525),

- l'Internal Control (**IC)**, specifico per la sequenza artificiale **IC2**, rilevata nel Canale **IC**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher e marcata con il colorante AquaPhluor 680 (AP680).

La miscela **R/MG PCR Mix** che contiene anche buffer, magnesio cloruro, trifosfati nucleotidi e la DNA polimerasi ad attivazione termica "hot-start".

Il prodotto **Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit** contiene reagenti sufficienti per **48 test** sugli strumenti **ELITe InGenius** ed **ELITe BeGenius (12 sessioni per ogni tubo)**, utilizzando 20 µL per reazione.

Il prodotto **Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit** può essere utilizzato anche in associazione con strumenti equivalenti.

4 MATERIALI INCLUSI NEL PRODOTTO

Tabella 1

Componente	Descrizione	Quantità	Classificazione dei rischi
R/MG PCR Mix cod. RTS401ING-48	Miscela di reagenti di Real-Time PCR provetta con TAPPO NEUTRO	**4 x 280 µL**	**-**

5 MATERIALI RICHIESTI MA NON INCLUSI NEL PRODOTTO

- Cappa a flusso laminare.
- Guanti non talcati monouso in nitrile o simili.
- Agitatore Vortex.
- Centrifuga da banco (circa 5.000 giri/minuto).
- Microcentrifuga da banco (circa 13.000 giri/minuto).
- Micropipette e puntali sterili con filtro per aerosol o a spostamento positivo (intervallo di volume: 0,5-1000 µL).
- Tubi sterili da 2,0 mL con tappo a vite (Sarstedt, cod. 72.694.005).
- Tubi sterili da 0,5 mL con tappo a vite (Sarstedt, cod. 72.730.005).
- Acqua per biologia molecolare.

6 ALTRI PRODOTTI RICHIESTI

I reagenti per l'estrazione del campione, l'Internal Control di estrazione e inibizione, il Positive Control e Negative Control 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 dei campioni, sono richiesti i seguenti prodotti:

Tabella 2

Strumenti e software	Prodotti e reagenti
ELITe InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, cod. INT030). **ELITe InGenius Software** versione 1.4.0 (o successiva). **R_MG ELITe_PC**, Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Positive Control. **R_MG ELITe_NC**, Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Negative Control. **R_MG ELITe_U_200_100,** Assay Protocol con parametri per l'analisi dei campioni di urine della prima minzione mattutina. **R_MG ELITe_CS_200_100,** Assay Protocol con parametri per l'analisi dei campioni di tamponi cervico-vaginali.	**Macrolide-R/MG - ELITe Positive Control** (EG SpA, cod. CTR401ING). **CPE - Internal Control** (EG SpA, cod. CTRCPE). **ELITe InGenius SP200** (EG SpA, cod. INT032SP200). **ELITe InGenius** ed **ELITe BeGenius** Consumable Sets (vedere le Istruzioni per l'uso di ELITe InGenius ed ELITe BeGenius). **eSWAB ®** (COPAN Italia S.p.A., cod. 480CE), o un dispositivo equivalente, solo per campioni prelevati con tampone cervico-vaginale
ELITe BeGenius (EG SpA cod. INT040). **ELITe BeGenius Software** versione 2.3.0 (o successiva). **R_MG ELITe _Be_PC**, Assay Protocol con parametri per l'analisi del Positive Control. **R_MG ELITe _Be_NC**, Assay Protocol con parametri per l'analisi del Negative Control. **R_MG ELITe_Be_U_200_100,** Assay Protocol con parametri per l'analisi dei campioni di urine della prima minzione mattutina. **R_MG ELITe_Be_CS_200_100,** Assay Protocol con 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 campioni biologici. Evitare di produrre schizzi o aerosol. Provette, puntali e altri materiali che vengono a contatto con i campioni biologici devono essere trattati per almeno 30 minuti con ipoclorito di sodio (candeggina) al 3% o in autoclave a 121 °C per un'ora prima di smaltirli.
- Manipolare e smaltire tutti i reagenti e tutti i materiali utilizzati per eseguire il saggio come se 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 dei campioni o della contaminazione dei campioni stessi da parte di prodotti della PCR.

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

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

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

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

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

7.3 Avvertenze e precauzioni specifiche per i componenti

Tabella 3

Componente	Temperatura di conservazione	Uso dopo la prima apertura	Cicli di congelamento/ scongelamento	Stabilità sullo strumento (ELITe InGenius ed ELITe BeGenius)
R/MG PCR Mix	-20 °C o inferiore (al riparo dalla luce)	Un mese	Fino a sette	Fino a sette sessioni indipendenti* di tre ore ciascuna oppure fino a 7 ore consecutive (2 sessioni di 3 ore ciascuna e il tempo necessario per iniziare una terza sessione)

* con congelamento intermedio

8 CAMPIONI E CONTROLLI

8.1 Campioni e protocolli di analisi

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

Tabella 4

Campione	Requisiti per la raccolta	Condizioni di trasporto/conservazione			
		+16/+26 °C (temperatura ambiente)*	+2°/+8°C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Urine della prima minzione mattutina	raccolte senza conservanti	≤1 giorno	≤2 giorni	≤1 mese	≤1 mese
Tamponi cervico-vaginali	eSwab® (COPAN) o un reagente equivalente (opzionale)	≤2 giorni	≤2 giorni	≤1 mese	≤1 mese

Le urine della prima minzione mattutina possono essere utilizzate “tal quali” o concentrate di 10 volte mediante centrifugazione a circa 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 dovrebbe essere valutata internamente dagli utilizzatori finali di questo prodotto. Si raccomanda di suddividere i campioni in aliquote prima di congelarli, per evitare di ripetere più cicli di congelamento e scongelamento. Se si usano campioni congelati, scongelarli immediatamente prima dell'estrazione in modo da evitare la possibile degradazione degli acidi nucleici.

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

Tabella 5 Assay Protocol per Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit

Campione	Strumento	Nome Assay Protocol	Referto	Caratteristiche
Campioni di urine della prima minzione mattutina raccolti senza conservanti	**ELITe InGenius**	**R_MG ELITe _U_200_100**	Positivo/ negativo	Volume estrazione in ingresso: 200 µL Volume eluizione: 100 µL Internal Control: 10 µL Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1 Volume di PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 20 µL
	ELITe BeGenius	**R_MG ELITe _Be_U_200_100**		
Tamponi cervico-vaginali	**ELITe InGenius**	**R_MG ELITe_CS_200_100**		
	ELITe BeGenius	**R_MG ELITe_Be_CS_200_100**		

NOTA

Verificare se il tubo primario e il volume del campione sono compatibili con ELITe InGenius o ELITe BeGenius, attenendosi alle istruzioni per l’uso del kit di estrazione **ELITe InGenius SP200** (EG SpA, cod. INT032SP200).

Il volume del campione in un tubo primario varia in base al tipo di tubo caricato. Consultare le istruzioni per l'uso del kit di estrazione per maggiori informazioni sulla preparazione e l'esecuzione della procedura di estrazione.

Se richiesto, 200 µL di campione devono essere trasferiti in un Extraction Tube (per ELITe InGenius) o 200 µL di campione devono essere trasferiti 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 contenute nella sezione “7 AVVERTENZE E PRECAUZIONI pagina 6”.

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

Per controllare i dati relativi alle sostanze interferenti, fare riferimento a “Sostanze potenzialmente interferenti” nella sezione 11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI pagina 19.

8.2 Controlli di PCR

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

- Per il Positive Control, utilizzare il prodotto **Macrolide-R/MG - ELITe Positive Control** (non fornito in questo kit) con gli Assay Protocols **R_MG ELITe_PC** o **R_MG ELITe_Be_PC**.
- Per il Negative Control, utilizzare acqua per biologia molecolare (non fornita in questo kit) con gli Assay Protocols **R_MG ELITe_NC** o **R_MG ELITe_Be_NC**.

NOTA

Gli strumenti **ELITe InGenius** ed **ELITe BeGenius** consentono la generazione e l’archiviazione della convalida del controllo PCR per ogni lotto di reagenti per PCR. I risultati del controllo PCR scadono dopo **15 giorni**, al termine dei quali è necessario rieseguire il Positive e il Negative Control. I controlli PCR devono essere rieseguiti se si verifica una delle seguenti condizioni:

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

8.3 Controlli di qualità

Si consiglia la verifica programmata della procedura di estrazione e amplificazione.Si possono utilizzare campioni archiviati 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 **Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit** con lo strumento **ELITe InGenius** si articola in due fasi:

Tabella 6

FASE 1	Verifica che il sistema sia pronto	
FASE 2	Impostazione della sessione	A) Corsa dei campioni (Extract + PCR)
		B) Corsa dei campioni estratti (PCR Only)
		C) Corsa del Positive Control e del Negative Control (PCR only)
FASE 3	Esame ed approvazione dei risultati	1) Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo
		2) Validazione dei risultati del campione
		3) Refertazione dei risultati del campione

9.1 FASE 1 - Verifica che il sistema sia pronto

Prima di iniziare la sessione:

- accendere lo strumento ELITe InGenius e selezionare la modalità “**CLOSED**”;

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

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

9.2 FASE 2 - Impostazione della sessione

Il prodotto **Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit** può essere utilizzato su **ELITe InGenius** per eseguire:

A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)

B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)

C. Corsa del Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR only)

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

NOTA

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

Prima di impostare una sessione:

Scongelare i tubi di **PCR Mix** necessari a temperatura ambiente per 30 minuti. Ogni tubo contiene un volume sufficiente per **12 test** in condizioni ottimali (2 o più test per sessione). Agitare delicatamente, quindi centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.

NOTA

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

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

Tabella 7

	A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)	**B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)**	**C. Corsa del Positive Control e del Negative Control (PCR Only)**
1	**Identificare i campioni** e, se necessario, scongelare a temperatura ambiente. Per questo test trasferire 200 µL di campione in un Extraction Tube precedentemente etichettato.	**Scongelare gli Elution Tube** contenenti gli acidi nucleici estratti a temperatura ambiente. Agitare delicatamente, quindi centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.	**Scongelare le provette del Positive Control**a temperatura ambiente per 30 minuti. Agitare delicatamente, quindi centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo. Ciascuna provetta contiene un volume sufficiente per preparare 4 reazioni.
2	**Scongelare** i **tubi di CPE** necessari a temperatura ambiente per 30 minuti. Agitare delicatamente, quindi centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo. Ciascun tubo contiene un volume sufficiente per preparare 12 estrazioni.	Non applicabile	**Preparare** il **Negative Control** trasferendo almeno 50 µL di acqua per biologia molecolare in un “Elution Tube”, fornito in dotazione con i materiali di consumo di ELITe InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Nella schermata “Home”, selezionare "Perform Run”.	Nella schermata “Home”, selezionare "Perform Run”.	Nella schermata “Home”, selezionare "Perform Run”.

Tabella 7 (segue)

	A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)	B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)	C. Corsa del Positive Control e del Negative Control (PCR Only)
4	Verificare che “Extraction Input Volume” sia 200 µL e che “Extracted Elute Volume” sia 100 µL.	Verificare che “Extraction Input Volume” sia 200 µL e che “Extracted Elute Volume” sia 100 µL.	Verificare che “Extraction Input Volume” sia 200 µL e che “Extracted Elute Volume” sia 100 µL.
5	Per ogni campione, assegnare un “Track” e compilare il “SampleID” (SID) digitando o scansionando il codice a barre.	Per ogni campione, assegnare un “Track” e compilare il “SampleID” (SID) digitando o scansionando il codice a barre.	Non applicabile
6	**Selezionare l’Assay Protocol** nella colonna “Assay” (vedere “Provini e controlli”)	**Selezionare l’Assay Protocol** nella colonna “Assay” (vedere “Provini e controlli”)	**Selezionare l’Assay Protocol** nella colonna “Assay” (vedere “Provini e controlli”). Inserire il numero di lotto e la data di scadenza del Positive Control e dell’acqua per biologia molecolare.
7	Verificare che il protocollo visualizzato sia: “Extract + PCR”.	Nella colonna “Protocol” (Protocollo) selezionare "PCR Only".	Verificare che nella colonna “Protocol" sia selezionato "PCR Only".
8	Nella colonna “Sample Position” selezionare “Extraction Tube” come posizione da cui caricare il campione.	Verificare che la posizione da cui caricare il campione riportata nella colonna “Sample Position” sia “Elution Tube (ultima riga)”.	Verificare che la posizione da cui caricare il campione riportata nella colonna “Sample Position” sia “Elution Tube (ultima riga)”.
9	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
10	**Caricare la CPE e la PCR Mix** nell’Inventory Block facendo riferimento alla “Load List” e inserire il numero di lotto della CPE e della PCR Mix, la data di scadenza e il numero di reazioni per ciascun tubo.	**Caricare la PCR Mix** nell’“Inventory Block” facendo riferimento alla “Load List” e inserire il numero di lotto della PCR Mix, la data di scadenza e il numero di reazioni per ciascun tubo.	**Caricare la PCR Mix** nell’“Inventory Block” facendo riferimento alla “Load List” e inserire il numero di lotto della PCR Mix, la data di scadenza e il numero di reazioni per ciascun tubo.
11	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
12	Controllare i puntali negli appositi “Tip Racks” dell’“Inventory Area” e sostituire i Tip Racks se necessario.	Controllare i puntali negli appositi “Tip Racks” dell’“Inventory Area” e sostituire i Tip Racks se necessario.	Controllare i puntali negli appositi “Tip Racks” dell’“Inventory Area” e sostituire i Tip Racks se necessario.
13	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
14	**Caricare** la PCR Cassette, le cartucce per estrazione ELITe InGenius SP 200 e tutti i materiali di consumo richiesti e i campioni da estrarre.	**Caricare** la PCR Cassette e gli Elution Tubes con i campioni estratti.	**Caricare** la PCR Cassette e i tubi di Positive Control e Negative Control .
15	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
16	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.
17	Premere “Start”.	Premere “Start”.	Premere “Start”.

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

NOTA

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

NOTA

Alla fine della sessione, rimuovere dallo strumento la **PCR Mix**, tapparla e conservarla a -20 °C o temperatura inferiore oppure conservarla a bordo nel blocco freddo fino a 7 ore (per 2 sessioni di circa 3 ore ciascuna e per il tempo necessario a iniziare una terza sessione), mescolare delicatamente e centrifugare il contenuto per 5 secondi prima di iniziare una nuova sessione.

NOTA

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

NOTA

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

NOTA

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

9.3 FASE 3 - Esame e approvazione dei risultati

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

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

NOTA

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

Lo strumento **ELITe InGenius** utilizza il prodotto **Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit** per generare risultati tramite la seguente procedura:

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

9.4 Validazione dei risultati dell'amplificazione per il controllo positivo e il controllo negativo

Il programma con **ELITe InGenius Software** interpreta i risultati della PCR per il target delle reazioni del Positive Control e del Negative Control utilizzando i parametri degli Assay Protocols **ELITe_PC** ed **ELITe_NC**. I valori di Ct risultanti vengono utilizzati per verificare il sistema (lotto di reagenti e strumento).

I risultati del controllo positivo e del controllo negativo, specifici per il lotto dei reagenti per 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 Positive Control e del Negative Control scadono **dopo 15 giorni**.

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

NOTA

Se il risultato del controllo positivo o del controllo negativo non soddisfa i criteri di accettazione, sulla schermata “Controls” (Controlli) appare il messaggio "Failed" (Fallito). In tal caso, i risultati non possono essere approvati e si devono ripetere le sessioni del controllo positivo e del controllo negativo.

NOTA

Se il risultato del controllo positivo e del controllo negativo non è valido e i campioni erano inclusi nella medesima sessione, i campioni possono essere approvati ma i loro risultati non sono validati. In tal caso, il(i) controllo (i) fallito(i) e i campioni devono essere ripetuti.

9.5 Validazione dei risultati dei campioni

Il software di **ELITe InGenius** interpreta i risultati della PCR per il target (canale**MYG**) e per l’Internal Control (canale **IC**) con i parametri degli Assay Protocols **R_MG ELITe_U_200_100** e **R_MG ELITe_CS_200_100**.

I risultati vengono visualizzati sulla schermata “Results Display”.

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

Tabella 8

1) Positive Control	**Stato**
R/MG Positive Control	APPROVATO
2) Negative Control	**Stato**
R/MG Negative Control	APPROVATO

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

Per ogni campione il sistema indica una combinazione dei seguenti messaggi specificando se sono stati rilevati i DNA dei patogeni.

Tabella 9

Risultato di una sessione sul campione	Interpretazione
MYG:DNA Detected Macrolide Resistance Positive (MYG:DNA Rilevato; resistenza ai macrolidi positiva)	Nel campione **è stato rilevato il DNA di *Mycoplasma genitalium***. È stata rilevata una mutazione nella regione del gene analizzata. Il campione potrebbe essere **resistente ai macrolidi**.
MYG:DNA Detected Macrolide Resistance Negative (MYG:DNA Rilevato; resistenza ai macrolidi negativa)	Nel campione **è stato rilevato il DNA di *Mycoplasma genitalium***. Non è stata rilevata alcuna mutazione nella regione del gene analizzata. Il campione potrebbe essere **sensibile ai macrolidi**.
MYG:DNA Detected - Typing not feasible-Retest Sample (MYG:DNA Rilevato - Tipizzazione non fattibile - Ritestare il campione).	Nel campione **è stato rilevato il DNA di *Mycoplasma genitalium***, ma non è sufficiente a procedere con l'analisi per la verifica della resistenza ai macrolidi. Il test deve essere ripetuto.
MYG:DNA Detected Typing not determined (MYG:DNA Rilevato, tipizzazione non determinata).	Nel campione **è stato rilevato il DNA di *Mycoplasma genitalium***, ma l’analisi della resistenza ai macrolidi non è stata fattibile.

Tabella 9 (segue)

Risultato di una sessione sul campione	Interpretazione
MYG:DNA Detected Macrolide Resistance Positive Macrolide Resistance Negative (MYG:DNA Rilevato; resistenza ai macrolidi positiva; resistenza ai macrolidi negativa).	Nel campione **è stato rilevato il DNA di *Mycoplasma genitalium***. Nel campione sono state rilevate entrambe le sequenze target associate alla resistenza e alla sensibilità ai macrolidi. Il campione potrebbe essere **resistente ai macrolidi**. Possibile presenza di coinfezioni tra ceppi di *Mycoplasma genitalium* con e senza mutazioni associate alla resistenza ai macrolidi.
MYG:DNA Not detected or below the LoD (MYG:DNA Non Rilevato o minore di LoD).	Il **DNA di *Mycoplasma genitalium* non è stato rilevato** nel campione. Il campione è **valido** come negativo oppure la concentrazione target è inferiore al limite di rilevabilità (LoD) del saggio.
Invalid-Retest Sample (Invalido - Ripetere il campione)	**Risultato del saggio non valido** per un errore dell'Internal Control (errata estrazione o effetto carryover sugli inibitori). Il test deve essere ripetuto.

I campioni segnalati come "MYG: DNA detected - Typing not feasible-Retest Sample" (MG: DNA Rilevato - Tipizzazione non fattibile - Ritestare il campione) non sono idonei per l'analisi della resistenza ai macrolidi. In questo caso il DNA di *Mycoplasma genitalium* è stato rilevato, ma in misura insufficiente a ottenere risultati corretti e riproducibili per la resistenza ai macrolidi. Ciò è dovuto alla bassa concentrazione di *Mycoplasma genitalium* nel campione o a problemi nella fase di amplificazione o estrazione (degradazione del DNA, perdita di DNA durante l'estrazione o effetto carryover degli inibitori nell'eluato). È necessario ripetere il test.

NOTA

Quando un campione viene segnalato come "MYG:DNA Detected - Typing not feasible-Retest Sample" (MYG: DNA Rilevato - Tipizzazione non fattibile - Ripetere il campione), il risultato non può essere approvato, ma il valore Tm può essere verificato dall'operatore. Se il valore Tm è inferiore a 63,0 °C (limite inferiore Tm wildtype), il campione è "MYG:DNA Detected. Macrolide Resistance Positive" (MYG:DNA Rilevato. Resistenza ai Macrolidi Positiva).

I campioni segnalati come "MYG:DNA detected. Typing not determined" (MYG:DNA Rilevato. Tipizzazione non determinata) senza alcuna indicazione sullo stato di resistenza ai macrolidi non sonoidonei per la genotipizzazione. In questo caso, il DNA target è stato rilevato nel campione, ma non è stato possibile calcolare un Tm oppure il valore Tm calcolato era al di fuori degli intervalli Tm necessari per la tipizzazione. In quest'ultimo caso, ciò potrebbe essere dovuto a mutazioni diverse da quelle previste, campioni non raccolti correttamente o a problemi nella fase di estrazione (trasferimento di inibitori nell'eluato).

I campioni segnalati come: "MYG:DNA Not detected or below the LoD" (MYG:DNA Non Rilevato o inferiore LoD) sono idonei per l'analisi ma non è stato possibile rilevare il DNA di *Mycoplasma genitalium*. In tal caso non si può escludere che il DNA di MYG sia presente in una concentrazione inferiore al limite di rilevabilità del saggio (vedere 11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI pagina 19).

Campioni che hanno riportato il risultato "Invalid - Retest Sample" (Invalido - Ripetere il campione): in questo caso, il DNA dell'Internal Control non è stato rilevato in modo efficace, probabilmente per problemi nelle fasi di estrazione o di PCR (ad es. degradazione o perdita di DNA durante l'estrazione o presenza di inibitori nell'eluato), che possono generare risultati errati. Se ne rimane un volume sufficiente, l'eluato può essere ri-analizzato mediante una sessione di amplificazione in modalità "PCR Only". In caso di un secondo risultato non valido, il campione deve essere nuovamente analizzato partendo dall'estrazione di un nuovo campione in modalità "Extract + PCR" (vedere "14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI pagina 27").

NOTA

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

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

9.6 Refertazione dei risultati dei campioni

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

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

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

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

10 PROCEDURA ELITe BeGenius

La procedura per l’uso del prodotto **Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit** con lo strumento **ELITe BeGenius** si articola in due fasi:

Tabella 10

FASE 1	Verifica che il sistema sia pronto	
FASE 2	Impostazione della sessione	A) Corsa dei campioni (Extract + PCR)
		B) Corsa dei campioni estratti (PCR Only)
		C) Corsa del Positive Control e del Negative Control (PCR only)
FASE 3	Esame ed approvazione dei risultati	1) Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo
		2) Validazione dei risultati del campione
		3) Refertazione dei risultati del campione

10.1 FASE 1 - Verifica che il sistema sia pronto

Prima di iniziare la sessione:

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

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

10.2 FASE 2 - Impostazione della sessione

Il prodotto **Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit** può essere utilizzato su **ELITe BeGenius** per eseguire:

A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)

B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)

C. Sessione del Positive Control e del Negative Control (PCR Only).

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

NOTA

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

Prima di impostare una sessione:

Scongelare i tubi di **PCR Mix** necessari a temperatura ambiente per 30 minuti. Ciascun tubo contiene un volume sufficiente per 12 test in condizioni ottimali (2 o più test per sessione). Agitare delicatamente, quindi centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.

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

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

Tabella 11

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

Tabella 11 (segue)

	A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)	B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)	C. Corsa del Positive Control e del Negative Control (PCR Only)
9	Verificare che “Extraction Input Volume” sia 200 µL e che “Extracted Elute Volume” sia 100 µL.	Non applicabile	Non applicabile
10	Nella colonna “Assay” selezionare l’Assay Protocol da utilizzare (vedere “Campioni e controlli).	Nella colonna “Assay” selezionare l’Assay Protocol da utilizzare (vedere “Campioni e controlli).	Nella colonna “Assay” selezionare l’Assay Protocol da utilizzare (vedere “Campioni e controlli).
11	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
	Nota: Quando si processano più di 12 campioni, ripetere la procedura dal punto 6.		Non applicabile
12	Caricare le “Elution tubes” nell’“Elution Rack” (gli Elution tubes possono essere etichettati con il codice a barre per una miglior tracciabilità).	Non applicabile	Non applicabile
13	Inserire l’“Elution Rack” nella “Cooler Unit” a partire dalla “Lane 3” (L3). Quando si processano più di 12 campioni, ripetere la procedura utilizzando la “Lane 2” (L2).	Non applicabile	Non applicabile
14	Fare clic su "Next" per proseguire.	Non applicabile	Non applicabile
15	**Caricare la CPE e la PCR Mix** nel “Reagent/Elution Rack”.	**Caricare la PCR Mix** nel “Reagent/Elution Rack”.	**Caricare la PCR Mix** nel “Reagent/Elution Rack”.
16	Inserire il “Reagent/Elution Rack” nella “Cooler Unit” nella “Lane 2” (L2) se disponibile o nella “Lane 1” (L1). Se necessario, per ciascun reagente PCR Mix e/o CPE, inserire “S/N” (numero di serie), “Lot No.” (numero di lotto), “Exp. Date” (data di scadenza) e “T/R” (numero di reazioni).	Inserire il “Reagent/Elution Rack” nella “Cooler Unit” nella “Lane 2” (L2) se disponibile o nella “Lane 1” (L1). Se necessario, per ogni reagente della PCR Mix, inserire “S/N” (numero di serie), “Lot No.” (numero di lotto), “Exp. Date” (data di scadenza) e “T/R” (numero di reazioni).	Inserire il “Reagent/Elution Rack” nella “Cooler Unit” nella “Lane 2” (L2) se disponibile o nella “Lane 1” (L1). Se necessario, per ogni reagente della PCR Mix, inserire “S/N” (numero di serie), “Lot No.” (numero di lotto), “Exp. Date” (data di scadenza) e “T/R” (numero di reazioni).
17	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
18	Controllare i puntali negli appositi “Tip Racks” dell’“Inventory Area” e sostituire i Tip Racks se necessario.	Controllare i puntali negli appositi “Tip Racks” dell’“Inventory Area” e sostituire i Tip Racks se necessario.	Controllare i puntali negli appositi “Tip Racks” dell’“Inventory Area” e sostituire i Tip Racks se necessario.
19	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
20	Caricare il “**PCR Rack**” con “PCR Cassette” nell’Inventory Area (area di carico).	Caricare il “**PCR Rack**” con “PCR Cassette” nell’Inventory Area (area di carico).	Caricare il **“PCR Rack**” con “PCR Cassette” nell’Inventory Area (area di carico).
21	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
22	Caricare l’“Extraction Rack” con le cartucce di estrazione “ELITe InGenius SP 200” e i materiali di consumo per l’estrazione richiesti.	Non applicabile	Non applicabile

Tabella 11 (segue)

	A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)	B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)	C. Corsa del Positive Control e del Negative Control (PCR Only)
23	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.
24	Premere “Start”.	Premere “Start”.	Premere “Start”.

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

NOTA

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

NOTA

Alla fine della sessione, rimuovere dallo strumento la **PCR Mix**, tapparla e conservarla a -20 °C o temperatura inferiore oppure conservarla a bordo nel blocco freddo fino a 7 ore (per 2 sessioni di circa 3 ore ciascuna e per il tempo necessario ad iniziare una terza sessione), mescolare delicatamente e centrifugare il contenuto per 5 secondi prima di iniziare una nuova sessione.

NOTA

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

NOTA

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

NOTA

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

10.3 FASE 3 - Esame e approvazione dei risultati

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

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

NOTA

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

ELITe BeGenius utilizza il prodotto **Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit** per generare i risultati tramite la seguente procedura:

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

3. Refertazione dei risultati del campione

NOTA
Per i dettagli, fare riferimento allo stesso paragrafo della Procedura ELITe InGenius

11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

11.1 Limite di rilevazione (LoD)

Il limite di rilevabilità (LoD) del saggio è stato determinato per lo strumento **ELITe InGenius** analizzando campioni di urine della prima minzione mattutina senza conservanti, inoculati con materiale di riferimento per *Mycoplasma genitalium* (Qnostics, Regno Unito, codice MG1803023B).

È stata eseguita l'analisi di regressione con modello Probit sui risultati ed è stato stimato il LoD come la concentrazione del campione che ha una probabilità del 95% di risultare positivo.

I risultati sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 12 Limite di rilevabilità (microrganismi/mL) per i campioni di urine della prima minzione mattutina con il sistema ELITe InGenius

LoD (microrganismi/mL)	Limiti dell'intervallo di confidenza 95%	
	Limite inferiore	Limite superiore
247	155	634

Il valore LoD calcolato è stato verificato mediante analisi su **ELITe InGenius** ed **ELITe BeGenius** su campioni di urine della prima minzione mattutina, urine concentrate e tamponi cervico-vaginali inoculati con materiale di riferimento di Mycoplasma genitalium (DSMZ, DSM 19775) alla concentrazione dichiarata.

I risultati ottenuti hanno confermato la concentrazione dichiarata per il target del prodotto Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit con le tre matrici su entrambi gli strumenti ELITe BeGenius ed ELITe InGenius.

11.2 Rilevazione della resistenza ai macrolidi

La rilevazione della resistenza ai macrolidi è stata valutata per il saggio mediante analisi su campioni certificati ELITe InGenius (forniti da un laboratorio esterno) e DNA plasmidico contenente la regione amplificata del gene 23S rRNA con le principali mutazioni correlate alla resistenza agli antibiotici elencate nella tabella sottostante:

Tabella 13

Mutazione
A2058G
A2058C
A2058T
A2059G
A2059C
A2062G
A2062T

NOTA
Il saggio consente di rilevare altre mutazioni nella stessa regione del gene 23S rRNA, come la A2062C. Tuttavia, questa mutazione non sembra essere associata alla resistenza ai macrolidi.

I risultati del test sono riportati nella sezione successiva dedicata all'efficienza di rilevazione. Tutti gli isolati e i DNA plasmidici analizzati sono stati rilevati come positivi al Mycoplasma genitalium e correttamente classificati come potenzialmente resistenti ai macrolidi mediante il prodotto Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit.

11.3 Inclusività: Efficienza della rilevazione

L'inclusività del saggio, in termini di efficienza di rivelazione del *Mycoplasma genitalium*, comprese le varianti resistenti all'azitromicina, è stata valutata mediante analisi *in silico*.

L'analisi ha evidenziato la conservazione delle sequenze e l'assenza di mutazioni significative. Pertanto, è prevedibile una rilevazione efficiente dei ceppi e/o isolati.

L'inclusività è stata verificata inoltre attraverso l'analisi del DNA genomico certificato proveniente da campioni clinici (forniti da un laboratorio esterno) e dei DNA plasmidici, comprese le mutazioni per la resistenza all'azitromicina.

I risultati sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 14

Campione	Pos./Ripr.	Mut. /Ripr.
M. genitalium wt	3/3	0/3
pMG A2058G	3/3	3/3
pMG A2058C	3/3	3/3
pMG A2058T	3/3	3/3
pMG A2059G	3/3	3/3
pMG A2059C	3/3	3/3
pMG A2062G	12/12	12/12
pMG A2062T	12/12	12/12
MG 410 (A2058G)	1/1	1/1
MG 426 (A2058G)	1/1	1/1
MG 539 (A2059G)	1/1	1/1
MG 540 (A2058G)	1/1	1/1

11.4 Microrganismi potenzialmente interferenti

La potenziale cross-reattività con microrganismi indesiderati che si possono rilevare nei campioni clinici è stata valutata per il saggio mediante analisi *in silico*.

L'analisi del *Mycoplasma genitalium* non ha evidenziato omologie significative con altri microrganismi indesiderati (virus e batteri), pertanto non si prevedono potenziali interferenze.

L'assenza di cross-reattività con microrganismi potenzialmente interferenti è stata verificata anche mediante l'analisi di un pannello di microrganismi indesiderati diversi da quello di interesse (ATCC e Vircell Microbiologists).

I risultati sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 15 Potenziale crossreattività

Microrganismo	Ceppo	Esito
Chlamydia trachomatis	LGV II	Nessuna cross-reattività
Neisseria gonorrhoeae	DSM 9188	Nessuna cross-reattività
Trichomonas vaginalis	Isolato clinico	Nessuna crossreattività
Mycoplasma hominis	PG21	Nessuna cross-reattività
Ureaplasma urealyticum	NCTC10177	Nessuna cross-reattività
Escherichia coli	CFT073	Nessuna cross-reattività
Ureaplasma parvum	NCTC 11736	Nessuna cross-reattività
Treponema pallidum	Nichols	Nessuna cross-reattività
Gardnerella vaginalis	594	Nessuna cross-reattività
Mobiluncus mulieris	BV 64-5	Nessuna cross-reattività
Bacteroides fragilis	NCTC 9343	Nessuna cross-reattività
Peptostreptococcus anaerobius	MSHD	Nessuna cross-reattività
Candida albicans	3147	Nessuna cross-reattività
Lactobacillus acidophilus	Pak	Nessuna cross-reattività
HSV1	McIntyre	Nessuna crossreattività
HSV2	G	Nessuna crossreattività

Tutti i microrganismi potenzialmente interferenti analizzati non hanno mostrato alcun effetto di cross-reattività nell'amplificazione del target utilizzando il prodotto Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit.

Il potenziale effetto inibitorio sui microrganismi indesiderati che possono essere presenti nei campioni clinici è stato valutato per il saggio attraverso l'analisi di un pannello di microrganismi indesiderati (Vircell Microbiologist) inoculati con DNA genomico di *Mycoplasma genitalium* a bassa concentrazione.

I risultati sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 16 Potenziale interferenza

Microrganismo	Ceppo	Esito
Chlamydia trachomatis	LGV II	Nessuna interferenza
Neisseria gonorrhoeae	DSM 9188	Nessuna interferenza
Trichomonas vaginalis	Isolato clinico	Nessuna interferenza
Mycoplasma hominis	PG21	Nessuna interferenza
Ureaplasma urealyticum	NCTC10177	Nessuna interferenza
Escherichia coli	CFT073	Nessuna interferenza
Ureaplasma parvum	NCTC 11736	Nessuna interferenza
Treponema pallidum	Nichols	Nessuna interferenza
Gardnerella vaginalis	594	Nessuna interferenza

Tabella 16 Potenziale interferenza (segue)

Microrganismo	Ceppo	Esito
Mobiluncus mulieris	BV 64-5	Nessuna interferenza
Bacteroides fragilis	NCTC 9343	Nessuna interferenza
Peptostreptococcus anaerobius	MSHD	Nessuna interferenza
Candida albicans	3147	Nessuna interferenza
Lactobacillus acidophilus	Pak	Nessuna interferenza
HSV1	McIntyre	Nessuna interferenza
HSV2	G	Nessuna interferenza

Tutti i microrganismi potenzialmente interferenti analizzati non hanno mostrato alcuna inibizione nell'amplificazione del target utilizzando il prodotto Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit.

11.5 Sostanze interferenti

L'inibizione mediante sostanze potenzialmente 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 concentrazioni rilevanti.

I risultati sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 17 % Ct (riferimento + test)

Sostanza	% Concordanza Pos.	Esito
Sangue intero	100%	Nessuna interferenza
Sperma	100%	Nessuna interferenza
Mucina	100%	Nessuna interferenza
Azitromicina	100%	Nessuna interferenza
Urine alcaline	100%	Nessuna interferenza
Urine acide	100%	Nessuna interferenza
Antivirale	100%	Nessuna interferenza
Antibiotico	100%	Nessuna interferenza
Antimicotico	100%	Nessuna interferenza
Lubrificante	100%	Nessuna interferenza
Spermicida	100%	Nessuna interferenza

Tutte le sostanze potenzialmente interferenti analizzate non hanno mostrato alcuna cross-reattività con i target utilizzando il prodotto Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit.

11.6 Ripetibilità

La ripetibilità del saggio è stata valutata su ELITe BeGenius ed ELITe InGenius mediante analisi di un pannello di campioni di urine della prima minzione mattutina negativi o inoculati con materiale di riferimento certificato di *Mycoplasma genitalium* (DSMZ, DSM 19775).

Un esempio dei risultati di ripetibilità intra-sessione (su un giorno) è illustrato nelle tabelle seguenti.

Tabella 18 Ripetibilità intra-sessione su ELITe BeGenius

Campione	Pos./Neg.	Mycoplasma genitalium			%Concordanza
		Media Ct	SD	% CV	
Negativi	0 / 8	NA	NA	NA	100%
3X LoD	8 / 8	34,59	0,69	1,98	100%
10X LoD	8 / 8	32,51	0,41	1,25	100%

Tabella 19 Ripetibilità intra-sessione su ELITe InGenius

Campione	Pos./Neg.	Mycoplasma genitalium			%Concordanza
		Media Ct	SD	% CV	
Negativi	0 / 8	NA	NA	NA	100%
3X LoD	8 / 8	35,97	0,64	1,77	100%
10X LoD	8 / 8	32,66	0,30	0,93	100%

Un esempio dei risultati di ripetibilità inter-sessione (su due giorni) è illustrato nella tabella seguente.

Tabella 20 Ripetibilità inter-sessione su ELITe BeGenius

Campione	Pos./Neg.	Mycoplasma genitalium			%Concordanza
		Media Ct	SD	% CV	
Negativi	0 / 16	NA	NA	NA	100%
3X LoD	16 / 16	35,18	0,98	2,78	100%
10X LoD	16 / 16	32,79	0,45	1,37	100%

Tabella 21 Ripetibilità inter-sessione su ELITe InGenius

Campione	Pos./Neg.	Mycoplasma genitalium			%Concordanza
		Media Ct	SD	% CV	
Negativi	0 / 16	NA	NA	NA	100%
3X LoD	16 / 16	36,13	0,80	2,21	100%
10X LoD	16/16	32,91	0,57	1,73	100%

Nel test di ripetibilità, il prodotto Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit ha rilevato tutti i campioni come previsto e ha mostrato una variabilità dei valori di Ct del target espressa come coefficiente di variazione percentuale % CV inferiore al 5%.

11.7 Riproducibilità

La riproducibilità del saggio è stata valutata su ELITe BeGenius ed ELITe InGenius mediante analisi di un pannello di campioni di urine della prima minzione mattutina negativi o inoculati con materiale di riferimento certificato di *Mycoplasma genitalium* (DSMZ, DSM 19775).

Le tabelle sottostanti riportano un esempio della riproducibilità inter-lotto (su due lotti).

Tabella 22 Riproducibilità inter-lotto con ELITe BeGenius

Campione	Pos./Ripr.	Mycoplasma genitalium			%Concordanza
		Media Ct	SD	%CV	
Negativi	0 / 8	-	-	-	100%
3 X LOD	8 / 8	35,75	0,27	0,75	100%
10 X LOD	8 / 8	33,16	0,74	2,23	100%

Tabella 23 Riproducibilità inter-lotto con ELITe InGenius

Campione	Pos./Ripr.	Mycoplasma genitalium			%Concordanza
		Media Ct	SD	%CV	
Negativi	0 / 8	-	-	-	100%
3 X LOD	8 / 8	35,79	0,83	2,31	100%
10 X LOD	8 / 8	33,65	0,44	1,29	100%

La tabella seguente riporta i risultati della riproducibilità inter-strumento (su due giorni, due lotti e due strumenti).

Tabella 24 Riproducibilità inter-strumento con ELITe BeGenius

Campione	Pos./Ripr.	Mycoplasma genitalium			%Concordanza
		Media Ct	SD	%CV	
Negativi	0 / 16	-	-	-	100%
3 X LOD	16 / 16	35,59	0,79	2,22	100%
10 X LOD	16 / 16	33,19	0,46	1,39	100%

Tabella 25 Riproducibilità inter-strumento con ELITe InGenius

Campione	Pos./Ripr.	Mycoplasma genitalium			%Concordanza
		Media Ct	SD	%CV	
Negativi	0 / 16	-	-	-	100%
3 X LOD	16 / 16	35,67	0,05	1,94	100%
10 X LOD	16/16	33,25	0,23	0,69	100%

Nel test di riproducibilità, il prodotto Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit ha rilevato tutti i campioni come previsto e ha mostrato una variabilità dei valori di Ct del target espressa come coefficiente di variazione %CV inferiore al 5%.

11.8 Sensibilità diagnostica: conferma di campioni positivi

La sensibilità diagnostica del saggio, come conferma di campioni clinici positivi al *Mycoplasma Genitalium* (MYG), è stata valutata in associazione con **ELITe InGenius** analizzando campioni clinici di urine della prima minzione mattutina raccolti senza conservanti, di urine concentrate della prima minzione mattutina e di tamponi cervico-vaginali, certificati positivi o inoculati con materiali di riferimento.

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

I risultati sono sintetizzati nella tabella seguente.

Tabella 26

Campioni	N	Positivi	Negativi	Sensibilità diagnostica in %
Urine della prima minzione mattutina positive per MYG	66	65	1	98,5%
Urine concentrate della prima minzione mattutina positive per MYG	53	53	0	100%
Tamponi cervico-vaginali positivi per MYG	29	29	0	100%
Tamponi cervico-vaginali positivizzati per MYG	60	60	0	

Per quanto riguarda l'identificazione della resistenza ai macrolidi, i risultati ottenuti con il saggio mediante analisi Tm (“Resistenza ai macrolidi negativa” (WT) o “Resistenza ai macrolidi positiva” (MUT)) sono stati confrontati con i dati ottenuti con i metodi di riferimento. I risultati ottenuti per le diverse matrici sono riportati di seguito.

Tabella 27

Campioni	Metodi di riferimento	WT	MUT	WT & MUT	Tipizzazione **Concordanza**
Prima minzione mattutina **Urine**	WT	13	1	0	**98,4%**
	MUT	0	47	0	
	WT & MUT	0	0	1	
Concentrate Prima minzione mattutina **Urine**	WT	9	1	0	**98,1%**
	MUT	0	42	0	
	WT & MUT	0	0	1	
Cervico-vaginale **Tampone**	WT	49	0	0	**100%**
	MUT	0	37	0	
	WT & MUT	0	0	0	

11.9 Specificità diagnostica: conferma di campioni negativi

La specificità diagnostica del saggio, come conferma di campioni clinici negativi al *Mycoplasma Genitalium* (MYG), è stata valutata in associazione con **ELITe InGenius** analizzando campioni clinici di urine della prima minzione mattutina raccolti senza conservanti, di urine concentrate della prima minzione mattutina e di tamponi cervico-vaginali, certificati negativi.

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

I risultati sono sintetizzati nella tabella seguente.

Tabella 28

Campioni	N	Positivi	Negativi	Specificità diagnostica in %
Urine della prima minzione mattutina negative per MYG	55	0	55	100%
Urine concentrate della prima minzione mattutina negative per MYG	54	0	54	100%
Tamponi cervico-vaginali negativi per MYG	104	0	104	100%

Il valore di cut-off dell'IC Ct è fissato a 32 per tutte le matrici.

NOTA

I dati e i risultati completi delle prove eseguite per la valutazione delle caratteristiche prestazionali del prodotto con le matrici e gli strumenti sono registrati nel Fascicolo Tecnico di Prodotto" di Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit Kit", FTP401ING.

12 BIBLIOGRAFIA

Twin J. et al. (2012) PLoS ONE Vol. 7, Issue 4

Nijhuis R.H.T. et al J. Antimicrob. Chemother.(2015), 70: 2515-2518

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

G. L. Murray et al. (2019) J. Appl. Microbiol. 127(4):1219-1223

A. Guschin et al. (2015) BMC Infect Dis. 15:40.

R. Palich et al. (2021) Sex. Transm. Dis. 48(11):e163-e164.

13 LIMITI DELLA PROCEDURA

Utilizzare questo prodotto solo con i seguenti campioni clinici: urine della prima minzione mattutina e tampone cervico-vaginale.

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

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

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

Questo prodotto deve essere utilizzato da personale qualificato, 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 e altre persone.

Questo prodotto richiede l'uso di dispositivi di protezione individuale e di aree adeguate alla lavorazione di campioni biologici potenzialmente infettivi e preparati chimici classificati come pericolosi, al fine di prevenire incidenti con conseguenze potenzialmente gravi per l'utente e altre persone.

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

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

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

Un risultato negativo ottenuto con questo prodotto indica che il DNA target non è stato rilevato nel DNA estratto dal campione; tuttavia, non si può escludere che il DNA target abbia un titolo inferiore al limite di rilevabilità del prodotto (vedere11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI pagina 19). In tal caso, il risultato potrebbe essere un falso negativo.

Talvolta, i risultati ottenuti con questo prodotto possono non essere validi per via di un difetto del controllo interno. In questo caso il campione deve essere riesaminato, a partire dall'amplificazione o dall'estrazione, il che può comportare un ritardo nell'ottenimento dei risultati finali (vedere 14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI pagina 27).

I risultati ottenuti con questo prodotto in merito alla possibile resistenza ai macrolidi del *Mycoplasma genitalium* sono limitati alla rilevazione delle principali mutazioni, come indicato nella sezione "Caratteristiche prestazionali". Altre mutazioni non rilevate da questo prodotto possono essere associate a resistenza ai macrolidi. Al contrario, mutazioni silenti possono essere rilevate da questo prodotto, ma non sono associate a resistenza ai macrolidi. Pertanto, è necessario eseguire un test fenotipico di sensibilità antimicrobica per confermare la sensibilità o la resistenza ai macrolidi.

Questo prodotto è in grado di identificare possibili coinfezioni o co-colonizzazioni tra i cappi di *Mycoplasma genitalium* con e senza mutazioni associate alla resistenza ai macrolidi. Tuttavia, in caso di coinfezioni o co-colonizzazioni sbilanciate, i risultati dei test forniti con questo prodotto potrebbero identificare solo la popolazione predominante, qualora fosse prevalente in modo evidente.

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 in combinazione con tutte le osservazioni cliniche e i risultati di laboratorio pertinenti.

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

14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI

Tabella 29

Reazione del Positive Control non valida	
Possibili cause	**Soluzioni**
Errore di impostazione dello strumento.	Controllare la posizione della PCR Mix e del Positive Control. Controllare i volumi della PCR Mix e del Positive Control.
Degradazione della PCR Mix.	Non utilizzare la miscela PCR Mix per più di 7 sessioni indipendenti (3 ore nel blocco freddo dell'Inventory Area o nella Cooler Unit). Non utilizzare la miscela PCR Mix per più di 3 sessioni indipendenti (7 ore ciascuna nel blocco freddo dell'Inventory Area o nella Cooler Unit). Non lasciare la miscela PCR Mix a temperatura ambiente per più di 30 minuti. Utilizzare una nuova aliquota di PCR Mix.
Degradazione della Positive Control.	Non utilizzare il Positive Control per più di 4 sessioni indipendenti (3 ore ciascuna nell'area di estrazione o nella Cooler Unit). Utilizzare una nuova aliquota di Positive Control.
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup.

Tabella 30

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

Tabella 31

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 miscela PCR Mix per più di 7 sessioni indipendenti (3 ore in blocco freddo nell'Inventory Area o nella Cooler Unit). Non utilizzare la miscela PCR Mix per più di 3 sessioni indipendenti (7 ore ciascuna in blocco freddo nell'Inventory Area o nella Cooler Unit). Proteggere la **PCR Mix** dalla luce durante lo scongelamento. Non lasciare la PCR Mix a temperatura ambiente per più di 30 minuti. Utilizzare una nuova aliquota di PCR Mix.
Degradazione del template di Internal Control.	Utilizzare una nuova aliquota di Internal Control.
Inibizione dovuta a sostanze interferenti con il campione.	Ripetere la reazione di amplificazione del campione con una diluizione 1:2 in acqua per biologia molecolare del campione eluito in una sessione in modalità ""PCR Only" (solo PCR). Ripetere l'estrazione con una diluizione 1:2 in acqua per biologia molecolare del campione in una sessione in modalità "Extract + PCR" (estrazione + PCR).
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup.

Tabella 32

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 33

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

Tabella 34

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

15 LEGENDA DEI SIMBOLI

REF	Numero di catalogo.
	Limite superiore di temperatura.
LOT	Codice del lotto.
	Da utilizzare prima del (ultimo giorno del mese).
IVD	Dispositivo medico-diagnostico *in vitro*.
CE 0123	Conforme ai requisiti del Regolamento IVDR 2017\746\CE relativo ai dispositivi medico-diagnostici *in vitro*. Certificato rilasciato da TÜV SÜD Product Service GmbH, Germania.
UDI	Identificazione unica del dispositivo


Contenuto sufficiente per "N" test.


Consultare le istruzioni per l'uso.

CONT Contenuto.


Conservare al riparo dalla luce del sole.


Fabbricante.

16 AVVISO PER L'UTILIZZATORE

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

Verrà resa disponibile al pubblico una "Sintesi della Sicurezza e delle Prestazioni" tramite il database europeo dei dispositivi medici (Eudamed) non appena questo sistema informatico sarà funzionante. Prima che sia pubblicato l'avviso della piena funzionalità di Eudamed, verrà tempestivamente resa disponibile al pubblico la "Sintesi della Sicurezza e delle Prestazioni" richiedendola via email all'indirizzo emd.support@elitechgroup.com.

17 AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA

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

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

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

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

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

Appendix A Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit utilizzato in associazione alle piattaforme della serie ®

ATTENZIONE

Il presente documento è una versione semplificata del manuale di istruzioni ufficiale.

Fare riferimento al documento completo prima dell'uso: www.elitechgroup.com

USO PREVISTO

Il prodotto **Macrolide-R/MG ELITe MGB® Kit** è un dispositivo diagnostico *in vitro* destinato all'uso da parte degli operatori sanitari come test qualitativo della Real-Time PCR degli acidi nucleici per la rilevazione del DNA del ***Mycoplasma genitalium*** **(MYG)** estratto da campioni clinici e per l'identificazione delle principali mutazioni associate alla resistenza ai macrolidi.

Il saggio è stato validato in associazione con gli strumenti **ELITe InGenius®** ed **ELITe BeGenius®,** sistemi automatizzati e integrati per l'estrazione, la Real-Time PCR e l'interpretazione dei risultati, utilizzando campioni umani di urine della prima minzione mattutina raccolti senza conservanti e di tampone cervico-vaginale.

Il prodotto è destinato all'uso come ausilio nella diagnosi delle infezioni del tratto urogenitale in pazienti con sospetta infezione da *Mycoplasma genitalium*.

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

Sequenza amplificata

Tabella 35

Sequenza	Gene	Fluoroforo	Canale
Target 1	23S rRNA	AP525	MYG
Internal Control	IC2	AP680	IC

Matrice validata

Tabella 36

› urine della prima minzione mattutina raccolte senza conservanti
› tampone cervico-vaginale

Contenuto del Kit e prodotti correlati

Tabella 37

Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit (RTS401ING-48)		Macrolide-R/MG – ELITe Positive Control (CTR401ING)	
 X 4		 X 3	
R/MG PCR Mix 4 provette da 280 µL 12 reazioni per tubo 48 reazioni per kit 7 cicli di congelamento/scongelamento per provetta		**R/MG Positive Control** 3 provette da 160 µL 4 reazioni per provetta 12 reazioni per kit 4 cicli di congelamento/scongelamento	
Validità massima:	**24 mesi**	Validità massima:	**24 mesi**
Temperatura di conservazione	**≤ -20°C**	Temperatura di conservazione	**≤ -20°C**

Altri prodotti richiesti ma non forniti nel kit

Tabella 38

› Strumento ELITe InGenius: INT030. › Strumento ELITe BeGenius: INT040. › ELITe InGenius SP 200: INT032SP200.	› CPE - Internal Control: CTRCPE. **ELITe InGenius** and **ELITe BeGenius** Consumable Set (vedere Istruzioni per l'uso di ELITe InGenius ed ELITe BeGenius) **eSWAB ®** (COPAN Italia S.p.A., cod. 480CE), o un dispositivo equivalente, solo per campioni prelevati con tampone cervico-vaginale

Protocollo ELITe InGenius ed ELITe BeGenius

› Volume del campione › Volume di CPE › Volume eluizione totale	200 µL (InGenius e BeGenius) o 1000 µL (solo InGenius) 10 µL 100 µL	› Volume di eluato in PCR › Volume Q—PCR Mix › Frequenza dei controlli	20 µL 20 µL 15 giorni

Prestazioni di ELITe InGenius e ELITe BeGenius

Tabella 39

Matrice	Target	Limite di rilevabilità	Sensibilità	Specificità
Urine della prima minzione mattutina	MYG	**247 microrganismi/mL**	98.5% **(65/66)**	100% **(55/55)**
concentrate Urine della prima minzione mattutina	MYG	**247 microrganismi/mL**	100% **(53/53)**	100% **(54/54)**
tampone cervico-vaginale	MYG	**247 microrganismi/mL**	100% **(89/89)**	100% **(104/104)**

Preparazione dei campioni

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

Tabella 40

Tipo di campione	Requisiti per la raccolta	Condizioni di trasporto/conservazione			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	**+2 / +8 ° C**	**-20 ±10 ° C**	**-70 ±15 ° C**
Urine della prima minzione mattutina	raccolte senza conservanti	≤1 giorno	≤2 giorni	≤1 mese	≤1 mese
Tamponi cervico-vaginali	eSwab® (COPAN) o un dispositivo equivalente, solo per campioni prelevati con tampone cervico-vaginale	≤2 giorni	≤2 giorni	≤1 mese	≤1 mese

Procedure di ELITe InGenius

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

Prima dell'analisi

Tabella 41

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

Procedura 1 - Sessione completa: Estrazione + PCR (es., campioni)

Tabella 42

1. Selezionare "Perform Run" sul touch screen	**2.** Verificare i volumi di estrazione: Ingresso: "200 µL", eluizione: "100 µL"	**3.** Scansionare i codici a barre dei campioni con un lettore di codici a barre manuale o digitare l'ID campione
4. Selezionare l'Assay Protocol di interesse: R_MG ELITe_U_200_100 r R_MG ELITe_CS_200_100	**5.** Selezionare il metodo "Extract + PCR" e la posizione del campione: Extraction Tube	**6.** Caricare la miscela PCR Mix e l'Internal Control (IC) nell'Inventory Block
7. Caricare: La PCR Cassette, la Cartuccia di Estrazione, l'Elution tube, la Cassetta dei Puntali, i Rack delle "Extraction Tube"	**8.** Chiudere lo sportello. Avviare la sessione	**9.** Visualizzare, approvare e archiviare i risultati

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

Procedura 2: PCR Only (es. eluati, controlli)

Tabella 43

1. Selezionare “Perform Run” sul touch screen.	**2.** Verificare i volumi di estrazione: Ingresso: “200 µL”, eluizione: “100 µL”	**3.** Scansionare il codice a barre con l’apposito lettore manuale, o digitare l'ID del campione
4. Selezionare l’Assay Protocol di interesse: R_MG ELITe_U_200_100 o R_MG ELITe_CS_200_100 o R_MG ELITe_PC o R_MG ELITe_NC	**5.** Selezionare il metodo “PCR Only” e impostare la posizione del campione “Elution Tube”.	**6.** Caricare la miscela PCR Mix nell’Inventory Block
7. Caricare: il rack della PCR Cassette e il rack degli Elution Tubes con gli acidi nucleici estratti.	**8.** Chiudere lo sportello. Avviare la sessione.	**9.** Visualizzare, approvare e archiviare i risultati.

Procedure di ELITe BeGenius

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

Prima dell'analisi

Tabella 44

1. Accendere ELITe BeGenius. Inserire username e password. Selezionare la modalità “**CLOSED**”.	**2.** Verificare la presenza dei controlli **R_MG Positive Control** e **R_MG Negative Control** nel menu “Controls”. Nota: Entrambi devono essere eseguiti, approvati e non scaduti.	**3.** Scongelare la **R/MG PCR Mix** e le provette **CTRCPE** Mescolare delicatamente con agitatore vortex. Centrifugare per 5 sec.

Procedura 1 - Sessione completa: Estrazione + PCR (es., campioni)

Tabella 45

1. Selezionare “Perform Run” sul touch screen e fare clic sulla modalità di esecuzione «Extract and PCR» (Estrazione e PCR).	**2.** Inserire il Sample Rack con il codice a barre nella Cooler Unit. Il lettore di codici a barre è già attivo.	**3.** Verificare i volumi di estrazione: Ingresso: “200 µL”, Eluato: “100 µL”
4. Selezionare l’Assay Protocol di interesse: R_MG ELITe_Be_U_200_100 r R_MG ELITe_Be_CS_200_100 **Nota**: se si esegue una seconda estrazione, ripetere i passaggi da 2 a 4	**5.** Stampare le etichette per identificare con il codice a barre gli Elution Tubes vuoti. Caricare i tubi nell’Elution Rack e inserirlo nella Cooler Unit.	**6.** Caricare la PCR Mix e l’Internal Control nel Reagent/Elution Rack e inserirlo nella Cooler Unit.
7. Caricare il “PCR Rack” con la “PCR Cassette” e l’“Extraction Rack” con le cartucce di estrazione e i materiali di consumo richiesti per l’estrazione forniti in “ELITe InGenius SP 200 Consumable Set”.	**8.** Chiudere lo sportello. Avviare la sessione	**9.** Visualizzare, approvare e archiviare i risultati

NOTA
Se è necessaria una modalità “Extract Only”, fare riferimento al manuale d’istruzioni dello strumento per la procedura.

Procedura 2: PCR Only (es. eluati, controlli)

Tabella 46

1. Selezionare “Perform Run” (Esegui sessione) sul touch screen e fare clic sulla modalità di esecuzione «PCR Only».	**2.** Caricare i tubi di acidi nucleici estratti o i tubi con i controlli dotati di codice a barre nell’Elution Rack e inserirlo nella Cooler Unit.	**3.** Per i controlli: per ogni “Position” inserire “Reagent name” e “S/N” (numero di serie), “Lot No.” (numero di lotto), “Exp. Date” (data di scadenza) e “T/R” (numero di reazioni). Per gli eluati: per ogni “Position” inserire i dati relativi a “Sample ID”, “Sample matrix”, “Extraction kit” ed “Extracted eluate vol.” (volume eluato).
4. Selezionare l’Assay Protocol di interesse: R_MG ELITe_Be_U_200_100 o R_MG ELITe_Be_CS_200_100 o R_MG ELITe_Be_PC o R_MG ELITe_Be_NC	**5.** Caricare la PCR-Mix nel Reagent/ Elution Rack e inserirlo nella Cooler Unit.	**6.** Caricare il “PCR Rack” con la “PCR Cassette”.
7. Chiudere lo sportello. Avviare la sessione	**8.** Visualizzare, approvare e archiviare i risultati	

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