

AVVERTENZA del 16/02/2023

IMPORTANTE PER GLI UTILIZZATORI DEL PRODOTTO:

«HEV ELITe MGB® Kit» Ref. RTS130ING

Questa nuova revisione dell'IFU contiene le seguenti modifiche:

- *Sezione troubleshooting : aggiunta la possibilità di discriminare eventuali mutanti tramite la presenza di un picco definito della Temperatura di Melting con un valore differente dal quello del Controllo Positivo.*
- *Nuovi dati di Inclusività.*

Composizione, utilizzo e prestazioni del prodotto restano del tutto invariate.

NOTA BENE

	LA REVISIONE DI QUESTO IFU E' COMPATIBILE ANCHE CON LA VERSIONE PRECEDENTE DEL KIT
	THE REVIEW OF THIS IFU IS ALSO COMPATIBLE WITH THE PREVIOUS VERSION OF THE KIT
	CET IFU MIS A JOUR ANNULE ET REMPLACE ET EST PARFAITEMENT COMPATIBLE AVEC LA VERSION PRECEDENTE DU KIT
	LA REVISIÓN DE ESTE IFU ES COMPATIBLE TAMBIÉN CON LA VERSIÓN ANTERIOR DEL KIT
	A REVISÃO DO ESTE IFU ÉTAMBÉM COMPATÍVEL COM A VERSÃO ANTERIOR DO KIT
	DIE REVIEW VON DIESER IFU IST KOMPATIBLE MIT DER VORIGE VERSION VON DEM TEST-KIT



HEV ELITe MGB® Kit

reagenti per la trascrizione inversa dell'RNA e
l'amplificazione Real Time del cDNA

REF RTS130ING



SOMMARIO

USO PREVISTO
PRINCIPIO DEL SAGGIO
DESCRIZIONE DEL PRODOTTO
MATERIALE INCLUSO NEL PRODOTTO
MATERIALE RICHIESTO NON INCLUSO NEL PRODOTTO
ALTRI PRODOTTI RICHIESTI
AVVERTENZE E PRECAUZIONI
CAMPIONI E CONTROLLI
PROCEDURA
CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI
BIBLIOGRAFIA
LIMITI DELLA PROCEDURA
PROBLEMI E SOLUZIONI
LEGENDA DEI SIMBOLI
AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA

pag. 1
pag. 2
pag. 3
pag. 3
pag. 3
pag. 4
pag. 4
pag. 6
pag. 7
pag. 15
pag. 20
pag. 20
pag. 21
pag. 23
pag. 24

USO PREVISTO

Il prodotto «HEV ELITe MGB® Kit» è parte di un saggio quantitativo di trascrizione inversa e amplificazione degli acidi nucleici per la rilevazione dell'RNA del virus dell'Epatite E (HEV) in campioni di RNA estratto da campioni clinici.

Il saggio è in grado di rilevare l'RNA del virus dell'Epatite E appartenenti ai genotipi 1, 2, 3, 3a e 4.

Il saggio deve essere eseguito con il sistema ELITe InGenius® partendo da campioni di plasma raccolto in EDTA e surnatante di feci.

Il prodotto trova impiego nella diagnosi dell'epatite causata da HEV, insieme ai dati clinici del paziente e ai risultati di altri esami di laboratorio.

HEV ELITe MGB® Kit

reagenti per la trascrizione inversa dell'RNA e
l'amplificazione Real Time del cDNA

REF RTS130ING

PRINCIPIO DEL SAGGIO

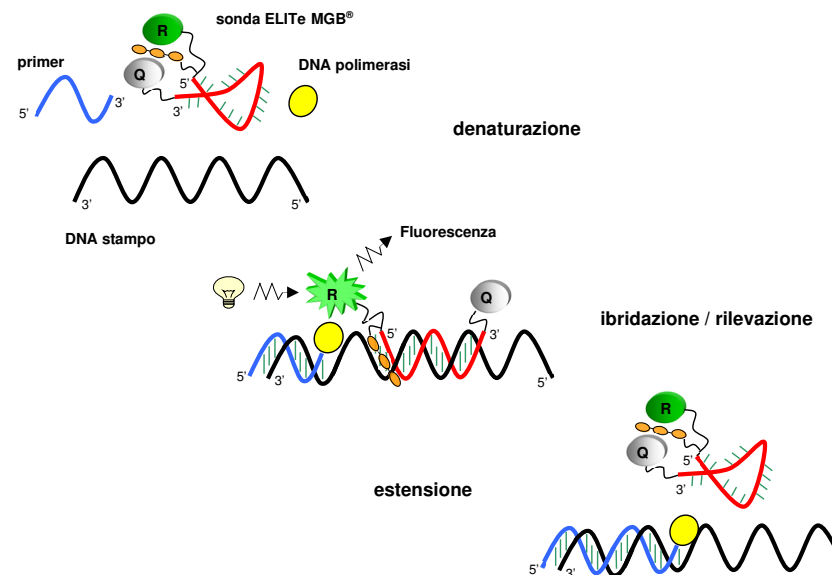
Il saggio prevede l'esecuzione di una reazione di trascrizione inversa e di amplificazione real time (metodica one-step).

A partire dall'RNA estratto dai campioni in esame, nella cartuccia si effettua una reazione di trascrizione inversa e amplificazione specifica per la regione ORF-2 di HEV e per una regione dell'RNA genomico del fago MS2 (Controllo Interno esogeno di estrazione ed inibizione) utilizzando direttamente l'RNA estratto dai campioni in esame.

La sonda con tecnologia ELITe MGB® specifica per HEV marcata con il fluoroforo FAM è attivata quando ibrida con il prodotto specifico della reazione di amplificazione per HEV. La sonda con tecnologia ELITe MGB® specifica per il Controllo Interno marcata con il fluoroforo AP525 è attivata quando ibrida con il prodotto della reazione di amplificazione per il Controllo Interno. L'emissione della fluorescenza aumenta con l'aumentare del prodotto specifico della reazione di amplificazione ed è misurata e registrata dall'apparecchio. L'elaborazione dei dati permette di rilevare la presenza dell'RNA di HEV nel campione di partenza.

Il saggio è stato testato sul sistema integrato automatizzato di estrazione, amplificazione, rilevazione degli acidi nucleici e interpretazione dei risultati ELITe InGenius.

Nella figura di seguito è illustrato in sintesi il meccanismo di attivazione e di emissione della fluorescenza della sonda con tecnologia ELITe MGB®. Notare come la sonda non è idrolizzata durante il ciclo di amplificazione e può quindi essere utilizzata per l'analisi della curva di dissociazione.



DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

Il prodotto «HEV ELITE MGB® Kit» fornisce i seguenti componenti:

• HEV PCR Mix

Miscela di oligonucleotidi per la trascrizione inversa e l'amplificazione real time in una soluzione stabilizzante, **prealiquotata in quattro provette** (tappo BIANCO senza inserto). Ogni provetta contiene **600 µL** di soluzione, sufficiente per **24 test** (processando almeno 5 campioni per sessione) in associazione al sistema **ELITE InGenius**.

Gli oligonucleotidi di innesco e la sonda per HEV (stabilizzata dal gruppo MGB®, marcata con il fluoroforo FAM e inattivata da un quencher non fluorescente) sono specifici per la regione ORF-2 di HEV. Il segnale di HEV è rilevato dal Canale 1 del sistema **ELITE InGenius**.

Gli oligonucleotidi di innesco e la sonda per il Controllo Interno (stabilizzata dal gruppo MGB®, marcata con il fluoroforo AP525 e inattivata da un quencher non fluorescente) sono specifici per una regione dell'RNA genomico del **fago MS2**. Il segnale del Controllo Interno (IC) è rilevato dal Canale 2 del Sistema **ELITE InGenius**.

La miscela di reazione fornisce il tampone, il magnesio cloruro, i nucleotidi trifosfati, il fluoroforo AP593, che può essere usato come riferimento passivo per la normalizzazione della fluorescenza e l'enzima DNA polimerasi ad attivazione termica (hot start).

• RT EnzymeMix

Miscela ottimizzata di enzimi per la trascrizione inversa in una soluzione stabilizzante, **prealiquotata in due provette** (tappo con inserto NERO). Ogni provetta contiene **20 µL** di soluzione, sufficiente per **48 test** in associazione al sistema **ELITE InGenius**.

La miscela fornisce gli enzimi per la trascrizione inversa.

Il kit consente di effettuare **96 determinazioni in associazione al sistema ELITE InGenius**, controlli compresi.

MATERIALE INCLUSO NEL PRODOTTO

Componente	Descrizione	Quantità	Classificazione dei pericoli
HEV PCR Mix	miscela di reagenti per la trascrizione inversa e l'amplificazione real time Tappo BIANCO	4 x 600 µL	-
RT EnzymeMix	enzima trascrittasi inversa Tappo con inserto NERO	2 x 20 µL	-

MATERIALE RICHIESTO NON INCLUSO NEL PRODOTTO

- Cappa a flusso laminare.
- Guanti senza polvere monouso in nitrile o simili.
- Miscelatore vortex.
- Microcentrifuga da banco (12.000 - 14.000 RPM).
- Micropipette e puntali sterili con filtro per aerosol o a dispensazione positiva (2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Tubi Sarstedt 2,0 mL, tappo a vite (Sarstedt Ref. 72.694.005).
- Acqua per biologia molecolare.

ALTRI PRODOTTI RICHIESTI

I reagenti per l'estrazione dell'RNA dai campioni da analizzare, il controllo positivo di estrazione, il controllo positivo di amplificazione, gli standard a quantità nota e i consumabili **non** sono inclusi in questo prodotto.

Per l'esecuzione automatica dell'estrazione degli acidi nucleici, dell'amplificazione real time e dell'interpretazione dei risultati dei campioni da analizzare sono richiesti lo strumento «**ELITE InGenius**» (ELITechGroup S.p.A., codice INT030) e i seguenti Assay protocols specifici:

- parametri per l'amplificazione dei calibratori «**HEV ELITE STD**»,
- parametri per il controllo positivo di amplificazione «**HEV ELITE PC**»,
- parametri per il controllo negativo di amplificazione «**HEV ELITE NC**»,
- parametri per i campioni di plasma in analisi «**HEV ELITE PL_200_100**»,
- parametri per i campioni di feci in analisi «**HEV ELITE St_200_100**».

Per l'esecuzione automatica dei test con lo strumento «**ELITE InGenius**» sono inoltre richiesti i seguenti prodotti generici:

- cartucce di estrazione «**ELITE InGenius® SP 200**» (ELITechGroup S.p.A., codice INT032SP200),
- materiali di consumo per estrazione «**ELITE InGenius® SP 200 Consumable Set**» (ELITechGroup S.p.A., codice INT032CS),
- cartucce di amplificazione «**ELITE InGenius® PCR Cassette**» (ELITechGroup S.p.A., codice INT035PCR),
- puntali «**300 µL Filter Tips Axygen**» (Axygen BioScience Inc., CA, USA, codice TF-350-L-R-S),
- raccogliore «**ELITE InGenius® Waste Box**» (ELITechGroup S.p.A., codice F2102-000).

Come controllo interno di estrazione e di inibizione è richiesto l'impiego del prodotto generico «**CPE - Internal Control**» (ELITechGroup S.p.A., codice CTRCPE), una soluzione stabilizzata contenente due DNA plasmidici e RNA genomico di fago MS2.

Nel caso sia richiesta la rilevazione dell'RNA di HEV per analisi qualitativa si consiglia l'impiego del prodotto «**HEV - ELITE Positive Control**» (ELITechGroup S.p.A. codice CTR130ING), controllo positivo di DNA plasmidico.

Nel caso sia richiesta la rilevazione e quantificazione dell'RNA di HEV per analisi quantitativa si consiglia l'impiego del prodotto «**HEV ELITE Standard**» (ELITechGroup S.p.A., codice STD130ING), quattro diluizioni di DNA plasmidico a quantità nota per ottenere la curva standard.

Un Fattore di conversione permette di esprimere i risultati quantitativi nelle Unità Internazionali di HEV del "1st World Health Organization International Standard for Hepatitis E Virus RNA Nucleic Acid Amplification Techniques (NAT)-Based Assays" (PEI, Germania, codice 6329/10).

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

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

Avvertenze e precauzioni generali

Manipolare e smaltire tutti i campioni biologici come se fossero in grado di trasmettere agenti infettivi. Evitare il contatto diretto con i campioni biologici. Evitare di produrre schizzi o aerosol. Il materiale che viene a contatto con i campioni biologici deve essere trattato con ipoclorito di sodio al 3% per almeno 30 minuti oppure trattato in autoclave a 121 °C per un'ora prima di essere smaltito.

Manipolare e smaltire tutti i reagenti e tutti i materiali usati per effettuare il saggio come se fossero potenzialmente infettivi. Evitare il contatto diretto con i reagenti. Evitare di produrre schizzi o aerosol. I rifiuti devono essere trattati e smaltiti secondo le opportune regole di sicurezza. Il materiale monouso combustibile deve essere incenerito. I rifiuti liquidi contenenti acidi o basi devono essere neutralizzati prima dell'eliminazione.

HEV ELITE MGB® Kit

reagenti per la trascrizione inversa dell'RNA e l'amplificazione Real Time del cDNA

REF RTS130ING

Indossare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi / la faccia.
Non pipettare a bocca alcuna soluzione.
Non mangiare, bere, fumare o applicare cosmetici nelle aree di lavoro.
Lavarsi bene le mani dopo avere maneggiato i campioni e i reagenti.
Eliminare i reagenti avanzati ed i rifiuti secondo le norme vigenti.
Leggere attentamente tutte le istruzioni fornite nel prodotto prima di eseguire il saggio.
Attenersi alle istruzioni fornite nel prodotto durante l'esecuzione del saggio.
Rispettare la data di scadenza del prodotto.
Utilizzare solo i reagenti presenti nel prodotto e quelli consigliati dal fabbricante.
Non utilizzare reagenti provenienti da lotti diversi.
Non utilizzare reagenti di altri fabbricanti.

Avvertenze e precauzioni per la biologia molecolare

Le procedure di biologia molecolare richiedono personale addestrato per evitare il rischio di risultati errati, in particolare a causa della degradazione degli acidi nucleici dei campioni o della contaminazione dei campioni da parte di prodotti di amplificazione.

E' necessario disporre di camici, guanti e strumenti dedicati all'allestimento delle sessioni di lavoro.

I campioni devono essere adatti e possibilmente dedicati a questo tipo di analisi. I campioni devono essere manipolati sotto una cappa a flusso laminare. Le pipette utilizzate per manipolare i campioni devono essere dedicate solo a questo uso. Le pipette devono essere del tipo a dispensazione positiva o utilizzare puntali con filtro per aerosol. I puntali utilizzati devono essere sterili, esenti da DNasi ed RNasi, esenti da DNA ed RNA.

I reagenti devono essere manipolati sotto una cappa a flusso laminare. I reagenti necessari per l'amplificazione devono essere preparati in modo da essere utilizzati in una singola sessione. Le pipette utilizzate per manipolare i reagenti devono essere dedicate solo a questo uso. Le pipette devono essere del tipo a dispensazione positiva o utilizzare puntali con filtro per gli aerosol. I puntali utilizzati devono essere sterili, esenti da DNasi ed RNasi, esenti da DNA ed RNA.

Le PCR cassette devono essere manipolate in modo da non disperdere nell'ambiente i prodotti di amplificazione per evitare la contaminazione di campioni e reagenti.

Avvertenze e precauzioni specifiche per i componenti**HEV PCR Mix**

La **HEV PCR Mix** deve essere conservata al buio a -20 °C.

La **HEV PCR Mix** può essere congelata e scongelata per un massimo di **cinque volte**: ulteriori cicli di congelamento / scongelamento possono causare un calo delle prestazioni del prodotto.

RT EnzymeMix

L'**RT EnzymeMix** deve essere conservata a -20 °C.

L'**RT EnzymeMix** non deve rimanere esposta a temperature superiori a -20 °C per più di 10 minuti. può essere congelato e scongelato per un massimo di **dieci volte**.

HEV ELITE MGB® Kit

reagenti per la trascrizione inversa dell'RNA e l'amplificazione Real Time del cDNA

REF RTS130ING

CAMPIONI E CONTROLLI**Campioni**

Questo prodotto deve essere utilizzato con i seguenti campioni clinici:

Plasma raccolto in EDTA

I campioni di plasma destinati all'estrazione dell'RNA devono essere raccolti in EDTA, trasportati e conservati a temperatura ambiente (+18 / +30 °C) per un massimo di ventiquattro ore o a +2 / +8 °C per un massimo di cinque giorni, altrimenti devono essere congelati e conservati a -20 °C per un massimo di trenta giorni oppure a -70 °C per tempi più lunghi.

Si consiglia di suddividere in più aliquote i campioni da conservare congelati in modo da non sottoporli a cicli di congelamento / scongelamento ripetuti. Quando si utilizzano campioni congelati, scongelare i campioni immediatamente prima dell'estrazione per evitare la possibile degradazione degli acidi nucleici.

Nota bene: quando si esegue l'estrazione dell'RNA da campioni di plasma raccolto in EDTA con **ELITE InGenius** e con **ELITE InGenius Software** versione 1.3 (o versioni successive equivalenti) utilizzare il protocollo di estrazione **HEV ELITE_PL_200_100**. Questo protocollo processa 200 µL di campione, aggiunge **CPE** con 10 µL / estrazione e eluisce gli acidi nucleici in 100 µL.

Gli acidi nucleici purificati possono essere conservati a +2 / +8 °C per 16 ore o a -20 °C per un mese.

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

Feci

I campioni di feci, destinati all'estrazione dell'RNA, devono essere raccolti secondo le procedure standard del laboratorio, trasportati e conservati a +2 / +8 °C per un massimo di ventiquattro ore o, altrimenti devono essere conservati a -20 °C per un massimo di trenta giorni o a -70°C per periodi più lunghi.

Si consiglia di suddividere in più aliquote i campioni da conservare congelati in modo da non sottoporli a cicli di congelamento / scongelamento ripetuti. Quando si utilizzano campioni congelati, scongelare i campioni immediatamente prima dell'estrazione per evitare la possibile degradazione degli acidi nucleici.

Prima dell'estrazione si raccomanda di:

- trasferire circa 3 mL di feci nel tubo conico da 50 mL (riempire il fondo del tubo),
- aggiungere 5 mL di acqua per biologia molecolare,
- vortexare fino a che il campione non diventa omogeneo,
- trasferire 100 µL di campione di feci diluito in un tubo da 1,5 mL con 900 µL di acqua per biologia molecolare,
- vortexare fino a che il campione non diventa omogeneo,
- centrifugare a 13.000 x g per 1 minuto
- trasferire con attenzione 200 µL di surnatante di feci in un "Sonication tube" fornito con «ELITE InGenius SP 200 Consumable Set», stando attenti a non toccare il pellet di materiale fecale.

Nota bene: quando si esegue l'estrazione del RNA da campioni di feci con **ELITE InGenius** e con **ELITE InGenius® Software** versione 1.3 (o versioni successive equivalenti) utilizzare il protocollo di estrazione **HEV ELITE_ST_200_100**. Questo protocollo processa 200 µL di campione, aggiunge **CPE** con 10 µL / estrazione e eluisce gli acidi nucleici in 100 µL.

Gli acidi nucleici purificati possono essere conservati a +2 / +8 °C per 16 ore o a -20 °C per un mese.

Sostanze interferenti

Quantità di DNA genomico umano elevate nell'RNA estratto dal campione possono inibire la reazione di trascrizione inversa e di amplificazione real time.

I dati disponibili relativi all'inibizione causata da farmaci e altre sostanze sono riportati nel paragrafo "Sostanze interferenti" del capitolo "Caratteristiche delle prestazioni".

Amplificazione dei calibratori e Controlli di amplificazione

Prima di analizzare un campione, è necessario approvare la curva di calibrazione e i controlli di amplificazione relativi al lotto di reagente di amplificazione che si intende utilizzare:

come Calibratori, utilizzare i quattro livelli di concentrazione del **HEV ELITE Standard** (non fornito

HEV ELITE MGB® Kit
reagenti per la trascrizione inversa dell'RNA e
l'amplificazione Real Time del cDNA

REF RTS130ING

con il kit), in associazione con l'Assay protocol **HEV ELITE STD**, come Controllo Positivo di amplificazione, utilizzare **HEV - ELITE Positive Control** (non fornito con il kit), in associazione con l'Assay protocol **HEV ELITE PC**, come Controllo Negativo di amplificazione, utilizzare l'acqua per biologia molecolare (non fornita con il kit) in associazione con l'Assay protocol **HEV ELITE NC**.

Nota bene: il sistema **ELITE InGenius** richiede la presenza di risultati approvati e validi della curva di calibrazione e dei controlli di amplificazione per ogni lotto di reagente di amplificazione che è memorizzato nel suo database.

I risultati delle curve di calibrazione, approvati e memorizzati nel database, scadono **dopo 60 giorni**. Alla data di scadenza, è necessario eseguire nuovamente l'analisi dei calibratori con il lotto di reagente di amplificazione.

I risultati dei controlli dell'amplificazione, approvati e memorizzati nel database, scadono **dopo 15 giorni**. Alla data di scadenza, è necessario eseguire nuovamente l'analisi dei controlli positivi e negativi con il lotto di reagente di amplificazione.

Inoltre i calibratori e i controlli di amplificazione devono essere eseguiti nuovamente quando:

- si utilizza un nuovo lotto di reagenti di amplificazione,
- I risultati delle analisi di controllo di qualità (vedi paragrafo successivo) sono fuori dalle specifiche,
- è stato effettuato un intervento di manutenzione sullo strumento **ELITE InGenius**.

Controlli di qualità

Si raccomanda la validazione pianificata della procedura di estrazione e amplificazione. È possibile utilizzare campioni già testati o materiale di riferimento certificato. I controlli esterni devono essere utilizzati in conformità con le organizzazioni di accreditamento locali, statali e federali.

PROCEDURA

La procedura di utilizzo del prodotto «**HEV ELITE MGB® Kit**» con il sistema **ELITE InGenius** comprende tre fasi:

- verifica che il sistema sia pronto,
- impostazione della sessione,
- esame e esportazione dei risultati.

Verifica che il sistema sia pronto

Prima di iniziare la sessione, riferendosi alla documentazione dello strumento, è necessario:

- accendere **ELITE InGenius** e selezionare la modalità "**CLOSED**";
- verificare che i risultati dei Calibratori (**HEV Q-PCR Standard**) siano presenti approvati e non scaduti (Status) per il lotto di reagente di amplificazione che si intende utilizzare. Se non sono presenti risultati dei calibratori approvati e validi, generare gli stessi come descritto di seguito;
- verificare che i risultati dei controlli di amplificazione (Controls, **HEV Positive Control**, **HEV Negative Control**) siano presenti, approvati e non scaduti (Status) per il lotto di reagente di amplificazione che si intende utilizzare. Se non sono presenti risultati dei controlli di amplificazione approvati e validi, generare gli stessi come descritto di seguito;
- scegliere il tipo di corsa, seguendo le istruzioni della Graphical User Interface (GUI) per impostare la sessione utilizzando gli Assay protocol forniti da ELITechGroup S.p.A.. Questi protocolli IVD sono stati validati specificamente con i prodotti **ELITE MGB Kit**, le matrici e lo strumento **ELITE InGenius**.

HEV ELITE MGB® Kit
reagenti per la trascrizione inversa dell'RNA e
l'amplificazione Real Time del cDNA

REF RTS130ING

I protocolli dei saggi disponibili per «**HEV ELITE MGB® Kit**» sono descritti nella tabella seguente.

Assay protocol per HEV ELITE MGB® Kit			
Nome	Matrice	Risultato	Caratteristiche
HEV ELITE_PL_200_100	Plasma	Positivo / copie/mL / IU/mL / Negativo	Volume d'Estrazione iniziale: 200 µL Volume Estratto dell'Elutato: 100 µL Controllo Interno: 10 µL Sonicazione: NO Volume PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 10 µL
HEV ELITE_St_200_100	Surnatante di feci	Positivo / copie/mL / Negativo	Volume d'Estrazione iniziale: 200 µL Volume Estratto dell'Elutato: 100 µL Controllo Interno: 10 µL Sonicazione: NO Volume PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 10 µL

Se l'Assay protocol di interesse, non è presente nel sistema, contattare il Servizio Clienti locale di ELITechGroup S.p.A..

Impostazione della sessione

Il prodotto **HEV ELITE MGB® Kit** in associazione al sistema **ELITE InGenius** può essere utilizzato per eseguire:

- A. Corsa integrata (Extract + PCR),
- B. Corsa di amplificazione (PCR only),
- C. Calibrazione della corsa (PCR only),
- D. Corsa di Amplificazione per il Controllo Positivo e il Controllo Negativo (PCR only).

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

Nota bene: il sistema **ELITE InGenius** può essere collegato al "Laboratory Information Server" (LIS) tramite il quale è possibile inviare le informazioni di impostazione della sessione. Per informazioni dettagliate consultare il manuale di istruzioni dello strumento.

Prima di iniziare la sessione è necessario:

1. prelevare le provette con i campioni da analizzare. Se necessario, scongelare il contenuto a temperatura ambiente (+18 / 25 °C). Mescolare il reagente con vortex per 10 secondi, centrifugare le provette per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e tenerle in ghiaccio;
2. prelevare e scongelare per 30 minuti a temperatura ambiente (+18 / 25 °C) le provette di **HEV PCR Mix** (tappo BIANCO) necessarie per la sessione (il contenuto iniziale di ciascuna provetta è sufficiente per allestire **24 reazioni**). Mescolare il reagente con vortex per 10 secondi per tre volte, centrifugare le provette per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e tenerle in ghiaccio;
3. prelevare al momento dell'uso le provette di **RT EnzymeMix** (tappo NERO) necessarie per la sessione (il contenuto iniziale di ciascuna provetta è sufficiente per allestire **48 reazioni**). Agitare gentilmente le provette, centrifugarle per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e tenerle in ghiaccio.

Nota bene: L' **RT EnzymeMix** non deve rimanere esposto a temperature superiori a -20 °C per più di 10 minuti.

4. preparare un tubo da 2,0 mL con tappo a vite (Sarstedt Ref. 72.694.005, non fornito nel kit) per la **miscela completa di reazione** e marcarla in modo riconoscibile con un pennarello indelebile;
5. calcolare i volumi dei due componenti forniti nel kit necessari per preparare la **miscela completa di reazione** in base al numero di campioni da analizzare come descritto nella tabella seguente;

HEV ELITE MGB® Kit

reagenti per la trascrizione inversa dell'RNA e l'amplificazione Real Time del cDNA

REF RTS130ING

Nota bene: Per il calcolo dei volumi dei due componenti da utilizzare per preparare la **miscela completa di reazione**, è necessario definire il numero di campioni (N) da testare nella sessione e seguire quanto riportato nella tabella seguente.

Numero di campioni (N)	HEV PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0.3 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 12$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0.3 \mu\text{L}$

- preparare la **miscela completa di reazione** trasferendo nel tubo dedicato i volumi calcolati dei due componenti;
- mescolare **con vortex a bassa velocità** per tre volte per circa 10 secondi, centrifugare la provetta per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e tenere in ghiaccio;

Nota bene: La **miscela completa di reazione** deve essere utilizzata entro **6 ore**, se lasciata nel blocco refrigerato dello strumento. La miscela completa di reazione **non** può essere conservata.

Le principali operazioni per l'impostazione dei tipi di corsa sono descritte di seguito.

A Corsa integrata

Per impostare la corsa integrata per l'estrazione e amplificazione del campione, eseguire le seguenti indicazioni come da GUI:

- Scongelerare i tubi di CPE per la sessione. Ogni tubo è sufficiente per 12 estrazioni. Mescolare delicatamente, centrifugare il contenuto per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e tenere in ghiaccio.
- Selezionare "Perform Run" dalla schermata "Home".
- Assicurarsi che "Extraction Input Volume" sia impostato a 200 μL e che "Extracted Elute Volume" sia impostato a 100 μL .
- Per ogni "Track" di interesse compilare il "SampleID" (SID) digitando o scansionando il codice a barre del campione.
- Selezionare l'Assay protocol da utilizzare nella colonna "Assay" (ad esempio HEV ELITE_PL_200_100).
- Assicurarsi che il "Protocol" visualizzato sia: "Extract + PCR".
- Selezionare la posizione di caricamento del campione nella colonna "Sample Position":
 - se è utilizzato il tubo primario, selezionare "Primary Tube",
 - se è utilizzato un tubo secondario, selezionare "Sonicator Tube".
 Fare clic su "Next" per procedere con l'operazione successiva.
- Caricare il CPE e la HEV PCR Mix nell'"Inventory Block" selezionato seguendo le istruzioni della GUI. Fare clic su "Next" per procedere con l'operazione successiva.
- Caricare e controllare i Rack dei puntali nell'"Inventory Area" selezionata seguendo le istruzioni della GUI. Fare clic su "Next" per procedere con l'operazione successiva.
- Caricare le "PCR Cassette", le cartucce di estrazione "ELITE InGenius SP 200", tutti i consumabili e i campioni da estrarre nella posizione specificata al punto 8, seguendo le istruzioni della GUI. Fare clic su "Next" per procedere con l'operazione successiva.
- Chiudere lo sportello dello strumento.
- Premere "Start" per avviare la corsa.

Dopo il completamento della sessione, il sistema **ELITE InGenius** permette di visualizzare, approvare, memorizzare i risultati e di stampare e salvare il rapporto.

Nota bene: Alla fine della corsa il campione estratto rimasto nell'"Elution Tube" deve essere prelevato dallo strumento, tappato, identificato e conservato a -20 °C per un mese. Evitare la fuoriuscita del campione estratto.

HEV ELITE MGB® Kit

reagenti per la trascrizione inversa dell'RNA e l'amplificazione Real Time del cDNA

REF RTS130ING

Nota bene: Alla fine della corsa le "PCR Reaction Cassette" con i prodotti di reazione e i consumabili devono essere rimossi dallo strumento ed eliminate senza produrre contaminazioni ambientali. Evitare la dispersione dei prodotti di reazione.

Nota bene: La **miscela completa di reazione** può essere conservata nel blocco refrigerato fino a **2 sessioni** di lavoro da 3 ore ciascuna e per il tempo necessario ad iniziare la terza sessione di lavoro.

B Corsa di amplificazione

Per impostare la corsa di amplificazione partendo dall'RNA estratto, eseguire le seguenti indicazioni come da GUI:

- Selezionare "Perform Run" dalla schermata "Home".
- Anche se l'estrazione non sarà eseguita, assicurarsi che "Extraction Input Volume" sia impostato a 200 μL e che "Extracted Elute Volume" sia impostato a 100 μL .
- Per ogni Track di interesse compilare il SID digitando o scansionando il codice a barre del campione.
- Selezionare l'Assay protocol da utilizzare nella colonna "Assay" (ad esempio HEV ELITE_PL_200_100).
- Selezionare "PCR Only" nella colonna "Protocol".
- Assicurarsi che la posizione di caricamento del campione nella colonna "Sample Position" sia "Elution Tube (bottom row)". Fare clic su "Next" per procedere con l'operazione successiva.
- Caricare la **miscela completa di reazione** nell'"Inventory Block" selezionato seguendo le istruzioni della GUI. Fare clic su "Next" per procedere con l'operazione successiva.
- Caricare e controllare i Rack dei puntali nell'"Inventory Area" selezionata seguendo le istruzioni della GUI. Fare clic su "Next" per procedere con l'operazione successiva.
- Caricare le "PCR Reaction Cassette" e i campioni degli acidi nucleici estratti seguendo le istruzioni della GUI. Fare clic sul pulsante "Next" per procedere con l'operazione successiva.
- Chiudere la porta dello strumento,
- Premere "Start" per iniziare la corsa.

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

Nota bene: Alla fine della corsa il campione rimasto nell'"Elution Tube" deve essere prelevato dallo strumento, tappato, identificato e conservato a -20 °C per un mese. Evitare la fuoriuscita del campione estratto.

Nota bene: Alla fine della corsa le "PCR Reaction Cassette" con i prodotti di reazione e i consumabili devono essere rimossi dallo strumento ed eliminate senza produrre contaminazioni ambientali. Evitare la dispersione dei prodotti di reazione.

Nota bene: La **miscela completa di reazione** può essere conservata nel blocco refrigerato fino a **2 sessioni** di lavoro da 3 ore ciascuna e per il tempo necessario ad iniziare la terza sessione di lavoro.

C Corsa di calibrazione

Per impostare la corsa di calibrazione seguire le seguenti indicazioni come da GUI:

1. Scongellare i tubi di **HEV Q – PCR Standard** in numero sufficiente per la sessione (Cal1: HEV Q-PCR Standards 10², Cal2: HEV Q-PCR Standards 10³, Cal3: HEV Q-PCR Standards 10⁴, Cal4: HEV Q-PCR Standards 10⁵). Ogni provetta è sufficiente per preparare 4 reazioni. Mescolare delicatamente, centrifugare il contenuto per 5 secondi.
2. Selezionare "Perform Run" dalla schermata "Home".
3. Selezionare l'Assay protocol da utilizzare nella colonna "Assay".
4. Anche se l'estrazione non sarà eseguita, assicurarsi che "Extraction Input Volume" sia impostato a 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia impostato a 100 µL.
5. Selezionare il protocollo "**HEV ELITE STD**" da utilizzare nella colonna "Assay" e compilare il numero di lotto e la data di scadenza per il **HEV Q – PCR Standard**.
6. Fare clic su "Next" per procedere con l'operazione successiva.
7. Caricare / controllare i Rack dei puntali nell'"Inventory Area" selezionato seguendo le istruzioni GUI. Fare clic su "Next" per procedere con l'operazione successiva.
8. Caricare le "PCR Cassette" e i tubi di **HEV Q – PCR Standard**, seguendo le istruzioni GUI. Fare clic sul pulsante "Next" per procedere con l'operazione successiva.
9. Chiudere la porta dello strumento,
10. Premere "Start" per iniziare la corsa.

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

Nota bene: Alla fine della corsa lo standard rimasto può essere rimosso dallo strumento, tappato, e conservato a -20 °C.

Nota bene: Alla fine della corsa le "PCR Cassette" con i prodotti di reazione e i consumabili devono essere rimosse dallo strumento ed eliminate senza produrre contaminazioni ambientali. Evitare la dispersione dei prodotti di reazione.

Nota bene: La **miscela completa di reazione** può essere conservata nel blocco refrigerato fino a 2 sessioni di lavoro da 3 ore ciascuna e per il tempo necessario ad iniziare la terza sessione di lavoro.

D. Corsa di Amplificazione per il Controllo Positivo e il Controllo Negativo

Per impostare la corsa di amplificazione del Controllo Positivo e del Controllo Negativo eseguire le seguenti indicazioni come da GUI:

1. Scongellare il tubo di **HEV Positive Control** per la sessione. Ogni provetta è sufficiente per 4 sessioni. Mescolare con vortex, centrifugare il contenuto per 5 secondi.
2. Trasferire almeno 50 µL di acqua per biologia molecolare in un "Elution tube", fornito nell'ELITE InGeniusSP 200 Consumable Set.
3. Selezionare "Perform Run" dalla schermata "Home".
4. Nelle "Track" di interesse, selezionare l'Assay protocol da utilizzare nella colonna "Assay".
5. Anche se l'estrazione non sarà eseguita, assicurarsi che "Extraction Input Volume" sia impostato a 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia impostato a 100 µL.
6. Per il controllo positivo, selezionare il protocollo HEV ELITE_PC nella colonna "Assay" e inserire il numero di lotto e la data di scadenza del **HEV Positive Control**.
7. Per il controllo negativo, selezionare il protocollo del test HEV ELITE_NC nella colonna "Assay" e inserire il numero di lotto e la data di scadenza dell'acqua per biologia molecolare.
8. Fare clic su "Next" per procedere con l'operazione successiva.
9. Caricare la **miscela completa di reazione** nell'"Inventory Block" selezionato seguendo le istruzioni della GUI. Fare clic su "Next" per procedere con l'operazione successiva.
10. Caricare / controllare i Rack dei puntali nell'"Inventory Area" seguendo le istruzioni della GUI. Fare clic su "Next" per procedere con l'operazione successiva.
11. Caricare le "PCR Reaction Cassette", il tubo di **HEV Positive Control** e il tubo di controllo negativo seguendo le istruzioni della GUI. Fare clic sul pulsante "Next" per procedere con l'operazione successiva.
12. Chiudere la porta dello strumento,
13. Premere "Start" per iniziare la corsa.

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

Nota bene: Alla fine della corsa il Controllo Positivo rimasto deve essere prelevato dallo strumento, tappato, identificato e conservato a -20 °C. Il controllo Negativo rimasto deve essere eliminato.

Nota bene: Alla fine della corsa le "PCR Reaction Cassette" con i prodotti di reazione e i consumabili devono essere rimossi dallo strumento ed eliminate senza produrre contaminazioni ambientali. Evitare la dispersione dei prodotti di reazione.

Nota bene: La **miscela completa di reazione** può essere conservata nel blocco refrigerato fino a 2 sessioni di lavoro da 3 ore ciascuna e per il tempo necessario ad iniziare la terza sessione di lavoro.

Esame ed Esportazione dei risultati

Al termine della corsa, viene visualizzata automaticamente la schermata "Results Display". In questa schermata sono visualizzati i risultati relativi a campione / controllo e le informazioni relative alla corsa. Da questa schermata è possibile approvare il risultato, stampare o salvare i rapporti ("Sample Report" o "Track Report"). Per informazioni dettagliate consultare il manuale di istruzioni dello strumento.

Nota bene: il sistema **ELiTe InGenius** può essere collegato al "Laboratory Information Server" (LIS) tramite il quale è possibile inviare le informazioni di impostazione della sessione. Per informazioni dettagliate consultare il manuale di istruzioni dello strumento.

Il sistema **ELiTe InGenius** genera i risultati con il prodotto **HEV ELiTe MGB® Kit** attraverso questa procedura:

- Validazione della curva di calibrazione,
- Validazione dei risultati di amplificazione del Controllo Positivo e del Controllo Negativo,
- Validazione dei risultati del campione,
- Refertazione dei risultati del campione.

A. Validazione della curva di calibrazione

I segnali di fluorescenza emessi dalla sonda specifica per HEV (Channel 1 "HEV"), nelle reazioni di amplificazione del calibratore sono analizzati automaticamente e interpretati dal software dello strumento con i parametri inclusi nel protocollo del saggio "HEV ELiTe_STD".

La curva di calibrazione, specifica per il lotto del reagente di amplificazione, è memorizzata nel database (Calibration) dopo l'approvazione da parte del personale con la qualifica di "Administrator" o "Analyst", seguendo le istruzioni GUI.

La curva di calibrazione, specifica per il lotto del reagente di amplificazione, scadrà **dopo 60 giorni**.

Nota Bene: Quando la curva di calibrazione non soddisfa i criteri di accettazione, lo strumento visualizza il messaggio "Failed" nella schermata "Calibration" e non è possibile approvarla. Le reazioni di amplificazione del calibratore devono essere ripetute.

Nota Bene: Nel caso in cui la curva di calibrazione sia caricata insieme ai campioni ed il risultato non sia valido, l'intera sessione non sarà valida e l'amplificazione di tutti i campioni dovrà essere ripetuta.

B. Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo di amplificazione

Il segnale di fluorescenza emesso dalla sonda per HEV (Channel 1 "HEV"), nella reazione di amplificazione del Controllo Positivo e del Controllo Negativo sono analizzati automaticamente e interpretati dal software dello strumento con i parametri inclusi negli Assay protocols "HEV ELiTe_PC" e "HEV ELiTe_NC".

I risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo di amplificazione, specifici per il lotto del reagente di amplificazione, sono memorizzati nel database (Controls) e possono essere visualizzati e approvati da parte del personale con la qualifica di "Administrator" o "Analyst", seguendo le istruzioni della GUI.

I risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo di amplificazione, specifici per il lotto del reagente di amplificazione, scadono **dopo 15 giorni**.

I risultati delle corse di amplificazione con Controllo Positivo e Controllo Negativo vengono utilizzati dal software dello strumento per calcolare l'impostazione delle "Control Charts". Quattro risultati di Controllo Positivo e Controllo Negativo, da quattro diverse sessioni sono richiesti per impostare la "Control Chart". Successivamente, i risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo vengono utilizzati per monitorare le prestazioni della fase di amplificazione. Fare riferimento al manuale dello strumento per ulteriori dettagli.

Nota Bene: Quando un risultato dell'amplificazione del Controllo Positivo o del Controllo Negativo non soddisfa i criteri di accettazione, lo strumento visualizza il messaggio "Failed" nella schermata "Controls" e non è possibile approvarlo. In questo caso la reazione di amplificazione del Controllo Positivo o del Controllo Negativo deve essere ripetuta.

Nota Bene: Se il Controllo Positivo o del Controllo Negativo è processato insieme con i campioni da analizzare ed il suo risultato non è valido, l'intera sessione non è valida. In questo caso anche l'amplificazione dei campioni deve essere ripetuta.

C. Validazione dei risultati del campione

I segnali di fluorescenza emessi dalla sonda per HEV (Channel 1 "HEV") e dalla sonda per il Controllo Interno (Channel 2 "IC") nelle reazioni di amplificazione dei campioni sono analizzati automaticamente e interpretati dal software dello strumento con i parametri inclusi negli Assay protocol HEV ELiTe_PL_200_100 and HEV ELiTe_St_200_100.

I risultati sono visualizzati nei rapporti generati dallo strumento ("Result Display").

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

1) Curva di Calibrazione	Status
HEV Q-PCR Standards	APPROVED
2) Controllo Positivo	Status
HEV Positive Control	APPROVED
3) Controllo Negativo	Status
HEV Negative Control	APPROVED

Per ciascun campione il risultato del saggio è interpretato automaticamente dal sistema come stabilito dall'algoritmo dell'ELiTe InGenius software e dai parametri dell'Assay protocol.

I possibili messaggi relativi al risultato di un campione sono riportati nella tabella sottostante.

Risultato della corsa del campione	Interpretazione
HEV: RNA Detected, quantity equal to XXX copies / mL or IU / mL.	L'RNA di HEV è stato rilevato nel campione nell'intervallo di misurazione del saggio, quantità come mostrato.
HEV: RNA Detected, quantity below LLoQ copies / mL or IU / mL.	L'RNA di HEV è stato rilevato nel campione al di sotto del limite inferiore di quantificazione del saggio.
HEV: RNA Detected, quantity beyond ULoQ copies / mL or IU / mL.	L'RNA di HEV è stato rilevato nel campione al di sopra del limite superiore di quantificazione del saggio.
HEV: RNA Not Detected or below the LoD copies / mL or IU / mL.	L'RNA di HEV non rilevato o inferiore al Limite di Rivelazione del saggio.
Invalid - Retest Sample	Risultato del saggio non valido a causa di un problema rilevato dal Controllo Interno (estrazione errata o presenza di un inibitore). Il test dovrebbe essere ripetuto.

I campioni non idonei per l'interpretazione dei risultati sono segnalati come "Invalid - Retest Sample" dall'ELiTe InGenius software. In questo caso non è stato possibile rilevare in modo efficiente l'RNA del Controllo Interno perché si sono verificati problemi nella fase di trascrizione inversa, amplificazione o nella fase di estrazione (degradazione dell'RNA, perdita dell'RNA durante l'estrazione o presenza di inibitori nell'estratto) che possono causare risultati non corretti.

Quando il volume dell'eluato è sufficiente, il campione estratto può essere ritestato mediante amplificazione in modalità "PCR Only". Se si conferma il risultato non valido, il campione deve essere ritestato a partire dall'estrazione di una nuova aliquota utilizzando la modalità "Extract + PCR".

I campioni idonei in cui non è stato possibile rilevare l'RNA di HEV sono segnalati come "HEV RNA Not Detected or below LoD". In questo caso non si può escludere che l'RNA di HEV sia presente ad un titolo inferiore al limite di rilevazione del prodotto (vedi paragrafo "Caratteristiche delle prestazioni").

Nota bene: I risultati ottenuti con questo saggio devono essere interpretati tenendo conto di tutti i dati clinici e gli altri risultati degli esami di laboratorio relativi al paziente.

I risultati della corsa del campione sono memorizzati nel database e, se validi, possono essere approvati (Result Display) da parte di personale con la qualifica di "Administrator" o "Analyst" seguendo le istruzioni della GUI. Dalla finestra "Result Display" è possibile stampare e salvare i risultati della sessione come "Sample Report" e "Track Report".

D. Esportazione dei risultati del campione

I risultati del campione sono memorizzati nel database e possono essere esportati come "Sample Report" e "Track Report".

Il "Sample Report" mostra i dettagli di una sessione di lavoro per i campioni selezionati (SID).

Il "Track Report" mostra i dettagli di una sessione di lavoro per i Track selezionati.

I "Sample Report" e "Track Report" possono essere stampati e firmati dal personale autorizzato.

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Limite di Rilevazione (LoD)

La sensibilità analitica di questo saggio, come limite di rilevazione, permette di rilevare la presenza di circa 10 copie di RNA nei 10 µL di campione aggiunti alla reazione di amplificazione.

Il Limite di Rilevazione (LoD) del saggio è stato definito in associazione a campioni di plasma raccolto in EDTA e di surnatante fecale e lo strumento ELITe InGenius.

Il LoD è stato verificato utilizzando un pannello campioni di plasma raccolto in EDTA positizzato con il materiale di riferimento certificato (PEI) di HEV a titolo noto. Sono stati preparati sei livelli di concentrazione a partire da una concentrazione maggiore rispetto al valore di LoD atteso.

Ciascun campione del pannello è stato impiegato in 12 replicati per eseguire l'intera procedura con **ELITe InGenius** in modalità "Extract + PCR". L'analisi statistica è stata eseguita con la regressione Probit. Il limite di rilevazione è stato definito come la concentrazione alla quale la probabilità di ottenere un risultato positivo è il 95%. Il valore di LoD è stato verificato testando 20 replicati di plasma raccolto in EDTA e 20 replicati di surnatante fecale positizzati con materiale di riferimento certificato di HEV alla concentrazione desiderata.

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

Limite di Rilevazione HEV in plasma e surnatante fecale con ELITe InGenius		
LoD	Intervallo di confidenza del 95%	
	valore inferiore	valore superiore
288 UI / mL	183 UI / mL	768 UI / mL

Il valore di LoD in copie / mL per campioni di plasma raccolto in EDTA è stato calcolato applicando il fattore di conversione specifico riportato a pag.17. la sensibilità analitica in copie / mL è riportata nella tabella seguente:

Limite di Rilevazione HEV in plasma con ELITe InGenius (copie / mL)		
LoD	Intervallo di confidenza del 95%	
	valore inferiore	valore superiore
153 copie / mL	97 copie / mL	409 copie / mL

Intervallo di Misurazione Lineare

La sensibilità analitica di questo saggio, come intervallo di misurazione lineare, permette di quantificare da circa 10.000.000 a circa 100 copie per mL. L'intervallo di misurazione lineare è stato determinato utilizzando un pannello di campioni artificiali positizzati con materiale di riferimento certificato di HEV.

L'intervallo di misurazione lineare di questo test è stato determinato utilizzando un pannello di diluizioni di RNA di HEV. Il pannello è stato preparato diluendo il the "Quantitative Synthetic Hepatitis E virus RNA" (ATCC, code VR-3258SD) in una soluzione stabilizzante. Il pannello include sei diluizioni (1 Log di differenza tra un punto e l'altro) da 10⁷ copie / mL a 10² copie / mL. Ogni campione del pannello è stato testato in 12 replicati eseguendo l'intera procedura di analisi, estrazione, trascrizione inversa e amplificazione, con i prodotti EG SpA. L'analisi dei dati ottenuti, eseguita mediante regressione lineare, ha dimostrato che il dosaggio mostra una risposta lineare per tutte le diluizioni.

Il limite inferiore dell'intervallo di misurazione lineare è stato impostato alla concentrazione più bassa che fornisce il 100% di positività e risultati quantitativi accurati e precisi entro $\pm 0,5$ log.

Il limite superiore dell'intervallo di misurazione lineare è stato fissato alla massima concentrazione che fornisce risultati quantitativi accurati e precisi entro $\pm 0,5$ log.

L'intervallo di misurazione lineare come UI / mL per EDTA al plasma è stato calcolato applicando il fattore di conversione specifico riportato a pagina 17.

I risultati finali sono riportati nella seguente tabella.

Intervallo di misurazione lineare HEV in plasma con ELITe InGenius	
Limite Inferiore	Limite Superiore
288 IU / mL	18.800.000 IU / mL
153 copie / mL	10.000.000 copie / mL

Intervallo di misurazione lineare HEV in surnatante fecale con ELITe InGenius	
Limite Inferiore	Limite Superiore
500 copie / mL	10.000.000 copie / mL

Inclusività: Efficienza di rilevazione e Efficienza di quantificazione su diversi genotipi / sottotipi

L'efficienza di rilevazione su diversi genotipi è stata valutata per confronto con le sequenze disponibili nella banca dati nucleotidica EBI ENA.

L'esame delle regioni scelte per l'ibridazione degli oligonucleotidi di innesco e delle sonde fluorescenti sull'allineamento delle sequenze disponibili nella banca dati della regione ORF-2 di HEV dei genotipi 1, 2, 3, 3a e 4 ha dimostrato la loro conservazione e l'assenza di mutazioni significative.

Da un recente studio di sequenza nella banca dati nucleotidica EBI ENA sono stati identificati due cluster di mutazioni significative (ad esempio MW355395 e MH377727) nella regione di ibridazione della sonda. L'effetto di queste mutazioni è stato verificato e l'efficienza di rilevazione / quantificazione di queste varianti seppur minore, rientra nella variabilità di ± 0.5 Log. È possibile identificare la presenza di queste varianti attraverso l'analisi della Temperatura di Melting (Tm) da parte dell'operatore (vedi "Problemi e Soluzioni").

L'inclusività, come efficienza di rilevazione e quantificazione di diversi genotipi / sottotipi, è stata valutata utilizzando come materiale di riferimento il pannello "1st World Health Organization International Reference Panel for Hepatitis E Virus (HEV) Genotypes for Nucleic Acid Amplification Technique (NAT)-Based Assays" (Paul Enrich Institut, code 8578/13).

Ciascun campione del pannello è stato testato per eseguire l'intera procedura di analisi, estrazione, amplificazione, rilevazione e interpretazione dei risultati con il sistema ELITe InGenius in modalità "Extract+PCR".

I risultati finali sono riportati nella seguente tabella

Campione	Genotipo	media Log IU/mL	Dev. Std.	Log IU/mL misurato
8567/13	1a	2,64	0,60	2,61
8568/13s	1a	4,25	0,43	4,37
8569/13	1e	3,25	0,51	3,13
8570/13	3b	4,20	0,18	4,45
8571/13	3c	3,40	0,22	3,46
8572/13	3e	3,50	0,22	3,66
8573/13	3f	3,84	0,41	3,61
8574/13s	3 (rabbit-like)	4,98	0,38	4,78
8575/13	4c	4,07	0,38	3,85
8576/13	4g	3,77	0,38	3,36
8577/13s	2a	5,42	0,49	4,96

Tutti campioni sono stati rilevati correttamente e sono stati quantificati nell'intervallo definito dallo Studio Collaborativo WHO ± 1 DS, ad eccezione dei campioni 8570/13, 8576/13 e 8577/13s che, comunque rientrano in ± 0.5 Log.

Marcatori potenzialmente interferenti

La potenziale cross-reattività con altri organismi del prodotto HEV ELITe MGB® Kit è stata valutata mediante analisi *in silico* delle sequenze disponibili nel database dei nucleotidi EBI ENA.

Le regioni scelte per l'ibridazione dei primer e delle sonde fluorescenti sono state controllate tramite allineamento con sequenze di altri virus e batteri. Le regioni di ibridazione hanno mostrato assenza di omologie significative e non hanno indicato alcuna potenziale interferenza.

L'assenza di cross-reattività con altri organismi che possono essere trovati in campioni clinici di plasma EDTA è stata verificata anche testando un pannello di materiali certificati.

Campioni di DNA genomico o RNA di altri organismi potenzialmente cross-reattivi (ATCC, NIBSC e Qnostics) sono stati analizzati in tre replicati in associazione con il sistema ELITe InGenius in modalità "PCR Only".

I risultati finali sono riportati nella seguente tabella.

Potenziale cross-reattività		
Organismo	Specie	Risultato
HSV1	AD-169	Nessuna Cross-reattività
HSV2	McIntyre	Nessuna Cross-reattività
CMV	G	Nessuna Cross-reattività
EBV	Enterovirus 71	Nessuna Cross-reattività
BKV	B95-8	Nessuna Cross-reattività
JCV	1b-2	Nessuna Cross-reattività
WNV	1A	Nessuna Cross-reattività
Enterovirus	NY99	Nessuna Cross-reattività

Tutti i potenziali organismi cross-reattivi sono risultati negativi per i target quando testati con il prodotto HEV ELITe MGB® Kit.

L'assenza di interferenza con altri organismi che possono essere trovati in campioni clinici di plasma è stata verificata testando il pannello di materiali di riferimento certificati.

Campioni di DNA genomico o RNA di altri organismi potenzialmente cross-reattivi (ATCC, NIBSC e Qnostics) sono stati positivamente testati con materiale di riferimento certificato di HEV (ATCC) a bassa concentrazione (circa 10 copie / reazione). I campioni sono stati analizzati in tre replicati in associazione con il sistema ELITe InGenius in modalità "PCR Only".

I risultati finali sono riportati nella seguente tabella.

Potenziale Interferenza		
Organismo	Specie	Risultato
HSV1	AD-169	Nessuna interferenza
HSV2	McIntyre	Nessuna interferenza
CMV	G	Nessuna interferenza
EBV	Enterovirus 71	Nessuna interferenza
BKV	B95-8	Nessuna interferenza
JCV	1b-2	Nessuna interferenza
WNV	1A	Nessuna interferenza
Enterovirus	NY99	Nessuna interferenza

Tutti i potenziali organismi interferenti non hanno interferito con l'amplificazione del target quando testati con HEV ELITe MGB® Kit.

Marcatori potenzialmente interferenti

Il possibile effetto sul grado di interferenza delle sostanze interferenti è stato valutato analizzando il pannello "AcroMetrix® Inhibition Panel" (Life Technologies Inc.) con campioni contenenti potenziali sostanze endogene interferenti, risultanti da emolisi, ittero e lipemia, e sostanze esogene, anticoagulanti come EDTA ed eparina.

I campioni del pannello sono stati positivamente testati con materiale di riferimento di HEV (PEI) ad una concentrazione equivalente a circa 3X LoD. I campioni sono stati processati in tre replicati in associazione allo strumento ELITe InGenius in modalità "Extract + PCR".

I valori di Ct del target e del Controllo Interno (campioni testati e di riferimento) sono stati utilizzati per calcolare la percentuale del Coefficiente di variabilità (%CV) per poter valutare una possibile interferenza.

I risultati finali sono riportati nella seguente tabella.

Sostanze potenzialmente interferenti			
Campione	Pos. / Rep.	%CV Ct HEV	%CV Ct IC
Plasma EDTA	3 / 3	2,092	3,434
Sangue emolitico - basso	3 / 3	1,134	0,842
Sangue emolitico - medio	3 / 3	1,209	0,590
Sangue emolitico - alto	3 / 3	1,768	0,983
Plasma Eparinizzato	3 / 3	1,775	3,731
Plasma Lipemico	3 / 3	1,070	2,653
Plasma Itterico	3 / 3	1,313	0,797

Tutti i campioni sono risultati positivi per il target di interesse come atteso. La percentuale %CV dei valori di Ct è minore del 4%. Nessuna delle sostanze testate alle concentrazioni testate ha interferito con la rilevazione del target con il prodotto HEV ELITe MGB® Kit.

Ripetibilità

La Ripetibilità dei risultati ottenuti con questo saggio in associazione al sistema ELITe InGenius, è stata testata eseguendo l'analisi di un pannello di campioni di plasma EDTA. Il pannello include un campione negativo e tre campioni positivamente testati con l'RNA di HEV ad una concentrazione pari a of 0,5X LoD (circa 144 UI / mL), 1,5X LoD (circa 431 UI / mL), e 3X LoD (circa 861 UI / mL).

La Ripetibilità è stata ottenuta attraverso l'analisi in triplicato dei campioni del pannello in due sessioni al giorno, con lo stesso lotto di prodotto. Sono stati utilizzati tre diversi lotti di prodotto, in tre giorni diversi, con lo stesso strumento e l'analisi è stata eseguita dallo stesso operatore. I campioni sono stati testati con ELITe InGenius in modalità "Extract + PCR".

I risultati in termini di valori di Ct per ogni target e per il Controllo Interno sono stati analizzati come percentuale di Coefficiente di Variabilità (CV%), ottenendo la Ripetibilità come imprecisione.

Il riassunto dei risultati è riportato nelle seguenti tabelle.

Ripetibilità Intra - Sessione							
Campione	Pos. / Neg.	HEV			Controllo Interno		
		Ct medio	SD	% CV	Ct medio	SD	% CV
Negativo	0 / 6	NA	NA	NA	30,27	0,27	0,90
0,5X LoD	5 / 6	39,80	0,57	1,42			
1,5X LoD	6 / 6	38,77	0,89	2,28			
3X LoD	6 / 6	37,75	0,82	2,17			

Ripetibilità Inter - Lotto							
Campione	Pos. / Neg.	HEV			Controllo Interno		
		Ct medio	SD	% CV	Ct medio	SD	% CV
Negativo	0 / 18	NA	NA	NA	29,95	0,37	1,23
0,5X LoD	16 / 18	39,62	0,71	1,80			
1,5X LoD	18 / 18	38,46	0,95	2,47			
3X LoD	18 / 18	37,55	0,75	,01			

Nel test di ripetibilità, il saggio ha rilevato HEV come previsto e ha mostrato un CV% basso di valori Ct che non ha superato il 3% per HEV e il 2% per il Controllo Interno.

Riproducibilità

La Riproducibilità dei risultati ottenuti del saggio in associazione al sistema ELITe InGenius, è stata testata eseguendo l'analisi di un pannello di campioni di plasma EDTA. Il pannello include un campione negativo e tre campioni positivamente testati con materiale di riferimento certificato per HEV (PEI) ad una concentrazione pari a of 0,5X LoD (circa 144 UI / mL), 1,5X LoD (circa 431 UI / mL), e 3X LoD (circa 861 UI / mL).

La Riproducibilità è stata ottenuta attraverso l'analisi in triplicato dei campioni del pannello in due sessioni al giorno. Sono stati utilizzati tre diversi lotti di prodotto, in tre giorni diversi, con tre strumenti diversi e l'analisi è stata eseguita da tre operatori diversi. I campioni sono stati testati con ELITe InGenius in modalità "Extract + PCR".

I risultati in termini di valori di Ct per ogni target e per il Controllo Interno (MS2) sono stati analizzati come percentuale di Coefficiente di Variabilità (CV%), ottenendo la Riproducibilità come imprecisione.

Il riassunto dei risultati è riportato nella seguente tabella.

Riproducibilità							
Campione	Pos. / Neg.	HEV			Controllo Interno		
		Ct medio	SD	% CV	Ct medio	SD	% CV
Negativo	0 / 18	NA	NA	NA	30,04	0,33	1,10
0,5X LoD	14 / 18	39,43	0,66	1,68			
1,5X LoD	18 / 18	38,24	0,60	1,58			
3X LoD	18 / 18	36,90	0,40	1,07			

Nel test di riproducibilità, il saggio ha rilevato HEV come previsto e ha mostrato un CV% basso di valori Ct che non ha superato il 2% per HEV e per il Controllo Interno.

Fattore di conversione alle Unità Internazionali

Il fattore di conversione, per convertire un risultato quantitativo in Unità internazionali / ml a partire da copie / mL, è stato calcolato utilizzando un pannello di quattro diluizioni (0,5 Log tra diluizioni) di materiale di riferimento calibrato approvato dall'OMS ("1st World Health Organization International Standard for Hepatitis E Virus RNA Nucleic Acid Amplification Techniques (NAT)-Based Assays", codice 6329/10, PEI, Germania) in plasma raccolto in EDTA testato negativo per l'RNA di HEV.

Ogni punto del pannello è stato testato in 9 replicati con tre diversi lotti di prodotto su tre diversi strumenti in tre diversi giorni. I campioni sono stati processati in associazione allo strumento ELITe InGenius in modalità "Extract + PCR".

Il riassunto dei risultati è riportato nella seguente tabella.

Fattore di conversione alle Unità Internazionali con ELITe InGenius	
Plasma EDTA	Fc = 1,88 UI / copia

Il fattore di conversione è stato calcolato solo per campioni di plasma. Dal momento che i risultati per il surnatante fecale sono solo semi-quantitativi, il Fattore di Conversione per questa matrice non è stato calcolato.

Specificità diagnostica: conferma di campioni negativi

La specificità diagnostica del saggio, come conferma di campioni clinici negativi, è stata valutata tramite l'analisi di 30 campioni di plasma e 30 campioni di surnatante fecale.

I campioni presumibilmente negativi sono stati analizzati con il sistema ELITe InGenius in modalità "Extract + PCR".

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

Campioni	N	positivi	negativi	non validi
Plasma EDTA negativo per HEV	30	0	30	0
Surnatante di feci negativo per HEV	30	0	30	0

In questo test, tutti i campioni sono stati confermati come validi e negativi. In questo test, la specificità del saggio è uguale al 100%.

Sensibilità diagnostica: conferma di campioni positivi

La sensibilità diagnostica del saggio, come conferma di campioni clinici positivi, è stata valutata tramite l'analisi di 30 campioni di plasma e 30 campioni di surnatante fecale positivamente con materiale di riferimento per HEV.

I campioni negativi usati nel test di sensibilità diagnostica sono stati positivamente con materiale di riferimento per HEV (PEI) a tre diverse concentrazioni (3x LoD, 10x LoD e 30x LoD). I campioni positivamente sono stati analizzati con il sistema ELITe InGenius in modalità "Extract + PCR".

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

Campioni	N	positivi	negativi	non validi
Plasma EDTA positivamente per HEV	30	30	0	0
Surnatante fecale positivamente per HEV	30	29	1	0

Nel test, 30 campioni di plasma positivamente su 30 campioni si sono confermati positivi e 29 campioni di surnatante fecale positivamente su 29 si sono confermati positivi. Un campione positivamente ad una concentrazione pari a 3X LoD ha dato un risultato negativo discrepante.

In questo test, la sensibilità diagnostica del saggio per campioni di plasma è uguale al 100% e la sensibilità diagnostica del saggio per campioni di surnatante fecale è uguale al 96,7%.

Nota bene: I dati e i risultati completi delle prove eseguite per la valutazione delle caratteristiche delle prestazioni del prodotto con le matrici e gli strumenti sono registrati nel Fascicolo Tecnico di Prodotto "HEV ELITe MGB® Kit", FTP RTS130ING.

BIBLIOGRAFIA

J. J. Germer et al. (2001) *J Clin Microbiology* **55** (5): 1478 – 1487

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

LIMITI DELLA PROCEDURA

Utilizzare questo prodotto con i seguenti campioni clinici: plasma raccolto in EDTA, surnatante di feci.

Non utilizzare questo con campioni di plasma raccolti in eparina: l'eparina inibisce la reazione di trascrizione inversa e di amplificazione degli acidi nucleici e causa risultati non validi.

Non utilizzare questo prodotto con campioni contenenti troppa matrice fecale: campioni con un'alta torbidità inibisce la reazione di amplificazione degli acidi nucleici e causa risultati non validi.

Non utilizzare questo prodotto con quantità di RNA estratto superiori a 1 µg: alte quantità di acidi nucleici possono inibire la reazione di trascrizione inversa e di amplificazione degli acidi nucleici.

Al momento non sono disponibili dati riguardo le performance del prodotto con i seguenti campioni clinici: sangue intero raccolto in EDTA.

I risultati ottenuti con questo prodotto dipendono dalla corretta identificazione, raccolta, trasporto, conservazione e preparazione dei campioni; per evitare risultati errati è quindi necessario porre particolare cura durante queste fasi e seguire attentamente le istruzioni fornite con i prodotti per l'estrazione degli acidi nucleici.

La metodica di amplificazione real time degli acidi nucleici utilizzata in questo prodotto, a causa della sua elevata sensibilità analitica, è soggetta a contaminazione da parte di campioni positivi, dei controlli positivi e degli stessi prodotti della reazione di amplificazione. Le contaminazioni portano a risultati falsi positivi. Le modalità di realizzazione del prodotto sono in grado di limitare le contaminazioni; tuttavia questi fenomeni possono essere evitati solo con una buona pratica delle tecniche di laboratorio e seguendo attentamente le istruzioni fornite in questo manuale.

Questo prodotto richiede personale competente e addestrato alla manipolazione di campioni biologici in grado di trasmettere agenti infettivi e di preparati chimici classificati pericolosi per evitare incidenti con conseguenze potenzialmente gravi per l'utilizzatore o altre persone.

Questo prodotto richiede indumenti di lavoro e aree di lavoro adeguate alla manipolazione di campioni biologici in grado di trasmettere agenti infettivi e di preparati chimici classificati pericolosi per evitare incidenti con conseguenze potenzialmente gravi per l'utilizzatore o altre persone.

Questo prodotto richiede l'utilizzo di indumenti speciali e strumenti dedicati all'allestimento delle sessioni di lavoro per evitare risultati falsi positivi.

Un risultato negativo ottenuto con questo prodotto indica che l'RNA target del saggio non è stato rilevato nell'RNA estratto dal campione, ma non si può escludere che l'RNA target sia presente ad un titolo inferiore al limite di rivelazione del prodotto (vedi "Caratteristiche delle prestazioni"). In questo caso il risultato potrebbe essere un falso negativo.

Un risultato non valido ottenuto con questo prodotto indica che non è stato possibile rilevare in modo

efficiente l'RNA del Controllo Interno. In questo caso il campione dovrebbe essere ritestato, a partire dall'estrazione, portando ad un ritardo nell'ottenimento del risultato finale.

Eventuali polimorfismi nelle regioni del genoma del patogeno in cui ibridano gli oligonucleotidi di innesco e la sonda del prodotto potrebbero compromettere la rilevazione dell'RNA target.

Come per qualunque altro dispositivo diagnostico, i risultati ottenuti con questo prodotto devono essere interpretati considerando tutti i dati clinici e gli altri esami di laboratorio relativi al paziente.

Come per qualunque altro dispositivo diagnostico, esiste un rischio residuo di ottenere risultati non validi, falsi positivi e falsi negativi con questo prodotto. Questo rischio residuo non può essere eliminato o ridotto ulteriormente. Questo rischio residuo in situazioni particolari, come le diagnosi prenatali e di urgenza, può contribuire a decisioni errate con conseguenze potenzialmente gravi per il paziente.

PROBLEMI E SOLUZIONI

Reazione del Positive Control o dei Q-PCR Standard non valida Curva Standard non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errore nell'impostazione della sessione.	Controllare la posizione della miscela completa di reazione, dei Q-PCR Standards e del Controllo Positivo. Controllare i volumi della miscela completa di reazione, dei Q-PCR Standards e del Controllo Positivo.
Errore nella preparazione della miscela completa di reazione.	Controllare i volumi di reagenti dispensati durante la preparazione della miscela completa di reazione.
Degradazione della miscela completa di reazione o dei suoi componenti.	Non utilizzare la miscela completa di reazione per più di tre sessioni (7 ore nel Blocco dell'Inventory Area). Non esporre la miscela completa di reazione a temperatura ambiente per oltre 30 minuti. Ripreparare la miscela completa di reazione. Utilizzare una nuova aliquota dei componenti.
Degradazione dei Q-PCR Standards o del Positive Control.	Utilizzare una nuova aliquota dei Q-PCR Standards o del Positive Control.
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica ELITechGroup S.p.A.

Reazione del Negative Control non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errore nell'impostazione della sessione.	Controllare la posizione della miscela completa di reazione e del controllo negativo. Controllare i volumi della miscela completa di reazione e del controllo negativo.
Contaminazione della miscela completa di reazione o dei suoi componenti.	Ripreparare la miscela completa di reazione. Utilizzare una nuova aliquota dei componenti.
Contaminazione del Negative Control.	Utilizzare una nuova aliquota di acqua per biologia molecolare.
Contaminazione dell'Extraction Area, dei Rack o del Blocco dell'Inventory Area.	Pulire superfici con detergenti acquosi, lavare camici, sostituire provette e puntali in uso.
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica ELITechGroup S.p.A.

Reazione dei campioni non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errore nell'impostazione della sessione.	Controllare la posizione della miscela completa di reazione e del campione. Controllare i volumi della miscela completa di reazione e del campione.
Errore nella preparazione della miscela completa di reazione.	Controllare i volumi di reagenti dispensati durante la preparazione della miscela completa di reazione.
Degradazione della miscela completa di reazione o dei suoi componenti.	Non utilizzare la miscela completa di reazione per più di tre sessioni (7 ore nel Blocco dell'Inventory Area). Non esporre la miscela completa di reazione a temperatura ambiente per oltre 30 minuti. Non esporre l'RT EnzymeMix a temperature superiori a -20 °C per tempi superiori ai 10 minuti. Ripreparare la miscela completa di reazione. Utilizzare una nuova aliquota dei componenti.
Degradazione del Controllo Interno	Utilizzare una nuova aliquota Del Controllo Interno.
Inibizione causata da sostanze interferenti estratte con il campione.	Ripetere l'amplificazione diluendo il campione estratto 1 : 2 in acqua per biologia molecolare, impostando la sessione "PCR only". Ripetere l'estrazione diluendo il campione primario 1 : 2 in acqua per biologia molecolare, impostando la sessione "Extract + PCR".
Degradazione del campione.	Ripetere l'estrazione con una nuova aliquota di campione.
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica ELITechGroup S.p.A.

Presenza di curva di dissociazione anomala	
Possibili cause	Soluzioni
Assenza di un picco definito. Picco definito ma diverso da quello degli altri campioni e degli standard o del controllo positivo.	Controllare che il Ct del detector FAM sia minore di 30. Quantità elevate di prodotto di amplificazione presenti alla fine della reazione possono interferire con l'analisi della curva di dissociazione. Ripetere l'amplificazione del campione per confermare la presenza di un DNA bersaglio con una possibile mutazione. Per confermare la presenza di una mutazione il DNA bersaglio presente nel campione dovrebbe essere sequenziato.

Errore 30103	
Possibili cause	Soluzioni
Elevata concentrazione del target nel campione.	Se si osserva nel grafico del plot di PCR una amplificazione significativa: - selezionare il track relativo al campione e approvare manualmente il risultato. Se è richiesto un valore di Ct: - ripetere l'amplificazione con il campione estratto diluito in acqua per biologia molecolare, impostando la sessione "PCR only" o - ripetere l'estrazione diluendo il campione primario 1:10 in acqua per biologia molecolare, e impostando la sessione "Extract + PCR".

TH Error	
Possible Causes	Solutions
Elevata concentrazione del target nel campione.	Se si osserva nel grafico del plot di PCR una amplificazione significativa con baseline negativa: - ripetere l'amplificazione diluendo il campione estratto 1:10 in acqua per biologia molecolare, impostando la sessione "PCR only" o - ripetere l'estrazione diluendo il campione primario 1:10 in acqua per biologia molecolare, e impostando la sessione "Extract + PCR".

LEGENDA DEI SIMBOLI

REF	Numero di catalogo.
	Limite superiore di temperatura.
LOT	Codice del lotto.
	Da utilizzare prima del (ultimo giorno del mese).
CE	Conforme ai requisiti della Direttiva Europea 98\79\CE relativa ai dispositivi medici diagnostici in vitro.
	Contenuto sufficiente per "N" test.
	Attenzione, consultare le istruzioni per l'uso.
CONT	Contenuti.
	Tenere lontano dalla luce solare.
	Fabbricante.

AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA

I reagenti per la rivelazione ELITe MGB® sono coperti da uno o più brevetti USA, n. 6,127,121, 6,485,906, 6,660,845, 6,699,975, 6,727,356, 6,790,945, 6,949,367, 6,972,328, 7,045,610, 7,319,022, 7,368,549, 7,381,818, 7,662,942, 7,671,218, 7,715,989, 7,723,038, 7,759,126, 7,767,834, 7,897,736, 8,008,522, 8,067,177, 8,163,910, 8,389,745, 8,969,003, 8,980,855, 9,056,887, 9,085,800, 9,169,256 e brevetti EP n. 1068358, 1144429, 1232157, 1261616, 1430147, 1781675, 1789587, 1975256, 2714939 oltre a richieste attualmente in corso di approvazione.

Questa licenza limitata permette alla persona o all'entità legale alla quale il prodotto è stato fornito di usare il prodotto e i dati generati con l'uso del prodotto, solo per uso di ricerca. Né ELITechGroup S.p.A. né i suoi licenziatari concedono altre licenze, esplicite o implicite per altri scopi.

ELITe MGB®, il logo ELITe MGB® e ELITe InGenius® sono registrati come marchi commerciali nell'Unione Europea da ELITechGroup.