

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 REVISIONI

Rev.	Avviso di modifica	Data (gg/mm/aa)
02	<p>Aggiunta di una frase interpretativa relativa all'obiettivo Yen, che consente specificatamente di distinguere il DNA di Yersinia da organismi potenzialmente interferenti (diversi da <i>Y. enterocolitica</i>)</p> <p>Sostituzione della provetta da 2 mL 953-217 e del tappo bianco 953-223 con la provetta da 2 mL 953-065 per il componente PCR Mix.</p> <p>Estensione fino a 60 giorni dell'uso dalla prima apertura.</p> <p>Aggiornamento del paragrafo "Bibliografia"</p> <p>Aggiornamento della confezione della provetta per PCR Mix (paragrafo "Materiali inclusi nel prodotto")</p> <p>Aggiornamento del paragrafo "Materiali richiesti ma non inclusi nel prodotto"</p> <p>Aggiornamento del paragrafo "Altri prodotti richiesti".</p> <p>Aggiornamento del paragrafo "Avviso per l'utilizzatore"</p> <p>Aggiornamento del paragrafo "Avviso per l'acquirente: licenza limitata"</p>	14/10/25
01	<p>Aggiornamento del paragrafo "Simboli" con il simbolo "Consultare le istruzioni per l'uso"</p> <p>Aggiornamento del codice di riferimento del tampone Minitip Flocked Swab</p> <p>Aggiornamento dei paragrafi 11.5 e 11.7: inibizione</p> <p>Nuova impostazione grafica e del contenuto delle Istruzioni per l'uso (IFU).</p>	29/11/24
00	Nuovo sviluppo del prodotto.	13/05/24

NOTA

La revisione delle presenti istruzioni per l'uso 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	38
16 AVVISO PER L'UTILIZZATORE.....	39
17 AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA	39
Appendix A QUICK START GUIDE.....	40

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 saggio di Real-Time PCR qualitativa multiplex degli acidi nucleici per la rilevazione e l'identificazione del DNA genomico di *Campylobacter* spp. (**Cam**), *Clostridium difficile* (noto anche come *Clostridioides difficile*, **Cdif**), compresa 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 delle infezioni batteriche gastrointestinali 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 della febbre enterica e non è destinato all'uso come ausilio nell'identificazione della *Salmonella enterica* serovar Typhi (nota anche come *Salmonella typhi*) per la valutazione dello stato di portatore dei pazienti.

2 PRINCIPIO DEL SAGGIO

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

Le sonde ELITE MGB vengono attivate quando ibridano con il prodotto specifico della PCR. **ELITE InGenius** 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. Si noti 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 PCR ottimizzata e stabilizzata che contiene primer e 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 colorante AquaPhluor® 639 (AP639),
- il gene **tcdB** di *Clostridioides difficile*, rilevato nel Canale **Cdif**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher® e marcata con il colorante 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 colorante AquaPhluor® 690 (AP690),
- il gene **ipaH** di *Shigella* spp., rilevato nel Canale **Shi**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher e marcata con il colorante 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 marcata con il colorante AquaPhluor 559 (AP559),
- la sequenza artificiale **IC2** del Controllo Interno (**IC**), rilevata nel canale **IC**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher, e marcata con il fluoroforo AquaPhluor 525 (AP525).

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

Il prodotto **GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit** contiene reagenti sufficienti per **96 test** sugli strumenti **ELITE InGenius** ed **ELITE BeGenius (12 sessioni per ogni 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 NEUTRO	8 x 280 µL	-

5 MATERIALI RICHIESTI MA NON INCLUSI NEL PRODOTTO

- Cappa a flusso laminare.
- Guanti senza polvere in nitrile o materiale analogo.
- Agitatore vortex.
- Centrifuga da banco (circa 5.000 giri/minuto).
- Microcentrifuga da banco (~13,000 giri/minuto).
- Thermomixer.
- Micropipette e puntali sterili con filtro per aerosol o a spostamento positivo (intervallo di volume: 0,5-1000 µL).
- provette sterili da 2,0 mL con tappo a vite (Sarstedt cod. 72.694.005).
- Provette sterili da 0,5 mL con tappo a vite (Sarstedt, Germania, cod. 72.730.005).
- 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 con parametri per l'analisi del Positive Control GI Bacterial PLUS ELITE_NC , Assay Protocol con parametri per l'analisi del Negative Control GI Bacterial PLUS ELITE_ST_200_100 Assay Protocol con parametri per l'analisi dei campioni di feci	GI Bacterial PLUS - ELITE Positive Control (EG SpA, cod. CTR502ING). CPE - Internal Control (EG SpA, cod. CTRCPE). ELITE InGenius SP200 (EG SpA, cod. INT032SP200). ELITE InGenius and ELITE BeGenius Consumable Set (vedere Istruzioni per l'uso di ELITE InGenius ed ELITE BeGenius) InhibitEX Buffer (QIAGEN GmbH, Germany, cod. 19593) o un dispositivo equivalente. Minitip Flocked Swab® (COPAN Italia S.p.A., Italy, cod. 501CS01) o un dispositivo equivalente. FecalSwab™ (COPAN Italia S.p.A., Italy, cod. 470CE,) o un dispositivo equivalente con terreno di trasporto Cary Blair.
ELITE BeGenius (EG SpA, cod. INT040). ELITE BeGenius Software versione 2.3.0 (o successiva). GI Bacterial PLUS ELITE_Be_PC , Assay Protocol con parametri per l'analisi del Positive Control. GI Bacterial PLUS ELITE_Be_NC , Assay Protocol con parametri per l'analisi del Negative Control. GI Bacterial PLUS ELITE_Be_ST_200_100 Assay Protocol con 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 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 dei campioni o della contaminazione dei campioni stessi da parte di prodotti della PCR.

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

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

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

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

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

7.3 Avvertenze e precauzioni specifiche per i componenti

Tabella 3

Componente	Temperatura di conservazione	Utilizzo dalla prima apertura	Cicli di congelamento/scongelo	Stabilità On board (ELiTe InGenius e ELiTe BeGenius)
GI-B PCR Mix	-20 °C o inferiore (al riparo dalla luce)	60 giorni	fino a sette	Fino a sette sessioni indipendenti* di tre ore ciascuna oppure fino a 7 ore consecutive (2 sessioni di 3 ore ciascuna e il tempo necessario per iniziare una terza sessione)

* con congelamento intermedio

8 CAMPIONI E CONTROLLI

8.1 Campioni

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

Campioni	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
	raccolti 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 pre-trattamento dei campioni.

Procedura di pre-trattamento 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 pre-trattamento per campioni di feci raccolte in Fecal Swab:

1. trasferire 500 µL di InhibitEX Buffer in una provetta Sarstedt da 2 mL,
2. trasferire 500 µL di sospensione del campione dal Fecal Swab 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 l'analisi di campioni su **ELITE InGenius** ed **ELITE BeGenius**, è necessario utilizzare gli Assay Protocol indicati di seguito. Questi protocolli IVD sono stati validati per l'uso specifico dei prodotti ELITE MGB Kit e gli strumenti **ELITE InGenius** o **ELITE BeGenius** con le matrici indicate.

Tabella 5 Assay Protocol PLUS ELITE MGB Kit

Campione	Strumento	Nome Assay Protocol	Referto	Caratteristiche
Feci raccolte senza conservanti oppure Feci raccolte 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, si devono trasferire 200 µL di campione in un Extraction tube (per ELITE InGenius) o in una provetta Sarstedt da 2 mL (per ELITE BeGenius).

NOTA

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

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

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

8.2 Controlli di PCR

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

- come Positive Control 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 Negative Control 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 e **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 archiviati o materiale di riferimento certificato. Quando disponibili, utilizzare i controlli esterni in conformità a leggi locali, statali, organizzazioni di accreditamento federali.

9 PROCEDURA ELITE InGenius

La procedura per l'uso del prodotto **GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit** con lo strumento **ELITE InGenius** si articola in due fasi:

Tabella 6

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

9.1 FASE 1 - Verifica che il sistema sia pronto

Prima di iniziare la sessione:

- accendere lo strumento **ELITE InGenius** e selezionare la modalità “**CLOSED**”,
- nella sezione “Controls” della schermata Home, verificare che i controlli di PCR (**GI-B Positive Control**, **GI-B Negative Control**) siano processati, approvati e non scaduti (Status) per il lotto di **GI-B PCR Mix** da utilizzare.

Se non sono disponibili controlli validi per il lotto di **GI-B PCR Mix**, eseguire la sessione dei controlli come descritto di seguito,

- scegliere il tipo di sessione analitica, seguendo le istruzioni visualizzate sull'interfaccia utente grafica (GUI) per l'allestimento della sessione e utilizzando gli Assay Protocol forniti da EG SpA (vedere "Campioni e controlli").

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

9.2 FASE 2 - Impostazione della sessione

Il prodotto **GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit** può essere utilizzato su **ELITE InGenius** per eseguire:

- A. Corsa dei campioni (Extract + PCR),
- B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only),
- C. Corsa del Positive Control e del Negative Control (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

Il sistema **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 dello strumento per maggiori dettagli.

Prima di impostare una sessione:

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

NOTA

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 Procedure ELITE InGenius

	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, scongelare a temperatura ambiente. Pretrattare i campioni secondo la procedura descritta nella sezione "Campioni e controlli". Per questa analisi trasferire 200 µL di campione pretrattato in un Extraction tube precedentemente etichettato.	Scongelare gli Elution Tube contenenti gli acidi nucleici estratti a temperatura ambiente. Agitare delicatamente, quindi centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.	Scongelare i tubi del Positive Control a temperatura ambiente per 30 minuti. Agitare delicatamente, quindi centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo. Ciascun tubo contiene un volume sufficiente per preparare 4 reazioni.
2	Scongelare i tubi di CPE necessari a temperatura ambiente per 30 minuti. Agitare delicatamente, quindi centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo. Ciascun tubo contiene un volume sufficiente per preparare 12 estrazioni.	Non applicabile	Preparare il Negative Control trasferendo almeno 50 µL di acqua per biologia molecolare in un "Elution Tube", fornito in dotazione con ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Nella schermata Home, selezionare "Perform Run" .	Nella schermata Home, selezionare "Perform Run" .	Nella schermata Home, selezionare "Perform Run" .

Tabella 7 Procedure ELITe InGenius (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” sia 200 µL e che l'“Extracted Elute Volume” sia 100 µL.	Verificare che l'“Extraction Input Volume” sia 200 µL e che l'“Extracted Elute Volume” sia 100 µL.	Verificare che l'“Extraction Input Volume” sia 200 µL e che l'“Extracted Elute Volume” sia 100 µL.
5	Per ogni campione, assegnare un “Track” e compilare il “SampleID” (SID) digitando o scansionando il codice a barre.	Per ogni campione, assegnare un “Track” e compilare il “SampleID” (SID) digitando o scansionando il codice a barre.	Non applicabile
6	Nella colonna “Assay” selezionare gli Assay Protocol da utilizzare (si veda paragrafo “8 CAMPIONI E CONTROLLI pagina 7”).	Nella colonna “Assay” selezionare gli Assay Protocol da utilizzare (si veda paragrafo “8 CAMPIONI E CONTROLLI pagina 7”).	Nella colonna “Assay” selezionare gli Assay Protocol da utilizzare (si veda paragrafo “8 CAMPIONI E CONTROLLI pagina 7”), 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” il protocollo visualizzato sia: “Extract + PCR”.	Nella colonna “Protocol” selezionare “PCR Only”.	Verificare che nella colonna “Protocol” il protocollo visualizzato sia: “PCR Only”.
8	Selezionare “Extraction tube” nella colonna “Sample Position”.	Verificare nella colonna “Sample Position” che la posizione sia “Elution Tube”.	Verificare nella colonna “Sample Position” che la posizione sia “Elution Tube”.
9	Fare clic su “Next” per proseguire.	Fare clic su “Next” per proseguire.	Fare clic su “Next” per proseguire.
10	Caricare il CPE e la PCR Mix nell'“Inventory Block” selezionato e digitare i relativi numero di lotto, la data di scadenza e il numero di reazioni dei tubi.	Caricare la PCR Mix nell'“Inventory Block” 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” 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” controllare/caricare i “Tip Rack”.	Nell'“Inventory Area” controllare/caricare i “Tip Rack”.	Nell'“Inventory Area” controllare/caricare i “Tip Rack”.
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 Negative Control.
15	Fare clic su “Next” per proseguire.	Fare clic su “Next” per proseguire.	Fare clic su “Next” per proseguire.
16	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.
17	Premere “Start”.	Premere “Start”.	Premere “Start”.

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

NOTA

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

NOTA

Alla fine della 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 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 **Positive Control**, chiuderle e conservarle a -20 °C o temperatura inferiore. Evitare la fuoriuscita accidentale del **Positive Control**. Smaltire le provette di **Negative Control**.

NOTA

Il **GI-B Positive Control** può essere utilizzato per 4 sessioni di lavoro indipendenti da 3 ore ciascuna.

NOTA

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

9.3 FASE 3 - Esame e approvazione dei risultati

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

Lo strumento **ELITE InGenius** genera i risultati del prodotto **GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit** attraverso due procedure:

1. Validazione dei risultati del Positive Control e Negative Control,
2. Validazione dei risultati dei campioni,
3. Refertazione dei risultati dei campioni.

9.3.1 Validazione dei risultati del Positive Control e Controllo Negativo

Il software **ELITE InGenius** interpreta i risultati di PCR dei target del Positive Control e del Negative Control con i parametri inclusi negli Assay Protocol "**GI Bacterial PLUS ELITE_PC**" e "**GI Bacterial PLUS ELITE_NC**". I valori di Ct e Tm ottenuti sono utilizzati per validare il sistema (lotto di reagenti e strumento).

I risultati del Positive Control e del Negative Control, specifici per i lotto di reagenti per PCR, vengono registrati nel database (Controls). Essi possono essere consultati e approvati da personale avente la qualifica di "Administrator" o "Analyst", seguendo le istruzioni visualizzate sulla GUI.

I risultati del Positive Control e del Negative Control scadono dopo **15 giorni**.

I risultati di amplificazione del Positive Control e del Negative Control vengono utilizzati dal software **ELITE InGenius** per impostare i grafici di controllo che monitorano le prestazioni delle fasi di amplificazione. Consultare il manuale dello strumento per maggiori dettagli.

NOTA

Se il risultato della reazione di amplificazione del Positive Control o del Negative Control 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 Positive Control o del Negative Control.

NOTA

Se il Positive Control o il Negative Control sono amplificati insieme ai campioni da analizzare e il risultato non è valido, i campioni possono essere approvati, ma i risultati non sono validati. In tal caso, anche l'amplificazione di tutti i campioni deve essere ripetuta.

9.3.2 Validazione dei risultati dei campioni

Il software **ELITE InGenius** interpreta i risultati di amplificazione dei target (canali **Cam**, **Cdif**, **Sal**, **Shi** e **Yen**) e del controllo Interno (canale **IC**) con i parametri inclusi negli 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) Positive Control	Status
GI-B Positive Control	APPROVATO
2) Negative Control	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 i DNA dei patogeni è stato rilevato o non rilevato.

Tabella 9

Risultato di una sessione sul campione	Interpretazione
Cam:DNA Detected. (Cam:DNA Rilevato).	Nel campione è stato rilevato il DNA di <i>Campylobacter</i> spp.
Cdif:DNA Detected. (Cdif:DNA Rilevato).	Nel campione è stato rilevato il DNA di <i>Ureaplasma parvum</i> .
Cdif:DNA Detected Possible Ribotype 027 (Cdif:DNA Rilevato Possibile Ribotipo 027).	Nel campione è stato rilevato il DNA di <i>Clostridioides difficile</i> , possibile ribotipo 027.
Sal:DNA Detected. (Sal:DNA Rilevato).	Nel campione è stato rilevato il DNA di <i>Salmonella</i> spp.
Shi:DNA Detected. (Shi:DNA Rilevato).	Nel campione è stato rilevato il DNA di <i>Shigella</i> spp.
Yen:DNA Detected Yenterocolitica. (Yen: DNA Rilevato Yenterocolitica).	Nel campione è stato rilevato il DNA di <i>Yersinia enterocolitica</i> .
Yen:DNA Detected species not determined (Yen:DNA Rilevato specie non determinata)	Nel campione è stato rilevato il DNA di una specie di <i>Yersinia</i> (diversa da <i>Y. enterocolitica</i>). La presenza di <i>Y. enterocolitica</i> a bassi livelli non può essere esclusa.
Cam:DNA Not detected or below the LoD. (Cam:DNA Non rilevato o inferiore LoD).	Nel campione non è stato rilevato il DNA di <i>Campylobacter</i> spp. Il campione è negativo per il DNA di <i>Campylobacter</i> spp. oppure la sua concentrazione è inferiore al limite di rilevazione (LoD) del saggio.

Tabella 9 (segue)

Risultato di una sessione sul campione	Interpretazione
Cdif:DNA Not detected or below the LoD. (Cdif:DNA Non rilevato o inferiore LoD).	Nel campione non è stato rilevato il DNA di <i>Clostridioides difficile</i> . Il campione è negativo per il DNA di <i>Clostridioides difficile</i> oppure la sua concentrazione è inferiore al limite di rilevazione (LoD) del saggio.
Sal:DNA Not detected or below the LoD. (Sal:DNA Non rilevato o inferiore LoD).	Nel campione non è stato rilevato il DNA di <i>Salmonella</i> spp. Il campione è negativo per il DNA di <i>Salmonella</i> spp. oppure la sua concentrazione è inferiore al limite di rilevazione (LoD) del saggio.
Shi:DNA Not detected or below the LoD. (Shi:DNA Non rilevato o inferiore LoD).	Nel campione non è stato rilevato il DNA di <i>Shigella</i> spp. Il campione è negativo per il DNA di <i>Shigella</i> spp. oppure la sua concentrazione è inferiore al limite di rilevazione (LoD) del saggio.
Yen:DNA Not detected or below the LoD. (Yen:DNA Non rilevato o inferiore LoD).	Nel campione non è stato rilevato il DNA di <i>Yersinia enterocolitica</i> . Il campione è negativo per il DNA di <i>Yersinia enterocolitica</i> oppure la sua concentrazione è inferiore al limite di rilevazione (LoD) del saggio.
Invalid-Retest Sample (Invalido-Ripeti test su campione).	Risultato del saggio non valido per un errore del controllo interno (estrazione errata, presenza di un inibitore o errore di campionamento). Il test deve essere ripetuto.

Campioni che riportano il risultato "Invalido-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 (e. g. errato campionamento, degradazione o perdita di DNA durante l'estrazione o presenza di inibitori nell'eluato), che possono generare risultati errati.

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

I campioni che riportano "Yen:DNA Detected species not determined" (Yen:DNA Rilevato specie non determinata) sono idonei per l'analisi e nel campione è stato rilevato DNA di *Yersinia* proveniente da un organismo non previsto (diverso da *Y. enterocolitica*). In questo caso non si può escludere la presenza di *Y. enterocolitica* a bassa concentrazione.

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

10 PROCEDURA ELITE BeGenius

La procedura per l'uso del prodotto **GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit** con lo strumento **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 Positive Control e del Controllo Negativo (PCR Only).
FASE 3	Esame ed approvazione dei risultati	1) Validazione dei risultati del Positive Control e del Negative Control
		2) Validazione dei risultati del campione
		3) Refertazione dei risultati del campione

10.1 FASE 1 - Verifica che il sistema sia pronto

Prima di iniziare la sessione:

- accendere lo strumento **ELITE BeGenius** e selezionare la modalità "**CLOSED**",
- nella sezione "Controls" della schermata Home, verificare che i controlli di PCR (**GI-B Positive Control**, **GI-B Negative Control**) siano processati, approvati e non scaduti (Status) per il lotto di **PCR Mix** da utilizzare. Se non sono disponibili controlli validi per il lotto di **GI-B PCR Mix**, 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 "[8 CAMPIONI E CONTROLLI pagina 7](#)").

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 su **ELITE BeGenius** per eseguire:

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

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

NOTA

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

Prima di impostare una sessione:

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

NOTA

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

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

Tabella 11 Procedure ELITE BeGenius

	A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)	B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)	C. Corsa del Positive Control e del Negative Control (PCR Only)
1	Identificare i campioni e, se necessario, scongelare a temperatura ambiente. Pretrattare i campioni secondo la procedura descritta nella sezione "Campioni e controlli". Per questo saggio trasferire 200 µL di campione pretrattato in una provetta Sarstedt da 2 mL precedentemente etichettata.	Se necessario, scongelare gli Elution tube contenenti gli acidi nucleici estratti a temperatura ambiente. Agitare delicatamente, quindi centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.	Scongelare i tubi del Positive Control a temperatura ambiente per 30 minuti. Ciascun tubo contiene un volume sufficiente per preparare 4 reazioni. Agitare delicatamente, quindi centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.
2	Scongelare i tubi di CPE necessari a temperatura ambiente per 30 minuti. Agitare delicatamente, quindi centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo. Ciascun tubo contiene un volume sufficiente per preparare 12 estrazioni.	Non applicabile	Preparare il Negative Control trasferendo almeno 50 µL di acqua per biologia molecolare in un "Elution Tube", fornito in dotazione con i materiali di consumo di ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Nella schermata "Home", selezionare "Perform Run" .	Nella schermata "Home", selezionare "Perform Run" .	Nella schermata "Home", selezionare "Perform Run" .
4	Rimuovere tutti i Rack dalla "Cooler Unit" e posizzionarli sul tavolo di preparazione.	Rimuovere i "Rack" dalle "Lane 1, 2 e 3" (L1, L2, L3) della "Cooler Unit" e posizzionarli sul tavolo di preparazione.	Rimuovere i "Rack" dalle "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". Quando si caricano tubi secondari "2 mL Tubes", utilizzare gli adattatori blu per il "Sample Rack".	Caricare i campioni nell'"Elution Rack".	Caricare i tubi del Positive Control e del Negative Control nell'"Elution Rack".
7	Inserire il "Sample Rack" nella "Cooler Unit" a partire dalla "Lane 5" (L5). Se necessario, inserire il "Sample ID" (SID) per ciascuna "Posizione" utilizzata (se si caricano tubi secondari, contrassegnare "2 mL Tube". Se i tubi secondari non hanno codice a barre, digitare manualmente il "Sample ID").	Inserire l'"Elution Rack" nella "Cooler Unit" a partire dalla "Lane 3" (L3). Se necessario, per ogni "Position" inserire il "Sample ID", la "Sample matrix", l'"Extraction kit", l'"Extracted eluate vol." (volume eluato) e l'Internal Control.	Inserire l'"Elution Rack" nella "Cooler Unit" a partire dalla "Lane 3" (L3). Se necessario, per ogni "Position" inserire "Reagent name" e "S/N" (numero di serie), "Lot No." (numero di lotto), "Exp. Date" (data di scadenza) e "T/R" (numero di reazioni).
8	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
9	Verificare che "Extraction Input Volume" sia 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia 100 µL.	Non applicabile.	Non applicabile.

Tabella 11 Procedure ELITe BeGenius (segue)

	A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)	B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)	C. Corsa del Positive Control e del Negative Control (PCR Only)
10	Selezionare l'Assay Protocol nella colonna "Assay" (vedere "8 CAMPIONI E CONTROLLI pagina 7").	Selezionare l'Assay Protocol nella colonna "Assay" (vedere "8 CAMPIONI E CONTROLLI pagina 7").	Selezionare l'Assay Protocol nella colonna "Assay" (vedere "8 CAMPIONI E CONTROLLI pagina 7").
11	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
	Nota: Quando si processano più di 12 campioni, ripetere la procedura dal punto 6.		-
12	Caricare gli "Elution Tube" nell'"Elution Rack" (gli Elution Tube possono essere etichettati con il codice a barre per una miglior tracciabilità).	Non applicabile	Non applicabile
13	Inserire l'"Elution Rack" nella "Cooler Unit" a partire dalla "Lane 3" (L3). Quando si processano più di 12 campioni, ripetere la procedura utilizzando la "Lane 2" (L2).	Non applicabile	Non applicabile
14	Fare clic su "Next" per proseguire.	Non applicabile	Non applicabile
15	Caricare la CPE e la PCR Mix nel "Reagent/Elution Rack".	Caricare la PCR Mix nel "Reagent/Elution Rack".	Caricare la PCR Mix nel "Reagent/Elution Rack".
16	Inserire il "Reagent/Elution Rack" nella "Cooler Unit" nella "Lane 2" (L2) se disponibile o nella "Lane 1" (L1). Se necessario, per ciascun reagente PCR Mix e/o CPE, inserire "S/N" (numero di serie), "Lot No." (numero di lotto), "Exp. Date" (data di scadenza) e "T/R" (numero di reazioni).	Inserire il "Reagent/Elution Rack" nella "Cooler Unit" nella "Lane 2" (L2) se disponibile o nella "Lane 1" (L1). Se necessario, per ogni reagente della PCR Mix, inserire "S/N" (numero di serie), "Lot No." (numero di lotto), "Exp. Date" (data di scadenza) e "T/R" (numero di reazioni).	Inserire il "Reagent/Elution Rack" nella "Cooler Unit" nella "Lane 2" (L2) se disponibile o nella "Lane 1" (L1). Se necessario, per ogni reagente della PCR Mix, inserire "S/N" (numero di serie), "Lot No." (numero di lotto), "Exp. Date" (data di scadenza) e "T/R" (numero di reazioni).
17	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
18	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'"Inventory Area" e sostituire i Tip Racks se necessario.	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'"Inventory Area" e sostituire i Tip Racks se necessario.	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'"Inventory Area" e sostituire i Tip Racks se necessario.
19	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
20	Caricare il "PCR Rack" con la "PCR Cassette" nell'Inventory Area.	Caricare il "PCR Rack" con la "PCR Cassette" nell'Inventory Area.	Caricare il "PCR Rack" con la "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" con le cartucce di estrazione "ELITe InGenius SP 200" e i materiali di consumo richiesti per l'estrazione.	Non applicabile	Non applicabile
23	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.
24	Premere "Start".	Premere "Start".	Premere "Start".

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

NOTA

Alla fine della sessione, rimuovere dallo strumento gli **Elution tube** con il campione estratto residuo, tapparlo, identificarlo e conservarlo a $-20 \pm 10^\circ\text{C}$ per non più di un mese. Evitare di provocare la fuoriuscita del campione estratto.

NOTA

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

NOTA

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

NOTA

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

NOTA

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

10.3 FASE 3 - Esame e approvazione dei risultati

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

NOTA

Lo strumento **ELITE BeGenius** può essere collegato al "Laboratory Information System" (LIS) che consente di inviare i risultati della sessione al centro elaborazione dati del laboratorio. Consultare il manuale di istruzioni dello strumento per maggiori dettagli.

Lo strumento **ELITE BeGenius** genera i risultati del prodotto **GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit** attraverso due procedure:

1. Validazione dei risultati del Positive Control e Negative Control,
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 rilevabilità (LoD) del saggio è stato determinato per gli strumenti ELITE BeGenius ed ELITE InGenius analizzando campioni di feci raccolte senza conservanti inoculate con materiale di riferimento di *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* e *Yersinia enterocolitica* (DSMZ e 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 Limite di rilevabilità (LoD)

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 LoD calcolato è stato verificato analizzando su ELITE BeGenius ed ELITE InGenius campioni di feci raccolte senza conservanti e campioni di feci raccolte in FecalSwab inoculate con materiale di riferimento di *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* e *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, intesa come efficienza di rilevazione per 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 dimostrato la conservazione della sequenza e l'assenza di mutazioni significative. Pertanto, si prevede una rilevazione efficiente di differenti 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 Risultati dei test di inclusività

Campione	Pos. / Rep.	Esito
<i>Campylobacter jejuni</i>	6 / 6	Cam:DNA Detected. (Cam:DNA Rilevato)
<i>Campylobacter coli</i>	6 / 6	Cam:DNA Detected. (Cam:DNA Rilevato)
<i>Campylobacter lari</i>	6 / 6	Cam:DNA Detected. (Cam:DNA Rilevato)
<i>C. difficile</i> 002	6 / 6	Cdif:DNA Detected. (Cdif:DNA Rilevato)
<i>C. difficile</i> 078	6 / 6	Cdif:DNA Detected. (Cdif:DNA Rilevato)
<i>C. difficile</i> 017	6 / 6	Cdif:DNA Detected. (Cdif:DNA Rilevato)

Tabella 13 Risultati dei test di inclusività (segue)

Campione	Pos. / Rep.	Esito
<i>C. difficile</i> 027-1	6 / 6	Cdif:DNA Detected Possible Ribotype 027 (Cdif:DNA Rilevato possibile ribotipo 027).
<i>C. difficile</i> 027-2	6 / 6	Cdif:DNA Detected Possible Ribotype 027 (Cdif:DNA Rilevato possibile ribotipo 027)
<i>Salmonella enterica</i>	6 / 6	Sal:DNA Detected. (Sal:DNA Rilevato)
<i>Salmonella bongori</i>	6 / 6	Sal:DNA Detected. (Sal:DNA Rilevato)
<i>Shigella flexneri</i>	6 / 6	Shi:DNA Detected. (Shi:DNA Rilevato)
<i>Shigella boydii</i>	6 / 6	Shi:DNA Detected. (Shi:DNA Rilevato)
<i>Shigella sonnei</i>	6 / 6	Shi:DNA Detected. (Shi:DNA Rilevato)
<i>Yersinia enterocolitica</i> subsp. enterocolitica	6 / 6	Yen:DNA Detected Yenterocolitica. (Yen: DNA Rilevato Yenterocolitica)
<i>Yersinia enterocolitica</i> subsp. palearctica	6 / 6	Yen:DNA Detected Yenterocolitica. (Yen: DNA Rilevato Yenterocolitica)

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

11.3 Interferenza tra target

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

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

Tabella 14 Interferenza tra i risultati dei test sui target

Target in test (basse copie)	Interferenza tra targets a 2.500.000 CFU / mL				
	Campylobacter	C. difficile	Salmonella	Shigella	Yersinia
<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 dimostra una interferenza minima tra i target. Tutti i target possono essere rilevati anche quando sono circa 1000 volte inferiori rispetto agli altri agenti patogeni di interesse.

11.4 Organismi potenzialmente interferenti: Cross-reattività

La potenziale cross-reattività con altri microrganismi che si possono rilevare nei campioni clinici di feci è stata valutata per il saggio mediante analisi *in silico*. L'analisi non ha evidenziato alcuna omologia significativa con la maggior parte degli organismi non desiderati (virus, batteri, protozoi e funghi) e pertanto non sono previste reazioni crociate, ad eccezione dell'*Escherichia coli* eteroinvasiva (EIEC) e di alcune specie di *Yersinia*. La regione amplificata del gene *ipaH*, target per le specie *Shigella* è infatti condivisa con gli *Escherichia coli* eteroinvasivi (EIEC), che sono geneticamente correlati a *Shigella* e sono rilevati da questo prodotto come positivi per *Shigella*. Inoltre, sono state osservate alcune omologie nel gene *foxA* utilizzato per la rilevazione di *Yersinia enterocolitica* con altre specie di *Yersinia*, tra cui *Yersinia frederiksenii*, *Yersinia intermedia*, *Yersinia mollaretii* e *Yersinia kristensenii*.

L'assenza di cross-reattività con organismi potenzialmente interferenti è stata verificata anche mediante l'analisi di un pannello di organismi diversi da quello di interesse (ATCC, ZeptoMetrix, DSMZ e DNA plasmidici).

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

Tabella 15 Risultati dei test di cross-reattività con organismi

Campione	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

Tabella 15 Risultati dei test di cross-reattività con organismi (segue)

Campione	Positivi / Replicati						Esito
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
Astrovirus	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
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
<i>Yersinia frederiksenii</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività*
<i>Yersinia intermedia</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività*
<i>Yersinia mollaretii</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività*
<i>Yersinia kristensenii</i> (ceppo CDC 1459-81)	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività
<i>Yersinia kristensenii</i> (ceppo 2012N-4030)	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Nessuna cross-reattività*

Tutti gli organismi potenzialmente interferenti analizzati non hanno evidenziato alcuna cross-reattività per l'amplificazione dei target utilizzando il prodotto GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit.

Alcune specie di *Yersinia* (*) sono risultate positive per il target Yen. Tuttavia, a causa della diversa temperatura di melting (T_m) tra *Y. enterocolitica* ed altre specie di *Yersinia* species, l'Assay Protocol riporta il risultato "Yen: DNA Detected species not determined" (Yen:DNA Rilevato specie non determinata).

11.5 Organismi potenzialmente interferenti: Inibizione

La potenziale inibizione di organismi diversi da quello di interesse che si possono rilevare nei campioni clinici di feci è stata valutata per il saggio mediante l'analisi di pannelli di organismi diversi da quello di interesse (ATCC, ZeptoMetrix e DSMZ) inoculati con *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* e *Yersinia enterocolitica* (DSMZ e ZeptoMetrix).

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

Tabella 16 Risultati dei test di inibizione con organismi

Campione	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

Tabella 16 Risultati dei test di inibizione con organismi (segue)

Campione	Positivi / Replicati						Esito
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
<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
<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
<i>Yersinia frederiksenii</i>	5 / 5	5 / 5	0 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Inibizione per il target Yen
<i>Yersinia intermedia</i>	5 / 5	5 / 5	0 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Inibizione per il target Yen
<i>Yersinia mollaretii</i>	5 / 5	5 / 5	0 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Inibizione per il target Yen
<i>Yersinia kristensenii</i> (ceppo CDC 1459-81)	5 / 5	5 / 5	0 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Inibizione per il target Yen
<i>Yersinia kristensenii</i> (ceppo 2012N-4030)	5 / 5	5 / 5	0 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Inibizione per il target Yen

La maggior parte degli organismi potenzialmente interferenti analizzati non ha evidenziato alcuna inibizione dell'amplificazione del target quando analizzati utilizzando il prodotto GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit. È stata osservata inibizione nei test di coamplificazione con *Y. enterocolitica* a basse concentrazioni e alte concentrazioni di *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia*, *Y. mollaretii* e *Y. kristensenii*.

In questo caso, anche se *Y. enterocolitica* è presente a livelli bassi, il protocollo di analisi riporta il risultato di "Yen: DNA Detected species not determined (Yen:DNA Rilevato specie non determinata)

11.6 Sostanze potenzialmente interferenti: Cross-reattività

La 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 Risultati dei test di cross-reattività con sostanze

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
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

Il test ha dimostrato che tutte le sostanze analizzate non creano cross-reattività con i target utilizzando il prodotto GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit.

11.7 Sostanze potenzialmente interferenti: Inibizione

La potenziale inibizione di sostanze interferenti (endogene ed esogene) che potrebbero essere presenti nei campioni clinici di feci è stata valutata per il saggio mediante l'analisi di un pannello di sostanze a concentrazioni rilevanti in campioni inoculati con *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* e *Yersinia enterocolitica* (DSMZ e ZeptoMetrix).

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

Tabella 18 Risultati dei test di inibizione con sostanze

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
Nonossinolo -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
Bisacodyl	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
Metronidazole	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, 1%	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
Magnesio trisilicato	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

Il test ha dimostrato che le sostanze analizzate non inibiscono la rilevazione dei target utilizzando il prodotto GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit.

11.8 Cross-contaminazione

La possibile *cross-contaminazione* durante l'analisi è stata valutata per il saggio analizzando 60 replicati di un campione di feci negativo alternato a 60 replicati dello stesso campione inoculati con *Campylobacter jejuni* (DSMZ) a una concentrazione di 1.000.000 CFU/mL in 5 sessioni.

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

Tabella 19 Risultati dei test di cross-contaminazione

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

In questa analisi con il prodotto GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit, non è stata rilevata alcuna cross-contaminazione né all'interno delle sessioni né tra una sessione e l'altra.

11.9 Tasso totale di errore di sistema

Il tasso totale di errore del sistema per il saggio è stato valutato analizzando 50 diversi campioni di feci negative raccolte senza conservanti e 30 campioni di feci raccolte in FecalSwab addizionati con *Campylobacter jejuni* (DSMZ) alla concentrazione di 3 volte il LoD (216 CFU/mL).

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

Tabella 20 Risultati dei test sul tasso totale di errore del sistema

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

In questa analisi con il prodotto GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit, il 98% dei provini di feci raccolte senza conservanti e il 100% dei campioni di feci raccolti in FecalSwab sono stati confermati positivi. In questo test il tasso totale di errore del sistema è stato pari al 2% per i campioni di feci nativi 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 analizzando un pannello di campioni di feci raccolte senza conservanti negative o inoculate con *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* e *Yersinia enterocolitica* (DSMZ e ZeptoMetrix).

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

Tabella 21 Esempio di risultati del test di ripetibilità intra-sessione (BeGenius, in 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%

Tabella 21 Esempio di risultati del test di ripetibilità intra-sessione (BeGenius, in un giorno) (segue)

Campione	Target	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
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%

La tabella seguente mostra un esempio dei risultati di ripetibilità intra-sessione (in un giorno) su ELITe InGenius.

Tabella 22 Esempio di risultati del test di ripetibilità intra-sessione (InGenius, in 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%

La tabella seguente mostra un esempio dei risultati di ripetibilità inter-sessione (in due giorni) su ELITE BeGenius.

Tabella 23 Esempio di risultati del test di ripetibilità intra-sessione (BeGenius, in un giorno)

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%

La tabella seguente mostra un esempio dei risultati di ripetibilità inter-sessione (in due giorni) su ELITE InGenius.

Tabella 24 Esempio di risultati del test di ripetibilità intra-sessione (InGenius, in 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, il prodotto GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit ha rilevato tutti i campioni come previsto e ha mostrato una variabilità massima dei valori di Ct del target espressa come %CV pari a 3,31%.

11.11 Riproducibilità

La riproducibilità del saggio è stata valutata su ELITE BeGenius ed ELITE InGenius analizzando un pannello di campioni di feci raccolte senza conservanti negative o inoculate con *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* e *Yersinia enterocolitica* (DSMZ e ZeptoMetrix).

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

Tabella 25 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%

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

Tabella 26 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%

I risultati di Riproducibilità Inter-Strumento (su sei giorni, tre lotti e tre strumenti) con ELITe BeGenius sono mostrati nella tabella seguente.

Tabella 27 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%

I risultati di Riproducibilità Inter-Strumento (su sei giorni, tre lotti e tre strumenti) con ELITE InGenius sono mostrati nella tabella seguente.

Tabella 28 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	Cam (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	31.82	0.38	1.18	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Yen (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	35.67	0.97	2.71	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Sal (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	36.19	1.49	4.11	100%
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Shi (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	34.46	0.76	2.21	100%
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100%

Nel test di riproducibilità, il prodotto GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit ha rilevato tutti i campioni come previsto e ha mostrato una variabilità massima dei valori di Ct del target espressa come %CV pari a 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 Cary Blair, 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 del prodotto GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit in associazione alle feci in questo test è stata pari al 99,6% per Cam, al 99,3% per Cdif, al 99,4% per Sal, al 100% per Shi e al 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	Specificità Diagnostica %
Positivo per <i>Campylobacter</i> spp.	100	100	0	100%
Positivo per <i>Clostridium difficile</i>	51	49	2	96,3%
Positivizzato per <i>Clostridium difficile</i> 027	3	3	0	
Positivo per <i>Campylobacter</i> spp.	56	56	0	100%
Positivo per <i>Campylobacter</i> spp.	31	31	0	100%
Positivizzato per <i>Shigella</i>	22	22	0	
Positivo per <i>Yersinia enterocolitica</i>	39	39	0	100%
Positivizzato per <i>Yersinia enterocolitica</i>	12	12	0	

La sensibilità diagnostica del prodotto GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit in associazione alle feci è stata pari al 100% per Cam, al 96,3% per Cdif, al 100% per Sal, al 100% per Shi e al 100% per Yen.

NOTA

I dati e i risultati completi delle prove eseguite per la valutazione delle caratteristiche prestazionali del prodotto con le matrici e gli strumenti sono registrati nel Fascicolo Tecnico di Prodotto "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
- 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 all'uso come ausilio nella diagnosi della febbre enterica e nell'identificazione della *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 Positive Control 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, amplificazione 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 non è stato rilevato nel DNA estratto dal campione, ma non si può escludere che il DNA target abbia un titolo più basso del limite di rilevabilità del prodotto (si veda "[11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI pagina 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 (si veda "[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* eccetto per i ceppi di *Escherichia coli* *eteroinvasivi* (EIEC), che sono geneticamente correlati a *Shigella* e sono 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 Positive Control non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errata impostazione dello strumento.	Controllare la posizione della PCR Mix e del Positive Control. 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 Positive Control.	Non utilizzare il Positive Control per più di 4 sessioni indipendenti (3 ore ciascuna nell'area di estrazione). Utilizzare una nuova aliquota del Positive Control.
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup.

Tabella 32

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

Tabella 33

Reazione del campione non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errata impostazione dello strumento.	Controllare la posizione della PCR Mix del campione. Controllare i volumi della PCR Mix 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. Preparare una nuova aliquota della PCR Mix.
Degradazione del Controllo Interno.	Utilizzare una nuova aliquota del Controllo Interno.
Inibizione dovuta a sostanze interferenti nel 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.

Tabella 34

Curva di dissociazione anomala	
Possibili cause	Soluzioni
Assenza di un picco definito. Picco definito, ma Tm differente rispetto a quello di altri campioni e a quello del Positive Control.	Controllare che il valore Ct del target sia inferiore a 30. Elevate quantità di prodotti di amplificazione alla fine della reazione possono interferire con l'analisi della curva di melting. Ripetere la reazione di 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 segnale di fluorescenza anomalo.	Se nel grafico della PCR si osserva un'amplificazione significativa, selezionare il tracciato correlato al campione e approvare manualmente il risultato come positivo. Se nel grafico della PCR non si osserva alcuna amplificazione, selezionare il tracciato correlato al campione e approvare manualmente il risultato come negativo o lasciarlo come non valido. Se è richiesto un valore di ciclo-soglia (Ct): <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); ripetere l'estrazione del campione pretrattato 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 tra campioni nei passaggi pre-analitici.	<p>Pulire la micropipetta con soluzione fresca di ipoclorito di sodio (candeggina) al 3% o con un detergente per DNA/ RNA dopo aver pipettato ogni campione.</p> <p>Non utilizzare le pipette Pasteur. Utilizzare pipette del tipo a spostamento positivo oppure munirle di puntali con filtro per aerosol.</p> <p>Introdurre i campioni nelle ultime posizioni degli strumenti, come indicato nella 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 con U.V.</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 IVDR 2017\746\CE relativo ai dispositivi medico-diagnostici *in vitro*.
Certificato rilasciato da TÜV SÜD Product Service GmbH, Germania.



Identificazione unica del dispositivo



Contenuto sufficiente per "N" test.



Consultare le istruzioni per l'uso.



Contenuto.



Conservare al riparo dalla luce del sole.



Fabbricante.

16 AVVISO PER L'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. Per informare ELITechGroup S.p.A., produttore del presente dispositivo, si prega di utilizzare il seguente indirizzo e-mail: egspa.vigilance@elitechgroup.com.

17 AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA

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

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

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

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

MGB®, Eclipse Dark Quencher®, AquaPhluor®, ELITe MGB®, il logo ELITe MGB®, ELITe InGenius® ed ELITe BeGenius® sono marchi registrati di ELITechGroup nell'Unione Europea.

Minitip Flocked Swab® è un marchio registrato di COPAN Italia S.p.A., FecalSwab™ è un marchio registrato di COPAN Italia S.p.A.

Appendix A GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit utilizzato in associazione alle piattaforme della serie Genius



ATTENZIONE

Il presente documento è una versione sintetica del manuale di istruzioni ufficiale. Fare riferimento al documento completo prima dell'uso: www.elitechgroup.com

Uso previsto

Il prodotto **GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit** è un dispositivo medico-diagnostico in vitro destinato all'uso da parte degli operatori sanitari come saggio di Real-Time PCR qualitativa multiplex degli acidi nucleici per la rilevazione e l'identificazione del DNA genomico di *Campylobacter* spp. (**Cam**), *Clostridium difficile* (noto anche come *Clostridioides difficile*, **Cdif**), compresa 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 delle infezioni batteriche gastrointestinali 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 della febbre enterica e non è destinato all'uso come ausilio nell'identificazione della *Salmonella enterica* serovar Typhi (nota anche come *Salmonella typhi*) per la valutazione dello stato di portatore dei pazienti.



Sequenza amplificata

Sequenza	Gene	Fluoroforo	Canale
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
Controllo interno	IC2	AP525	IC

Matrice validata

- Feci raccolte senza conservanti
- Feci raccolte in FecalSwab (Cary Blair medium modificato)

Contenuto del Kit e prodotti correlati

GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit (RTS502ING)		GI Bacterial PLUS - ELITE Positive Control (CTR502ING)	
 X 8		 X 3	
GI-B PCR Mix 8 provette da 280 µL 12 reazioni per provetta 96 reazioni per kit 7 cicli di congelamento/scongelamento per provetta		GI-B Positive Control 3 provette da 160 µL 4 reazioni per provetta 12 reazioni per kit 4 cicli di congelamento/scongelamento	
Validità massima:	24 mesi	Validità massima:	24 mesi
Temperatura di conservazione	≤ -20°C	Temperatura di conservazione	≤ -20°C

Altri prodotti richiesti ma non forniti nel kit

<ul style="list-style-type: none"> Strumento ELITE InGenius: INT030. Strumento ELITE BeGenius: INT040. ELITE InGenius SP 200: INT032SP200. 	<ul style="list-style-type: none"> CPE - Internal Control: CTRCPE InhibitEX Buffer (QIAGEN GmbH, Germany, cod. 19593) o un dispositivo equivalente. Minitip Flocked Swab® (COPAN Italia S.p.A., Italy, cod. 501CS01) o un dispositivo equivalente. FecalSwab™ (COPAN Italia S.p.A., Italy, cod. 470CE) o un dispositivo equivalente. ELITE InGenius and ELITE BeGenius Consumable Set (vedere Istruzioni per l'uso di ELITE InGenius ed ELITE BeGenius)
---	--

Protocollo di ELITE InGenius e ELITE BeGenius

<ul style="list-style-type: none"> Volume del campione Volume di CPE Volume eluizione totale 	200 µL 10 µL 100 µL	<ul style="list-style-type: none"> Volume di eluato immesso nella PCR Volume di PCR Mix Frequenza dei controlli 	20 µL 20 µL 15 giorni
---	---------------------------	--	-----------------------------

Prestazioni di ELITE InGenius e ELITE BeGenius

Matrice	Target	Limite di rilevabilità	Sensibilità	Specificità
Feci / Feci raccolte 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)

Preparazione dei campioni

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

Tipo di campione	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
Feci raccolte in FecalSwab (Cary Blair medium modificato)	≤ 48 ore	≤ 5 giorni	≤ 1 mese	≤ 2 mesi

Procedure di ELITE InGenius

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

Prima dell'analisi

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

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

1. Selezionare "Perform Run" sul touch screen	2. Verificare i volumi di estrazione: Ingresso: "200 µL", eluizione: "100 µL"	3. Scansionare i codici a barre dei campioni con un lettore di codici a barre manuale o digitare l'ID campione
4. Selezionare l'"Assay Protocol" di interesse: GI Bacterial PLUS ELITE_ST_200_100	5. Selezionare il metodo "Extract + PCR" e la posizione del campione: Provetta contenente la soluzione di estrazione	6. Caricare la PCR Mix e il Controllo Interno nell'"Inventory Block"
7. Caricare: La PCR Cassette, la Cartuccia di Estrazione, l'Elution tube, la Cassette dei Puntali, i Rack delle "Extraction Tube"	8. Chiudere lo sportello. Avviare la sessione	9. Visualizzare, approvare e archiviare i risultati

NOTA

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

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

1. Selezionare "Perform Run" sul touch screen	2. Verificare i volumi di estrazione: Ingresso: "200 µL", eluizione: "100 µL"	3. Scansionare i codici a barre dei campioni con un lettore di codici a barre manuale o digitare l'ID campione
4. Selezionare l'"Assay Protocol" di interesse: GI Bacterial PLUS ELITE_ST_200_100 o GI Bacterial PLUS ELITE_PC o GI Bacterial PLUS ELITE_NC	5. Selezionare la modalità "PCR only" e impostare la posizione del campione su "Elution Tube"	6. Caricare la PCR Mix nell'"Inventory Block"
7. Caricare: Il Rack delle PCR Cassette e il Rack delle "Elution tube" con i campioni di DNA estratti da analizzare	8. Chiudere lo sportello. Avviare la sessione	9. Visualizzare, approvare e archiviare i risultati

Procedure di ELITE BeGenius

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

Prima dell'analisi

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

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

1. Selezionare "Perform Run" sul touch screen, quindi fare clic sul run mode «Extract + PCR»	2. Inserire il "Sample Rack" contenente i campioni con il codice a barre nella "Cooler Unit". La scansione del codice a barre è già attiva	3. Verificare i volumi di estrazione: Ingresso: "200 µL", Eluizione: "100 µL"
4. Selezionare l'"Assay Protocol" di interesse: GI Bacterial PLUS ELITE_Be_ST_200_100 Nota: se si esegue una seconda estrazione, ripetere i passaggi da 2 a 4	5. Stampare le etichette per identificare con il codice a barre gli Elution Tube vuoti. Caricare i tubi nell'Elution Rack e inserirlo nella Cooler Unit.	6. Caricare la PCR Mix e l'Internal Control nell'Elution Rack e inserirlo nella Cooler Unit.
7. Caricare il "PCR Rack" con la "PCR Cassette" e l'"Extraction Basket" con le cartucce di estrazione "ELITE InGenius SP 200" e i materiali di consumo per l'estrazione richiesti.	8. Chiudere lo sportello. Avviare la sessione	9. Visualizzare, approvare e archiviare i risultati

NOTA

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

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

1. Selezionare "Perform Run" sul touch screen e fare clic sulla modalità di esecuzione «PCR Only».	2. Caricare i tubi di acidi nucleici estratti o i tubi con i controlli dotati di codice a barre nell'Elution Rack e inserirlo nella Cooler Unit.	3. Per i controlli: per ogni "Position" inserire "Reagent name" e "S/N" (numero di serie), "Lot No." (numero di lotto), "Exp. Date" (data di scadenza) e "T/R" (numero di reazioni). Per gli eluati: per ogni "Position" inserire i dati relativi a "Sample ID", "Sample matrix", "Extraction kit" ed "Extracted eluate vol." (volume eluato).
4. Selezionare l'"Assay Protocol" di interesse: GI Bacterial PLUS ELITe_Be_ST_200_100 o GI Bacterial PLUS ELITe_Be_PC o GI Bacterial PLUS ELITe_Be_NC	5. Caricare la PCR-Mix nel Reagent/Elution Rack e inserirlo nella Cooler Unit.	6. Caricare il "PCR Rack" con la "PCR Cassette".
7. Chiudere lo sportello. Avviare la sessione	8. Visualizzare, approvare e archiviare i risultati	



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