

Istruzioni per l'uso

GI Bacterial PLUS ELITe MGB® Kit

reagenti per la Real-Time PCR del DNA



REF RTS502ING

UDI 08033891487447

CE
0123

IVD

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Rev.	Notifiche dei cambiamenti	Data (dd/mm/yy)
01	Aggiornamento del paragrafo "Legenda dei Simboli" con il simbolo "Consultare le istruzioni per l'uso" Aggiornamento del codice del Minitip Flocked Swab Aggiornamento dei paragrafi 11.5 e 11.7: inibizione Nuovo formato grafico e nuova impostazione dei contenuti dell'IFU	29/11/24
00	Nuovo sviluppo di prodotto	13/05/24

NOTA

La revisione di questa IFU è compatibile anche con la versione precedente del kit

INDICE

1 USO PREVISTO	4
2 PRINCIPIO DEL SAGGIO.....	4
3 DESCRIZIONE DEL PRODOTTO	4
4 MATERIALI INCLUSI NEL PRODOTTO	5
5 MATERIALI RICHIESTI MA NON INCLUSI NEL PRODOTTO	5
6 ALTRI PRODOTTI RICHIESTI	5
7 AVVERTENZE E PRECAUZIONI	6
8 CAMPIONI E CONTROLLI	7
9 PROCEDURA ELITE InGenius.....	9
10 PROCEDURA ELITE BeGenius	15
11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI	19
12 BIBLIOGRAFIA	35
13 LIMITI DELLA PROCEDURA	35
14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI	36
15 LEGENDA DEI SIMBOLI	39
16 AVVISO PER L'UTILIZZATORE	39
17 AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA.....	39
Appendix A QUICK START GUIDE.....	41

1 USO PREVISTO

Il prodotto **GI Bacterial PLUS ELITE MGB® Kit** è un dispositivo medico diagnostico in vitro destinato all'uso da parte degli operatori sanitari come test di real-time PCR qualitativa multiplex degli acidi nucleici per la rilevazione e l'identificazione del DNA genomico di *Campylobacter spp.* (Cam), *Clostridium difficile* (anche detto *Clostridioides difficile*, Cdif), inclusa la discriminazione del ribotipo 027, *Salmonella spp.* (Sal), *Shigella spp.* (Shi), *Yersinia enterocolitica* (Yen), 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 feci umane.

Il prodotto è destinato all'uso come ausilio nella diagnosi di infezioni gastrointestinali batteriche, in pazienti con sospetta infezione da *Campylobacter spp.*, *Clostridium difficile*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* e *Yersinia enterocolitica*.

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

Il prodotto non è destinato all'uso come ausilio nella diagnosi di febbre enterica, e non è destinato all'uso come ausilio nella identificazione di *Salmonella enterica* serovar Typhi (anche nota come *Salmonella typhi*) per la valutazione dello stato di portatore dei pazienti.

2 PRINCIPIO DEL SAGGIO

Il saggio è una Real-Time PCR qualitativa multiplex per la rilevazione del DNA di *Campylobacter spp.*, *Clostridioides difficile*, inclusa la discriminazione del ribotipo 027, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Yersinia enterocolitica*, isolato dai campioni e amplificato utilizzando il reagente **GI-B PCR Mix** che contiene primers e sonde con tecnologia ELITE MGB.

Le sonde ELITE MGB sono attivate quando ibridano con i prodotti specifici della PCR. **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 essere utilizzata per l'analisi di dissociazione e il calcolo della temperatura di melting.

3 DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

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

- il gene 16s rRNA di *Campylobacter spp.* rilevato nel canale **Cam**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher®, e marcata con il fluoroforo AquaPhluor® 639 (AP639),
- il gene tcdB di *Clostridioides difficile* rilevato nel canale **Cdif**; le sonde sono stabilizzate dal gruppo MGB, inattivate dall'Eclipse Dark Quencher, e marcate con il fluoroforo FAM,
- il gene invA di *Salmonella spp.* rilevato nel canale **Sal**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher, e marcata con il fluoroforo AquaPhluor 690 (AP690),
- il gene cipaH di *Shigella spp.*, rilevato nel canale **Shi**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher, e marcata con il fluoroforo AquaPhluor 593 (AP593),
- il gene foxA di *Yersinia enterocolitica*, rilevato nel canale **Yen**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher, e marcate con il fluoroforo AquaPhluor 559 (AP559),
- la sequenza artificiale IC2 del Controllo Interno (**IC**), rilevato nel canale **IC**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher, e marcata con il fluoroforo AquaPhluor 525 (AP525).

La **GI-B PCR Mix** contiene inoltre il buffer, il cloruro di magnesio, i nucleotidi trifosfato e la DNA polimerasi ad attivazione termica (hot start).

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

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

4 MATERIALI INCLUSI NEL PRODOTTO

Tabella 1

Componente	Descrizione	Quantità	Classificazione dei rischi
GI-B PCR Mix cod. RTS502ING	Miscela di reagenti per la Real-Time PCR, in provetta con tappo BIANCO	8 x 280 µL	-

5 MATERIALI RICHIESTI MA NON INCLUSI NEL PRODOTTO

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

6 ALTRI PRODOTTI RICHIESTI

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

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

Tabella 2

Strumenti e Software	Prodotti e Reagenti
ELiTe InGenius (ELiTechGroup S.p.A., EG SpA cod. INT030) ELiTe InGenius Software versione 1.3.0.19 (o successiva) GI Bacterial PLUS ELiTe_PC , Assay Protocol (Protocollo di Saggio) con i parametri per l'analisi del Controllo Positivo GI Bacterial PLUS ELiTe_NC , Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Controllo Negativo GI Bacterial PLUS ELiTe_ST_200_100 , Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di feci	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. CTRCPE) GI Bacterial PLUS - ELiTe Positive Control (EG SpA, cod. CTR502ING) InhibitEX Buffer (QIAGEN GmbH, Germany, cod. 19593) o dispositivo equivalente Minitip Flocked Swab® (COPAN Italia S.p.A., Italy, cod. 501CS01) o dispositivo equivalente FecalSwab™ (COPAN Italia S.p.A., Italy, cod. 470CE,) o dispositivo equivalente con Cary Blair medium.
ELiTe BeGenius (EG SpA, cod. INT040) ELiTe BeGenius Software versione 2.2.1 (o successiva) GI Bacterial PLUS ELiTe_Be_PC , Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Controllo Positivo GI Bacterial PLUS ELiTe_Be_NC , Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Controllo Negativo GI Bacterial PLUS ELiTe_Be_ST_200_100 , Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di feci	

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 PCR 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)
GI-B PCR Mix	-20 °C o inferiore (protetta dalla luce)	entro un mese	fino a sette	fino a sette sessioni di lavoro indipendenti* da tre ore 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
Feci	Raccolte senza conservanti	≤ 24 ore	≤ 48 ore	≤ 1 mese	≤ 2 mesi
	Raccolte in FecalSwab	≤ 48 ore	≤ 5 giorni	≤ 1 mese	≤ 2 mesi

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.

Seguire le istruzioni descritte qui di seguito per il pretrattamento dei campioni.

Procedura di pretrattamento per campioni di feci raccolte senza conservanti:

1. trasferire 1 mL di InhibitEX Buffer in una provetta Sarstedt da 2 mL,
2. raccogliere il campione fecale con il tampone Minitip Flocked Swab with 80mm Break (Copan), prelevare il campione da parti diverse e scartare l'eccesso appoggiandosi alla parete del contenitore,
3. immergere il tampone nella provetta Sarstedt da 2 mL contenente InhibitEX Buffer e ruotarlo almeno 10 volte, appoggiandolo alla parete,
4. gettare il tampone e chiudere il tappo della provetta,
5. miscelare con vortex per ~60 sec,
6. incubare in un termomixer a ~+80 °C e ~800 RPM per 10 min,
7. centrifugare a 10.000x RCF per 15 sec,
8. trasferire con cautela 200 µL del surnatante delle feci chiarificate in un Extraction tube (per lo strumento ELITE InGenius) o in una provetta Sarstedt da 2 mL (per lo strumento ELITE BeGenius) facendo attenzione a non prelevare il pellet di materiale fecale.

Procedura di pretrattamento per campioni di feci raccolte in FecalSwab:

1. trasferire 500 µL di InhibitEX Buffer in una provetta Sarstedt da 2 mL,
2. trasferire 500 µL di sospensione del campione dal FecalSwab nella provetta Sarstedt da 2 mL contenente InhibitEX Buffer,
3. tappare saldamente la provetta e mescolare con vortex per ~60 sec,
4. incubare in un termomixer a ~+80 °C e ~800 RPM per 10 min,
5. centrifugare a 10.000x RCF per 15 sec,
6. trasferire con cautela 200 µL del surnatante delle feci chiarificate in un Extraction tube (per lo strumento ELITE InGenius) o in una provetta Sarstedt da 2 mL (per lo strumento ELITE BeGenius) facendo attenzione a non prelevare il pellet di materiale fecale.

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 GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit

Campione	Strumento	Nome Assay Protocol	Report	Caratteristiche
Feci o Feci in FecalSwab	ELITE InGenius	GI Bacterial PLUS ELITE_ST_200_100	Positivo / Negativo	Volume estrazione in ingresso: 200 µL Volume eluizione: 100 µL Controllo Interno: 10 µL Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1 Volume PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 20 µL
	ELITE BeGenius	GI Bacterial PLUS ELITE_Be_ST_200_100		

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

NOTA

Il trasferimento con le pipette dei campioni nell' **Extraction Tube** o nella **provetta Sarstedt da 2 mL** potrebbe **generare contaminazione**. Utilizzare le pipette appropriate e seguire tutte le raccomandazioni riportate nella sezione 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 temperatura inferiore per periodi non più lunghi di un mese.

I dati relativi all'inibizione indotta da farmaci e altre sostanze sono riportati nel paragrafo [11.6 Sostanze potenzialmente interferenti: Cross reattività pagina 23](#)

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 **GI Bacterial PLUS - ELITE Positive Control** (non fornito in questo kit), in associazione con gli Assay Protocols **GI Bacterial PLUS ELITE_PC** o **GI Bacterial PLUS ELITE_Be_PC**.

come Controllo Negativo di PCR, utilizzare acqua per biologia molecolare (non fornita in questo kit) in associazione con gli Assay Protocols **GI Bacterial PLUS ELITE_NC** o **GI Bacterial PLUS ELITE_Be_NC**.

NOTA

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

Quando si utilizza un nuovo lotto di reagenti di PCR,

Quando i risultati delle analisi di controllo qualità (vedi paragrafo successivo) non rientrano nelle specifiche,

Quando **ELITE InGenius** o **ELITE BeGenius** deve essere sottoposto ad un intervento di manutenzione principale.

8.3 Controlli di qualità

Si consiglia la verifica programmata della procedura di estrazione e amplificazione. Si possono utilizzare campioni 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 **GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit** con **ELITE InGenius** si articola in tre fasi:

Tabella 6

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

9.1 FASE 1 - Verifica che il sistema sia pronto

Prima di iniziare la sessione:

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

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

9.2 FASE 2 - Impostazione della sessione

Il prodotto **GI Bacterial PLUS ELiTe MGB Kit** può essere utilizzato con **ELiTe InGenius** per eseguire:

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

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

NOTA

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

Prima di impostare una sessione:

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

NOTA

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

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

Tabella 7

	A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)	B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)	C. Corsa del Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR Only)
1	Identificare i campioni e, se necessario, scongelarli a temperatura ambiente. Pretrattare i campioni secondo la procedura descritta al paragrafo "Campioni e Controlli". Per l'analisi, 200 µL di campione pretrattato 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).

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)
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
6	Nella colonna “Assay” (Saggio) selezionare gli Assay Protocol da utilizzare (si veda paragrafo “Campioni e Controlli”).	Nella colonna “Assay” (Saggio) selezionare gli Assay Protocol da utilizzare (si veda paragrafo “Campioni e Controlli”).	Nella colonna “Assay” (Saggio) selezionare gli Assay Protocol da utilizzare (si veda paragrafo “Campioni e Controlli”) e digitare il numero di lotto e la data di scadenza del Positive Control e dell'acqua per biologia molecolare.
7	Verificare che nella colonna “Protocol” (Protocollo) il protocollo visualizzato sia: “Extract + PCR”.	Nella colonna “Protocol” (Protocollo) selezionare “PCR Only”.	Verificare che nella colonna “Protocol” (Protocollo) il protocollo visualizzato sia: “PCR Only”.
8	Nella colonna “Sample Position” (Posizione campione) selezionare “Extraction Tube” (Tubo di estrazione) come posizione in cui caricare il campione.	Verificare nella colonna “Sample Position” (Posizione campione) che la posizione sia “Elution Tube”.	Verificare nella colonna “Sample Position” (Posizione campione) che la posizione sia “Elution Tube”.
9	Fare clic su “Next” (Avanti) per proseguire.	Fare clic su “Next” (Avanti) per proseguire.	Fare clic su “Next” (Avanti) per proseguire.
10	Caricare il CPE 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 **GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit** attraverso la seguente procedura:

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

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 "**ELITE_PC**" e "**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, l'amplificazione dei Controlli non validi e di tutti i campioni deve essere ripetuta.

9.3.2 Validazione dei risultati dei campioni

Il **software ELiTe InGenius** interpreta i risultati di amplificazione del target (Canali **Cam**, **Cdif**, **Sal**, **Shi** e **Yen**) e del controllo Interno (Canale **IC**) con i parametri inclusi nell' Assay Protocol **GI Bacterial PLUS ELiTe_ST_200_100**.

I risultati vengono mostrati nella schermata "Results Display".

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

Tabella 8

1) Controllo Positivo	Status
GI-B Positive Control	APPROVATO
2) Controllo Negativo	Status
GI-B Negative Control	APPROVATO

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

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

Tabella 9

Risultato di una sessione sul campione	Interpretazione
Cam:DNA Rilevato	Il DNA di <i>Campylobacter</i> spp. è stato rilevato nel campione
Cdif:DNA Rilevato	Il DNA di <i>Clostridioides difficile</i> è stato rilevato nel campione
Cdif:DNA Rilevato Possibile ribotipo 027	Il DNA di <i>Clostridioides difficile</i> , possibile ribotipo 027, è stato rilevato nel campione
Sal:DNA Rilevato	Il DNA di <i>Salmonella</i> spp. è stato rilevato nel campione.
Shi:DNA Rilevato	Il DNA di <i>Shigella</i> spp. è stato rilevato nel campione.
Yen:DNA Rilevato	Il DNA di <i>Yersinia enterocolitica</i> è stato rilevato nel campione.
Cam:DNA Non rilevato o inferiore LoD	Il DNA di <i>Campylobacter</i> spp. non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per il DNA target oppure la sua concentrazione è inferiore al limite di rilevazione del saggio.

Tabella 9 (segue)

Risultato di una sessione sul campione	Interpretazione
Cdif:DNA Non rilevato o inferiore LoD	Il DNA di <i>Clostridioides difficile</i> non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per il DNA target oppure la sua concentrazione è inferiore al limite di rilevazione del saggio (LoD).
Sal:DNA Non rilevato o inferiore LoD	Il DNA di <i>Salmonella</i> spp. non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per il DNA target oppure la sua concentrazione è inferiore al limite di rilevazione (LoD) del saggio.
Shi:DNA Non rilevato o inferiore LoD	Il DNA di <i>Shigella</i> spp. non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per il DNA target oppure la sua concentrazione è inferiore al limite di rilevazione del saggio (LoD).
Yen:DNA Non rilevato o inferiore LoD	Il DNA di <i>Yersinia enterocolitica</i> non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per il DNA target oppure la sua concentrazione è inferiore al limite di rilevazione del saggio (LoD).
Non valido - Ripeti test su campione.	Risultato del saggio non valido per un errore del controllo interno (estrazione errata, presenza di un inibitore). Il test deve essere ripetuto.

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

Quando il volume è sufficiente, il campione estratto può essere ritestato tal quale oppure diluito mediante una sessione di amplificazione in modalità "PCR Only". In caso di un secondo risultato non valido, il campione deve essere ritestato a partire dall'estrazione di una nuova aliquota in modalità "Extract + PCR" (vedi [14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI pagina 36](#)).

I campioni segnalati come "XXX: DNA Non rilevato o inferiore LoD", sono idonei per l'analisi, ma non è stato possibile rilevare il DNA dei target. In tal caso non si può escludere che il DNA dei target di interesse sia presente ad una concentrazione inferiore al limite di rilevabilità del saggio (vedi [11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI pagina 19](#)).

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 **GI Bacterial PLUS ELiTe MGB Kit** con **ELiTe BeGenius** si articola in tre fasi:

Tabella 10

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

10.1 FASE 1 - Verifica che il sistema sia pronto

Prima di iniziare la sessione:

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

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

10.2 FASE 2 - Impostazione della sessione

Il prodotto **GI Bacterial PLUS ELiTe MGB Kit** può essere utilizzato con il sistema **ELiTe BeGenius** per eseguire:

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

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

NOTA

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

Prima di impostare una sessione:

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

NOTA

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

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

Tabella 11

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

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)
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.
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

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)
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 $-20 \pm 10^\circ\text{C}$ 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 **GI Bacterial PLUS ELiTe MGB Kit** attraverso la seguente procedura:

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

3. Refertazione dei risultati dei campioni.

NOTA

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

11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI**11.1 Limite di rilevazione (LoD)**

Il limite di rilevazione (LoD) del saggio è stato definito con gli strumenti ELite BeGenius e ELite InGenius testando campioni di feci positivizzate con materiali di riferimento di *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* e *Yersinia enterocolitica* (DSMZ and ZeptoMetrix).

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

Patogeno	LoD	Intervallo di confidenza 95%	
		Limite inferiore	Limite superiore
<i>Campylobacter jejuni</i>	72 CFU / mL	56 CFU / mL	115 CFU / mL
<i>Clostridioides difficile</i>	172 CFU / mL	129 CFU / mL	273 CFU / mL
<i>Salmonella enterica</i>	372 CFU / mL	268 CFU / mL	615 CFU / mL
<i>Shigella flexneri</i>	337 CFU / mL	239 CFU / mL	573 CFU / mL
<i>Yersinia enterocolitica</i>	363 CFU / mL	255 CFU / mL	637 CFU / mL

Il valore di LoD calcolato è stato verificato testando con ELite BeGenius e ELite InGenius campioni di feci e campioni di feci raccolte in FecalSwab positivizzati con materiale di riferimento di *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* and *Yersinia enterocolitica* alla concentrazione dichiarata.

I risultati ottenuti hanno confermato i valori di LoD dichiarati per tutti i target di GI Bacterial PLUS ELite MGB Kit nelle due 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 *Campylobacter spp.*, *Clostridium difficile*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* e *Yersinia enterocolitica* 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 dei diversi ceppi o isolati.

L'inclusività è stata verificata anche mediante l'analisi di 15 materiali di riferimento di colture batteriche da diversi fornitori (DSMZ and ZeptoMetrix). I risultati sono riportati nella tabella seguente.

Tabella 13

Campione	Positivi /Replicati	Esito
<i>Campylobacter jejuni</i>	6 / 6	Cam:DNA Rilevato
<i>Campylobacter coli</i>	6 / 6	Cam:DNA Rilevato
<i>Campylobacter lari</i>	6 / 6	Cam:DNA Rilevato
<i>C. difficile</i> 002	6 / 6	Cdif:DNA Rilevato

Tabella 13 (segue)

Campione	Positivi /Replicati	Esito
<i>C. difficile</i> 078	6 / 6	Cdif:DNA Rilevato
<i>C. difficile</i> 017	6 / 6	Cdif:DNA Rilevato
<i>C. difficile</i> 027-1	6 / 6	Cdif:DNA Rilevato Possibile Ribotipo 027
<i>C. difficile</i> 027-2	6 / 6	Cdif:DNA Rilevato Possibile Ribotipo 027
<i>Salmonella enterica</i>	6 / 6	Sal:DNA Rilevato
<i>Salmonella bongori</i>	6 / 6	Sal:DNA Rilevato
<i>Shigella flexneri</i>	6 / 6	Shi:DNA Rilevato
<i>Shigella boydii</i>	6 / 6	Shi:DNA Rilevato
<i>Shigella sonnei</i>	6 / 6	Shi:DNA Rilevato
<i>Yersinia enterocolitica</i> subsp. enterocolitica	6 / 6	Yen:DNA Rilevato
<i>Yersinia enterocolitica</i> subsp. palearctica	6 / 6	Yen:DNA Rilevato

Tutti i campioni sono stati rilevati correttamente con il prodotto **GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit**.

11.3 Interferenza fra target

La potenziale interferenza tra target del saggio è stata valutata mediante un test di co-amplificazione di *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* e *Yersinia enterocolitica* (DSMZ and ZeptoMetrix).

Per ogni target, la concentrazione minore rilevabile in tutti i replicati è riportata nella tabella sotto.

Tabella 14

Target in test (basse copie)	Interferenza tra targets a 2.500.000 CFU / mL				
	<i>Campylobacter</i>	<i>C. difficile</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>	<i>Yersinia</i>
<i>Campylobacter</i>	-	5,000 CFU / mL	5,000 CFU / mL	5,000 CFU / mL	2,500 CFU / mL
<i>C. difficile</i>	2,500 CFU / mL	-	2,500 CFU / mL	5,000 CFU / mL	2,500 CFU / mL
<i>Salmonella</i>	2,500 CFU / mL	5,000 CFU / mL	-	5,000 CFU / mL	2,500 CFU / mL
<i>Shigella</i>	2,500 CFU / mL	2,500 CFU / mL	2,500 CFU / mL	-	2,500 CFU / mL
<i>Yersinia</i>	2,500 CFU / mL	2,500 CFU / mL	2,500 CFU / mL	2,500 CFU / mL	-

Il prodotto GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit mostra un'interferenza minima fra i target. Ciascun target può essere rilevato anche quando ha una concentrazione circa 1000 volte inferiore rispetto agli altri target presenti nel campione.

11.4 Organismi potenzialmente interferenti: Cross-reattività

La potenziale cross-reattività con organismi diversi che possono essere trovati in campioni clinici di feci 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 ad eccezione degli *Escherichia coli* Enteroinvasivi (EIEC). La regione amplificata del gene *ipaH*, target per le specie *Shigella*, è infatti condivisa con gli *Escherichia coli* Enteroinvasivi (EIEC), che sono geneticamente correlati a *Shigella* e sono rilevati da questo prodotto come positivi per *Shigella*.

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

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

Tabella 15

Organismo	Positivi / Replicati						Esito
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
<i>Aeromonas hydrophila</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
<i>Bacteroides fragilis</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
<i>Vibrio cholerae</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
<i>Helicobacter pylori</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
<i>Escherichia coli</i> 92.0147	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
<i>Serratia marcescens</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
<i>Candida albicans</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
<i>Citrobacter freundii</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
<i>Clostridium nexile</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
<i>Proteus mirabilis</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
<i>Enterobacter cloacae</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
<i>Giardia lamblia</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
<i>Cryptosporidium parvum</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
<i>Entamoeba histolytica</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
Enterovirus	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
Adenovirus	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
Astrovirus	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività

Tabella 15 (segue)

Organismo	Positivi / Replicati						Esito
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
Norovirus G1	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
Rotavirus	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
Sapovirus	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
<i>Clostridium disporicum</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività

Tutti gli organismi potenzialmente interferenti testati non hanno mostrato alcuna cross-reattività per l'amplificazione dei target utilizzando il GI Bacterial PLUS ELite MGB Kit.

11.5 Organismi potenzialmente interferenti: Inibizione

La potenziale inibizione da parte di organismi diversi che possono essere trovati nei campioni clinici di feci è stata verificata per il saggio attraverso l'analisi di un pannello di materiali di riferimento (ATCC, ZeptoMetrix e DSMZ) positivamente con *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* and *Yersinia enterocolitica* (DSMZ e ZeptoMetrix).

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

Tabella 16

Organismo	Positivi / Replicati						Esito
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
<i>Aeromonas hydrophila</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
<i>Bacteroides fragilis</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
<i>Vibrio cholerae</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
<i>Helicobacter pylori</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
<i>Escherichia coli</i> 92.0147	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
<i>Serratia marcescens</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
<i>Acinetobacter baumannii</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
<i>Candida albicans</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
<i>Citrobacter freundii</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
<i>Clostridium nexile</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
<i>Proteus mirabilis</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
<i>Enterobacter cloacae</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
<i>Giardia lamblia</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione

Tabella 16 (segue)

Organismo	Positivi / Replicati						Esito
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
<i>Cryptosporidium parvum</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
<i>Entamoeba histolytica</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
Enterovirus	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
Adenovirus	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
Astrovirus	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
Norovirus G1	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
Rotavirus	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
Sapovirus	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
<i>Clostridium disporicum</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione

Tutti gli organismi potenzialmente interferenti testati non hanno mostrato alcuna inibizione dell'amplificazione dei target utilizzando il GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit.

11.6 Sostanze potenzialmente interferenti: Cross reattività

La potenziale cross-reattività di sostanze potenzialmente interferenti (endogene ed esogene) che potrebbero trovarsi nei campioni clinici di feci è stata valutata per il saggio mediante analisi di un pannello di sostanze a concentrazioni rilevanti.

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

Tabella 17

Sostanza	Positivi / Replicati						Esito
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
Olio di vaselina	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
Nonoxynol-9	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
Subsalicilato di bismuto	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
Loperamide cloridrato	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
Bisacodile	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
Azitromicina	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
Vancomicina	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
Metronidazolo	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
Ampicillina	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
Cefpodoxima	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
Ciprofloxacina	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
Idrocortisone	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
Carbonato di calcio	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività

Tabella 17 (segue)

Sostanza	Positivi / Replicati						Esito
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
Acido alginico	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
Idrossido di alluminio	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
Trisilicato di magnesio	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
Sangue intero	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
Mucina	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
Acido palmitico	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
Acido stearico	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività

Tutte le sostanze potenzialmente interferenti testate non hanno mostrato alcuna cross-reattività con i target utilizzando il GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit.

11.7 Sostanze potenzialmente interferenti: Inibizione

La potenziale inibizione di sostanze potenzialmente interferenti (endogene ed esogene) che potrebbero trovarsi nei campioni clinici di feci è stata valutata per il saggio mediante analisi di un pannello di sostanze a concentrazione rilevante in campioni positivizzati con *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* e *Yersinia enterocolitica* (DSMZ e ZeptoMetrix).

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

Tabella 18

Sostanza	Positivi / Replicati						Esito
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
Olio di vaselina	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
Nonoxynol-9	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
Subsalicilato di bismuto	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
Loperamide cloridrato	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
Bisacodile	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
Azitromicina	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
Vancomicina	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
Metronidazolo	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
Ampicillina	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
Cefpodoxima	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
Ciprofloxacina	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
Idrocortisone	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
Carbonato di calcio	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
Acido alginico	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
Idrossido di alluminio	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione

Tabella 18 (segue)

Sostanza	Positivi / Replicati						Esito
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
Trisilicato di magnesio	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
Sangue intero	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
Mucina	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
Acido palmitico	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione
Acido stearico	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Nessuna inibizione

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

11.8 Cross-contaminazione

La possibile cross-contaminazione durante l'analisi è stata valutata per il saggio testando 60 replicati di un campione di feci negativo alternati a 60 replicati dello stesso campione positivizzato con *Campylobacter jejuni* (DSMZ) alla concentrazione di 1,000,000 CFU / mL in 5 sessioni.

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

Tabella 19

Campioni	N	Positivi	Negativi	%Concordanza
Positivi	60	60	0	100%
Negativi	60	0	60	100%

In questo test con GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit non sono state rilevate cross-contaminazioni tra le sessioni, né al loro interno.

11.9 Tasso totale di errore di sistema

Il tasso totale di errore di sistema per il saggio è stato valutato testando 50 diversi campioni di feci negative e 30 campioni di feci raccolte in FecalSwab, positivizzati con *Campylobacter jejuni* (DSMZ) ad una concentrazione di 3x LoD (216 CFU / mL).

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

Tabella 20

Campioni	N	Positivi	Negativi	Tasso totale di errore di sistema
Feci positivizzate a 3x LoD	50	49	1	2%
Feci in FecalSwab positivizzate a 3x LoD	30	30	0	0%

In questo test con il GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit, il 98% dei campioni di feci e il 100% dei campioni di feci raccolte in FecalSwab è stato confermato positivo. In questo test il tasso totale di errore di sistema è pari al 2% per i campioni di feci e allo 0% per i campioni di feci raccolti in FecalSwab.

11.10 Ripetibilità

La ripetibilità del saggio è stata valutata su ELITE BeGenius ed ELITE InGenius mediante l'analisi di un pannello di campioni di feci negative o positivizzate con *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* and *Yersinia enterocolitica* (DSMZ and ZeptoMetrix).

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

Tabella 21 esempio di risultati del test di ripetibilità Intra-sessione (BeGenius, un giorno)

Campione	Target	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Neg	Cdif (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD CY		6	-	-	-	100%
3xLoD SS		6	-	-	-	100%
3xLoD Cdif		6	35,30	0,55	1,55	100%
	Cdif (Tm)	6	58,8	0,19	0,32	100%
Neg	Cam (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD CY		6	32,01	0,39	1,20	100%
3xLoD SS		6	-	-	-	100%
3xLoD Cdif		6	-	-	-	100%
Neg	Yen (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD CY		6	35,28	0,46	1,30	100%
3xLoD SS		6	-	-	-	100%
3xLoD Cdif		6	-	-	-	100%
Neg	Sal (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD CY		6	-	-	-	100%
3xLoD SS		6	35,95	1,19	3,31	100%
3xLoD Cdif		6	-	-	-	100%
Neg	Shi (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD CY		6	-	-	-	100%
3xLoD SS		6	35,41	0,24	0,67	100%
3xLoD Cdif		6	-	-	-	100%

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

Tabella 22 esempio di risultati del test di ripetibilità Intra-sessione (InGenius, un giorno)

Campione	Target	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Neg	Cdif (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD CY		6	-	-	-	100%
3xLoD SS		6	-	-	-	100%
3xLoD Cdif		6	34,81	0,25	0,71	100%
	Cdif (Tm)	6	60,0	0,16	0,27	100%
Neg	Cam (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD CY		6	31,34	0,11	0,34	100%
3xLoD SS		6	-	-	-	100%
3xLoD Cdif		6	-	-	-	100%
Neg	Yen (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD CY		6	35,71	0,30	0,85	100%
3xLoD SS		6	-	-	-	100%
3xLoD Cdif		6	-	-	-	100%
Neg	Sal (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD CY		6	-	-	-	100%
3xLoD SS		6	35,51	0,59	1,65	100%
3xLoD Cdif		6	-	-	-	100%
Neg	Shi (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD CY		6	-	-	-	100%
3xLoD SS		6	33,49	0,96	2,87	100%
3xLoD Cdif		6	-	-	-	100%

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

Tabella 23 esempio di risultati del test di ripetibilità Inter-sessione (BeGenius, su due giorni)

Campione	Target	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Neg	Cdif (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD CY		12	-	-	-	100%
3xLoD SS		12	-	-	-	100%
3xLoD Cdif		12	35,22	0,21	0,60	100%
	Cdif (Tm)	12	59,3	0,26	0,45	100%
Neg	Cam (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD CY		12	32,59	0,38	1,15	100%
3xLoD SS		12	-	-	-	100%
3xLoD Cdif		12	-	-	-	100%
Neg	Yen (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD CY		12	34,88	0,40	1,15	100%
3xLoD SS		12	-	-	-	100%
3xLoD Cdif		12	-	-	-	100%
Neg	Sal (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD CY		12	-	-	-	100%
3xLoD SS		12	35,69	0,93	2,61	100%
3xLoD Cdif		12	-	-	-	100%
Neg	Shi (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD CY		12	-	-	-	100%
3xLoD SS		12	34,47	1,01	2,94	100%
3xLoD Cdif		12	-	-	-	100%

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

Tabella 24 esempio di risultati del test di ripetibilità Inter-sessione (InGenius, su due giorni)

Campione	Target	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Neg	Cdif (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD CY		12	-	-	-	100%
3xLoD SS		12	-	-	-	100%
3xLoD Cdif		12	34,81	0,22	0,63	100%
	Cdif (Tm)	12	60,0	0,20	0,33	100%
Neg	Cam (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD CY		12	31,35	0,13	0,42	100%
3xLoD SS		12	-	-	-	100%
3xLoD Cdif		12	-	-	-	100%
Neg	Yen (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD CY		12	35,79	0,31	0,87	100%
3xLoD SS		12	-	-	-	100%
3xLoD Cdif		12	-	-	-	100%
Neg	Sal (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD CY		12	-	-	-	100%
3xLoD SS		12	35,52	0,63	1,78	100%
3xLoD Cdif		12	-	-	-	100%
Neg	Shi (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD CY		12	-	-	-	100%
3xLoD SS		12	33,61	0,79	2,35	100%
3xLoD Cdif		12	-	-	-	100%

Nel test di ripetibilità, GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit ha rilevato tutti i campioni come previsto e ha mostrato una variabilità massima di valori di Ct come %CV pari al 3.31%.

11.11 Riproducibilità

La riproducibilità del saggio è stata valutata su ELITE BeGenius ed ELITE InGenius mediante l'analisi di un pannello di campioni di feci negative o positivate con *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* and *Yersinia enterocolitica* (DSMZ and ZeptoMetrix).

Un esempio dei risultati di Riproducibilità Inter lotto (su sei giorni e tre lotti) con ELITE BeGenius è riportato nella tabella seguente.

Tabella 25 esempio di risultati del test di Riproducibilità Inter lotto (BeGenius, sei giorni e tre lotti)

Campione	Target	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Neg	Cdif (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3xLoD Cdif		36	35,08	0,35	1,01	100%
	Cdif (Tm)	36	59,2	0,33	0,56	100%
Neg	Cam (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	31,92	0,60	1,87	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Yen (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	34,94	0,47	1,35	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Sal (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	35,71	0,85	2,37	100%
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Shi (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	34,61	0,82	2,38	100%
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100%

Un esempio dei risultati di Riproducibilità Inter lotto (su sei giorni e tre lotti) con ELITE InGenius è riportato nella tabella seguente.

Tabella 26 esempio di risultati del test di Riproducibilità Inter lotto (InGenius, sei giorni e tre lotti)

Campione	Target	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Neg	Cdif (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3xLoD Cdif		36	34,83	0,32	0,92	100%
	Cdif (Tm)	36	59,8	0,27	0,45	100%
Neg	Cam (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	31,75	0,66	2,07	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Yen (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	35,73	0,39	1,10	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Sal (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	35,46	0,54	1,51	100%
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Shi (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	33,99	0,80	2,36	100%
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100%

Un esempio dei risultati di Riproducibilità Inter-Strumento (su sei giorni, tre lotti e tre strumenti) con ELITE BeGenius è riportato nella tabella seguente.

Tabella 27 esempio di risultati del test di Riproducibilità Inter-Strumento (BeGenius, sei giorni, tre lotti e tre strumenti)

Campione	Target	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Neg	Cdif (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3xLoD Cdif		36	34,97	0,33	0,95	100%
	Cdif (Tm)	36	59,1	0,28	0,48	100%
Neg	Cam (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	32,29	0,44	1,36	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Yen (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	35,91	0,59	1,64	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Sal (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	36,05	0,81	2,24	100%
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Shi (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	34,75	1,29	3,71	100%
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100%

Un esempio dei risultati di Riproducibilità Inter-Strumento (su sei giorni, tre lotti e tre strumenti) con ELITE InGenius è riportato nella tabella seguente.

Tabella 28 esempio di risultati del test di Riproducibilità Inter-Strumento (InGenius, sei giorni, tre lotti e tre strumenti)

Campione	Target	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Neg	Cdif (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3xLoD Cdif		36	34,68	0,37	1,06	100%
	Cdif (Tm)	36	59,9	0,26	0,44	100%
Neg		36	-	-	-	100%
3xLoD CY	Cam (Ct)	36	31,82	0,38	1,18	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg		36	-	-	-	100%
3xLoD CY	Yen (Ct)	36	35,67	0,97	2,71	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg		36	-	-	-	100%
3xLoD CY	Sal (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	36,19	1,49	4,11	100%
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg		36	-	-	-	100%
3xLoD CY	Shi (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	34,46	0,76	2,21	100%
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg		36	-	-	-	100%

Nel test di Riproducibilità, GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit ha rilevato tutti i campioni come previsto e ha mostrato una variabilità massima di valori di Ct come %CV pari al 4.11%.

11.12 Specificità Diagnostica: Conferma dei campioni negativi

La Specificità Diagnostica del saggio, come conferma dei campioni negativi, è stata valutata in associazione ad ELITE InGenius testando campioni clinici di feci raccolte senza conservanti, o in modified Cary Blair medium, certificate negative o presunte negative per ciascun target.

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 Specificità Diagnostica del saggio ottenuta in associazione con ELITE InGenius è anche riferibile ad ELITE BeGenius.

I risultati sono riassunti nella tabella seguente.

Tabella 29 Specificità Diagnostica

Feci negative testate per il target	N	Positivi	Negativi	Specificità Diagnostica %
<i>Campylobacter</i> spp.	267	1	266	99,6%
<i>Clostridium difficile</i>	293	2	291	99,3%
<i>Salmonella</i> spp.	314	2	312	99,4%
<i>Shigella</i> spp.	338	0	338	100%
<i>Yersinia enterocolitica</i>	332	2	330	99,4%

Tutti i campioni di feci sono risultati validi in prima analisi. I campioni rilevati positivi mostrano un titolo molto basso, prossimo al valore di LoD del sistema, o sono campioni che non è stato possibile ritestare.

La Specificità Diagnostica di GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit in associazione alla matrice feci, in questa prova, è risultata uguale a 99,6% per Cam, 99,3% per Cdif, 99,4% per Sal, 100% per Shi e 99,7% per Yen.

Il cut-off del Ct del Controllo Interno è impostato a 30.

11.13 Sensibilità Diagnostica: Conferma dei campioni positivi

La Sensibilità Diagnostica del saggio, come conferma dei campioni positivi, è stata valutata in associazione ad ELITE InGenius testando campioni clinici di feci raccolte senza conservanti o in Cary-Blair, certificate positive per ciascun target o positivizzate 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 30 Sensibilità Diagnostica

Feci positive / positivizzate	N	Positivi	Negativi	Sensibilità Diagnostica %
Positive per <i>Campylobacter</i> spp.	100	100	0	100%
Positive per <i>Clostridium difficile</i>	51	49	2	96,3%
Positivizzate per <i>Clostridium difficile</i> 027	3	3	0	
Positive per <i>Salmonella</i> spp.	56	56	0	100%
Positive per <i>Shigella</i> spp.	31	31	0	100%
Positivizzate per <i>Shigella</i>	22	22	0	
Positive per <i>Yersinia enterocolitica</i>	39	39	0	100%
Positivizzate per <i>Yersinia enterocolitica</i>	12	12	0	

La Sensibilità Diagnostica di GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit in associazione alla matrice feci è risultata uguale a 100% per Cam, 96,3% per Cdif, 100% per Sal, 100% per Shi e 100% per Yen.

NOTA

I dati ed i risultati completi delle prove eseguite per la valutazione delle caratteristiche delle prestazioni del prodotto con le matrici e gli strumenti sono registrati nel Fascicolo Tecnico di Prodotto "GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit", FTP 502ING

12 BIBLIOGRAFIA

- K. Sen et al. (2018) Appl. Environ. Microbiol. 84
- E. J. Kuijper et al. (2006) Clin Microbiol Infect: 12 (Suppl. 6), 2–18
- U. Gross et al (2018) BMC Genomics 19(1):1-1
- T. Kellner et al. (2019) J. Clin. Microbiol. 57
- V. D. Thiem et al. (2004) J. Clin. Microbiol. 42
- J. Z. Wang et al. (2014) J. Clin. Microbiol. 52
- K. Linnet et al. (2004) Clin. Chem. 50: 732 – 740
- E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e30

13 LIMITI DELLA PROCEDURA

Utilizzare questo prodotto soltanto con i seguenti campioni clinici: feci o feci raccolte in FecalSwab.

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

Il prodotto non è destinato ad essere utilizzato come ausilio nella diagnosi di febbre enterica, e non è destinato ad essere utilizzato come ausilio nella identificazione di *Salmonella enterica* serovar Typhi per la valutazione dello stato di portatore dei pazienti.

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 [11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI pagina 19](#) In questo caso il risultato potrebbe essere un falso negativo.

In caso di coinfezioni, la sensibilità per un target può essere influenzata dall'amplificazione di un secondo target
[11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI pagina 19](#)

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.

La regione amplificata del gene ipaH è specifica per le specie *Shigella* ad eccezione degli *Escherichia coli* Enteroinvasivi (EIEC), che sono genericamente correlati a *Shigella* e vengono rilevati da questo prodotto come positivi per *Shigella*.

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 31

Reazione del Controllo Positivo non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errata impostazione dello strumento.	Controllare la posizione della PCR Mix e del Controllo Positivo. Controllare i volumi della PCR Mix e del Controllo Positivo.
Degradazione della PCR Mix.	Non utilizzare la PCR Mix per più di 7 sessioni indipendenti (3 ore ciascuna nel blocco refrigerato dell'area reagenti o nell'unità refrigerata). Non utilizzare la PCR Mix per più di tre sessioni consecutive (7 ore nel blocco refrigerato dell'area reagenti o nell'unità refrigerata). Non lasciare la PCR Mix a temperatura ambiente per più di 30 minuti. Utilizzare una nuova aliquota della PCR Mix.
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 32

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.

Tabella 32 (segue)

Reazione del Controllo Negativo non valida	
Possibili cause	Soluzioni
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 33

Reazione del campione non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errata impostazione dello strumento.	Controllare la posizione della PCR Mix, del Controllo Interno e del campione. Controllare i volumi della PCR Mix, del Controllo Interno e del campione.
Degradazione della PCR Mix.	Non utilizzare la PCR Mix per più di 7 sessioni indipendenti (3 ore ciascuna nell'area reagenti o nell'unità refrigerata). Non utilizzare la PCR Mix per più di tre sessioni consecutive (7 ore nel blocco refrigerato dell'area reagenti o nell'unità refrigerata). Non lasciare la PCR Mix a temperatura ambiente per più di 30 minuti. Utilizzare una nuova aliquota della PCR Mix.
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 34

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 35

Errore nel calcolo del Ct	
Possibili cause	Soluzioni
Concentrazione troppo elevata del target nel campione o campione con anomala forma del plot.	<p>Se nel PCR plot appare un'amplificazione significativa selezionare il track relativo al campione e approvare manualmente il risultato come positivo.</p> <p>Se nel PCR plot non appare nessuna amplificazione selezionare il rack relativo al campione e approvare manualmente il risultato come negativo o lasciarlo invalido.</p> <p>Se è richiesto un valore di Ct:</p> <ul style="list-style-type: none"> - 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 36

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.	<p>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</p> <p>Non utilizzare pipette Pasteur. Le pipette devono essere del tipo a spostamento positivo o utilizzate con puntali con filtro per aerosol.</p> <p>Introdurre campioni nelle ultime posizioni degli strumenti, come indicato dalla GUI. Seguire la sequenza di caricamento indicata dal software.</p>
Contaminazione ambientale di laboratorio	<p>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</p> <p>Eseguire un ciclo di decontaminazione UV.</p> <p>Utilizzare una nuova provetta di PCR Mix e / o CTR CPE</p>

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.

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.

MGB®, Eclipse Dark Quencher®, AquaPhluor®, ELiTe MGB®, il logo ELiTe MGB®, ELiTe InGenius® ed ELiTe BeGenius® sono marchi registrati di ELiTechGroup all'interno dell'Unione Europea.
Minitip Flocked Swab® è un marchio registrato di COPAN Italia S.p.A., FecalSwab™ è un marchio di COPAN Italia S.p.A.

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



CAUTION

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

Intended Use

The product **GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit** is an in vitro diagnostic medical device intended to be used by healthcare professionals as qualitative multiplex nucleic acids Real-Time PCR assay for the detection and identification of the genomic DNA of *Campylobacter* spp. (**Cam**), *Clostridium difficile* (also known as *Clostridioides difficile*, **Cdif**), including discrimination of ribotype 027, *Salmonella* spp. (**Sal**), *Shigella* spp. (**Shi**), *Yersinia enterocolitica* (**Yen**) 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 stool specimens.

The product is intended for use as an aid in the diagnosis of gastrointestinal bacterial infections in patients suspected of having *Campylobacter* spp., *Clostridium difficile*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. and *Yersinia enterocolitica* infection.

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

The product is not intended for use as an aid in the diagnosis of enteric fever and is not intended for use as an aid in the identification of *Salmonella enterica* serovar Typhi (also known as *Salmonella typhi*) for the assessment of the carrier-status of patients.



Amplified sequence

Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
Target 1	16s rRNA	AP639	Cam
Target 2	tcdB	FAM	Cdif
Target 3	invA	AP690	Sal
Target 4	ipaH	AP593	Shi
Target 5	foxA	AP559	Yen
Internal Control	IC2	AP525	IC

Validated matrix

- Native stool collected without preservatives
- Stool collected in FecalSwab (Modified Cary Blair medium)

Kit content and related products

GI Bacterial PLUS ELiTe MGB Kit (RTS502ING)		GI Bacterial PLUS - ELiTe Positive Control (CTR502ING)	
 X 8		 X 3	
GI-B PCR Mix 8 tubes of 280 µL 12 reactions per tube 96 reactions per kit 7 freeze-thaw cycles per tube		GI-B Positive Control 3 tubes of 160 µL 4 reactions per tube 12 reactions per kit 4 freeze-thaw cycles	
Maximum shelf-life:	24 months	Maximum shelf-life	24 months
Storage temperature	≤ -20°C	Storage temperature	≤ -20°C

Other products required not provided in the kit

<ul style="list-style-type: none"> ELiTe InGenius instrument: INT030. ELiTe BeGenius instrument: INT040. ELiTe InGenius SP 200: INT032SP200. ELiTe InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS. ELiTe InGenius PCR Cassette: INT035PCR. ELiTe InGenius Waste Box: F2102-000. 300 µL Filter Tips Axigen: TF-350-L-R-S. 1000 µL Filter Tips Tecan: 30180118. 	<ul style="list-style-type: none"> CPE - Internal Control: CTRCPE InhibitEX Buffer (QIAGEN GmbH, Germany, ref. 19593) or an equivalent device. Minitip Flocked Swab® (COPAN Italia S.p.A., Italy, ref. 501CS01) or an equivalent device. FecalSwab™ (COPAN Italia S. p. A., Italy, ref. 470CE,) or an equivalent device.
--	--

ELiTe InGenius and ELiTe BeGenius Protocol

<ul style="list-style-type: none"> Sample volume CPE volume Total elution volume 	200 µL 10 µL 100 µL	<ul style="list-style-type: none"> Eluate PCR input volume PCR Mix volume Frequency of controls 	10 µL 20 µL 15 days
---	---------------------------	--	---------------------------

ELiTe InGenius and ELiTe BeGenius Performances

Matrix	Target	Limit of Detection	Sensitivity	Specificity
Native Stool / Stool collected in FecalSwab	Cam	72 CFU / mL	100% (100/100)	99.6% (266/267)
	Cdif	172 CFU / mL	96.3% (52/54)	99.3 % (291/293)
	Sal	372 CFU / mL	100% (56/56)	99.4 % (312/314)
	Shi	337 CFU / mL	100% (53/53)	100 % (338/338)
	Yen	363 CFU / mL	100% (51/51)	99.4 % (330/332)

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
Native stool collected without preservatives	≤ 24 hours	≤ 48 hours	≤ 1 month	≤ 2 months
Stool collected in FecalSwab (Modified Cary Blair medium)	≤ 48 hours	≤ 5 days	≤ 1 month	≤ 2 months

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: GI Bacterial PLUS ELiTe_ST_200_100	5. Select the method "Extract + PCR" and the sample position: 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	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: GI Bacterial PLUS ELiTe_ST_200_100 or GI Bacterial PLUS ELiTe_PC or GI Bacterial PLUS 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: UroGen Positive Control and UroGen Negative Control in the "Controls" menu. Note: Both must have been run, approved and not expired.	3. Thaw the UroGen PCR Mix and the CTR CPE (if required) 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: GI Bacterial PLUS ELiTe_Be_ST_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: GI Bacterial PLUS ELITE_Be_ST_200_100 or GI Bacterial PLUS ELITE_Be_PC or GI Bacterial PLUS 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

