



AVVERTENZA del 23/04/2024

IMPORTANTE PER GLI UTILIZZATORI DEL PRODOTTO:

« Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit » Ref. RTS401ING-48

Questa nuova revisione dell'IFU contiene le seguenti modifiche:

- Aggiunta dell'informazione relativa all'UDI.
- Descrizione del prodotto: correzione di un errore relativo all'allineamento tra target e fluorofori

Composizione e utilizzo 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
	DIESE FASSUNG DER GEBRAUCHSANLEITUNG IST KOMPATIBEL MIT DER VORHERIGEN VERSION DES TESTKITS



Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit
reagente per la real-time PCR del DNA

REF RTS401ING-48



UDI 08033891486686

INDICE

USO PREVISTO	pag. 1
PRINCIPIO DEL SAGGIO	pag. 2
DESCRIZIONE DEL PRODOTTO	pag. 2
MATERIALI INCLUSI NEL PRODOTTO	pag. 2
MATERIALI RICHIESTI MA NON INCLUSI NEL PRODOTTO	pag. 2
ALTRI PRODOTTI RICHIESTI	pag. 3
AVVERTENZE E PRECAUZIONI	pag. 3
CAMPIONI E CONTROLLI	pag. 4
PROCEDURA ELITE InGenius	pag. 6
PROCEDURA ELITE BeGenius	pag. 10
CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI	pag. 13
BIBLIOGRAFIA	pag. 19
LIMITI DELLA PROCEDURA	pag. 20
RISOLUZIONE DEI PROBLEMI	pag. 21
LEGENDA DEI SIMBOLI	pag. 23
AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA	pag. 23
ALLEGATO: QUICK START GUIDE	pag. A

USO PREVISTO

Il prodotto **Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit** è un dispositivo medico diagnostico *in vitro* destinato all'uso da parte degli operatori sanitari come test di real-time PCR qualitativa multiplex degli acidi nucleici per la rilevazione e l'identificazione del DNA genomico di *Mycoplasma genitalium* e per l'identificazione delle principali mutazioni associate a resistenza ai macrolidi, estratto da campioni clinici.

Il saggio è validato in associazione agli strumenti **ELITE InGenius®** ed **ELITE BeGenius®**, sistemi integrati e automatizzati per l'estrazione, la Real-Time PCR e l'interpretazione dei risultati, a partire da campioni umani di urine primo getto raccolti senza conservanti.

Il prodotto è destinato all'uso come ausilio nella diagnosi di infezioni dell'apparato urogenitale, insieme ai dati clinici del paziente e agli esiti di altri esami di laboratorio.

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

Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit
reagente per la real-time PCR del DNA

REF RTS401ING-48

PRINCIPIO DEL SAGGIO

Il saggio è una Real-Time PCR qualitativa multiplex per la rilevazione del DNA di *Mycoplasma genitalium* e per l'identificazione delle principali mutazioni associate a resistenza ai macrolidi, isolato dai campioni e amplificato utilizzando il reagente **R/MG PCR Mix** che contiene primers e sonde con tecnologia ELITE MGB.

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

DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

Il prodotto **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** fornisce il reagente **R/MG PCR Mix**, una miscela ottimizzata e stabilizzata di oligonucleotidi e reagenti per PCR che contiene i primers e le sonde specifici per:

- il gene **23s rRNA** di *M. genitalium*, rilevato nel canale **MG**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher®, e marcata con il fluoroforo AquaPhluor® 525 (AP525),
- la sequenza artificiale **IC2** del Controllo Interno (**IC**), rilevato nel canale **IC**; la sonda è stabilizzata dal gruppo MGB, inattivata dall'Eclipse Dark Quencher®, e marcata con il fluoroforo AquaPhluor® 680 (AP680).

R/MG PCR Mix contiene inoltre il buffer, il cloruro di magnesio, i nucleotidi trifosfato e la DNA polimerasi ad attivazione termica (hot start).

Il prodotto **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** consente di effettuare **48 test** in associazione con **ELITE InGenius** e **ELITE BeGenius (12 tests per tubo)**, utilizzando 20 µL per reazione.

Il prodotto **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** può essere anche utilizzato in associazione con strumenti equivalenti.

MATERIALI INCLUSI NEL PRODOTTO

Componente	Descrizione	Quantità	Classificazione dei rischi
R/MG PCR Mix Cod. RTS401ING-48	Miscela di reagenti per la Real-Time PCR in provetta con tappo BIANCO	4 x 280 µl	-

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 (~3,000 giri/minuto).
- Microcentrifuga da banco (~13,000 giri/minuto).
- Micropipette e puntali sterili con filtro per aerosol o a spostamento positivo (0.5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Provette sterili da 2,0 mL con tappo a vite (Sarstedt cod. 72.694.005).
- Acqua per biologia molecolare.

ALTRI PRODOTTI RICHIESTI

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

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

Strumenti e Software	Prodotti e Reagenti
ELITE InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA cod. INT030).	ELITE InGenius SP 200 (EG SpA, cod. INT032SP200)
ELITE InGenius Software versione 1.3.0.17 (o successiva).	ELITE InGenius SP 200 Consumable Set (EG SpA, cod. INT032CS)
R_MG ELITE_PC , Assay Protocol (Protocollo di Saggio) con i parametri per l'analisi del Controllo Positivo.	ELITE InGenius PCR Cassette (EG SpA, cod. INT035PCR)
R_MG ELITE_NC , Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Controllo Negativo.	ELITE InGenius Waste Box (EG SpA, cod. F2102-000)
R_MG ELITE_U_200_100 , Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di urine primo getto.	300 µL Filter Tips Axygen (Corning Life Sciences Inc., cod. TF-350-L-R-S) solo per ELITE InGenius
ELITE BeGenius (EG SpA, cod. INT040).	1000 µL Filter Tips Tecan (Tecan, Switzerland, cod. 30180118) solo per ELITE BeGenius
ELITE BeGenius Software versione 2.1.0 (o successiva).	CPE - Internal Control (EG SpA, cod. CTRCPE)
R_MG ELITE_Be_PC , Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Controllo Positivo.	Macrolide-R/MG - ELITE Positive Control (EG SpA, cod. CTR401ING).
R_MG ELITE_Be_NC , Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Controllo Negativo.	
R_MG ELITE_Be_U_200_100 , Assay Protocol con i parametri per l'analisi di urine primo getto.	

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 potenzialmente infettivi. Evitare il contatto diretto con i campioni biologici. Evitare di produrre schizzi o aerosol. Trattare provette, puntali, e gli altri materiali che vengono a contatto con i campioni biologici per almeno 30 minuti con ipoclorito di sodio al 3% (candeggina) o in autoclave a 121 °C per un'ora prima di smaltirlo.

Manipolare e smaltire tutti i reagenti e tutti i materiali utilizzati per eseguire il saggio come se fossero potenzialmente infettivi. Evitare il contatto diretto con i reagenti. Evitare di produrre schizzi o aerosol. Trattare e smaltire i rifiuti nel rispetto di norme di sicurezza adeguate. Incenerire il materiale monouso combustibile. Neutralizzare i rifiuti liquidi contenenti acidi o basi prima di smaltirli. Evitare che i reagenti di estrazione entrino in contatto con l'ipoclorito di sodio (candeggina).

Indossare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi e il viso.

Non pipettare mai le soluzioni con la bocca.

Non mangiare, bere, fumare o applicare cosmetici sul posto di lavoro.

Lavarsi accuratamente le mani dopo avere maneggiato campioni e reagenti.

Eliminare i reagenti avanzati e i rifiuti secondo le norme vigenti.

Prima di eseguire il saggio, leggere attentamente tutte le istruzioni fornite con il prodotto.

Durante l'esecuzione del saggio attenersi alle istruzioni fornite con il prodotto.

Non utilizzare il prodotto oltre la data di scadenza indicata.

Utilizzare solo i reagenti in dotazione con il prodotto e quelli consigliati dal fabbricante.

Non utilizzare reagenti provenienti da lotti diversi.

Non utilizzare reagenti di altri fabbricanti.

Avvertenze e precauzioni per la biologia molecolare

Le procedure di biologia molecolare devono essere eseguite da personale qualificato e addestrato per evitare il rischio di risultati errati, soprattutto a causa della degradazione degli acidi nucleici contenuti nei campioni o della contaminazione dei campioni stessi da parte di prodotti di amplificazione.

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

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

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

Manipolare i campioni estratti in modo tale da ridurre quanto più possibile la dispersione nell'ambiente per prevenire il rischio di contaminazione.

Gestire le cassette PCR (PCR Cassette) in modo tale da ridurre quanto più possibile la diffusione dei prodotti di amplificazione nell'ambiente come pure la contaminazione dei campioni e dei reagenti.

Avvertenze e precauzioni specifiche per i componenti

Componente	Temperatura di conservazione	Utilizzo dalla prima apertura	Cicli di congelamento/scongelo	Stabilità On board (ELITE InGenius ed ELITE BeGenius)
R/MG PCR Mix	-20 °C o inferiore (protetta dalla luce)	entro un mese	fino a sette	fino a sette sessioni di lavoro indipendenti* da tre ore ciascuna oppure fino a 7 ore consecutive (2 sessioni di lavoro da 3 ore ciascuna più il tempo necessario per iniziare una terza sessione di lavoro)

* con congelamento intermedio

CAMPIONI E CONTROLLI

Campioni

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

Campione	Requisiti per la raccolta	Condizioni di trasporto e conservazione			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ±10 °C	-70 ±15 °C
Urine primo getto	Raccolte senza conservanti	≤ 5 giorni	≤ 5 giorni	≤ 2 mesi	≤ 2 anni

* Reference: G. L. Murray et al

Le urine primo getto possono essere utilizzate "come sono" oppure dopo concentrazione fino a 10 volte attraverso centrifugazione a ~1125 RCF per 10 minutes.

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

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

Assay Protocols per Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit				
Campione	Strumento	Nome Assay Protocol	Report	Caratteristiche
Urine primo getto raccolte senza conservanti	ELITE InGenius	R_MG ELITE_U_200_100	Positivo / Negativo	Volume estrazione in ingresso: 200 µL Volume eluizione: 100 µL Controllo Interno: 10 µL Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1 Volume PCR Mix: 20 µL Volume del campione in PCR: 20 µL
	ELITE BeGenius	R_MG ELITE_Be_U_200_100		

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

Nota: Il trasferimento con le pipette dei campioni nell' **Extraction Tube** o nella **provetta Sarstedt da 2 mL** potrebbe **generare contaminazione**. Utilizzare le pipette appropriate e seguire tutte le raccomandazioni riportate nella sezione "Avvertenze e precauzioni".

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

I dati relativi all'inibizione indotta da farmaci e altre sostanze sono riportati nel paragrafo "Sostanze potenzialmente interferenti" al capitolo "Caratteristiche delle prestazioni".

Controlli di PCR

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

- come Controllo Positivo di PCR, utilizzare il prodotto **Macrolide-R/MG - ELITE Positive Control** (non fornito in questo kit), in associazione con gli Assay Protocols **R_MG ELITE_PC** o **R_MG ELITE_Be_PC**.
- come controllo Controllo Negativo di PCR, utilizzare acqua per biologia molecolare (non fornita in questo kit) in associazione con gli Assay Protocols **R_MG ELITE_NC** o **R_MG ELITE_Be_NC**.

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

- quando si utilizza un nuovo lotto di reagenti di PCR,
- quando i risultati delle analisi di controllo qualità (vedi paragrafo successivo) non rientrano nelle specifiche,
- quando **ELITE InGenius** o **ELITE BeGenius** deve essere sottoposto ad un intervento di manutenzione principale.

Controlli di qualità

Si consiglia la verifica programmata della procedura di estrazione e amplificazione. Si possono utilizzare campioni testati o materiale di riferimento certificato. Quando disponibili, utilizzare i controlli esterni in conformità a leggi locali, statali, organizzazioni di accreditamento federali.

PROCEDURA ELITE InGenius

La procedura per l'uso del prodotto **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** con **ELITE InGenius** consiste in tre fasi:

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

FASE 1 - Verifica che il sistema sia pronto

Prima di iniziare la sessione:

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

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

FASE 2 - Impostazione della sessione

Il prodotto **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** può essere utilizzato con **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 nell'Assay Protocol disponibile sullo strumento e sono richiamati automaticamente quando si seleziona l'Assay Protocol.

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

Prima di impostare una sessione:

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

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

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

	Corsa dei campioni (Extract + PCR)	B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)	C. Corsa del Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR Only)
1	Identificare i campioni e, se necessario, scongelarli a temperatura ambiente. Per l'analisi, 200 µL di campione devono essere trasferiti in un Extraction tube (tubo di estrazione) precedentemente etichettato.	Scongellare a temperatura ambiente gli Elution tubes con i campioni di DNA estratti da analizzare. Mescolare delicatamente, centrifugare le provette per 5 secondi e conservare in ghiaccio o in blocco freddo.	Scongellare le provette di Controllo Positivo a temperatura ambiente per 30 minuti. Mescolare delicatamente, centrifugare le provette per 5 secondi e conservare in ghiaccio o in blocco freddo. (Ogni provetta contiene un volume sufficiente per 4 reazioni).
2	Scongellare le provette necessarie di controllo interno CPE a temperatura ambiente per 30 minuti. Mescolare delicatamente, centrifugare le provette per 5 secondi e conservare in ghiaccio o in blocco freddo. Ogni provetta contiene un volume sufficiente per 12 reazioni.	Non applicabile	Preparare il Controllo Negativo trasferendo almeno 50 µL di acqua per biologia molecolare in un Elution tube, fornito con il prodotto ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Nella schermata "Home", selezionare "Perform Run" (Esegui sessione)	Nella schermata "Home", selezionare "Perform Run" (Esegui sessione).	Nella schermata "Home", selezionare "Perform Run" (Esegui sessione).
4	Verificare che l'"Extraction Input Volume" (volume estrazione input) sia 200 µL e che l'"Extracted Elute Volume" (volume di eluato estratto) sia 100 µL.	Verificare che l'"Extraction Input Volume" (volume estrazione input) sia 200 µL e che l'"Extracted Elute Volume" (volume di eluato estratto) sia 100 µL.	Verificare che l'"Extraction Input Volume" (volume estrazione input) sia 200 µL e che l'"Extracted Elute Volume" (volume di eluato estratto) sia 100 µL.
5	Per ogni campione, assegnare un "Track" d'interesse e compilare il "SampleID" (ID campione, SID) digitando o scansionando il codice a barre.	Per ogni campione, assegnare un "Track" d'interesse e compilare il "SampleID" (ID campione, SID) digitando o scansionando il codice a barre.	Non applicabile
6	Nella colonna "Assay" selezionare gli Assay Protocol da utilizzare (si veda paragrafo "Campioni e Controlli").	Nella colonna "Assay" selezionare gli Assay Protocol da utilizzare (si veda paragrafo "Campioni e Controlli").	Nella colonna "Assay" selezionare gli Assay Protocol da utilizzare (si veda paragrafo "Campioni e Controlli") e digitare il numero di lotto e la data di scadenza del Positive Control e dell'acqua per biologia molecolare.
7	Verificare che nella colonna "Protocol" (Protocollo) il protocollo visualizzato sia: "Extract + PCR".	Nella colonna "Protocol" (Protocollo) selezionare "PCR Only".	Verificare che nella colonna "Protocol" (Protocollo) il protocollo visualizzato sia: "PCR Only".
8	Nella colonna "Sample Position" (Posizione campione) selezionare "Extraction tube" (Tubo di estrazione) come posizione in cui caricare il campione.	Verificare nella colonna "Sample Position" (Posizione campione) che la posizione sia "Elution Tube".	Verificare nella colonna "Sample Position" (Posizione campione) che la posizione sia "Elution Tube".
9	Fare clic su "Next" (Avanti) per proseguire.	Fare clic su "Next" (Avanti) per proseguire.	Fare clic su "Next" (Avanti) per proseguire.
10	Caricare il CPE e la PCR Mix nell'"Inventory Block" (Area reagenti) selezionato e digitare il numero di lotto, la data di scadenza e il numero di reazioni dei tubi	Caricare la PCR Mix nell'"Inventory Block" (Area reagenti) selezionato e digitare il numero di lotto, la data di scadenza e il numero di reazioni dei tubi.	Caricare la PCR Mix nell'"Inventory Block" (Area reagenti) selezionato e digitare il numero di lotto, la data di scadenza e il numero di reazioni dei tubi.
11	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
12	Nell'"Inventory Area" (Area di carico) controllare/caricare i Tip Rack (Rack puntali).	Nell'"Inventory Area" (Area di carico) controllare/caricare i Tip Rack (Rack puntali).	Nell'"Inventory Area" (Area di carico) controllare/caricare i Tip Rack (Rack puntali).
13	Fare clic su "Next" per proseguire	Fare clic su "Next" per proseguire	Fare clic su "Next" per proseguire
14	Caricare le PCR cassette , le cartucce di estrazione "ELITE InGenius SP 200", tutti i materiali di consumo necessari e i campioni da estrarre.	Caricare le PCR cassette e gli Elution tube con i campioni da analizzare.	Caricare le PCR cassette e le provette per il Controllo Positivo ed il Controllo Negativo.
15	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
16	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.
17	Premere "Start" (Inizio).	Premere "Start" (Inizio).	Premere "Start" (Inizio).

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

Nota: Alla fine della corsa, prelevare dallo strumento gli **Elution tube** con il campione estratto residuo, chiuderlo, identificarlo e conservarlo a -20 ±10 °C al massimo per un mese. Evitare la fuoriuscita del campione estratto.

Nota: Alla fine della corsa, la **PCR Mix** può essere rimossa dallo strumento, tappata e conservata a -20 °C o temperatura inferiore, o può essere conservata nel blocco refrigerato fino a 7 ore (2 sessioni di lavoro consecutive da 3 ore ciascuna e il tempo necessario per iniziare una terza sessione di lavoro), mescolare delicatamente e centrifugare il contenuto per 5 secondi prima di iniziare la sessione successiva.

Nota: Alla fine della corsa, prelevare dallo strumento le provette di **Controllo Positivo**, chiuderle e conservarle a -20 °C o temperatura inferiore. Evitare la fuoriuscita accidentale del Controllo Positivo. Smaltire le provette di **Controllo Negativo**.

Nota: Il **R/MG Positive Control** può essere utilizzato per 4 sessioni di lavoro indipendenti da 3 ore ciascuna.

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

FASE 3 - Esame e approvazione dei risultati

ELITE InGenius monitora i segnali di fluorescenza del target e del controllo interno per ciascuna reazione e applica automaticamente i parametri dell'Assay Protocol per generare curve di PCR e di dissociazione che sono poi interpretate nei risultati.

Al termine della corsa, viene visualizzata automaticamente la schermata "Results Display", nella quale sono riportati i risultati e le informazioni riguardanti la sessione. Da questa schermata è possibile approvare il risultato, stampare o salvare i report ("Sample Report" o "Track Report"). Consultare il manuale d'istruzioni dello strumento per maggiori dettagli.

Nota: **ELITE InGenius** può essere collegato al "Laboratory Information System" (LIS) tramite il quale è possibile inviare i risultati della sessione di lavoro al centro elaborazione dati del laboratorio. Consultare il manuale d'istruzioni dello strumento per maggiori dettagli.

ELITE InGenius genera i risultati del prodotto **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** attraverso la seguente procedura:

- Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo,
- Validazione dei risultati del campione,
- Refertazione dei risultati del campione.

A. Validazione dei risultati dell'amplificazione del Controllo Positivo e del Controllo Negativo

Il **software ELITE InGenius** interpreta i risultati di PCR dei target del Controllo Positivo e del Controllo Negativo con i parametri inclusi negli Assay Protocol **R_MG ELITE_PC** e **R_MG ELITE_NC**. I valori di Ct e Tm ottenuti sono utilizzati per validare il sistema (lotto di reagenti e strumento).

I risultati del **Controllo Positivo** e **Controllo Negativo**, specifici per il lotto del reagente di PCR, sono memorizzati nel database (Controls) e possono essere consultati e approvati da personale avente la qualifica di "Administrator" o "Analyst", seguendo le istruzioni visualizzate sulla GUI.

I risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo scadono **dopo 15 giorni**. I risultati di amplificazione del Controllo Positivo e del Controllo Negativo vengono utilizzati dal **software ELITE InGenius** per impostare i grafici di controllo che monitorano le prestazioni delle fasi di amplificazione. Per maggiori dettagli, consultare il manuale dello strumento

Nota: Se il risultato della reazione di amplificazione del Controllo Positivo o del Controllo Negativo non soddisfa i criteri di accettazione, sulla schermata "Controls" appare il messaggio "Failed" che ne impedisce l'approvazione. In tal caso, ripetere la reazione di amplificazione del Controllo Positivo o del Controllo Negativo.

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

B. Validazione dei risultati dei campioni

Il software **ELITE InGenius** interpreta i risultati di amplificazione dei target (canale **MG**) e del controllo interno (canale **IC**) con i parametri inclusi negli Assay Protocol **R_MG ELITE_U_200_100**.

I risultati vengono mostrati nella schermata "Results Display".

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

1) Controllo Positivo	Status
R/MG Positive Control	APPROVATO
2) Controllo Negativo	Status
R/MG Negative Control	APPROVATO

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

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

Risultato di una sessione sul campione	Interpretazione
MG: DNA Rilevato. Resistenza ai Macrolidi Positiva.	Il DNA di <i>Mycoplasma genitalium</i> è stato rilevato nel campione. Presenza di mutazioni nella regione del gene analizzata. Il campione potrebbe essere resistente ai macrolidi .
MG: DNA Rilevato. Resistenza ai Macrolidi Negativa.	Il DNA di <i>Mycoplasma genitalium</i> è stato rilevato nel campione. Assenza di mutazioni nella regione del gene analizzata. Il campione potrebbe essere sensibile ai macrolidi .
MG: DNA rilevato - Tipizzazione non fattibile-Ritestare il campione.	Il DNA di <i>Mycoplasma genitalium</i> è stato rilevato nel campione, ma non è sufficiente a procedere con l'analisi per la verifica della resistenza ai macrolidi. La sessione dovrebbe essere ripetuta.
MG: DNA Rilevato. Typing not determined	Il DNA di <i>Mycoplasma genitalium</i> è stato rilevato nel campione, ma non è stato possibile eseguire l'analisi per la verifica della resistenza ai macrolidi.
MG: DNA non rilevato o inferiore LoD.	Il DNA di <i>Mycoplasma genitalium</i> non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo oppure la concentrazione del target è inferiore al limite di rilevabilità (LoD) del saggio.
Invalid - Retest Sample.	Risultato del saggio non valido per un errore del controllo interno (estrazione errata, presenza di un inibitore). Il test deve essere ripetuto.

I campioni segnalati con "MG: DNA Rilevato - Tipizzazione non fattibile-Ritestare il campione" non sono utilizzabili ai fini dell'analisi per la verifica della resistenza ai macrolidi. In tal caso, il DNA di MG è stato rilevato, ma in misura insufficiente a ottenere risultati corretti e riproducibili per la resistenza ai macrolidi. Ciò si deve alla bassa concentrazione di *Mycoplasma genitalium* nel campione o a problemi nella fase di amplificazione o estrazione (degradazione del DNA, perdita di DNA durante l'estrazione o carry-over degli inibitori nell'eluato). Il test deve essere ripetuto.

Nota: Quando un campione viene segnalato come "DNA Rilevato - Tipizzazione non fattibile-Ritestare il campione", il risultato non può essere approvato, ma il valore di Tm può essere verificato dall'operatore. Se il valore Tm è inferiore a 63.0 °C (limite per la resistenza ai macrolidi) il campione è "DNA Rilevato. Resistenza ai Macrolidi Positiva".

I campioni segnalati come "MG: DNA Rilevato. Typing not determined" non sono idonei per la genotipizzazione. In questo caso, il DNA target è stato rilevato nel campione, ma non è stato possibile calcolare una Tm o il valore Tm calcolato era al di fuori degli intervalli Tm per la tipizzazione. Quest'ultimo caso potrebbe essere dovuto a mutazioni diverse da quelle previste, al campione di partenza idoneo o a problemi nella fase di estrazione (presenza di inibitori nell'eluato).

I campioni segnalati come: "DNA non rilevato o inferiore LoD" sono idonei per l'analisi, ma non è stato possibile rilevare il DNA di MG. In tal caso non si può escludere che il DNA virale sia presente in una concentrazione inferiore al limite di rilevabilità del saggio (vedi paragrafo "Caratteristiche delle prestazioni").

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

Quando il volume è sufficiente, il campione estratto può essere ritestato, tal quale oppure diluito, mediante una sessione di amplificazione in modalità "PCR Only". In caso di un secondo risultato non valido, il campione deve essere ritestato a partire dall'estrazione di una nuova aliquota in modalità "Extract + PCR" (vedi "Risoluzione dei problemi")

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

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

C. Refertazione dei risultati del campione

I risultati della sessione analitica sono memorizzati nel database e possono essere visualizzati o esportati sotto forma di "Sample Report" e "Track Report".

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

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

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

PROCEDURA ELITE BeGenius

La procedura di utilizzo del prodotto **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** con **ELITE BeGenius** consiste in tre fasi:

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

FASE 1 - Verifica che il sistema sia pronto

Prima di iniziare la sessione:

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

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

FASE 2 - Impostazione della sessione

Il prodotto **Macrolide-R/MG ELiTe MGB Kit** può essere utilizzato con il sistema **ELiTe BeGenius** per eseguire:

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

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

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

Prima di impostare una sessione:

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

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

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

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

	A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)	B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)	C. Corsa del Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR Only)
9	Verificare che "Extraction Input Volume" (volume estrazione input) impostato a 200 µL e che l'"Extracted Elute Volume" (volume di eluato estratto) sia impostato a 100 µL.	Verificare che "Extraction Input Volume" (volume estrazione input) sia impostato a 200 µL e che l'"Extracted Elute Volume" (volume di eluato estratto) sia impostato a 100 µL.	Verificare che "Extraction Input Volume" (volume estrazione input) sia impostato a 200 µL e che l'"Extracted Elute Volume" (volume di eluato estratto) sia impostato a 100 µL.
10	Nella colonna "Assay" (Saggio) selezionare gli Assay Protocol da utilizzare.	Nella colonna "Assay" (Saggio) selezionare gli Assay Protocol da utilizzare.	Nella colonna "Assay" (Saggio) selezionare gli Assay Protocol da utilizzare.
11	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
	Nota: Quando devono essere analizzati più di 12 campioni, ripetere la procedura dal punto 6.		Non applicabile -
12	Caricare gli " Elution tube " (Provetta eluato) nell'" Elution Rack " (Rack di eluazione).	Non applicabile	Non applicabile
13	Inserire l'" Elution Rack " nella "Cooler Unit" partendo dalla "Lane 3" (L3). In caso di un numero di campioni maggiore di 12, ripetere usando "Lane 2" (L2).	Non applicabile	Non applicabile
14	Fare clic su "Next" per proseguire.	Non applicabile	Non applicabile
15	Caricare il CPE e la PCR Mix nel "Reagent/Elution Rack".	Caricare la PCR Mix nel "Reagent/Elution Rack".	Caricare la PCR Mix nel "Reagent/Elution Rack".
16	Inserire il "Reagent/Elution Rack" nella "Cooler Unit" nella "Lane 2" (L2) se disponibile o nella "Lane 1" (L1). Se necessario, per ogni PCR MIX e / o CPE inserire "S/N", "Lot No.", "Exp. Date", "T/R" (numero reazioni del tubo).	Inserire il "Reagent/Elution Rack" nella "Cooler Unit" nella "Lane 2" (L2) se disponibile o nella "Lane 1" (L1). Se necessario, per ogni PCR MIX inserire "S/N", "Lot No.", "Exp. Date", "T/R" (numero reazioni del tubo).	Inserire il "Reagent/Elution Rack" nella "Cooler Unit" nella "Lane 2" (L2) se disponibile o nella "Lane 1" (L1). Se necessario, per ogni PCR MIX inserire "S/N" (numero seriale), "Lot No.", "Exp. Date", "T/R" (numero reazioni del tubo).
17	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
18	Nell'"Inventory Area" controllare / caricare i " Tip Rack " (Rack Puntali).	Nell'"Inventory Area" controllare / caricare i " Tip Rack " (Rack Puntali).	Nell'"Inventory Area" controllare / caricare i " Tip Rack " (Rack Puntali).
19	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
20	Caricare il " PCR Rack " con le " PCR Cassette " nell'Inventory Area.	Caricare il " PCR Rack " con le " PCR Cassette " nell'Inventory Area.	Caricare il " PCR Rack " con le " PCR Cassette " nell'Inventory Area.
21	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
22	Caricare l'" Extraction Rack " (rack di estrazione) con le cartucce di estrazione "ELiTe InGenius SP 200" e i consumabili richiesti.	Non applicabile	Non applicabile
23	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.	Chiudere lo sportello dello strumento.
24	Premere "Start" (inizio).	Premere "Start" (inizio).	Premere "Start" (inizio).

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

Nota: Alla fine della corsa, prelevare dallo strumento gli **Elution tube** con il campione estratto residuo, chiuderlo, identificarlo e conservarlo a -20 ±10 °C al massimo per un mese. Evitare la fuoriuscita del campione estratto.

Nota: Alla fine della corsa, la **PCR Mix** può essere rimossa dallo strumento, tappata e conservata a -20 ±10 °C o temperatura inferiore, o può essere conservata nel blocco refrigerato fino a 7 ore (2 sessioni di lavoro consecutive da 3 ore ciascuna e il tempo necessario per iniziare una terza sessione di lavoro), mescolare delicatamente e centrifugare il contenuto per 5 secondi prima di iniziare la sessione successiva.

Nota: Alla fine della corsa, prelevare dallo strumento le provette di **Controllo Positivo**, chiuderle e conservarle a -20 °C o temperatura inferiore. Evitare la fuoriuscita accidentale del Controllo Positivo. Smettere le provette di **Controllo Negativo**.

Nota: Il R/MG Positive Control può essere utilizzato per 4 sessioni di lavoro indipendenti da 3 ore ciascuna.

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

FASE 3 - Esame ed approvazione dei risultati

ELITE BeGenius monitora i segnali di fluorescenza del target e del controllo interno per ciascuna reazione e applica automaticamente i parametri dell'Assay Protocol per generare curve di PCR e di dissociazione che sono poi interpretate nei risultati.

Al termine della corsa, viene visualizzata automaticamente la schermata "Results Display", nella quale sono riportati i risultati relativi a campione/controllo e le informazioni riguardanti la sessione. Da questa schermata è possibile approvare il risultato, stampare o salvare i report ("Sample Report" o "Track Report"). Consultare il manuale d'istruzioni dello strumento per maggiori dettagli.

Nota: ELITE BeGenius può essere collegato al "Laboratory Information System" (LIS) tramite il quale è possibile inviare i risultati della sessione di lavoro al centro elaborazione dati del laboratorio. Consultare il manuale d'istruzioni dello strumento per maggiori dettagli.

ELITE BeGenius genera i risultati del prodotto **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** attraverso la seguente procedura:

- Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo,
- Validazione dei risultati dei campioni,
- Refertazione dei risultati dei campioni.

Nota: Per i dettagli fare riferimento agli stessi paragrafi della "Procedura" dello strumento **ELITE InGenius**.

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Limite di rilevazione (LoD)

Il limite di rilevazione (LoD) del saggio è stato definito con gli strumenti e ELITE InGenius testando campioni di urine primo getto positivizzate con materiali di riferimento di *Mycoplasma genitalium* (Qnostics, UK, code MG1803023B).

L'analisi di regressione Probit dei dati è stata eseguita sui risultati e il LoD è stato stimato come la concentrazione del campione che ha una probabilità del 95% di risultare positivo.

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

Limite di Rilevazione per urina primo getto e ELITE InGenius (organismi / mL)

LoD	Intervallo di confidenza 95%	
	Limite inferiore	Limite superiore
247	155	634

Il valore di LoD calcolato è stato verificato testando con ELITE BeGenius e ELITE InGenius campioni di urine primo getto e urine concentrate positivizzate con materiale di riferimento di *Mycoplasma genitalium* (DSMZ, DSM 19775) alla concentrazione dichiarata.

I risultati ottenuti hanno confermato i valori di LoD dichiarati per tutti i target di Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit nelle due matrici, sia su ELITE BeGenius che su ELITE InGenius.

Rilevazione di resistenza ai macrolidi

La rilevazione della resistenza ai Macrolidi con l'impiego del prodotto Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit in associazione al sistema ELITE InGenius è stato valutato testando campioni certificati (forniti da un laboratorio esterno) e DNA plasmidico contenenti la regione amplificata del gene rRNA 23S con le principali mutazioni correlate alla resistenza agli antibiotici elencate nella tabella seguente:

Mutazioni
A2058G
A2058C
A2058T
A2059G
A2059C
A2062G
A2062T

Nota: Altre mutazioni nella stessa regione del gene rRNA 23S possono essere rilevate da questo prodotto, come ad esempio la mutazione A2062C. Tuttavia, questa mutazione non sembra essere associata con la resistenza ai Macrolidi.

I risultati del test sono riportati nella prossima sezione sull'Efficienza di rilevazione. Tutti gli isolati e i DNA plasmidici testati sono stati rilevati come *Mycoplasma genitalium* positivi e correttamente tipizzati come possibili resistenti ai Macrolidi con l'impiego del prodotto Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit.

Inclusività: Efficienza di rilevazione

L'efficienza di rilevazione del prodotto per *Mycoplasma genitalium*, incluse le varianti resistenti all'azitromicina, è stata valutata *in silico* 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 nel database per il patogeno d'interesse ha dimostrato la loro conservazione.

L'efficienza di rilevazione con diversi ceppi e/o isolati di *Mycoplasma genitalium* è stata anche verificata testando del DNA genomico certificato proveniente da campioni clinici (fornito da un laboratorio esterno) e dei DNA plasmidici contenenti le mutazioni per la resistenza all'azitromicina.

I risultati finali sono riportati nella seguente tabella.

Campione	Pos. / Rep.	Mut. / Rep.
<i>M. genitalium</i> wt	3/3	0/3
pMG A2058G	3/3	3/3
pMG A2058C	3/3	3/3
pMG A2058T	3/3	3/3
pMG A2059G	3/3	3/3
pMG A2059C	3/3	3/3
pMG A2062G	12/12	12/12
pMG A2062T	12/12	12/12
MG 410 (A2058G)	1/1	1/1
MG 426 (A2058G)	1/1	1/1
MG 539 (A2059G)	1/1	1/1
MG 540 (A2058G)	1/1	1/1

Marcatori potenzialmente interferenti

La potenziale cross-reattività del saggio con organismi diversi da quelli di interesse rilevati dal prodotto Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit, è stata valutata *in silico* per confronto con le sequenze disponibili nella banca dati nucleotidica EBI ENA.

L'analisi dell'allineamento delle sequenze degli oligonucleotidi di innesco e delle sonde con le sequenze di altri Batteri e Virus ha dimostrato l'assenza di omologie significative e non ha indicato possibili interferenze.

L'assenza di cross-reattività con altri organismi potenzialmente presenti in campioni di urina primo getto è stata verificata testando un pannello di materiali certificati (ATCC e Vircell Microbiologist).

I risultati finali sono riportati nella seguente tabella.

Potenziale cross-reattività		
Organismo	Ceppo	Esito
<i>Chlamydia trachomatis</i>	LGV II	Nessuna cross-reattività
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	DSM 9188	Nessuna cross-reattività
<i>Trichomonas vaginalis</i>	Clinical isolate	Nessuna cross-reattività
<i>Mycoplasma hominis</i>	PG21	Nessuna cross-reattività
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	NCTC10177	Nessuna cross-reattività
<i>Escherichia coli</i>	CFT073	Nessuna cross-reattività
<i>Ureaplasma parvum</i>	NCTC 11736	Nessuna cross-reattività
<i>Treponema pallidum</i>	Nichols	Nessuna cross-reattività
<i>Gardnerella vaginalis</i>	594	Nessuna cross-reattività
<i>Mobiluncus mulieris</i>	BV 64-5	Nessuna cross-reattività
<i>Bacteroides fragilis</i>	NCTC 9343	Nessuna cross-reattività
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	MSHD	Nessuna cross-reattività
<i>Candida albicans</i>	3147	Nessuna cross-reattività
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Pak	Nessuna cross-reattività
HSV1	McIntyre	Nessuna cross-reattività
HSV2	G	Nessuna cross-reattività

Tutti gli organismi potenzialmente cross-reattivi testati sono risultati negativi utilizzando il prodotto Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit.

L'assenza di interferenza con altri organismi potenzialmente presenti in campioni di urina primo getto è stata anche verificata testando un pannello di materiale certificato positivamente con DNA di *Mycoplasma genitalium* (Vircell Microbiologist) a bassa concentrazione.

I campioni di DNA genomico di altri organismi positivamente per ogni target sono stati analizzati in triplicato per ogni organismo potenzialmente interferente con ELITE InGenius nella modalità "PCR Only".

I risultati finali sono riportati nella seguente tabella.

Marcatori potenzialmente interferenti		
Organismo	Ceppo	Esito
<i>Chlamydia trachomatis</i>	LGV II	Nessuna interferenza
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	DSM 9188	Nessuna interferenza
<i>Trichomonas vaginalis</i>	Clinical isolate	Nessuna interferenza
<i>Mycoplasma hominis</i>	PG21	Nessuna interferenza
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	NCTC10177	Nessuna interferenza
<i>Escherichia coli</i>	CFT073	Nessuna interferenza
<i>Ureaplasma parvum</i>	NCTC 11736	Nessuna interferenza
<i>Treponema pallidum</i>	Nichols	Nessuna interferenza
<i>Gardnerella vaginalis</i>	594	Nessuna interferenza
<i>Mobiluncus mulieris</i>	BV 64-5	Nessuna interferenza
<i>Bacteroides fragilis</i>	NCTC 9343	Nessuna interferenza
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	MSHD	Nessuna interferenza
<i>Candida albicans</i>	3147	Nessuna interferenza
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Pak	Nessuna interferenza
HSV1	McIntyre	Nessuna interferenza
HSV2	G	Nessuna interferenza

Tutti gli organismi potenzialmente interferenti testati sono risultati negativi utilizzando Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit.

Sostanze interferenti

Alcune sostanze potenzialmente interferenti (endogene ed esogene) che potrebbero trovarsi nei campioni clinici di urine primo getto sono state valutate per il saggio mediante analisi di un pannello di sostanza a concentrazione rilevante.

I valori Ct del target e del controllo interno sono stati utilizzati per calcolare la percentuale di Coefficiente di variabilità (% CV) al fine di valutare l'eventuale interferenza.

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

%CV Ct (Ref. + test)		
Sostanza	<i>M. genitalium</i>	IC
Sangue Intero	1.06	1.12
Sperma	1.22	1.03
Mucina	2.36	1.23
Azitromicina	3.74	1.37

Tutti i campioni sono risultati positivi per il target di interesse. Il Coefficiente di Variabilità (CV%) dei valori di CT è risultato essere minore del 4%. Nessuna delle sostanze testate e alle concentrazioni testate ha interferito nella rilevazione dei target con il prodotto Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit.

Ripetibilità

La ripetibilità del saggio è stata valutata su ELITE BeGenius ed ELITE InGenius mediante l'analisi di un pannello di campioni di urine primo getto negative o positivamente *Mycoplasma genitalium* (DSMZ, DSM 19775).

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

Ripetibilità Intra-Sessione su ELITE BeGenius					
Campione	Pos. / Neg.	<i>Mycoplasma genitalium</i>			%Concordanza
		Media Ct	SD	% CV	
Negative	0 / 8	NA	NA	NA	100%
3X LoD	8 / 8	34.59	0.69	1.98	100%
10X LoD	8 / 8	32.51	0.41	1.25	100%

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

Ripetibilità Intra-Sessione su ELITE InGenius					
Campione	Pos. / Neg.	Mycoplasma genitalium			%Concordanza
		Media Ct	SD	% CV	
Negative	0 / 8	NA	NA	NA	100%
3X LoD	8 / 8	35.97	0.64	1.77	100%
10X LoD	8 / 8	32.66	0.30	0.93	100%

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

Ripetibilità Inter-Sessione su ELITE BeGenius					
Campione	Pos. / Neg.	Mycoplasma genitalium			%Concordanza
		Media Ct	SD	% CV	
Negative	0 / 16	NA	NA	NA	100%
3X LoD	16 / 16	35.18	0.98	2.78	100%
10X LoD	16 / 16	32.79	0.45	1.37	100%

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

Ripetibilità Inter-Sessione su ELITE InGenius					
Campione	Pos. / Neg.	Mycoplasma genitalium			%Concordanza
		Media Ct	SD	% CV	
Negative	0 / 16	NA	NA	NA	100%
3X LoD	16 / 16	36.13	0.80	2.21	100%
10X LoD	16 / 16	32.91	0.57	1.73	100%

Nel test di ripetibilità, Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit ha rilevato tutti i campioni come previsto e ha mostrato una variabilità massima di valori di Ct come %CV uguale a 2.78%.

Riproducibilità

La riproducibilità del saggio è stata valutata su ELITE BeGenius e ELITE InGenius mediante l'analisi di un pannello di campioni urine primo getto negative o positivizzate con *Mycoplasma genitalium* (DSMZ, DSM 19775).

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

Riproducibilità Inter-Lotto su ELITE BeGenius					
Campione	Pos. / Rep.	Mycoplasma genitalium			%Concordanza
		Mean Ct	SD	%CV	
Negative	0 / 8	-	-	-	100%
3 X LoD	8 / 8	35.75	0.27	0.75	100%
10 X LoD	8 / 8	33.16	0.74	2.23	100%

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

Riproducibilità Inter-Lotto su ELITE InGenius					
Campione	Pos. / Rep.	Mycoplasma genitalium			%Concordanza
		Mean Ct	SD	%CV	
Negative	0 / 8	-	-	-	100%
3 X LoD	8 / 8	35.79	0.83	2.31	100%
10 X LoD	8 / 8	33.65	0.44	1.29	100%

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

Riproducibilità Inter-Strumento su ELITE BeGenius					
Campione	Pos. / Rep.	Mycoplasma genitalium			%Concordanza
		Mean Ct	SD	%CV	
Negative	0 / 16	-	-	-	100%
3 X LoD	16 / 16	35.59	0.79	2.22	100%
10 X LoD	16 / 16	33.19	0.46	1.39	100%

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

Riproducibilità Inter-Strumento su ELITE InGenius					
Campione	Pos. / Rep.	Mycoplasma genitalium			%Concordanza
		Mean Ct	%Concordanza	%CV	
Negative	0 / 16	-	-	-	100%
3 X LoD	16 / 16	35.67	0.05	1.94	100%
10 X LoD	16 / 16	33.25	0.23	0.69	100%

Nel test di Riproducibilità, Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit ha rilevato tutti i campioni come previsto e ha mostrato una variabilità massima dei valori di Ct come CV% uguale a 2.31%.

Sensibilità diagnostica: conferma di campioni positivi

La Sensibilità Diagnostica del saggio, come conferma dei campioni positivi, è stata valutata in associazione ad ELITE InGenius testando campioni clinici di urine primo getto raccolte senza conservanti, positivizzate con materiali di riferimento.

Poiché ELITE BeGenius possiede performance analitiche equivalenti a ELITE InGenius, le performance diagnostiche del saggio eseguito sui due strumenti sono anch'esse considerate equivalenti. Quindi la Sensibilità Diagnostica del saggio ottenuta in associazione con ELITE InGenius è anche riferibile ad ELITE BeGenius.

I risultati sono riassunti nella tabella seguente.

Campioni	N	positivi	negativi	Sensibilità Diagnostica%
Urina primo getto positivi per <i>M. genitalium</i>	13	13	0	100%
Urina primo getto positivizzati con <i>M. genitalium</i>	20	20	0	100%

La Sensibilità Diagnostica di Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit in associazione alla matrice urina primo getto è risultata uguale a 100% per *Mycoplasma genitalium*.

Specificità diagnostica: conferma di campioni negativi

La Specificità Diagnostica del saggio, come conferma dei campioni negativi, è stata valutata in associazione ad ELITE InGenius testando campioni clinici di urine primo getto raccolte senza conservanti, certificate negative o presunte negative.

Poiché ELITE BeGenius possiede performance analitiche equivalenti a ELITE InGenius, le performance diagnostiche del saggio eseguito sui due strumenti sono anch'esse considerate equivalenti. Quindi la Specificità Diagnostica del saggio ottenuta in associazione con ELITE InGenius è anche riferibile ad ELITE BeGenius.

Campioni	N	positivi	negativi	Specificità Diagnostica %
Urina primo getto negativi per <i>M. genitalium</i>	30	0	30	100%

Tutti i campioni di urina primo getto sono risultati validi in prima analisi. La Specificità Diagnostica di Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit in associazione alla matrice urine primo getto in questa prova è risultata uguale a 100% per *Mycoplasma genitalium*.

Conferma di campioni positivi per MG antibioticoresistenti

La Sensibilità Diagnostica del saggio per l'antibioticoresistenza, come conferma dei campioni positivi per *Mycoplasma genitalium* resistenti agli antibiotici, è stata valutata, in associazione a ELITE InGenius, tramite l'analisi di campioni clinici di urina primo getto raccolti senza conservanti, positivi e positivamente con materiali di riferimento.

I risultati sono riassunti nella tabella seguente.

Campioni	N	positivi	resistenti	sensibili
Urina primo getto positivi per <i>M. genitalium</i> e resistenti	6	6	6	0
Urina primo getto positivamente con <i>M. genitalium</i> e resistenti	24	24	24	0

Tutti campioni positivi per *Mycoplasma genitalium* e resistenti agli antibiotici sono risultati positivi e possibili antibioticoresistenti all'analisi con Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit. In questo test, la Sensibilità Diagnostica per l'antibiotico-resistenza è risultata uguale al 100%.

Conferma di campioni positivi per MG antibioticosensibili

La Specificità Diagnostica del saggio per l'antibioticoresistenza, come conferma di campioni clinici positivi per *Mycoplasma genitalium* e sensibili agli antibiotici, è stata valutata, in associazione a ELITE InGenius, tramite l'analisi di campioni clinici di urina primo getto raccolti senza conservanti positivi e positivamente con materiali di riferimento.

I risultati sono riassunti nella tabella seguente.

Campioni	N	positivi	resistenti	sensibili
Urina primo getto positivi per <i>M. genitalium</i> e sensibili	4	4	0	4
Urina primo getto positivamente con <i>M. genitalium</i> e sensibili	20	20	0	20

Tutti campioni positivi per MG e sensibili sono risultati positivi e possibili antibioticosensibili all'analisi con Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit. In questo test, la Specificità Diagnostica per l'antibioticoresistenza è risultata uguale al 100%.

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 " Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit", FTP RTS401ING-48.

BIBLIOGRAFIA

- Twin J. et al. (2012) PLoS ONE Vol. 7, Issue 4
 Nijhuis R.H.T. et al. (2015) J. Antimicrob. Chemother. 70: 2515-2518
 E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e30
 G. L. Murray et al. (2019) J. Appl. Microbiol. 127(4): 1219-1223
 A. Guschin et al. (2015) BMC Infect Dis. 15: 40.
 R. Palich et al. (2021) Sex. Transm. Dis. 48(11): e163-e164.
 K. Linnet et al. (2004) Clin. Chem. 50: 732 - 740.

LIMITI DELLA PROCEDURA

Utilizzare questo prodotto soltanto con i seguenti campioni clinici: urine primo getto.

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 contaminazioni possono produrre risultati falsi positivi. Il formato del prodotto è in grado di limitare le cross-contaminazioni; tuttavia, questi fenomeni possono essere evitati solo attenendosi alle buone prassi di laboratorio e seguendo attentamente le istruzioni riportate nel presente manuale.

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

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

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

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

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

Un risultato negativo ottenuto con questo prodotto indica che il DNA non è stato rilevato nel DNA estratto dal campione, ma non si può escludere che il DNA target abbia un titolo più basso del limite di rilevabilità del prodotto (vedi "Caratteristiche prestazionali"). 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.

I risultati ottenuti con questo prodotto relativamente alla possibile resistenza ai macrolidi del *M. genitalium* sono limitati alla rilevazione delle mutazioni principali, come indicato nel capitolo "Caratteristiche delle Prestazioni". Altre mutazioni non rilevate da questo prodotto possono essere associate a resistenza ai macrolidi. Al contrario, mutazioni silenti possono essere rilevate da questo prodotto, ma non sono associate a resistenza ai macrolidi. Pertanto, si richiede un test di suscettibilità antimicrobica fenotipica per confermare la suscettibilità o la resistenza ai macrolidi.

Possibili polimorfismi, inserzioni o delezioni nella regione del DNA target coperta dai primer e dalle sonde del prodotto potrebbero compromettere la rilevazione e la quantificazione del DNA target.

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

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

RISOLUZIONE DEI PROBLEMI

Reazione del Controllo Positivo non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errata impostazione dello strumento.	Controllare la posizione della PCR Mix e del Controllo Positivo. Controllare i volumi della PCR Mix e del Controllo Positivo.
Degradazione della PCR Mix.	Non utilizzare la PCR Mix per più di 7 sessioni indipendenti (3 ore ciascuna nel blocco refrigerato dell'area reagenti o nell'unità refrigerata). Non utilizzare la PCR Mix per più di tre sessioni consecutive (7 ore nel blocco refrigerato dell'area reagenti o nell'unità refrigerata). Non lasciare la PCR Mix a temperatura ambiente per più di 30 minuti. Utilizzare una nuova aliquota di PCR Mix.
Degradazione del Controllo Positivo.	Non utilizzare il Controllo Positivo per più di 4 sessioni indipendenti (3 ore ciascuna nell'area di estrazione). Utilizzare nuove aliquote di Controllo Positivo.
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELiTechGroup.

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

Reazione del campione non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errata impostazione dello strumento.	Controllare la posizione della PCR Mix, del Controllo Interno e del campione. Controllare i volumi della PCR Mix, del Controllo Interno e del campione.
Degradazione della PCR Mix.	Non utilizzare il PCR Mix per più di 7 sessioni indipendenti (3 ore ciascuna nell'area reagenti o nell'unità refrigerata). Non utilizzare la PCR Mix per più di tre sessioni consecutive (7 ore nel blocco refrigerato dell'area reagenti o nell'unità refrigerata). Non lasciare la PCR Mix a temperatura ambiente per più di 30 minuti. Preparare una nuova aliquota della PCR Mix.
Degradazione del Controllo Interno.	Utilizzare una nuova aliquota del Controllo Interno.
Inibizione dovuta a sostanze interferenti con il campione.	Ripetere la reazione di amplificazione con una diluizione 1:3 in acqua per biologia molecolare del campione eluito in una sessione in modalità "PCR Only" (solo PCR). Ripetere l'estrazione con una diluizione 1:3 in acqua per biologia molecolare del campione eluito in una sessione in modalità "Extract + PCR"
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELiTechGroup.

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

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

Alto tasso anormale di risultati positivi nella stessa sessione (reazioni con valori Ct tardivi simili)	
Possibili cause	Soluzioni
Contaminazione da campione a campione durante le fasi pre-analitiche.	Pulire la micropipetta, con una soluzione fresca di ipoclorito di sodio al 3% (candeggina) o un detergente per DNA/RNA, dopo aver pipettato ciascun campione. Non utilizzare pipette Pasteur. Le pipette devono essere del tipo a spostamento positivo o utilizzate con puntali con filtro per aerosol. Introdurre campioni nelle ultime posizioni degli strumenti, come indicato dalla GUI. Seguire la sequenza di caricamento indicata dal software.
Contaminazione ambientale di laboratorio	Pulire tutte le superfici a contatto con l'operatore e i campioni (comprese le pipette) con una soluzione fresca di ipoclorito di sodio al 3% (candeggina) o un detergente per DNA/RNA. Eseguire un ciclo di decontaminazione UV. Utilizzare una nuova provetta di PCR Mix e / o CTR CPE

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 <i>in vitro</i> .
IVD	Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i> .
UDI	Numero Unico Identificativo del dispositivo
	Contenuto sufficiente per "N" test.
	Attenzione, consultare le istruzioni per l'uso.
CONT	Contenuto.
	Tenere lontano dalla luce solare.
	Fabbricante.

AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA

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

I reagenti di rilevazione ELITE MGB® sono coperti da uno o più brevetti U.S.A. numero 7319022, 7348146, 7381818, 7541454, 7671218, 7718374, 7723038, 7759126, 7767834, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529 e brevetti EP numero 1687609, 1781675, 1789587, 2689031, 2714939, 2736916, 2997161. Sono state poi presentate domande di brevetto attualmente in attesa di approvazione.

Le tecnologie ELITE InGenius® e ELITE BeGenius® sono coperte da brevetti e oggetto di domande di brevetto.

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

MGB®, Eclipse Dark Quencher®, AquaPhluor®, ELITE MGB®, il logo ELITE MGB®, ELITE InGenius® e ELITE BeGenius® sono marchi registrati di ELITechGroup all'interno dell'Unione Europea.

Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit

used in association with Genius series® platforms

Ref: RTS401ING-48



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

Intended use

The product **Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit** is an in vitro diagnostic medical device intended to be used by healthcare professionals as a qualitative nucleic acids Real-Time PCR assay for the detection of the DNA of *Mycoplasma genitalium* and for identification of main Macrolide resistance associated mutations.

The assay is validated in association with the **ELITE InGenius®** and **ELITE BeGenius®** instruments, automated and integrated systems for extraction, Real-Time PCR and results interpretation, using human specimens of first void urine collected without preservatives.

The product is intended for use as an aid in the diagnosis of uro-genital tract infections, in conjunction with other laboratory test results and clinical data.

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

Amplified sequence

Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
Target 1	23S rRNA	AP525	MG
Internal Control	IC2	AP680	IC

Validated matrix

- › first void urine collected without preservatives

Kit content and related products

Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit (RTS401ING-48)	Macrolide-R/MG – ELITE Positive Control (CTR401ING)
 X 4	 X 3
R/MG PCR Mix 4 tubes of 280 µL 12 reactions per tube 48 reactions per kit 7 freeze-thaw cycles per tube	R/MG Positive Control 3 tubes of 160 µL 4 reactions per tube 12 reactions per kit 4 freeze-thaw cycles
Maximum shelf-life: 24 months	Maximum shelf-life: 24 months
Storage temperature: ≤ -20°C	Storage temperature: ≤ -20°C

Other products required not provided in the kit

- | | |
|--|--|
| › ELITE InGenius instrument: INT030. | › ELITE InGenius Waste Box: F2102-000. |
| › ELITE BeGenius instrument: INT040. | › 300 µL Filter Tips Axigen: TF-350-L-R-S. |
| › ELITE InGenius SP 200: INT032SP200. | › 1000 µL Filter Tips Tecan: 30180118. |
| › ELITE InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS. | › CPE - Internal Control: CTCPE. |
| › ELITE InGenius PCR Cassette: INT035PCR. | |

ELITE InGenius and ELITE BeGenius protocol

› Sample volume	200 µL	› Eluate PCR input volume	20 µL
› CPE volume	10 µL	› R/MG PCR Mix volume	20 µL
› Total elution volume	100 µL	› Frequency of controls	15 days

ELITe InGenius and ELITe BeGenius Performances

Matrix	Target	Limit of Detection	antibiotic-resistant Sensitivity in MG positive samples	antibiotic-resistant Specificity in MG positive samples	Specificity
first void urine collected without preservatives	MG	247 organisms / mL	100% ^(30/30)	100% ^(24/24)	100% ^(30/30)

Sample preparation

This product is intended for use on the **ELITe InGenius** and **ELITe BeGenius** with the following clinical specimens identified according to laboratory guidelines, and collected, transported, and stored under the following conditions.

Sample type	Transport/Storage conditions			
	+16 / +26 °C (room temperature)	+2 / +8 °C*	-20 ±10 °C	-70 ±15 °C
first void urine collected without preservatives	≤ 5 days	≤ 5 days	≤ 2 months	≤ 2 years

* Reference: G. L. Murray et al

ELITe InGenius Procedures

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

Before analysis

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

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", elution: "100 µL"	3. Scan the sample barcodes with hand-barcode reader or type the sample ID
4. Select the "Assay Protocol" of interest: R_MG ELITe_U_200_100	5. Select the method "Extract + PCR" and the sample position: Extraction Tube	6. Load the PCR Mix and the Internal Control in the Inventory Block
7. Load: PCR Cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip Cassette, Extraction Tube racks	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results

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

Procedure 2: PCR Only (e.g., eluates, controls)

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", elution: "100 µL"	3. Scan the sample barcodes with hand-barcode reader or type the sample ID
4. Select the "Assay Protocol" of interest: R_MG ELITe_U_200_100 or R_MG ELITe_PC or R_MG ELITe_NC	5. Select the method "PCR Only" and the sample position "Elution Tube"	6. Load the PCR Mix in the Inventory Block
7. Load: PCR Cassette rack and the Elution tube rack with the extracted nucleic acid	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results

ELITE BeGenius Procedures

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

Before analysis

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

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

- | | | |
|---|---|---|
| 1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «Extract +PCR» | 2. Insert the Sample Rack with the barcoded samples in the Cooler Unit. The barcode scan is already active | 3. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "100 µL" |
| 4. Select the "Assay Protocol" of interest: R_MG ELITE_Be_U_200_100
Note: if a second extraction is performed repeat steps from 2 to 4 | 5. Print the labels to barcode the empty elution tubes. Load the tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit | 6. Load the PCR Mix and the Internal Control in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit |
| 7. Load "PCR Rack" with "PCR Cassette" and the "Extraction Rack" with the "ELITE InGenius SP 200" extraction cartridges and the required extraction consumables | 8. Close the door. Start the run | 9. View, approve and store the results |

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

Procedure 2: PCR Only (e.g., eluates, controls)

- | | | |
|---|---|---|
| 1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «PCR Only» | 2. Load the extracted nucleic acid or controls barcoded tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit" | 3. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "100 µL" |
| 4. Select the "Assay Protocol" of interest: R_MG ELITE_Be_U_200_100 or R_MG ELITE_Be_PC or R_MG ELITE_Be_NC | 5. Load the PCR-Mix in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit | 6. Load "PCR Rack" with "PCR Cassette" |
| 7. Close the door. Start the run | 8. View, approve and store the results | |