

Istruzioni per l'uso

TOXOPLASMA g. ELITe MGB® Kit

reagenti per la Real-Time PCR del DNA



REF RTST01PLD

UDI 08033891484644

CE **IVD**
0123

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Rev.	Notifiche dei cambiamenti	Date (dd/mm/yy)															
06-R	<p>Marcatura CE secondo il nuovo Regolamento Europeo 2017/746 (IVDR).</p> <p style="text-align: center;">NOTA</p> <p>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 ELITechGroup per richiedere la relativa precedente versione delle IFUs.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Numero di catalogo</th> <th>Numero di lotto</th> <th>Data di scadenza</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>RTST01PLD</td> <td>RTST01PLD</td> <td>RTST01PLD</td> </tr> </tbody> </table> <p>Espansione dell'uso del prodotto in associazione con lo strumento ELITe BeGenius® e le matrici sangue intero raccolto in EDTA, liquido amniotico e liquido cefalorachidiano Aggiornamento delle CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI. Nuovi studi di valutazione delle prestazioni sono stati effettuati. Sono state aggiornate le seguenti prestazioni: Stabilità dei campioni clinici; Limite di rilevabilità; Intervallo di misurazione lineare; Cross reattività; Inibizione da organismi e sostanze; Ripetibilità e Riproducibilità.</p> <p style="text-align: center;">NOTA</p> <p>I nuovi studi hanno confermato i risultati di Specificità Diagnostica e Sensibilità Diagnostica.</p> <p>Nuovo formato grafico e nuova impostazione dei contenuti dell'IFU</p>	Numero di catalogo	Numero di lotto	Data di scadenza	RTST01PLD	15/11/24											
Numero di catalogo	Numero di lotto	Data di scadenza															
RTST01PLD	RTST01PLD	RTST01PLD															
RTST01PLD	RTST01PLD	RTST01PLD															
RTST01PLD	RTST01PLD	RTST01PLD															
RTST01PLD	RTST01PLD	RTST01PLD															
05	Espansione dell'uso del prodotto in associazione con lo strumento ELITe InGenius® e le matrici sangue intero raccolto in EDTA, liquido amniotico e liquido cefalorachidiano.	18/06/19															
04	Avvertenza riguardante l'impostazione manuale a 0,2 della Soglia (Threshold) per il detector FAM "TOXO" quando si usa lo 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument	13/10/17															
03	Avvertenza riguardante l'uso del prodotto CPE - Internal Control (cod.e CTRCPE) quale controllo positivo di estrazione.	16/05/14															
00 — 02	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	4
5 MATERIALI RICHIESTI MA NON INCLUSI NEL PRODOTTO	5
6 ALTRI PRODOTTI RICHIESTI	5
7 AVVERTENZE E PRECAUZIONI	5
8 CAMPIONI E CONTROLLI	7
9 PROCEDURA ELITe InGenius.....	9
10 PROCEDURA ELITe BeGenius	14
11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI	18
12 BIBLIOGRAFIA	23
13 LIMITI DELLA PROCEDURA	24
14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI	25
15 LEGENDA DEI SIMBOLI	27
16 AVVISO PER L'UTILIZZATORE	28
17 AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA.....	28
Appendix A QUICK START GUIDE.....	29

1 USO PREVISTO

Il prodotto **TOXOPLASMA g . ELITe MGB® Kit** è un dispositivo medico diagnostico in vitro destinato all'uso da parte degli operatori sanitari come un saggio qualitativo di amplificazione degli acidi nucleici per **la rilevazione del DNA** del *Toxoplasma gondii* estratto da campioni clinici.

Il saggio è validato in associazione agli strumenti **ELITE InGenius®** ed **ELITE BeGenius®**, sistemi integrati e automatizzati per l'estrazione, la Real-Time PCR e l'interpretazione dei risultati, a partire da campioni di sangue intero raccolto in EDTA, liquido amniotico e liquido cefalorachidiano.

Il prodotto è destinato all'uso come ausilio nella diagnosi dell'infezione da *Toxoplasma gondii* in pazienti con sospetta infezione da *Toxoplasma gondii*.

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 per la rilevazione del DNA di *Toxoplasma gondii* isolato da campioni e amplificato utilizzando il reagente **TOXO Q-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 **TOXOPLASMA g. ELITe MGB Kit**, fornisce il reagente **TOXO Q-PCR Mix** una miscela ottimizzata e stabilizzata di oligonucleotidi e reagenti per PCR che contiene i primers e le sonde specifici per:

- la regione RE del *Toxoplasma gondii*, rilevato nel canale **TOXO**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher®, e marcata con il fluoroforo FAM
- la sequenza artificiale **IC2** del Controllo Interno esogeno, rilevata nel canale **IC**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher, e marcata con il fluoroforo AquaPhluor® 525 (AP525).

La **TOXO Q PCR Mix** contiene inoltre il buffer, il cloruro di magnesio, i nucleotidi trifosfati, l'enzima Uracil-N-glicosidasi (UNG) per l'inattivazione delle contaminazioni da prodotto di amplificazione, e la DNA polimerasi ad attivazione termica (hot start).

Il prodotto **TOXOPLASMA g. ELITeMGB Kit** consente di effettuare **96 test** in associazione con **ELITE InGenius** e **ELITE BeGenius** (24 test per ciascuna provetta), utilizzando 20 µL per reazione.

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

4 MATERIALI INCLUSI NEL PRODOTTO

Table 1

Componente	Descrizione	Quantità	Classificazione dei rischi
TOXO Q PCR Mix cod. RTST01PLD	Miscela di reagenti per la Real-Time PCR in provetta con Tappo trasparente	4 X 540 µL	-

5 MATERIALI RICHIESTI MA NON INCLUSI NEL PRODOTTO

- Cappa a flusso laminare.
- Guanti senza polvere monouso in nitrile o materiale analogo.
- Agitatore Vortex.
- Centrifuga da banco (~5,000 giri/minuto).
- Microcentrifuga da banco (~13,000 giri/minuto).
- Micropipette e puntali sterili con filtro per aerosol o a spostamento positivo (0,5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Provette sterili da 2,0 mL con tappo a vite (Sarstedt cod. 72.694.005).
- Acqua per biologia molecolare.

6 ALTRI PRODOTTI RICHIESTI

I reagenti per l'estrazione del DNA dai campioni da analizzare, il controllo interno di estrazione e di inibizione, i controlli positivo e negativo di amplificazione, i DNA standard a quantità nota 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.

Table 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) TOXO ELITe_PC , Assay Protocol (Protocollo di saggio) con i parametri per l'analisi del Controllo Positivo TOXO ELITe_NC , Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Controllo Negativo TOXO ELITe_WB_200_100 , Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di sangue intero TOXO ELITe_AF_200_100 , Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di liquido amniotico TOXO ELITe_CSF_200_100 Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di liquido cefalorachidiano	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. CTCRCPE) TOXOPLASMA g. - ELITe Positive Control (EG SpA, cod. CTRT01PLD).
ELITe BeGenius (EG SpA cod. INT040) ELITe BeGenius Software versione 2.2.1. (o successiva) TOXO ELITe_Be_PC , Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Controllo Positivo TOXO ELITe_Be_NC , Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Controllo Negativo TOXO ELITe_Be_WB_200_100 , Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di sangue intero TOXO ELITe_Be_AF_200_100 , Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di liquido amniotico TOXO ELITe_Be_CSF_200_100 Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di liquido cefalorachidiano	

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 / scongelamento	Stabilità On board (ELITe InGenius ed ELITe BeGenius)
TOXO Q-PCR Mix	-20 °C o inferiore (protetta dalla luce)	entro un mese	fino a cinque	fino a cinque sessioni indipendenti* da tre ore ciascuna oppure fino a 7 ore consecutive (2 sessioni di lavoro da 3 ore 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
Sangue intero	raccolto in EDTA	≤ 24 ore	≤ 72 ore	≤ 1 mese	≤ 1 mese
Liquido amniotico	raccolto senza conservanti	≤ 2 ore	≤ 4 ore	≤ 1 mese	≤ 1 mese
Liquido cefalorachidiano	raccolto senza conservanti	≤ 2 ore	≤ 4 ore	≤ 1 mese	≤ 1 mese

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 TOXOPLASMA g ELITe MGB Kit

Campione	Strumento	Nome Assay Protocol	Report	Caratteristiche
Sangue intero (WB)	ELITe InGenius	TOXO ELITe_WB_200_100	Positivo / Negativo	Volume estrazione in ingresso: 200 µL Volume eluizione: 100 µL Controllo Interno: 10 µL
	ELITe BeGenius	TOXO ELITe_Be_WB_200_100	Positivo / Negativo	Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1 Volume PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 10 µL
Liquido amniotico (AF)	ELITe InGenius	TOXO ELITe_AF_200_100	Positivo / Negativo	Volume estrazione in ingresso: 200 µL Volume eluizione: 100 µL Controllo Interno: 10 µL
	ELITe BeGenius	TOXO ELITe_Be_AF_200_100	Positivo / Negativo	Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1 Volume PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 10 µL
Liquido cefalorachidiano (CSF)	ELITe InGenius	TOXO ELITe_CSF_200_100	Positivo / Negativo	Volume estrazione in ingresso: 200 µL Volume eluizione: 100 µL Controllo Interno: 10 µL
	ELITe BeGenius	TOXO ELITe_Be_CSF_200_100	Positivo / Negativo	Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1 Volume PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 10 µL

NOTA

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

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

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

NOTA

Il trasferimento con le pipette dei campioni nell' **Extraction Tube** o nella **provetta Sarstedt da 2 mL** potrebbe **generare contaminazione**. Utilizzare le pipette appropriate e seguire tutte le raccomandazioni riportate nella sezione 7 AVVERTENZE E PRECAUZIONI pagina 5.

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

I dati disponibili relativi all'inibizione indotta da farmaci e altre sostanze sono riportati nel paragrafo "Sostanze potenzialmente interferenti" al capitolo [11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI](#) pagina 18

8.2 Controlli di PCR

Prima di analizzare ogni campione, è obbligatorio generare e approvare i controlli di amplificazione per ogni lotto di reagente di amplificazione:

- come Controllo Positivo di PCR, utilizzare il prodotto **TOXOPLASMA g. RE - ELITe Positive Control** (non fornito in questo kit), in associazione con gli Assay Protocols **TOXO ELITe_PC** o **TOXO ELITe_Be_PC**.
- come Controllo Negativo di PCR, utilizzare acqua per biologia molecolare (non fornita in questo kit) in associazione con gli Assay Protocols **TOXO ELITe_NC** o **TOXO 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,
- 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 **TOXOPLASMA g. 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 **TOXOPLASMA g. 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 **24 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. Quando richiesto, 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	Scongelare 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.
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

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)
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	Selezionare "Primary tube" o "Extraction tube" nella colonna "Sample Position".	Nella colonna "Sample Position" selezionare "Elution Tube" come posizione in cui caricare il campione.	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 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 **Positive Control** può essere utilizzato per 4 sessioni di lavoro indipendenti da 3 ore ciascuna.

NOTA

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

9.3 FASE 3 - Esame ed approvazione dei risultati

ELITE InGenius monitora i segnali di fluorescenza del target e del controllo interno per ciascuna reazione e applica automaticamente i parametri dell'Assay Protocol per generare curve di PCR 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 **TOXOPLASMA g. 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.

9.3.1 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 **TOXO ELITE_PC** e **TOXO ELITE_NC**. I valori di Ct e Tm 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, anche l'amplificazione di tutti i campioni deve essere ripetuta.

9.3.2 Validazione dei risultati dei campioni

Il software **ELITe InGenius** interpreta i risultati di amplificazione dei target (canale **TOXO**) e del controllo Interno (canale **IC**) con i parametri inclusi negli Assay Protocol **TOXO ELITe_WB_200_100**, **TOXO ELITe_AF_200_100**, **TOXO ELITe_CSF_200_100**. I valori dei Ct ottenuti sono convertiti in valori di concentrazione.

I risultati vengono mostrati nella schermata "Results Display".

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

Tabella 8

1) Controllo Positivo	Stato
TOXO RE - Positive Control	APPROVATO
2) Controllo Negativo	Stato
TOXO RE - 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 i DNA dei patogeni è stato rilevati o non rilevato.

Tabella 9

Risultato di una sessione sul campione	Interpretazione
TOXO:DNA Rilevato	Il DNA di <i>Toxoplasma gondii</i> è stato rilevato nel campione.
TOXO:DNA Non rilevato o inferiore a LoD	Il DNA di <i>Toxoplasma gondii</i> non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per il DNA di <i>Toxoplasma gondii</i> oppure la sua concentrazione è inferiore al limite di rilevazione (LoD) del saggio.
Invalido-Ripetere il 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-Ripetere il 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 (e.g. errato campionamento, degradazione o perdita di DNA durante l'estrazione o presenza di inibitori nell'eluato), che possono generare risultati errati.

Quando il volume è sufficiente, il campione estratto può essere ritestato, tal quale oppure diluito, mediante una sessione di amplificazione in modalità "PCR Only".

In caso di un secondo risultato non valido, il campione deve essere ritestato a partire dall'estrazione di una nuova aliquota in modalità "Extract + PCR" (vedi [14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI pagina 25](#)).

I campioni segnalati come "TOXO:DNA non rilevato o inferiore a "LoD" sono idonei per l'analisi, ma non è stato possibile rilevare il DNA di TOXOPLASMA". In tal caso non si può escludere che il DNA di *Toxoplasma* sia presente ad una concentrazione inferiore al limite di rilevabilità del saggio (vedi [11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI pagina 18](#)).

NOTA

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

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

9.3.3 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 **TOXOPLASMA g. 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 **TOXOPLASMA g. 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 **24 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. Quando richiesto, 200 µL di campione devono essere trasferiti in un Tubo Sarstedt da 2 mL 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, conservare in ghiaccio o in blocco freddo.	Scongelare 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	Scongelare 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 eluazione).	Caricare le provette di Controllo Positivo e di Controllo Negativo nell' "Elution Rack" (Rack di eluazione).

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)
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 il " 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 il " 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.
	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 eluazione).	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 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.

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)
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

L' **UroGen Positive Control** può essere utilizzato per 4 sessioni di lavoro indipendenti da 3 ore ciascuna.

NOTA

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

10.3 FASE 3 - Esame ed approvazione dei risultati

ELITe BeGenius monitora i segnali di fluorescenza del target e del controllo interno per ciascuna reazione e applica automaticamente i parametri dell'Assay Protocol per generare curve di PCR 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 **TOXOPLASMA g. 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 (LoD)**

Il limite di rilevazione (LoD) del saggio è stato definito con gli strumenti ELITE BeGenius e ELITE InGenius testando campioni di sangue intero positivizzati con materiale di riferimento di *Toxoplasma gondii* (1st WHO International Standard for *Toxoplasma gondii* DNA, NIBSC, UK, ref: 10/242).

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 tabella seguente.

Tabella 12 Limite di rilevazione su campioni di sangue intero ed ELITE InGenius

Patogeno	LoD	Intervallo di confidenza 95%	
		Limite inferiore	Limite superiore
<i>Toxoplasma gondii</i>	2,26 IU / mL	1,74 IU / mL	3,72 IU / mL

Il valore di LoD calcolato è stato verificato testando con ELITE BeGenius e ELITE InGenius campioni di sangue intero, liquido amniotico e liquido cerebrospinale positivizzati con materiale di riferimento di *Toxoplasma gondii* (WHO).

I risultati ottenuti hanno confermato i valori di LoD dichiarati per *Toxoplasma gondii* nelle tre matrici, sia su ELITE BeGenius che su ELITE InGenius.

11.2 Inclusività: Efficienza di rilevazione su differenti ceppi e isolati

L'inclusività del saggio, come efficienza di rilevazione su diversi ceppi o isolati di *Toxoplasma gondii*, è stata valutata mediante analisi *in silico*. L'analisi ha mostrato una conservazione di sequenza e l'assenza di mutazioni significative. Quindi si prevede un'efficiente rilevazione della maggior parte dei diversi ceppi o isolati.

11.3 Organismi potenzialmente interferenti: Cross-reattività

La potenziale cross-reattività con organismi diversi che possono essere trovati in campioni clinici di sangue intero, liquido amniotico e liquido cerebrospinale è stata valutata per il saggio mediante analisi *in silico*. L'analisi non ha mostrato alcuna omologia significativa con altri organismi (virus, batteri, protozoi e funghi) e pertanto non sono attese cross-reattività.

L'assenza di cross-reattività con potenziali organismi interferenti è stata verificata anche attraverso l'analisi di un pannello di materiali di riferimento (ATCC e ZeptoMetrix).

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

Tabella 13

Organismi	Positivi / Replicati TOXO	Esito
L. donovani	0 / 5	Nessuna interferenza
Citomegalovirus	0 / 5	Nessuna interferenza
V. zoster	0 / 5	Nessuna interferenza
Adenovirus2	0 / 5	Nessuna interferenza
Parvovirus B19	0 / 5	Nessuna interferenza
P. falciparum	0 / 5	Nessuna interferenza

Tutti gli organismi potenzialmente interferenti testati, non hanno evidenziato cross-reattività con il target TOXO, utilizzando il prodotto TOXOPLASMA g.ELITe MGB Kit.

11.4 Organismi potenzialmente interferenti: inibizione

La potenziale inibizione con organismi diversi che possono essere trovati in campioni clinici di sangue intero, liquido amniotico e liquido cerebrospinale è stata valutata per il saggio mediante analisi *in silico*. L'analisi non ha mostrato alcuna omologia significativa con altri organismi (virus, batteri, protozoi e funghi) e pertanto non sono attese inibizioni.

L'assenza di inibizione con potenziali organismi interferenti è stata verificata anche attraverso l'analisi di un pannello di materiali di riferimento (ATCC e ZeptoMetrix).

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

Tabella 14

Organismi	Positivi / Replicati TOXO	Esito
L. donovani	5 / 5	Nessuna inibizione
Citomegalovirus	5 / 5	Nessuna inibizione
V. zoster	5 / 5	Nessuna inibizione
Adenovirus2	5 / 5	Nessuna inibizione
Parvovirus B19	5 / 5	Nessuna inibizione
P. falciparum	5 / 5	Nessuna inibizione

Tutti gli organismi potenzialmente interferenti testati, non hanno evidenziato inibizione nell'amplificazione del target TOXO, utilizzando il prodotto TOXOPLASMA g.ELITe MGB Kit.

11.5 Sostanze potenzialmente interferenti: Inibizione

La potenziale inibizione di sostanze interferenti (endogene ed esogene) che potrebbero trovarsi nei campioni clinici di sangue intero, liquido amniotico e liquido cerebrospinale è stata valutata per il saggio mediante analisi di un pannello di sostanze a concentrazione rilevante in campioni positivizzati con materiale di riferimento di *Toxoplasma gondii* (WHO).

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

Tabella 15

Sostanza	Positivi / Replicati TOXO	Esito
Azitromicina	5 / 5	Nessuna inibizione
Vancomicina	5 / 5	Nessuna inibizione
Metronidazolo	5 / 5	Nessuna inibizione
Ampicillina	5 / 5	Nessuna inibizione
Cefpodoxima	5 / 5	Nessuna inibizione
Ciprofloxacina	5 / 5	Nessuna inibizione
Aciclovir	5 / 5	Nessuna inibizione
Ganciclovir	5 / 5	Nessuna inibizione
Eparina	5 / 5	Nessuna inibizione
EDTA	5 / 5	Nessuna inibizione
Ciclosporina A	5 / 5	Nessuna inibizione
Pirimetamina	5 / 5	Nessuna inibizione
Sulfadiazina	5 / 5	Nessuna inibizione
Acido folico	5 / 5	Nessuna inibizione
Sangue intero	5 / 5	Nessuna inibizione

11.6 Ripetibilità

La ripetibilità del saggio è stata valutata su ELITe BeGenius ed ELITe InGenius mediante l'analisi di un pannello di campioni di sangue intero positivizzato con materiale di riferimento di *Toxoplasma gondii* (1st WHO International Standard for Toxoplasma gondii DNA (NIBSC, UK, ref: 10/242).

Un esempio dei risultati di ripetibilità Intra-Sessione (su un giorno) su ELITe BeGenius è riportato nella tabella seguente.

Tabella 16 ripetibilità Intra-Sessione su ELITe BeGenius

Campione	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Negativo	8	-	-	-	100%
3X LOD	8	38,04	1,01	2,66	100%
10X LOD	8	34,90	0,66	1,90	100%

Un esempio dei risultati di ripetibilità Intra-Sessione (su un giorno) con ELITe InGenius è riportato nella tabella seguente.

Tabella 17 ripetibilità Intra-Sessione su ELITe InGenius

Campione	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Negativo	8	-	-	-	100%
3X LOD	8	35,50	0,63	1,76	100%
10X LOD	8	34,33	0,81	2,35	100%

Un esempio dei risultati di ripetibilità Inter-Sessione (su due giorni) con ELITE BeGenius è riportato nella tabella seguente.

Tabella 18 ripetibilità Inter-Sessione su ELITE BeGenius

Campione	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Negativo	16	-	-	-	100%
3X LOD	16	37,46	0,96	2,57	100%
10X LOD	16	34,92	0,57	1,64	100%

Un esempio dei risultati di ripetibilità Inter-Sessione (su due giorni) con ELITE InGenius è riportato nella tabella seguente.

Tabella 19 ripetibilità Inter-Sessione su ELITE InGenius

Campione	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Negativo	16	-	-	-	100%
3X LOD	15	35,76	0,58	1,61	100%
10X LOD	16	34,28	0,59	1,71	100%

Nel test di ripetibilità, TOXOPLASMA g. ELITE MGB Kit ha rilevato tutti i campioni come previsto e ha mostrato una variabilità massima di valori di Ct come %CV uguale a 2.66 %.

11.7 Riproducibilità

La riproducibilità del saggio è stata valutata su ELITE BeGenius e ELITE InGenius mediante l'analisi di un pannello di campioni di sangue intero positivizzato con materiale di riferimento di *Toxoplasma gondii* (1st WHO International Standard for *Toxoplasma gondii* DNA (NIBSC, UK, ref: 10/242).

I risultati di Riproducibilità Inter-Lotto (su due giorni e due lotti) con ELITE BeGenius sono riportati nella tabella seguente.

Tabella 20 riproducibilità inter-lotto con ELITE BeGenius

Campione	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Negativo	8	-	-	-	100%
3X LOD	8	37,15	0,71	1,92	100%
10X LOD	8	35,11	0,31	0,89	100%

I risultati di Riproducibilità Inter-Lotto (su due giorni e due lotti) con ELITE InGenius sono riportati nella tabella seguente.

Tabella 21 riproducibilità inter-lotto con ELITE InGenius

Campione	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Negativo	8	-	-	-	100%
3X LOD	8	36.08	1.11	3.08	100%
10X LOD	8	33.83	0.63	1.85	100%

I risultati di Riproducibilità Inter—Strumento (su due giorni, due lotti, e due strumenti) con ELITE BeGenius sono riportati nella tabella seguente.

Tabella 22 riproducibilità inter-strumento con ELITE BeGenius

Campione	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Negativo	8	-	-	-	100%
3xLoD	8	36.42	0.46	1.25	100%
10xLoD	8	34.86	0.49	1.41	100%

I risultati di Riproducibilità Inter—Strumento (su due giorni, due lotti, e due strumenti) su ELITE InGenius sono riportati nella tabella seguente.

Tabella 23 riproducibilità inter-strumento con ELITE InGenius

Campione	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Negativo	8	-	-	-	100%
3xLoD	8	36.08	1.11	3.08	100%
10xLoD	8	33.62	0.47	1.40	100%

Nel test di riproducibilità, TOXOPLASMA g. ELITE MGB Kit ha rilevato tutti i campioni come previsto e ha mostrato una variabilità massima dei valori di Ct come CV% uguale a 3.74%.

11.8 Specificità diagnostica: conferma di campioni negativi

La specificità diagnostica del saggio, come conferma di campioni negativi, è stata valutata in associazione con **ELITE InGenius** analizzando campioni clinici di sangue intero raccolto in EDTA, liquido amniotico e CSF, certificato negativo o presumibilmente negativo per il target. Poiché **ELITE BeGenius** possiede performance analitiche equivalenti ad **ELITE InGenius**, 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 24 Specificità Diagnostica

Campioni di sangue intero raccolto in EDTA	N	Positivo	Negativo	% Specificità Diagnostica
Negativo per <i>Toxoplasma gondii</i>	58	1	57	98.3%
Campioni di liquido Amniotico	N	Positivo	Negativo	% Specificità Diagnostica
Negativo per <i>Toxoplasma gondii</i>	66	0	66	100%
Campioni di CSF	N	Positivo	Negativo	% Specificità Diagnostica
Negativo per <i>Toxoplasma gondii</i>	47	0	47	100%
Presumibilmente negativo per <i>Toxoplasma gondii</i>	27	0	27	
Totale	74	0	74	

Un (1) campione di sangue intero raccolto in EDTA è risultato discrepante positivo.

Il valore di Ct cut-off del controllo interno è impostato a 36 per le matrici sangue intero EDTA e Liquido Amniotico quando testate con ELITe InGenius e ELITe BeGenius.

Il valore di Ct cut-off del controllo interno è impostato a 35 per la matrice CSF quando testata con ELITe InGenius e ELITe BeGenius

11.9 Sensibilità diagnostica: conferma di campioni positivi

La Sensibilità Diagnostica del saggio, come conferma dei campioni positivi, è stata valutata in associazione ad ELITe InGenius testando campioni clinici di Sangue intero EDTA, Liquido Amniotico e CSF, certificati positivi o positivizzati con materiali di riferimento.

Poiché ELITe BeGenius possiede performance analitiche equivalenti a ELITe InGenius, 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 25 Sensibilità diagnostica

Campioni di sangue intero raccolto in EDTA	N	Positivo	Negativo	% Sensibilità Diagnostica
Positivo per <i>Toxoplasma gondii</i>	16	16	0	100%
Positivizzato per <i>Toxoplasma gondii</i>	35	35	0	
Totale	51	51	0	
Campioni di Liquido Amniotico	N	Positivo	Negativo	% Sensibilità Diagnostica
Positivo per <i>Toxoplasma gondii</i>	51	50	1	98%
Campioni di CSF	N	Positivo	Negativo	% Sensibilità Diagnostica
Positivo per <i>Toxoplasma gondii</i>	8	8	0	100%
Positivizzato per <i>Toxoplasma gondii</i>	48	48	0	
Totale	56	56	0	

Un (1) campione di liquido amniotico è risultato discrepante negativo. Il campione aveva un titolo molto basso, tale da generare risultati negativi o positivi in maniera casuale.

NOTA

I dati e i risultati completi delle prove eseguite per la valutazione delle caratteristiche delle prestazioni del prodotto con le matrici e gli strumenti sono registrati nella sezione 7 del Fascicolo Tecnico di Prodotto "TOXOPLASMA g. ELITe MGB® Kit", FTP RTST01PLD.

12 BIBLIOGRAFIA

S. Cassaing et al. (2006) J. Clin. Microbiol 44: 720 - 724.

F. Robert-Gangneux and M. L.Dardé (2012) Clin. Microbiol. Rev. 25: 264 - 296

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

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

13 LIMITI DELLA PROCEDURA

Utilizzare questo prodotto soltanto con i seguenti campioni clinici: sangue intero raccolto in EDTA, liquido amniotico, liquido cefalorachidiano.

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

Non utilizzare con questo prodotto DNA estratto contaminato da emoglobina, etanolo o 2-propanolo: queste sostanze inibiscono la reazione di amplificazione degli acidi nucleici e possono causare risultati non validi.

Non utilizzare con questo prodotto DNA estratto contenente elevate quantità di DNA genomico umano che possono inibire la reazione di amplificazione degli acidi nucleici.

Non sono disponibili dati riguardanti le prestazioni del prodotto con DNA estratto dai seguenti campioni clinici: umor vitreo

Non sono disponibili dati riguardo eventuali fenomeni di inibizione da parte di farmaci antivirali, antibiotici, chemioterapici, o immunosoppressori.

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

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

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

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

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

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

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

Un risultato negativo ottenuto con questo prodotto indica che il DNA target non è stato rilevato nel DNA estratto dal campione ma non si può escludere che il DNA target abbia un titolo più basso del limite di rilevabilità del prodotto (si veda [11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI pagina 18](#)); in questo caso il risultato potrebbe essere un falso negativo.

Talvolta, i risultati ottenuti con questo prodotto possono non essere validi per via di un difetto del controllo interno. In questo caso il campione dovrà essere analizzato di nuovo, a cominciare dall'estrazione, con conseguente possibile ritardo nel conseguimento dei risultati finali. Possibili polimorfismi, inserzioni o delezioni nella regione del DNA target coperta dai primer e dalle sonde del prodotto potrebbero compromettere la rilevazione e la quantificazione del DNA target.

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

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

14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI

Tabella 26

Reazione del Controllo Positivo 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 5 sessioni indipendenti (3 ore ciascuna nel blocco refrigerato dell'area reagenti o nell'unità refrigerata). Non utilizzare la PCR Mix per più di tre sessioni consecutive (7 ore nel blocco refrigerato dell'area reagenti o nell'unità refrigerata). Non lasciare la PCR Mix a temperatura ambiente per più di 30 minuti. Utilizzare una nuova aliquota della PCR Mix.
Degradazione del Controllo Positivo.	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 27

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 28

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

Tabella 29

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

Tabella 30

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

Tabella 31

Alto tasso anormale di risultati positivi nella stessa sessione (reazioni con valori Ct tardivi simili)	
Possibili cause	Soluzioni
Contaminazione da campione a campione durante le fasi 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 e / o CTR CPE

15 LEGENDA DEI SIMBOLI



Numero di catalogo



Limite superiore di temperatura



Codice del lotto.



Da utilizzare prima del (ultimo giorno del mese).



Dispositivo medico diagnostico *in vitro*.



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



Numero Unico Identificativo del dispositivo



Contenuto sufficiente per "N" test.



Consultare le istruzioni per l'uso



Contenuto.



Tenere lontano dalla luce solare.



Fabbricante.

16 AVVISO PER L'UTILIZZATORE

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

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

Una "Sintesi della Sicurezza e delle Prestazioni" (Summary of Safety and Performance) sarà resa disponibile al pubblico attraverso la Banca Dati Europea sui Dispositivi Medici (Eudamed) quando questo sistema informatico sarà operativo. Prima della pubblicazione dell'avviso di piena funzionalità di Eudamed, il "Summary of Safety and Performance" sarà 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, 7718374, 7723038, 7759126, 7767834, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529, e brevetti EP numero 1687609, 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 TOXOPLASMA g. ELITe MGB Kit used in association with Genius series® platforms



CAUTION

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

Intended use

The product **TOXOPLASMA g. ELITe MGB®** is an in vitro diagnostic medical device intended to be used by healthcare professionals as qualitative nucleic acids Real-Time PCR assay for the detection of the DNA of *Toxoplasma gondii* 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 whole blood collected in EDTA, amniotic fluid and cerebrospinal fluid.

The product is intended for use as an aid in the diagnosis of *Toxoplasma gondii* infections in patients suspected of having *Toxoplasma gondii* infection.

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

Amplified sequence

Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
Target	RE region	FAM	TOXO
Internal Control	IC2	AP525	IC

Validated matrix

- Whole blood EDTA
- Amniotic fluid
- CSF

Kit content and related products

TOXOPLASMA g. ELITe MGB Kit (RTST01PLD)		TOXOPLASMA g - ELITe Positive Control (CTR01PLD)	
 X 4		 X 1	
Ready-to-use PCR Mix 4 tubes of 540 µL 96 reactions per kit 5 freeze-thaw cycles per tube		Ready-to-use PC 1 tube of 160 µL 4 reactions per kit 4 freeze-thaw cycles (4 separate sessions on board)	
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

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

ELITe InGenius and ELITe BeGenius Protocol

<ul style="list-style-type: none"> • Sample volume • CPE Internal Control volume • Total eluate volume 	200 µL 10 µL 100 µL	<ul style="list-style-type: none"> • PCR eluate input volume • TOXO Q-PCR Mix volume • Frequency of controls • Unit of quantitative result 	10 µL 20 µL 15 days IU/mL
---	---------------------------	--	------------------------------------

ELITe InGenius and ELITe BeGenius Performances

Matrix	Limit of Detection	Diagnostic Sensitivity	Diagnostic Specificity
Whole blood	2.26 IU / mL	100%	98.3%
Amniotic fluid	2.26 IU / mL	98%	100%
Cerebrospinal fluid	2.26 IU / mL	100%	100%

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	Transport/Storage conditions			
	+16 / +26 °C (room temperature)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Whole blood EDTA	≤ 24 hours	≤ 72 hours	≤ 1 month	≤ 1 month
Amniotic fluid	≤ 2 hours	≤ 4 hours	≤ 1 month	≤ 1 month
Cerebrospinal fluid	≤ 2 hours	≤ 4 hours	≤ 1 month	≤ 1 month

ELITe InGenius Procedures

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

Before analysis

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

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", elution: "100 µL"	3. Scan the sample barcodes with hand-barcode reader or type the sample ID
4. Select the "Assay Protocol" of interest: TOXO ELITe_WB_200_100 or TOXO ELITe_AF_200_100 or TOXO ELITe_CSF_200_100	5. Select the method "Extract + PCR" and the sample position: Primary tube or Extraction Tube	6. Load the PCR Mix and the Internal Control in the Inventory Block
7. Load: PCR Cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip Cassette, Extraction Tube racks and primary sample racks	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results

NOTE

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

Procedure 2: PCR Only (e.g., eluates, 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: TOXO ELITe_PC and TOXO ELITe_NC)	5. Select the method "PCR Only" and the sample position "Elution Tube"	6. Load the PCR Mix in the Inventory Block
7. Load: PCR Cassette rack and the Elution tube rack with the extracted nucleic acid	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results

ELITe BeGenius Procedures

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

Before analysis

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

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «Extract + PCR»	2. Insert the Sample Rack with the barcoded samples in the Cooler Unit. The barcode scan is already active	3. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "100 µL"
4. Select the "Assay protocol" of interest (TOXO ELITe_Be_WB_200_100 or TOXO ELITe_Be_AF_200_100 or TOXO ELITe_Be_CSF_200_100) Note: If a second extraction is performed repeat steps from 2 to 4	5. Print the labels to barcode the empty elution tubes. Load the tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit	6. Load the PCR Mix and the Internal Control in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit
7. Load "PCR Rack" with "PCR Cassette" and the "Extraction Basket" 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 (TOXO ELITe_Be_PC and TOXO or ELITe_Be_NC)	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

