

Istruzioni per l'uso

GI Viral PLUS ELITe MGB® Kit

reagenti per la trascrizione inversa dell'RNA e la Real-Time PCR



REF RTS501ING

UDI 08033891487515

CE **IVD**
0123

CRONOLOGIA REVISIONI

Rev.	Avviso di modifica	Data (gg/mm/aa)
01	Nuovo colore dei tappi delle provette contenenti la PCR Mix. Aggiornamento dei paragrafi: "Altri prodotti richiesti", "Materiali richiesti ma non inclusi nel prodotto", "Simboli", "Avviso per gli utilizzatori" e "Avviso per l'acquirente". Nuova impostazione grafica e del contenuto delle Istruzioni per l'uso (IFU).	28/10/25
00	nuovo prodotto	15/03/24

NOTA

La revisione delle presenti istruzioni per l'uso è compatibile anche con le versioni precedenti 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	21
12 BIBLIOGRAFIA	37
13 LIMITI DELLA PROCEDURA	37
14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI	38
15 LEGENDA DEI SIMBOLI	41
16 AVVISO PER L'UTILIZZATORE	42
17 AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA.....	42
Appendix A QUICK START GUIDE.....	43

1 USO PREVISTO

Il prodotto **GI Viral PLUS ELITE MGB® Kit** è un dispositivo medico-diagnostico in vitro destinato all'uso da parte degli operatori sanitari come saggio di trascrizione inversa e real-time PCR qualitativa multiplex per la **rilevazione e identificazione** del DNA genomico di Adenovirus (ADV) e dell'RNA genomico di Norovirus (NV), Rotavirus (RV), Astrovirus (ASV) e Sapovirus (SV), estratti da campioni clinici.

Il saggio è in grado di rilevare e identificare il DNA di Adenovirus appartenente ai sierotipi F40 e F41 (tipizzati tramite la temperatura di melting), l'RNA di Norovirus appartenente ai genogruppi GI e GII (tipizzati tramite la temperatura di melting), il Rotavirus appartenente al gruppo A, l'Astrovirus umano e il Sapovirus umano.

Il saggio è validato in associazione con gli strumenti **ELITE InGenius®** ed **ELITE BeGenius®**, sistemi integrati e automatizzati per l'estrazione, la trascrizione inversa, la Real-Time PCR e l'interpretazione dei risultati, utilizzando campioni di feci umane.

Il prodotto è destinato all'uso come ausilio nella diagnosi di infezioni gastrointestinali virali in pazienti sospettati di avere un'infezione da Adenovirus, Norovirus, Rotavirus, Astrovirus o Sapovirus.

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

2 PRINCIPIO DEL SAGGIO

Il saggio è una trascrizione inversa e Real-Time PCR (metodica one step) qualitativa multiplex per la rilevazione del DNA di Adenovirus e dell'RNA di Norovirus, Rotavirus, Astrovirus e Sapovirus isolato dai campioni, retro-trascritto e amplificato utilizzando una miscela completa di reazione che contiene primers e sonde con tecnologia ELITE MGB.

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

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

3 DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

Il prodotto **GI Viral PLUS ELITE MGB Kit** include i seguenti componenti:

- **GI-V PCR Mix**, una miscela ottimizzata e stabilizzata per PCR, che contiene i primers e le sonde specifici per:
- Il gene Hexon di Adenovirus F40 e F41, rilevato nel canale **ADV**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher®, e marcata con il fluoroforo AquaPhluor® 639 (AP639),
- il gene della Poliproteina RdRp di Norovirus GI e GII, rilevato nel canale **NV**; le sonde sono stabilizzate dal gruppo MGB, inattivate dall'Eclipse Dark Quencher, e marcate con il fluoroforo FAM,
- il gene NSP3 del Rotavirus gruppo A, rilevato nel Canale **RV**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher e marcata con il colorante AquaPhluor 593 (AP593),
- il gene della proteina del capsido dell'Astrovirus, rilevato nel Canale **ASV**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher, e marcata con il fluoroforo AquaPhluor 690 (AP690),
- il gene della poliproteina Sapovirus GI/GII/GIV e Sapovirus GV, rilevato nel Canale **SV**; le sonde sono stabilizzate dal gruppo MGB, inattivate dall'Eclipse Dark Quencher, e marcate con il fluoroforo AquaPhluor 559 (AP559),
- l'Internal Control (**IC**), specifico per una regione di RNA genomico di fago MS2, rilevato nel Canale **IC**; la sonda è stabilizzata da MGB, inattivata mediante Eclipse Dark Quencher e marcata con il fluoroforo AquaPhluor®525 (AP525).

La miscela **GI-V PCR Mix** che contiene anche buffer, magnesio cloruro, trifosfati nucleotidi e DNA polimerasi "hot-start".

- La **RT EnzymeMix**, una miscela ottimizzata e stabilizzata di enzimi per trascrizione inversa.

Il prodotto **GI Viral PLUS ELITE MGB Kit** consente di effettuare **96 test** in associazione con **ELITE InGenius** e **ELITE BeGenius** utilizzando rispettivamente 20 µL di **GI-V PCR Mix** e 0,3 µL di **RT EnzymeMix** per reazione.

Il prodotto **GI Viral 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-V PCR Mix cod. RTS501ING	Miscela di reagenti per trascrizione inversa e Real-Time PCR in provetta con tappo NEUTRO	4 x 600 µL	-
RT EnzymeMix cod. RTS003-RT	Enzimi per trascrittasi inversa in provetta con tappo con inserto NERO	2 x 20 µL	-

5 MATERIALI RICHIESTI MA NON INCLUSI NEL PRODOTTO

- Cappa a flusso laminare.
- Guanti senza polvere monouso in nitrile o materiale analogo.
- Agitatore vortex.
- Centrifuga da banco (~5.000 giri/minuto).
- Microcentrifuga da banco (~13,000 giri/minuto).
- 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, cod. 72.730.005).
- Acqua per biologia molecolare.

6 ALTRI PRODOTTI RICHIESTI

I reagenti per l'estrazione del campione, l'Internal Control di estrazione e inibizione, i Positive e Negative Controls di amplificazione e i materiali di consumo **non sono** inclusi in questo prodotto.

Per l'estrazione automatica degli acidi nucleici, la trascrizione inversa, la Real-Time PCR e l'interpretazione dei risultati dei campioni, sono richiesti i seguenti prodotti.

Tabella 2

Strumenti e software	Prodotti e reagenti
<p>ELITE InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA cod. INT030)</p> <p>ELITE InGenius Software versione 1.3.0.19 (o successiva)</p> <p>GI Viral PLUS ELITE_PC, Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Positive Control</p> <p>GI Viral PLUS ELITE_NC, Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Negative Control</p> <p>GI Viral PLUS ELITE_ST_200_100, Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di feci</p>	<p>GI Viral PLUS - ELITE Positive Control (EG SpA, cod. CTR501ING)</p> <p>CPE - Internal Control (EG SpA, cod. CTRCPE),</p> <p>ELITE InGenius SP200 (EG SpA, cod. INT032SP200)</p> <p>Consumabili ELITE InGenius ed ELITE BeGenius (vedere le istruzioni per l'uso di ELITE InGenius ed ELITE BeGenius)</p> <p>InhibitEX Buffer (QIAGEN GmbH, Germany, cod. 19593) o un dispositivo equivalente.</p> <p>Minitip Flocked Swab® (COPAN Italia S.p.A., Italy, cod. 501CS01) o un dispositivo equivalente.</p> <p>FecalSwab™ (COPAN Italia S.p.A., Italy, cod. 470CE,) o un dispositivo equivalente con terreno di trasporto Cary Blair.</p>
<p>ELITE BeGenius (EG SpA, cod. INT040)</p> <p>ELITE BeGenius Software versione 2.3.0 (o successiva)</p> <p>GI Viral PLUS ELITE_Be_PC, Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Positive Control.</p> <p>GI Viral PLUS ELITE_Be_NC, Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Negative Control</p> <p>GI Viral PLUS ELITE_Be_ST_200_100, Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di feci</p>	

7 AVVERTENZE E PRECAUZIONI

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

7.1 Avvertenze e precauzioni generali

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

Manipolare e smaltire tutti i reagenti e tutti i materiali utilizzati per eseguire il saggio come se 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.

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	Uso dopo la prima apertura	Cicli di congelamento/scongelamento
GI-V PCR Mix	-20 °C o inferiore (al riparo dalla luce)	Un mese	Fino a cinque
RT EnzymeMix	-20 °C o inferiore	Un mese	Fino a dieci cicli, fino a dieci minuti a 2/8 °C

8 CAMPIONI E CONTROLLI

8.1 Campioni

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

Tabella 4

Campione	Requisiti per la raccolta	Condizioni di trasporto/conservazione			
		+16/+26 °C (temperatura ambiente)	+2/+8 °C	-20 ± 10 °C	70 ± 15 °C-
Feci	raccolte senza conservanti	≤24 ore	≤48 ore	≤1 mese	≤2 mesi
	raccolti in FecalSwab	≤48 ore	≤5 giorni	≤1 mese	≤2 mesi

Si raccomanda di suddividere i campioni in aliquote prima di congelarli, per evitare di ripetere più cicli di congelamento e scongelamento. Se si usano campioni congelati, scongelarli immediatamente prima dell'estrazione in modo da evitare la possibile degradazione degli acidi nucleici.

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

Procedura di pretrattamento per campioni di feci raccolte senza conservanti:

1. trasferire 1 mL di InhibitEX Buffer in una provetta Sarstedt da 2 mL,
2. raccogliere il campione di feci con un tampone Minitip Flocked Swab with 80mm Break (Copan), prelevare il campione da parti diverse e scartare l'eccesso appoggiandolo 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 circa,
6. incubare in un termomixer a +80 °C circa e 800 RPM circa, per 10 min,
7. centrifugare a 10.000x RCF per 15 sec,
8. trasferire con cautela 200 µL del surnatante delle feci chiarificate in un Extraction tube (per lo strumento ELITE InGenius) o in una provetta Sarstedt da 2 mL (per lo strumento ELITE BeGenius) facendo attenzione a non prelevare il pellet di materiale fecale.

Procedura di pretrattamento per campioni di feci raccolte in FecalSwab:

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

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

Tabella 5

Assay Protocols per GI Viral PLUS ELITE MGB Kit				
Campione	Strumento	Nome Assay Protocol	Referto	Caratteristiche
Feci raccolte senza conservanti o feci raccolte in FecalSwab	ELITE InGenius	GI Viral PLUS ELITE_ST_200_100	Positivo/negativo	Volume estrazione in ingresso: 200 µL Volume eluizione: 100 µL Internal Control: 10 µL Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1 Volume PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 10 µL
	ELITE BeGenius	GI Viral 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 contenute nella sezione "Avvertenze e Precauzioni".

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 Caratteristiche delle prestazioni.

8.2 Controlli di PCR

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

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

- Per il Negative Control, utilizzare acqua per biologia molecolare (non fornita in questo kit) in associazione con gli Assay Protocols **GI Viral PLUS ELITE_NC** o **GI Viral PLUS ELITE_Be_NC**.

NOTA

Gli strumenti **ELITE InGenius** ed **ELITE BeGenius** consentono la generazione e l'archiviazione della convalida dei controlli di amplificazione per ciascun lotto di reagente di PCR. I risultati dei controlli per PCR scadono dopo **15 giorni**; trascorso questo termine, è necessario rianalizzare i controlli positivo e negativo. I controlli per PCR devono essere rianalizzati ogni volta che si verifica uno degli eventi seguenti:

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

8.3 Controlli di qualità

Si raccomanda la verifica della procedura di estrazione e della PCR. Si possono utilizzare campioni archiviati o materiale di riferimento certificato. Quando disponibili, utilizzare i controlli esterni in conformità con le linee guida delle organizzazioni di accreditamento locali, statali e federali.

9 PROCEDURA ELITE InGenius

La procedura per l'uso del prodotto **GI Viral 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 Controllo Positivo e del Controllo Negativo
		2) Validazione dei risultati del campione
		3) Refertazione dei risultati del campione

9.1 FASE 1 - Verifica che il sistema sia pronto

Prima di iniziare la sessione:

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

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

9.2 FASE 2 - Impostazione della sessione

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

- Corsa dei campioni (Extract + PCR)
- Corsa dei campioni estratti (PCR Only)
- Corsa del Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR only)

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

NOTA

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

Prima di impostare una sessione:

- Scongelare le provette di **PCR Mix** necessarie, portandole a temperatura ambiente per 30 minuti. Ogni provetta è sufficiente per **24 test** in condizioni ottimali (2 o più test per sessione). Mescolare con un vortex a bassa velocità per 10 secondi per tre volte, quindi centrifugare il contenuto per 5 secondi e conservare in ghiaccio o in blocco freddo.

NOTA

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

- Prelevare le provette necessarie di **RT EnzymeMix**. Ciascuna provetta contiene un volume sufficiente per **48 test**. Agitare delicatamente la provetta, centrifugarla per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenerla in ghiaccio o in blocco freddo.

NOTA

Non esporre il prodotto **RT EnzymeMix** a temperature superiori a -20 °C per più di 10 minuti.

- Preparare un tubo da 2 mL (Sarstedt cod. 72.694.005, non fornito in questo kit) per la **miscela di reazione completa** ed etichettarlo utilizzando un pennarello indelebile.
- Calcolare i volumi necessari di **PCR Mix** e **RT EnzymeMix** per preparare la **miscela di reazione completa** in funzione del numero di campioni (N) da analizzare, come descritto nella tabella sottostante.

Tabella 7

Numero di campioni (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 12$	290 μL	4,4 μL

- Preparare la **miscela di reazione completa** trasferendo nel tubo da 2 mL etichettato i volumi calcolati dei due componenti. Mescolare con il vortex a bassa velocità per 10 secondi ripetendo l'operazione per tre volte, centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.

NOTA

La miscela di reazione completa deve essere appena preparata per ogni sessione di lavoro e **non** può essere conservata per essere riutilizzata.

NOTA

La miscela di reazione completa è fotosensibile per cui non esporla alla luce diretta.

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

Tabella 8

	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 test trasferire 200 µL di campione pre-trattato in un Extraction tube precedentemente etichettato.	Scongelare gli Elution Tube contenenti gli acidi nucleici estratti a temperatura ambiente. Agitare delicatamente, quindi centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.	Scongelare le provette di Positive Control a temperatura ambiente per 30 minuti. Agitare delicatamente, quindi centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo. Ciascuna provetta contiene un volume sufficiente per preparare 4 reazioni.
2	Scongelare le provette di CPE necessarie, portandole a temperatura ambiente per 30 minuti. Agitare delicatamente, quindi centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo. Ciascuna provetta contiene un volume sufficiente per preparare 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 l'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	Verificare che "Extraction Input Volume" sia 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia 100 µL.	Verificare che "Extraction Input Volume" sia 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia 100 µL.	Verificare che "Extraction Input Volume" sia 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia 100 µL.
5	Per ogni campione, assegnare un "Track" e compilare il "SampleID" (SID) digitando o scansionando il codice a barre.	Per ogni campione, assegnare un "Track" e compilare il "SampleID" (SID) digitando o scansionando il codice a barre.	Non applicabile.
6	Selezionare l'Assay Protocol nella colonna "Assay" (vedere "Provini e controlli").	Selezionare l'Assay Protocol nella colonna "Assay" (vedere "Provini e controlli").	Selezionare l'Assay Protocol nella colonna "Assay" (vedere "Provini e controlli"). Inserire il numero di lotto e la data di scadenza del controllo positivo e dell'acqua per biologia molecolare.
7	Verificare che il protocollo visualizzato sia: "Extract + PCR".	Nella colonna "Protocol" (protocollo) selezionare "PCR Only".	Verificare che nella colonna "Protocol" (Protocollo) sia selezionato "PCR Only".
8	Nella colonna "Sample Position" selezionare "Extraction tube" come posizione da cui caricare il campione.	Verificare che la posizione da cui caricare il campione riportata nella colonna "Sample Position" sia "Elution Tube (ultima riga)".	Verificare che la posizione da cui caricare il campione riportata nella colonna "Sample Position" sia "Elution Tube (ultima riga)".
9	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.

Tabella 8 (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	Caricare il CPE e la miscela di reazione completa nell'Inventory Block facendo riferimento alla "Load List" e inserire il numero di lotto di CPE e PCR Mix, la data di scadenza e il numero di reazione per ogni provetta.	Caricare la miscela di reazione completa nell'Inventory Block facendo riferimento alla "Load List" e inserire il numero di lotto della PCR Mix, la data di scadenza e il numero di reazione per ciascuna provetta.	Caricare la miscela di reazione completa nell'Inventory Block facendo riferimento alla "Load List" e inserire il numero di lotto della PCR Mix, la data di scadenza e il numero di reazione per ciascuna provetta.
11	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
12	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'Inventory Area e sostituire i Tip Racks se necessario.	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'Inventory Area e sostituire i Tip Racks se necessario.	Controllare i puntali negli appositi "Tip Racks" dell'Inventory Area e sostituire i Tip Racks se necessario.
13	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
14	Caricare la PCR Cassette, le cartucce per estrazione ELITE InGenius SP 200 e tutti i materiali di consumo richiesti e i campioni da estrarre.	Caricare la PCR Cassette e l'Elution Tube con i campioni estratti.	Caricare la PCR Cassette, i tubi del Positive Control e Negative Control.
15	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
16	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.
17	Premere "Start".	Premere "Start".	Premere "Start".

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

NOTA

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

NOTA

La miscela di reazione completa deve essere appena preparata per ogni sessione di lavoro e **non** può essere conservata per essere riutilizzata.

NOTA

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

NOTA

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

NOTA

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

9.3 FASE 3 - Esame e approvazione dei risultati

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

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

NOTA

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

Lo strumento **ELITE InGenius** genera i risultati del prodotto **GI Viral PLUS ELITE MGB Kit** attraverso la seguente procedura:

- A. Validazione dei risultati del Positive Control e del Negative Control,
- B. Validazione dei risultati relativi al campione,
- C. Compilazione del report dei risultati relativi al campione.

9.3.1 Validazione dell'amplificazione dei risultati del Positive Control e del Negative Control

L'ELITE InGenius Software interpreta i risultati della PCR per il target della reazioni del Positive Control e del Negative Control con i parametri degli Assay Protocol **ELITE_PC** ed **ELITE_NC**. I valori di Ct e Tm risultanti vengono utilizzati per verificare il sistema (lotto di reagenti e strumento).

I risultati del Positive Control e del Negative Control, specifici per il 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 dell'amplificazione del Positive Control e del Negative Control vengono utilizzati dal **software ELITE InGenius** per impostare i "Control Charts" (grafici di controllo) monitorando le prestazioni della fase di amplificazione. Consultare il manuale d'istruzioni dello strumento per maggiori dettagli.

NOTA

Se il risultato del Positive Control o del Negative Control non soddisfa i criteri di accettazione, sulla schermata "Calibration" appare il messaggio "Failed". In questo caso, i risultati non possono essere approvati e si devono ripetere le sessioni del Positive Control o del Negative Control.

NOTA

Se il risultato del Positive Control or Negative Control non è valido e i campioni erano inclusi nella medesima sessione, i campioni possono essere approvati ma i loro risultati non sono validati. In tal caso, il controllo o i controlli che hanno fallito e i campioni devono essere ripetuti.

9.3.2 Validazione dei risultati dei campioni

Il programma con **ELITE InGenius software** interpreta i risultati di amplificazione del target (Canali **NV, SV, ADV, RV** e **ASV**) e dell'Internal Control (Canale **IC**) con i parametri inclusi nell'Assay Protocol **GI Viral PLUS ELITE_ST_200_100**.

I risultati vengono visualizzati sulla schermata "Results Display".

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

Tabella 9

1) Controllo positivo	Stato
GI-V Positive Control	APPROVATO
2) Controllo negativo	Stato
GI-V Negative Control	APPROVATO

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

Per ogni campione il sistema riporta una combinazione dei seguenti messaggi specificando se il DNA e l'RNA dei patogeni è stato rilevato.

Tabella 10

Risultato di una sessione sul campione	Interpretazione
NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Rilevato Genogroup I)	L'RNA di Norovirus è stato rilevato nel campione e tipizzato come Genogruppo I.
NV:RNA Detected Genogroup II (NV:RNA Rilevato Genogroup II)	L'RNA di Norovirus è stato rilevato nel campione e tipizzato come Genogruppo II.
NV:RNA Detected Typing not determined (NV:RNA Rilevato Typing not determined)	L'RNA di Norovirus è stato rilevato nel campione ma in quantità insufficiente per effettuare la tipizzazione. Il test deve essere ripetuto.
NV:RNA Not detected or below the LoD (NV:RNA Non rilevato o inferiore LoD)	L'RNA di Norovirus non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per l'RNA target oppure la sua concentrazione è inferiore al limite di rilevabilità (LoD) del saggio.
SV:RNA Detected. (SV:RNA Rilevato)	L'RNA di Sapovirus è stato rilevato nel campione.
SV:RNA Not detected or below the LoD (NV:RNA Non rilevato o inferiore LoD)	L'RNA di Sapovirus non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per l'RNA target oppure la sua concentrazione è inferiore al limite di rilevabilità (LoD) del saggio.
RV:RNA Detected. (RV:RNA Rilevato)	L'RNA di Rotavirus è stato rilevato nel campione.
RV:RNA Not detected or below the LoD (NV:RNA Non rilevato o inferiore LoD)	L'RNA di Rotavirus non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per l'RNA target oppure la sua concentrazione è inferiore al limite di rilevabilità (LoD) del saggio.
ADV:DNA Detected Serotype F40 (ADV: DNA Rilevato Serotype F40)	Il DNA di Adenovirus è stato rilevato nel campione e tipizzato come Sierotipo F40.
ADV:DNA Detected Serotype F41 (ADV: DNA Rilevato Serotype F41)	Il DNA di Adenovirus è stato rilevato nel campione e tipizzato come Sierotipo F41.
ADV:DNA Detected Typing not determined (ADV:DNA Rilevato Typing not determined)	Il DNA di Adenovirus è stato rilevato nel campione, ma in quantità insufficiente per effettuare la tipizzazione. Il test deve essere ripetuto.
ADV:DNA Not detected or below the LoD.(ADV:DNA Non rilevato o inferiore LoD).	L'RNA di Adenovirus non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per il DNA target oppure la sua concentrazione è inferiore al limite di rilevabilità (LoD) del saggio.
ASV:RNA Detected (ASV:RNA Rilevato)	L'RNA di Astrovirus è stato rilevato nel campione.

Tabella 10 (segue)

Risultato di una sessione sul campione	Interpretazione
ASV:RNA Not detected or below the LoD (ASV:RNA Non rilevato o inferiore LoD).	L'RNA di Astrovirus non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per l'RNA target oppure la sua concentrazione è inferiore al limite di rilevabilità (LoD) del saggio.
Invalid-Retest Sample (Non valido - Ripeti test su campione)	Risultato del saggio non valido per un errore del controllo interno (dovuto ad es. a errata estrazione o effetto carryover degli inibitori). Il test deve essere ripetuto.

Campioni segnalati come "Invalid-Retest Sample" (Non valido – Ripeti test su campione): in questo caso, l'RNA del l'Internal Control non è stato rilevato in maniera efficace, probabilmente per problemi nelle fasi di campionamento, pretrattamento, estrazione, trascrizione inversa o PCR (ad es. campionamento sbagliato, degradazione o perdita di RNA durante l'estrazione o presenza di inibitori nell'eluato), che possono essere all'origine di risultati errati.

Se ne rimane un volume sufficiente, l'eluato può essere ritestato (tal quale oppure diluito) mediante una sessione di amplificazione in modalità "PCR Only" (solo PCR). In caso di un secondo risultato non valido, il campione deve essere nuovamente analizzato partendo dall'estrazione di un nuovo campione in modalità "Extract + PCR" (Estrazione + PCR) (vedere "Risoluzione dei problemi").

I campioni segnalati come "XXX:RNA/DNA Not detected or below the LoD" (XXX:RNA/DNA Non rilevato o inferiore LoD) sono idonei per l'analisi, ma non è stato possibile rilevare il DNA/RNA dei target. In questo caso, il campione può essere negativo per il DNA/RNA dei target oppure il DNA/RNA dei target è presente in una concentrazione inferiore al limite di rilevabilità del saggio (vedere "Caratteristiche delle prestazioni").

I campioni segnalati come "XXX:RNA/DNA Detected Typing not determined" (XXX:RNA/DNA Rilevato Typing not determined) non sono idonei alla tipizzazione dei Genogruppi I o II del Norovirus e dei Sierotipi F40 o F41 dell'Adenovirus. Tuttavia, i campioni sono positivi per l'RNA di Norovirus e/o il DNA di Adenovirus.

NOTA

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

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

9.3.3 Refertazione dei risultati dei campioni

- I risultati del campione sono memorizzati nel database e possono essere esportati sotto forma di "Sample Report" e "Track Report".
- Il "Sample Report" mostra i dettagli dei risultati per campione selezionato (SID).
- Il "Track Report" mostra i dettagli dei risultati per ogni Track selezionato.
- Sia il "Sample Report" che il "Track Report" possono essere stampati e firmati da personale autorizzato.

10 PROCEDURA ELITE BeGenius

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

Tabella 11

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

10.1 FASE 1 - Verifica che il sistema sia pronto

Prima di iniziare la sessione:

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

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

10.2 FASE 2 - Impostazione della sessione

Il prodotto **GI Viral PLUS ELITE MGB Kit** può essere utilizzato su **ELITE BeGenius** per eseguire:

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

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

NOTA

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

Prima di impostare una sessione:

1. Scongela le provette di **PCR Mix** necessarie, portandole a temperatura ambiente per 30 minuti. Ogni provetta è sufficiente per **24 test** in condizioni ottimali (2 o più test per sessione). Mescolare con un vortex a bassa velocità per 10 secondi per tre volte, quindi centrifugare il contenuto per 5 secondi e conservare in ghiaccio o in blocco freddo.

NOTA

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

2. Prelevare le provette necessarie di **RT EnzymeMix**. Ciascuna provetta contiene un volume sufficiente per **48 test**. Agitare delicatamente la provetta, centrifugarla per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenerla in ghiaccio o in blocco freddo.

NOTA

Non esporre il prodotto **RT EnzymeMix** a temperature superiori a -20 °C per più di 10 minuti.

3. Preparare un tubo da 2 mL (Sarstedt cod. 72.694.005, non fornito in questo kit) per la **miscela di reazione completa** ed etichettarlo utilizzando un pennarello indelebile.
4. Calcolare i volumi necessari di **PCR Mix** e **RT EnzymeMix** per preparare la **miscela di reazione completa** in funzione del numero di campioni (N) da analizzare, come descritto nella tabella sottostante.

Tabella 12

Numero di campioni (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 12$	290 μL	4,4 μL
$13 \leq N \leq 18$	$(N + 3) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 3) \times 0,3 \mu\text{L}$
$19 \leq N \leq 23$	$(N + 4) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 4) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 24$	580 μL	8,7 μL

5. Preparare la **miscela di reazione completa** trasferendo nel tubo da 2 mL etichettato i volumi calcolati dei due componenti. Mescolare con il vortex a bassa velocità per 10 secondi ripetendo l'operazione per tre volte, centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo.

NOTA

La miscela di reazione completa deve essere appena preparata per ogni sessione di lavoro e **non** può essere conservata per essere riutilizzata.

NOTA

La **miscela di reazione completa** è fotosensibile per cui non esporla alla luce diretta.

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

Tabella 13

	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 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 le provette di Positive Control a temperatura ambiente per 30 minuti. Ciascuna provetta 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 le provette di CPE necessarie, tenendole a temperatura ambiente per 30 minuti. Agitare delicatamente, quindi centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mantenere in ghiaccio o in blocco freddo. Ciascuna provetta contiene un volume sufficiente per preparare 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 l'ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Nella schermata "Home", selezionare " Perform Run ".	Nella schermata "Home", selezionare " Perform Run ".	Nella schermata "Home", selezionare " Perform Run ".
4	Rimuovere tutti i Rack dalla "Cooler Unit" e posizionarli sul tavolo di preparazione.	Rimuovere i "Rack" dalle "Lane 1, 2 e 3" (L1, L2, L3) della "Cooler Unit" e posizionarli sul tavolo di preparazione.	Rimuovere i "Rack" dalle "Lane 1, 2 e 3" (L1, L2, L3) della "Cooler Unit" e posizionarli sul tavolo di preparazione.
5	Selezionare il "run mode": " Extract + PCR ".	Selezionare il "run mode": " PCR Only ".	Selezionare il "run mode": " PCR Only ".
6	Caricare i campioni nel "Sample Rack". Quando si caricano tubi secondari "2 mL Tubes", utilizzare gli adattatori blu per il "Sample Rack".	Caricare i campioni nell'"Elution Rack".	Caricare i tubi di Positive Control e Negative Control nell'"Elution Rack".
7	Inserire il "Sample Rack" nella "Cooler Unit" a partire dalla "Lane 5" (L5). 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). Per ogni "Position" inserire il "Sample ID", la "Sample matrix", l'"Extraction kit" e l'"Extracted eluate vol." (volume eluato).	Inserire l'"Elution Rack" nella "Cooler Unit" a partire dalla "Lane 3" (L3). 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.	Verificare che "Extraction Input Volume" sia 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia 100 µL.	Verificare che "Extraction Input Volume" sia 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia 100 µL.
10	Nella colonna "Assay" selezionare l'Assay Protocol da utilizzare (vedere "Campioni e controlli").	Nella colonna "Assay" selezionare l'Assay Protocol da utilizzare (vedere "Campioni e controlli").	Nella colonna "Assay" selezionare l'Assay Protocol da utilizzare (vedere "Campioni e controlli").
11	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.

Tabella 13 (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)
	Nota: Quando si processano più di 12 campioni, ripetere la procedura dal punto 6.		Non applicabile
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 il CPE e la miscela di reazione completa nel "Reagent/Elution Rack".	Caricare la miscela di reazione completa nel "Reagent/Elution Rack".	Caricare la miscela di reazione completa nel "Reagent/Elution Rack".
16	Inserire il "Reagent/Elution Rack" nella "Cooler Unit" nella "Lane 2" (L2) se disponibile o nella "Lane 1" (L1). Per ogni reagente della 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). 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). 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 per l'estrazione richiesti.	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, il campione estratto residuo che è rimasto negli **Elution tube** deve essere rimosso dallo strumento, tappato, identificato e conservato a -20 ± 10 °C per non più di un mese. Evitare di provocare la fuoriuscita del campione estratto.

NOTA

La miscela di reazione completa deve essere appena preparata per ogni sessione di lavoro e **non** può essere conservata per essere riutilizzata.

NOTA

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

NOTA

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

NOTA

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

10.3 FASE 3 - Esame e approvazione dei risultati

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

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

NOTA

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

ELITE BeGenius utilizza il prodotto **GI Viral PLUS ELITE MGB Kit** per generare i risultati tramite la seguente procedura:

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

NOTA

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

11 CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

11.1 Limite di rilevazione (LoD)

Il limite di rilevabilità (LoD) del saggio è stato definito con gli strumenti ELITE BeGenius ed ELITE InGenius testando campioni di feci positivizzate con materiali di riferimento di Norovirus GI, Norovirus GII, Astrovirus, Adenovirus F40, Adenovirus F41 e Rotavirus (ZeptoMetrix e ATCC) e con plasmidi EG SpA di Sapovirus G1/II/IV e Sapovirus GV.

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

I risultati sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 14

Patogeno	LoD	Limiti dell'intervallo di confidenza 95%	
		Limite inferiore	Limite superiore
Norovirus GI	219 TCID ₅₀ /mL	146 TCID ₅₀ /mL	507 TCID ₅₀ /mL
Norovirus GII	151 TCID ₅₀ /mL	114 TCID ₅₀ /mL	321 TCID ₅₀ /mL
Astrovirus	690 TCID ₅₀ /mL	409 TCID ₅₀ /mL	2782 TCID ₅₀ /mL
Adenovirus F40	0,082 TCID ₅₀ /mL	0,058 TCID ₅₀ /mL	0,149 TCID ₅₀ /mL
Adenovirus F41	0,006 TCID ₅₀ /mL	0,004 TCID ₅₀ /mL	0,09 TCID ₅₀ /mL
Rotavirus	2,4 TCID ₅₀ /mL	1,9 TCID ₅₀ /mL	3,5 TCID ₅₀ /mL
Sapovirus GV	792 copie/mL	583 copie/mL	1267 copie/mL
Sapovirus GI/II/IV	1119 copie/mL	859 copie/mL	1897 copie/mL

Il valore di LoD calcolato è stato verificato testando con ELITE BeGenius ed ELITE InGenius campioni di feci native e campioni di feci raccolte in FecalSwab positivizzati con materiale di riferimento di Norovirus GI, Norovirus GII, Astrovirus, Adenovirus F40, Adenovirus F4, Rotavirus, Sapovirus GI/II/IV e Sapovirus GV alla concentrazione dichiarata.

I risultati ottenuti hanno confermato i valori di LoD dichiarati per tutti i target del prodotto GI Viral PLUS ELITE MGB Kit nelle due matrici, sia su ELITE BeGenius che su ELITE InGenius.

11.2 Inclusività: Efficienza di rilevazione su differenti ceppi e isolati

L'inclusività del saggio, come efficienza di rilevazione su diversi genotipi o isolati di Norovirus (GI/GII), Astrovirus, Adenovirus (F40/F41), Rotaviru e Sapovirus (GI/II/IV/GV) è stata valutata mediante analisi in silico. L'analisi ha evidenziato una conservazione di sequenza e l'assenza di mutazioni significative per tutti i target ad eccezione di Norovirus. Pertanto, sono previste diverse efficienze di rilevazione per alcuni genotipi o isolati di Norovirus.

L'inclusività è stata verificata anche attraverso l'analisi di 10 materiali di riferimento (Qnostics, Vircell, ZeptoMetrix e ATCC) e il test di 14 DNA plasmidici rappresentativi delle principali varianti genomiche del Norovirus GI e del Norovirus GII.

I risultati con i materiali di riferimento sono riportati nella tabella seguente.

Tabella 15

Target	Produttore	Positivo/ replicati	Esito
Norovirus GI	ZeptoMetrix	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Rilevato Genogruppo I)
Norovirus GII	Vircell	6/6	NV:RNA detected Genogroup II (NV:RNA Rilevato Genogruppo II)
Adenovirus F40	ZeptoMetrix	6/6	ADV:DNA Detected Serotype F40 (ADV:DNA Rilevato Sierotipo F41)
Adenovirus F41	Vircell	6/6	ADV:DNA Detected Serotype F41 (ADV:DNA Rilevato Sierotipo F41)
Adenovirus F41	Qnostics	6/6	ADV:DNA Detected Serotype F41 (ADV:DNA Rilevato Sierotipo F41)
Rotavirus	Vircell	6/6	RV:RNA Detected (RV:RNA Rilevato)
Rotavirus	Qnostics	6/6	RV:RNA Detected (RV:RNA Rilevato)
Sapovirus	ATCC	6/6	SV:RNA Detected (SV:RNA Rilevato)
Astrovirus I	ATCC	6/6	ASV:RNA Detected (ASV:RNA Rilevato)
Astrovirus	ATCC	6/6	ASV:RNA Detected (ASV:RNA Rilevato)

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

I risultati con i DNA plasmidici sono riportati nella tabella seguente.

Tabella 16

Campione	Copie/ reazione	Positivo/ replicati	Esito
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID MN938461)	750	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Rilevato Genogruppo I)
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID KP027330)	750	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Rilevato Genogruppo I)
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID MZ470608)	4x10 ⁴	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Rilevato Genogruppo I)
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID OK562729)	3x10 ⁴	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Rilevato Genogruppo I)
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID MN421562)	1x10 ⁵	6/6	NV:RNA detected Genogroup II (NV:RNA Rilevato Genogruppo II)
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID LC378987)	1x10 ⁷	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Rilevato Genogruppo I)
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID MW647681)	750	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Rilevato Genogruppo I)
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID OK147886)	750	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Rilevato Genogruppo I)
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID MW362461)	750	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Rilevato Genogruppo I)

Tabella 16 (segue)

Campione	Copie/ reazione	Positivo/ replicati	Esito
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID EU085525)	750	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV: RNA Rilevato Genogruppo I)
Plasmide Norovirus GII (SEQ ID MK328934)	1x10 ²	6/6	NV:RNA detected Genogroup II (NV: RNA Rilevato Genogruppo II)
Plasmide Norovirus GII (SEQ ID MG674721)	1x10 ²	6/6	NV:RNA detected Genogroup I (NV: RNA Rilevato Genogruppo I)
Plasmide Norovirus GII (SEQ ID MG495078)	1x10 ²	6/6	NV:RNA detected Genogroup I (NV: RNA Rilevato Genogruppo I)
Plasmide Norovirus GII (SEQ ID KC464491)	1x10 ²	6/6	NV:RNA detected Genogroup II (NV: RNA Rilevato Genogruppo II)

Per quanto riguarda alcune varianti di Norovirus GI, la sensibilità del prodotto può aumentare fino a 10.000 volte.

Con il genotipo 9 di Norovirus GI, il prodotto restituisce una tipizzazione errata come “Norovirus GII”.

Con i genotipi 6 e 7 di Norovirus GII, il prodotto restituisce una tipizzazione errata come “Norovirus GI”.

11.3 Interferenza tra target

La potenziale interferenza tra target del saggio è stata valutata mediante un test di co-amplificazione di Norovirus GI, Norovirus GII, Astrovirus, Adenovirus F40, Adenovirus F41, Rotavirus, Sapovirus GI/II/IV e Sapovirus GV (EG SpA DNA plasmidici).

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

Tabella 17

Target nel test (copie basse)	Interferenza tra target ad alta concentrazione (50.000 copie/reazione)						
	NV1	NV2	SV124	SV5	RV	ADV-F40	ASV
NV1	-	-	50 c/reaz.	50 c/reaz.	50 c/reaz.	50 c/reaz.	50 c/reaz.
NV2	-	-	100 c/reaz.	100 c/reaz.	100 c/reaz.	100 c/reaz.	100 c/reaz.
SV124	100 c/reaz.	100 c/reaz.	-	-	100 c/reaz.	100 c/reaz.	100 c/reaz.
SV5	50 c/reaz.	50 c/reaz.	-	-	50 c/reaz.	50 c/reaz.	50 c/reaz.
RV	250 c/reaz.	250 c/reaz.	250 c/reaz.	250 c/reaz.	-	250 c/reaz.	250 c/reaz.
ADV-F40	50 c/reaz.	50 c/reaz.	50 c/reaz.	50 c/reaz.	50 c/reaz.	-	50 c/reaz.
ASV	250 c/reaz.	250 c/reaz.	250 c/reaz.	250 c/reaz.	250 c/reaz.	250 c/reaz.	-

Il prodotto GI Viral PLUS ELITE MGB Kit mostra un'interferenza minima fra i target. Tutti i target possono essere rilevati anche quando sono circa 200 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 mostrato alcuna omologia significativa con altri organismi (virus, batteri, protozoi e funghi) e pertanto non sono attese cross-reattività, ad eccezione di alcuni Adenovirus diversi da F40 e F41.

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 illustrati nella tabella seguente.

Tabella 18

Campione	Positivo/replicati					Esito
	NV	SV	RV	ADV	ASV	
<i>Aeromonas hydrophilia</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Bacteroides fragilis</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Helicobacter pylori</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Escherichia coli</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Serratia Marcescens</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Candida albicans</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Citrobacter freundii</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Clostridium difficile</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Proteus mirabilis</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Enterobacter cloacae</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Giardia lamblia</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Cryptosporidium parvum</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Entamoeba histolytica</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Salmonella enterica</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Shigella flexneri</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Vibrio cholera</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Campylobacter jejuni</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Enterovirus B E4	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Adenovirus specie C (SEQ ID OR777170)	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Adenovirus specie A (SEQ ID KX868289)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Adenovirus specie B (SEQ ID AF542110)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività

Tabella 18 (segue)

Campione	Positivo/replicati					Esito
	NV	SV	RV	ADV	ASV	
Adenovirus specie C (SEQ ID MN398196)	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Adenovirus specie D (SEQ ID JN226752)	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Adenovirus specie E (SEQ ID KY996446)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Adenovirus specie G (SEQ ID DQ923122)	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	Nessuna cross-reattività

Tutti gli organismi potenzialmente interferenti testati non hanno mostrato reattività crociata per l'amplificazione del target, ad eccezione dell'Adenovirus C, D e G, utilizzando il prodotto GI Viral PLUS ELITE MGB Kit.

11.5 Organismi potenzialmente interferenti: Inibizione

La potenziale inibizione di organismi indesiderati che possono essere presenti nei campioni clinici di feci è stata valutata per il test attraverso l'analisi di un pannello di organismi indesiderati (ATCC, ZeptoMetrix, DSMZ e DNA plasmidici) positivamente con Norovirus (GI/GII), Astrovirus, Adenovirus (F40/F41), Rotavirus, Sapovirus (GI/II/IV/GV) (DNA plasmidico EG SpA).

I risultati sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 19

Microrganismo	Positivo/replicati						Esito
	NV1	NV2	RV	ADV-F40	ADV-F41	ASV	
Aeromonas hydrophilia	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Bacteroides fragilis	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Helicobacter pylori	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Saccharomyces cerevisiae	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Plesiomonas shigelloides	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Klebsiella pneumoniae	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Escherichia coli	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Serratia Marcescens	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Acinetobacter baumannii	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Bifidobacterium adolescentis	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Candida albicans	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Citrobacter freundii	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Clostridium difficile	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Proteus mirabilis	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Pseudomonas aeruginosa	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza

Tabella 19 (segue)

Microorganismo	Positivo/replicati						Esito
	NV1	NV2	RV	ADV-F40	ADV-F41	ASV	
Enterobacter cloacae	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Giardia lamblia	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Cryptosporidium parvum	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Entamoeba histolytica	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Yersinia enterocolitica	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Salmonella enterica	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Shigella flexneri	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Vibrio cholera	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Campylobacter jejuni	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Enterovirus B E4	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Adenovirus specie C (SEQ ID OR777170)	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Adenovirus specie A (SEQ ID KX868289)	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Adenovirus specie B (SEQ ID AF542110)	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Adenovirus specie C (SEQ ID MN398196)	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Adenovirus specie D (SEQ ID JN226752)	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Adenovirus specie E (SEQ ID KY996446)	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Adenovirus specie G (SEQ ID DQ923122)	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza

Tutti gli organismi potenzialmente interferenti testati non hanno mostrato alcuna inibizione per l'amplificazione dei target utilizzando il prodotto GI Viral PLUS ELITE MGB Kit.

11.6 Sostanze potenzialmente interferenti: Cross-reattività

La cross-reattività di sostanze potenzialmente interferenti (endogene e 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 illustrati nella tabella seguente.

Tabella 20

Sostanza	Positivo/replicati						Esito
	NV1	NV2	RV	ADV-F40	ADV-F41	ASV	
Olio di vaselina	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Nonossinolo -9	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Subsalicilato di bismuto	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Loperamide cloridrato	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Bisacodyl	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Azitromicina	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Vancomicina	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Metronidazole	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Ampicillina	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Cefpodoxima	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Ciprofloxacina	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Idrocortisone, 1%	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Carbonato di calcio	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Acido alginico	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Idrossido di alluminio	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Magnesio trisilicato	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Sangue intero	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Mucina	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Acido palmitico	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Acido stearico	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività

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

11.7 Sostanze potenzialmente interferenti: Inibizione

La potenziale inibizione di sostanze potenzialmente interferenti (endogene ed esogene) che potrebbero trovarsi nei campioni clinici di feci è stata valutata per il saggio mediante analisi di un pannello di sostanze a concentrazione rilevante in campioni positivizzati con materiale di riferimento di Norovirus GI, Norovirus GII, Astrovirus, Adenovirus F40, Adenovirus F41, Rotavirus, Sapovirus GV e Sapovirus GI/GII/GIV (ZeptoMetrix, ATCC e plasmidi EG SpA).

I risultati sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 21

Sostanza	Positivo/replicati						Esito
	NV1	NV2	RV	ADV-F40	ADV-F41	ASV	
Olio di vaselina	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Nonossinolo -9	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Subsalicilato di bismuto	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Loperamide cloridrato	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Bisacodyl	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Azitromicina	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Vancomicina	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Metronidazole	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Ampicillina	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Cefpodoxima	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Ciprofloxacina	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Idrocortisone, 1%	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Carbonato di calcio	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Acido alginico	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Idrossido di alluminio	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Magnesio trisilicato	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Sangue intero	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Mucina	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Acido palmitico	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Acido stearico	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza

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

11.8 Cross-contaminazione

La possibile cross-contaminazione durante l'analisi è stata valutata per il saggio testando 60 replicati di un campione di feci negativo alternati a 60 replicati dello stesso campione positivizzato con materiale di riferimento di Adenovirus F40 (ZeptoMetrix) alla concentrazione di circa 1×10^4 TCID₅₀/mL.

I risultati sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 22

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

Nessuno dei campioni negativi testati ha dato risultati falsi positivi. In questo test con il prodotto GI Viral PLUS ELITE MGB Kit non sono state rilevate cross-contaminazioni tra le sessioni, né al loro interno.

11.9 Tasso totale di errore di sistema

Il tasso totale di errore di sistema per il saggio è stato valutato analizzando 52 diversi campioni di feci native negative e 52 campioni di feci raccolti in FecalSwab positivizzati con materiale di riferimento di Norovirus GII (Zeptomatrix) a una concentrazione di 3 volte il LoD.

I risultati sono illustrati nella tabella seguente.

Tabella 23

Campioni	N	Positivi	Negativi	Tasso totale di errore di sistema
Feci native positivizzate a 3 volte il LoD	52	52	0	0%
Feci raccolte in FecalSwab inoculate con 3 volte il LoD	52	52	0	0%

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

11.10 Ripetibilità

La ripetibilità del saggio è stata valutata su ELITE BeGenius e ELITE InGenius mediante l'analisi di un pannello di campioni di feci negative o positivizzate con materiale di riferimento di Norovirus GII, Adenovirus F40, Rotavirus, Astrovirus e Sapovirus GI/II/IV (ZeptoMatrix, ATCC e DNA plasmidico EG SpA).

La seguente tabella riporta i risultati di ripetibilità intra-sessione (su un giorno) con ELITE InGenius.

Tabella 24

Campione	Target	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Neg	NV (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		6	31,25	0,42	1,34	100%
	NV (Tm)	6	68,4	0,17	0,25	100%
3xLoD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD SV124		6	-	-	-	100%
Neg	SV (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		6	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		6	-	-	-	100%
3xLoD SV124		6	32,36	0,50	1,55	100%
Neg	RV (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		6	30,18	0,29	0,95	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		6	-	-	-	100%
3xLoD SV124		6	-	-	-	100%
Neg	ADV (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		6	-	-	-	100%
		6	34,17	0,81	2,37	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		ADV (Tm)	6	70,4	0,27	0,38

Tabella 24 (segue)

3xLoD SV124	ADV (Ct)	6	-	-	-	100%
Neg	ASV (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		6	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		6	27,14	0,36	1,32	100%
3xLoD SV124		6	-	-	-	100%

La seguente tabella riporta i risultati di ripetibilità intra-sessione (su un giorno) con ELITE InGenius.

Tabella 25

Campione	Target	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Neg	NV (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		6	29,91	0,41	1,38	100%
3xLoD NV+RV	NV (Tm)	6	69,0	0,05	0,07	100%
3xLoD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD SV124		6	-	-	-	100%
Neg	SV (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		6	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		6	-	-	-	100%
3xLoD SV124		6	32,94	0,83	2,52	100%
Neg	RV (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		6	30,01	0,23	0,76	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		6	-	-	-	100%
3xLoD SV124		6	-	-	-	100%
Neg	ADV (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		6	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		6	34,32	0,64	1,86	100%
3xLoD ADV-F40+ASV	ADV (Tm)	6	71,0	0,16	0,23	100%
3xLoD SV124	ADV (Ct)	6	-	-	-	100%
Neg	ASV (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		6	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		6	27,26	0,46	1,70	100%
3xLoD SV124		6	-	-	-	100%

La seguente tabella riporta i risultati di ripetibilità inter-sessione (su due giorni) con ELITE BeGenius.

Tabella 26

Campione	Target	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Neg	NV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		12	30,97	0,43	1,39	100%
	NV (Tm)	12	68,4	0,16	0,24	100%
3xLoD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD SV124		12	-	-	-	100%
Neg	SV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		12	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		12	-	-	-	100%
3xLoD SV124		12	32,37	0,45	1,39	100%
Neg	RV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		12	30,07	0,27	0,89	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		12	-	-	-	100%
3xLoD SV124		12	-	-	-	100%
Neg	ADV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		12	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		12	33,80	0,71	2,10	100%
	ADV (Tm)	12	70,3	0,24	0,34	100%
3xLoD SV124	ADV (Ct)	12	-	-	-	100%
Neg	ASV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		12	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		12	27,02	0,33	1,22	100%
3xLoD SV124		12	-	-	-	100%

La seguente tabella riporta i risultati di ripetibilità inter-sessione (su due giorni) con ELITE InGenius.

Tabella 27

Campione	Target	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Neg	NV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		12	30,08	0,46	1,53	100%
	NV (Tm)	12	68,9	0,11	0,16	100%
3xLoD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD SV124		12	-	-	-	100%

Tabella 27 (segue)

Campione	Target	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Neg	SV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		12	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		12	-	-	-	100%
3xLoD SV124		12	32,74	0,78	2,37	100%
Neg	RV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		12	30,18	0,40	1,32	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		12	-	-	-	100%
3xLoD SV124		12	-	-	-	100%
Neg	ADV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		12	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		12	34,44	0,63	1,82	100%
3xLoD SV124	ADV (Tm)	12	71,0	0,14	0,19	100%
3xLoD SV124	ADV (Ct)	12	-	-	-	100%
Neg	ASV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		12	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		12	27,03	0,41	1,51	100%
3xLoD SV124		12	-	-	-	100%

Nel test di ripetibilità, il prodotto GI Viral PLUS ELITE MGB Kit ha rilevato tutti i campioni come previsto e ha mostrato una variabilità massima dei valori Ct target come %CV minore del 5%.

11.11 Riproducibilità

La riproducibilità del saggio è stata valutata su ELITE BeGenius ed ELITE InGenius mediante l'analisi di un pannello di campioni di feci native negative o positivizzate con materiale di riferimento di Norovirus GII, Adenovirus F40, Rotavirus, Astrovirus e Sapovirus GI/II/IV (ZeptoMetrix, ATCC e DNA plasmidico EG SpA).

La tabella seguente riporta i risultati della riproducibilità inter-lotto (su sei giorni e tre lotti) con ELITE BeGenius.

Tabella 28

Campione	Target	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Neg	NV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	31,95	0,91	2,85	100%
3xLoD ADV-F40+ASV	NV (Tm)	36	68,5	0,17	0,25	100%
3xLoD SV124	NV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%

Tabella 28 (segue)

Campione	Target	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Neg	SV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	32,49	0,39	1,19	100%
Neg	RV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	30,60	0,56	1,82	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%
Neg	ADV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		36	33,12	0,75	2,27	100%
3xLoD ADV-F40+ASV	ADV (Tm)	36	70,3	0,41	0,58	100%
3xLoD SV124	ADV (Ct)	36	-	-	-	100%
Neg	ASV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		36	28,15	0,97	3,44	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%

La tabella seguente riporta i risultati della riproducibilità inter-lotto (su sei giorni e tre lotti) con ELITE InGenius.

Tabella 29

Campione	Target	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Neg	NV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	30,54	0,55	1,80	100%
3xLoD NV+RV	NV (Tm)	36	69,1	0,21	0,30	100%
3xLoD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%
Neg	SV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	32,75	0,57	1,74	100%

Tabella 29 (segue)

Campione	Target	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Neg	RV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	30,41	0,41	1,35	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%
Neg	ADV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		36	33,66	0,78	2,31	100%
3xLoD ADV-F40+ASV	ADV (Tm)	36	70,8	0,30	0,43	100%
3xLoD SV124	ADV (Ct)	36	-	-	-	100%
Neg	ASV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%

La tabella seguente riporta i risultati della riproducibilità inter-strumento (su sei giorni, tre lotti e tre strumenti) con ELITE BeGenius.

Tabella 30

Campione	Target	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Neg	NV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	31,73	0,93	2,93	100%
3xLoD NV+RV	NV (Tm)	36	68,6	0,24	0,36	100%
3xLoD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%
Neg	SV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	32,45	0,44	1,35	100%
Neg	RV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	30,80	0,53	1,73	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%

Tabella 30 (segue)

Campione	Target	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Neg	ADV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		36	32,91	0,68	2,07	100%
	ADV (Tm)	36	70,5	0,37	0,52	100%
3xLoD SV124	ADV (Ct)	36	-	-	-	100%
Neg	ASV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		36	28,26	0,95	3,35	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%

La tabella seguente riporta i risultati della riproducibilità inter-strumento (su sei giorni, tre lotti e tre strumenti) con ELITE InGenius.

Tabella 31

Campione	Target	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Neg	NV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	30,74	0,62	2,02	100%
	NV (Tm)	36	69,1	0,21	0,30	100%
3xLoD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%
Neg	SV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	32,66	0,47	1,43	100%
Neg	RV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	30,28	0,42	1,38	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%
Neg	ADV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		36	32,78	0,63	1,91	100%
	ADV (Tm)	36	70,8	0,37	0,52	100%
3xLoD SV124	ADV (Ct)	36	-	-	-	100%

Tabella 31 (segue)

Campione	Target	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Neg	ASV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		36	25,57	0,88	3,18	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%

Nel test di riproducibilità, il prodotto GI Viral PLUS ELITE MGB Kit ha rilevato tutti i campioni come previsto e ha mostrato una variabilità massima dei valori Ct target come %CV minore del 5%.

11.12 Specificità Diagnostica: Conferma dei campioni negativi

La specificità diagnostica del saggio, come conferma dei campioni clinici negativi, è stata valutata in associazione con ELITE InGenius analizzando campioni clinici di feci raccolte senza conservanti, certificate negative per ciascun target.

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

I risultati sono riepilogati nella tabella seguente.

Tabella 32

Feci negative testate per il target	N	Positivi	Negativi	Specificità diagnostica in %
Adenovirus F40/F41	101	0	101	100%
Norovirus GI/GII	101	0	101	100%
Rotavirus	101	0	101	100%
Astrovirus	100	0	100	100%
Sapovirus	101	0	101	100%

Tutti i campioni di feci sono risultati negativi e validi per l'analisi.

La specificità diagnostica del prodotto GI Viral PLUS ELITE MGB Kit in associazione alle feci, in questa prova, è risultata pari al 100% per tutti i target.

Il valore di cut-off del Ct dell'Internal Control è impostato a 34 per ELITE InGenius e a 35 per ELITE BeGenius.

11.13 Sensibilità Diagnostica: Conferma dei campioni positivi

La sensibilità diagnostica del saggio, come conferma dei campioni positivi, è stata valutata in associazione con lo strumento ELITE InGenius mediante l'analisi di campioni clinici di feci raccolte senza conservanti, certificate positive per ciascun target.

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

I risultati sono riepilogati nella tabella seguente.

Tabella 33

Feci positive testate per il target	N	Positivi	Negativi	Sensibilità diagnostica in %
Adenovirus F40	15	15	0	100%
Adenovirus F41	35	35	0	
Norovirus GI	20	13	7	92,9%
Norovirus GII	120	117	3	
Rotavirus	50	50	0	100%
Astrovirus	50	50	0	100%
Sapovirus	55	51	4	92,7%

La sensibilità diagnostica del prodotto GI Viral PLUS ELITE MGB Kit in associazione alle feci, in questa prova, è risultata pari al 100% per ADV F40/F41, al 92,9% per NV GI/GII, al 100% per RV, al 100% per ASV e al 92,7% per SV.

NOTA

I dati e i risultati completi delle prove eseguite per la valutazione delle caratteristiche prestazionali del prodotto con le matrici e gli strumenti sono registrati nel Fascicolo Tecnico di Prodotto di "GI Viral PLUS ELITE MGB Kit", FTP 501ING.

12 BIBLIOGRAFIA

V. P. Ramanan et al. (2017) *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 87: 325-327

Y. Liu et al. (2012) *J. Clin. Microbiol.* 50: 2384 - 2389

F. Jakab et al. (2019) *J. Med. Virol.* 74: 71 - 7

S. Q. Zeng et al. (2008) *J. Virol. Methods* 153: 238 - 240

M. Diez-Valcarce et al. (2018) *J. Clin Virol.* 104: 65 - 72

E. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e 30

P. Chhabra et al. (2019) *J. Gen. Virol.* 100: 1393 - 1406

K. Kumthip et al. (2019) *Ann Res Hosp* 3: 1 - 3

B. Lopman et al. (2015) *CDC Review*: 1-44

13 LIMITI DELLA PROCEDURA

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

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

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

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

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

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

È necessario disporre di aree separate per la preparazione della miscela di reazione completa e dell'estrazione/amplificazione/rilevazione dei prodotti della reazione di amplificazione per prevenire risultati falso-positivi.

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 o l'RNA target non è stato rilevato nel DNA o nell'RNA estratto dal campione; tuttavia, non si può escludere che il DNA o l'RNA target abbia un titolo inferiore al limite di rilevabilità del prodotto (vedere "Caratteristiche delle prestazioni"). In questo caso il risultato potrebbe essere un falso negativo.

In caso di coinfezioni, la sensibilità per un target può essere influenzata dall'amplificazione di un secondo target (vedere "Caratteristiche delle prestazioni").

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 o dell'RNA target coperta dai primer e dalle sonde del prodotto potrebbero compromettere la rilevazione e la tipizzazione del DNA o dell'RNA target.

In caso di presenza delle specie di Adenovirus C o G nel campione, il prodotto lo rileverà come Adenovirus target, senza determinazione della tipizzazione.

In caso di presenza della specie di Adenovirus D nel campione, il prodotto lo rileverà e lo tipizzerà come Adenovirus sierotipo F41.

Come per qualunque altro dispositivo medico-diagnostico, i risultati ottenuti con questo prodotto devono essere interpretati in combinazione con tutte le osservazioni cliniche e i risultati di laboratorio pertinenti.

Come per qualunque altro dispositivo medico-diagnostico, vi è un rischio residuo di ottenere con questo prodotto risultati non validi o errati. Tale rischio residuo non può essere eliminato né ulteriormente ridotto. In taluni casi, potrebbe indurre decisioni sbagliate con effetti potenzialmente pericolosi per il paziente.

Tuttavia, tale rischio residuo associato all'uso previsto del prodotto è stato ponderato a fronte dei potenziali benefici per il paziente ed è stato ritenuto accettabile.

14 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI

Tabella 34

Reazione non valida per il controllo positivo	
Possibili cause	Soluzioni
Errata impostazione dello strumento.	Controllare la posizione della miscela di reazione completa e del Positive Control. Controllare i volumi della miscela di reazione completa e del Positive Control.
Errore di preparazione della miscela di reazione completa.	Controllare i volumi dei reagenti utilizzata durante la preparazione della miscela di reazione completa.

Tabella 34 (segue)

Degradazione della miscela di reazione completa o dei suoi componenti.	Non riutilizzare la miscela di reazione completa, prepararla di fresco per ogni sessione di lavoro. Non lasciare il PCR Mix a temperatura ambiente per più di 30 minuti. Non lasciare il prodotto RT EnzymeMix a temperature superiori a -20 ° C per più di 10 minuti. Preparare di nuovo la miscela di reazione completa. Utilizzare una nuova aliquota dei componenti.
Degradazione del template di Internal Control.	Utilizzare una nuova aliquota di Internal Control.
Degradazione del controllo positivo.	Non utilizzare il controllo positivo per più di 4 sessioni indipendenti (3 ore ciascuna nell'area di estrazione o nella Cooler Unit). Utilizzare una nuova aliquota di Positive Control
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup.

Tabella 35

Reazione del controllo negativo non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errata impostazione dello strumento.	Controllare la posizione della miscela di reazione completa e del controllo negativo. Controllare i volumi della miscela di reazione completa e del controllo negativo.
Contaminazione del controllo negativo.	Non utilizzare il controllo negativo per più di 1 sessione. Utilizzare una nuova aliquota di acqua per biologia molecolare.
Contaminazione della miscela di reazione completa o dei suoi componenti.	Preparare di nuovo la miscela di reazione completa. Utilizzare una nuova aliquota dei componenti.
Contaminazione dell'area di estrazione, dei rack, dell'Inventory Block o della Cooler Unit.	Pulire le superfici con detergenti acquosi, lavare i camici, sostituire le provette e i puntali in uso.
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup.

Tabella 36

Reazione del campione non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errata impostazione dello strumento.	Controllare la posizione della miscela di reazione completa, dell'Internal Control e del campione. Controllare i volumi della miscela di reazione completa, dell'Internal Control e del campione.
Errore di preparazione della miscela di reazione completa.	Controllare i volumi dei reagenti utilizzata durante la preparazione della miscela di reazione completa.
Degradazione della miscela di reazione completa o dei suoi componenti.	Non riutilizzare la miscela di reazione completa, prepararla di fresco per ogni sessione di lavoro. Non lasciare il PCR Mix a temperatura ambiente per più di 30 minuti. Non lasciare il prodotto RT EnzymeMix a temperature superiori a -20 ° C per più di 10 minuti. Preparare di nuovo la miscela di reazione completa. Utilizzare una nuova aliquota dei componenti.
Degradazione del template di Internal Control.	Utilizzare una nuova aliquota di Internal Control.

Tabella 36 (segue)

Reazione del campione non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Inibizione dovuta a sostanze interferenti con il campione.	Ripetere la reazione di amplificazione del campione con una diluizione 1:2 in acqua per biologia molecolare del campione eluito in una sessione in modalità "PCR Only" (solo PCR). Ripetere l'estrazione con una diluizione 1:2 in acqua per biologia molecolare del campione pretrattato, in una sessione in modalità "Extract + PCR" (estrazione + PCR).
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup.

Tabella 37

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 38

Errore nel calcolo di 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): - 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 39

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.	Pulire la micropipetta con soluzione fresca di ipoclorito di sodio (candeggina) al 3% o con un detergente per DNA/RNA dopo aver pipettato ogni campione. Non utilizzare le pipette Pasteur. Utilizzare pipette del tipo a spostamento positivo oppure munirle di puntali con filtro per aerosol. Introdurre i campioni nelle ultime posizioni degli strumenti, come indicato nella GUI. Seguire la sequenza di caricamento indicata dal software.
Contaminazione ambientale del laboratorio.	Pulire tutte le superfici che vengono a contatto con l'operatore e i campioni (incluse le pipette) con soluzione fresca di ipoclorito di sodio (candeggina) al 3% o detergente per DNA/RNA. Eseguire un ciclo di decontaminazione con U.V. Preparare di nuovo la miscela di reazione completa e/o utilizzare una nuova aliquota di CPE.

15 LEGENDA DEI SIMBOLI



Numero di catalogo.



Limite superiore di temperatura.



Codice del lotto.



Da utilizzare prima del (ultimo giorno del mese).



Dispositivo medico-diagnostico *in vitro*.



Conforme ai requisiti del Regolamento 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., fabbricante 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 Prodotto GI Norovirus PLUS ELITE MGB® Kit utilizzato in associazione con piattaforme della serie Genius®



ATTENZIONE

Il presente documento è una versione semplificata del manuale di istruzioni ufficiale. Consultare la versione integrale prima dell'uso: www.elitechgroup.com

Usò previsto

Il prodotto **GI Viral PLUS ELITE MGB® Kit** è un dispositivo medico-diagnostico in vitro destinato all'uso da parte degli operatori sanitari come saggio di trascrizione inversa e real-time PCR qualitativa multiplex per la **rilevazione e identificazione** del DNA genomico di Adenovirus (ADV) e dell'RNA genomico di Norovirus (NV), Rotavirus (RV), Astrovirus (ASV) e Sapovirus (SV), estratti da campioni clinici.

Il saggio è in grado di rilevare e identificare il DNA di Adenovirus appartenente ai sierotipi F40 e F41 (tipizzati tramite la temperatura di melting), l'RNA di Norovirus appartenente ai genogruppi GI e GII (tipizzati tramite la temperatura di melting), il Rotavirus appartenente al gruppo A, l'Astrovirus umano e il Sapovirus umano.

Il saggio è validato in associazione con gli strumenti **ELITE InGenius®** ed **ELITE BeGenius®**, sistemi integrati e automatizzati per l'estrazione, la trascrizione inversa, la Real-Time PCR e l'interpretazione dei risultati, utilizzando campioni di feci umane.

Il prodotto è destinato all'uso come ausilio nella diagnosi di infezioni gastrointestinali virali in pazienti sospettati di avere un'infezione da Adenovirus, Norovirus, Rotavirus, Astrovirus o Sapovirus.

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




Sequenza amplificata

Sequenza	Gene	Fluoroforo	Canale
Target 1	Poliproteina GI e GII	FAM	NV
Target 2	Proteina capsida	AP690	ASV
Target 3	Proteina Hexon F40 e F41	AP639	Flu B
Target 4	Gruppo A NSP3	AP593	RV
Target 5	Poliproteina GI/GII/GIV e GV	AP559	SV
Internal Control	Fago MS2	AP525	IC

Matrice validata

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

Contenuto del Kit e prodotti correlati

GI Viral PLUS ELITE MGB Kit (RTS501ING)		GI Viral PLUS - ELITE Positive Control (CTR501ING)	
 X 4	 X 2	 X 3	
GI-V PCR Mix 4 provette da 600 µL 24 reazioni per provetta 96 reazioni per kit 5 cicli di congelamento/scongelo per tubo	RT EnzymeMix 2 provette da 20 µL 48 reazioni per tubo 96 reazioni per kit 10 cicli di congelamento/scongelo per tubo	GI-V Positive Control 3 provette da 160 µL 4 reazioni per tubo 12 reazioni per kit 4 cicli di congelamento/scongelo per tubo	
Validità massima:	18 mesi	Validità massima:	24 mesi
Temperatura di conservazione	≤ -20°C	Temperatura di conservazione	≤ -20°C

Altri prodotti richiesti ma non forniti nel kit

Tabella 40

<ul style="list-style-type: none"> • Strumento ELITE InGenius: INT030. • Strumento ELITE BeGenius: INT040. • ELITE InGenius SP 200: INT032SP200. • ELITE InGenius ed ELITE BeGenius Consumable Set (vedere le istruzioni per l'uso di ELITE InGenius ed ELITE BeGenius) 	<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. 518CS01) o un dispositivo equivalente. • FecalSwab™ (COPAN Italia S.p.A., Italy, cod. 470CE) o un dispositivo equivalente.
---	--

Protocollo di ELITE InGenius e ELITE BeGenius

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

Prestazioni di ELITE InGenius ed ELITE BeGenius

Matrice	Target	Limite di rilevabilità	Sensibilità	Specificità
Feci raccolte senza conservanti/Feci raccolte in FecalSwab	Norovirus GI	219 TCID ₅₀ /mL	92,9% (130/140)	100% (101/101)
	Norovirus GII	151 TCID ₅₀ /mL		
	Astrovirus	690 TCID ₅₀ /mL	100% (50/50)	100% (100/100)
	Adenovirus F40	0,082 TCID ₅₀ /mL	100% (50/50)	100% (101/101)
	Adenovirus F41	0,006 TCID ₅₀ /mL		
	Rotavirus	2,4 TCID ₅₀ /mL	100% (50/50)	100% (101/101)
	Sapovirus GV	792 copie/mL	92,7% (51/55)	100% (101/101)
	Sapovirus GI/II/IV	1119 copie/mL		

Preparazione dei campioni

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

Tabella 41

Campione	Requisiti per la raccolta	Condizioni di trasporto/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

NOTA

I campioni devono essere pretrattati prima dell'uso secondo la procedura descritta nelle istruzioni per l'uso complete.

Procedure di ELITE InGenius

L'interfaccia grafica utente del software ELITE InGenius fornisce istruzioni passo-passo per configurare la sessione. Tutti i passaggi di estrazione, trascrizione inversa, Real-Time PCR e l'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.
--	---	---

4. Preparare la miscela di reazione completa.			5. Mescolare delicatamente con l'agitatore vortex. Centrifugare per 5 secondi. Conservare la miscela di reazione completa in ghiaccio. Non esporre alla luce diretta.
Numero di campioni (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix	
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$	
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$	
$N = 12$	290 μL	4,4 μL	

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 Viral PLUS ELITE_ST_200_100	5. Selezionare il metodo "Extract + PCR" e la posizione del campione "Extraction Tube":	6. Caricare la miscela di reazione completa e l'Internal Control nell'Inventory Block.
7. Caricare: rack per cassette PCR, cartucce per estrazione, Elution Tube, cassette per puntali, 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 Viral PLUS ELITE_ST_200_100 o GI Viral PLUS ELITE_PC o GI Viral PLUS ELITE_NC	5. Selezionare il metodo "PCR Only" e impostare la posizione del campione "Elution Tube".	6. Caricare la miscela di reazione completa nell'Inventory Block.
7. Caricare il rack per cassette PCR e il rack per gli Elution Tube con gli acidi nucleici estratti.	8. Chiudere lo sportello. Avviare la sessione.	9. Visualizzare, approvare e archiviare i risultati.

Procedure di ELITE BeGenius

L'interfaccia grafica utente del software ELITE BeGenius fornisce istruzioni passo-passo per configurare la sessione. Tutti i passaggi di estrazione, trascrizione inversa, Real-Time PCR e l'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: 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.
--	---	---

4. Preparare la miscela di reazione completa.			5. Mescolare delicatamente con l'agitatore vortex. Centrifugare per 5 secondi. Conservare la miscela di reazione completa in ghiaccio. Non esporre alla luce diretta.
Numero di campioni (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix	
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0,3 µL	
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0,3 µL	
N = 12	290 µL	4,4 µL	
13 ≤ N ≤ 18	(N + 3) x 20 µL	(N + 3) x 0,3 µL	
19 ≤ N ≤ 23	(N + 4) x 20 µL	(N + 4) x 0,3 µL	
N = 24	580 µL	8,7 µL	

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 Viral 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 miscela di reazione completa e l'Internal Control nell'Elution Rack e inserirlo nella Cooler Unit.
7. Caricare il "PCR Rack" con la "PCR Cassette" e l'"Extraction Rack" con le cartucce di estrazione ELITE InGenius SP 200" e i materiali di consumo richiesti per l'estrazione.	8. Chiudere lo sportello. Avviare la sessione.	9. Visualizzare, approvare e archiviare i risultati.

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 i dati relativi a "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 Viral PLUS ELITE_Be_ST_200_100 o GI Viral PLUS ELITE_Be_PC o GI Viral PLUS ELITE_Be_NC	5. Caricare la miscela di reazione completa 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

