



GI Viral PLUS ELITE MGB® Kit
reagenti per la trascrizione inversa dell'RNA e la Real-Time PCR

REF RTS501ING

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

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

PRINCIPIO DEL SAGGIO

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

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

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

GI Viral PLUS ELITE MGB® Kit
reagenti per la trascrizione inversa dell'RNA e la Real-Time PCR

REF RTS501ING



UDI 08033891487515

INDICE

USO PREVISTO	pag. 1
PRINCIPIO DEL SAGGIO	pag. 2
DESCRIZIONE DEL PRODOTTO	pag. 2
MATERIALI INCLUSI NEL PRODOTTO	pag. 3
MATERIALI RICHIESTI MA NON INCLUSI NEL PRODOTTO	pag. 3
ALTRI PRODOTTI RICHIESTI	pag. 3
AVVERTENZE E PRECAUZIONI	pag. 4
CAMPIONI E CONTROLLI	pag. 5
PROCEDURA ELITE InGenius	pag. 6
PROCEDURA ELITE BeGenius	pag. 11
CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI	pag. 15
BIBLIOGRAFIA	pag. 26
LIMITI DELLA PROCEDURA	pag. 26
RISOLUZIONE DEI PROBLEMI	pag. 27
LEGENDA DEI SIMBOLI	pag. 30
AVVISO PER L'UTILIZZATORE	pag. 31
AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA	pag. 31
ALLEGATO: QUICK START GUIDE	pag. A

DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

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

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

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

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

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

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

MATERIALI INCLUSI NEL PRODOTTO

Componente	Descrizione	Quantità	Classificazione dei rischi
GI-V PCR Mix cod. RTS501ING	Miscela di reagenti per la trascrizione inversa e Real-Time PCR, in provetta con tappo BIANCO	4 x 600 µL	-
RT EnzymeMix cod. RTS003-RT	Trascrittasi inversa in provetta con tappo con inserto NERO	2 x 20 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).
- Thermomixer.
- 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 dell'RNA 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 trascrizione inversa, 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 1.3.0.19 (o successiva)	ELITE InGenius SP 200 Consumable Set (EG SpA, cod. INT032CS)
GI Viral PLUS ELITE_PC, Assay Protocol (Protocollo di Saggio) con i parametri per l'analisi del Controllo Positivo	ELITE InGenius PCR Cassette (EG SpA, cod. INT035PCR)
GI Viral PLUS ELITE_NC, Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Controllo Negativo	ELITE InGenius Waste Box (EG SpA, cod. F2102-000)
GI Viral PLUS ELITE_ST_200_100, Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di feci	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 2.2.1 (o successiva)	CPE - Internal Control (EG SpA, cod. CTRCPE)
GI Viral PLUS ELITE_Be_PC, Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Controllo Positivo	GI Viral PLUS - ELITE Positive Control (EG SpA, cod. CTR501ING)
GI Viral PLUS ELITE_Be_NC, Assay Protocol con i parametri per l'analisi del Controllo Negativo	InhibitEX Buffer (QIAGEN GmbH, Germany, cod. 19593) o dispositivo equivalente
GI Viral PLUS ELITE_Be_ST_200_100, Assay Protocol con i parametri per l'analisi dei campioni di feci	Minitip Flocked Swab® (COPAN Italia S.p.A., Italy, cod. 501CS01) o dispositivo equivalente
	FecalSwab™ (COPAN Italia S.p.A., Italy, cod. 470CE,) o dispositivo equivalente con Cary Blair medium.

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 smaltirli.

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

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

Non pipettare mai le soluzioni con la bocca.

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

Lavarsi accuratamente le mani dopo avere maneggiato campioni e reagenti.

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

Prima di eseguire il saggio, leggere attentamente tutte le istruzioni 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 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/scongelamento
GI-V PCR Mix	-20 °C o inferiore (protetta dalla luce)	entro un mese	fino a cinque
RT EnzymeMix	-20 °C o inferiore	entro un mese	fino a dieci volte, per un massimo di dieci minuti a +2 / +8 °C

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
Feci	Raccolte senza conservanti	≤ 24 ore	≤ 48 ore	≤ 1 mese	≤ 2 mesi
	Raccolte in FecalSwab	≤ 48 ore	≤ 5 giorni	≤ 1 mese	≤ 2 mesi

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

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

Procedura di pretrattamento per campioni di feci raccolte senza conservanti:

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

Procedura di pretrattamento per campioni di feci raccolte in FecalSwab:

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

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

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

Per tutti i protocolli, 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

È obbligatorio generare e approvare i controlli di amplificazione per ogni lotto di reagente di amplificazione:

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

Nota: **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 ristestati 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 **GI Viral PLUS ELITE MGB Kit** con **ELITE InGenius** si articola 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 (**GI-V Positive Control**, **GI-V Negative Control**) siano processati, approvati e non scaduti (Status) per il lotto di **GI-V 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 **GI Viral PLUS ELITE MGB Kit** può essere utilizzato con **ELITE InGenius** per eseguire:

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

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

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

Prima di impostare una sessione:

1. Scongelare le provette necessarie di **GI-V PCR Mix** a temperatura ambiente per 30 minuti. Ogni provetta contiene un volume sufficiente per **24 test** in condizioni ottimali (2 o più test per sessione). Mescolare delicatamente le provette per 10 secondi, ripetendo l'operazione per tre volte, centrifugarle per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e conservare in ghiaccio o in blocco freddo.

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

2. Prelevare le provette contenenti **RT EnzymeMix** necessarie per la sessione, tenendo presente che ciascuna contiene un volume sufficiente per **48 reazioni**. Agitare delicatamente le provette, centrifugarle per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mettere in ghiaccio o in blocco freddo.

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

3. Preparare una provetta da 2 mL con tappo a vite (Sarstedt cod. 72.694.005, non fornito con il kit) per la **miscela completa di reazione** e contrassegnarla con un pennarello a inchiostro indelebile.
4. Calcolare i volumi di **GI-V PCR Mix** e **RT EnzymeMix** necessari per preparare la **miscela completa di reazione** in funzione del numero di campioni (N) da analizzare, come descritto nella tabella sottostante.

Numero di campioni (N)	GI - V PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0,3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0,3 µL
N = 12	290 µL	4,4 µL

5. Preparare la **miscela completa di reazione** aggiungendo nella provetta da 2 mL i volumi calcolati dei due componenti. Mescolare mediante **agitatore a bassa velocità** la provetta per 10 secondi ripetendo l'operazione per tre volte. Centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mettere in ghiaccio o blocco freddo.

Nota: La **miscela completa di reazione** deve essere preparata ex novo per ogni sessione di lavoro e non può essere conservata per il riutilizzo

Nota: La **miscela completa di reazione** è fotosensibile per cui non esporla 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. Pretrattare i campioni secondo la procedura descritta nel paragrafo "Campioni e Controlli". Per l'analisi, 200 µL di campione pretrattato devono essere trasferiti in un Extraction tube (tubo di estrazione) precedentemente etichettato.	Scongelare gli Elution tube (Provetta con eluato) con i campioni di acidi nucleici estratti da analizzare. Mescolare delicatamente, centrifugare le provette per 5 secondi e conservare in ghiaccio o in blocco freddo.	Scongelare le provette di Controllo Positivo a temperatura ambiente per 30 minuti. Mescolare delicatamente, centrifugare le provette per 5 secondi e conservare in ghiaccio o in blocco freddo. (Ogni provetta contiene un volume sufficiente per 4 reazioni).
2	Scongelare le provette necessarie di controllo interno CPE a temperatura ambiente per 30 minuti. Mescolare delicatamente, centrifugare le provette per 5 secondi e conservare in ghiaccio o in blocco freddo. Ogni provetta contiene un volume sufficiente per 12 reazioni.	Non applicabile	Preparare il Controllo Negativo trasferendo almeno 50 µL di acqua per biologia molecolare in un Elution tube (Provetta eluato), fornito con il prodotto ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Nella schermata Home, selezionare " Perform Run " (Esegui sessione)	Nella schermata Home, selezionare " Perform Run " (Esegui sessione).	Nella schermata Home, selezionare " Perform Run " (Esegui sessione).
4	Verificare che l'"Extraction Input Volume" (volume estrazione input) sia 200 µL e che l'"Extracted Elute Volume" (volume di eluato estratto) sia 100 µL.	Verificare che l'"Extraction Input Volume" (volume estrazione input) sia 200 µL e che l'"Extracted Elute Volume" (volume di eluato estratto) sia 100 µL.	Verificare che l'"Extraction Input Volume" (volume estrazione input) sia 200 µL e che l'"Extracted Elute Volume" (volume di eluato estratto) sia 100 µL.
5	Per ogni campione, assegnare un "Track" d'interesse e compilare il "SampleID" (ID campione, SID) digitando o scansionando il codice a barre.	Per ogni campione, assegnare un "Track" d'interesse e compilare il "SampleID" (ID campione, SID) digitando o scansionando il codice a barre.	Non applicabile
6	Nella colonna "Assay" (Saggio) selezionare gli Assay Protocol da utilizzare (si veda paragrafo "Campioni e Controlli").	Nella colonna "Assay" (Saggio) selezionare gli Assay Protocol da utilizzare (si veda paragrafo "Campioni e Controlli").	Nella colonna "Assay" (Saggio) selezionare gli Assay Protocol da utilizzare (si veda paragrafo "Campioni e Controlli") e digitare il numero di lotto e la data di scadenza del Positive Control e dell'acqua per biologia molecolare.
7	Verificare che nella colonna "Protocol" (Protocollo) il protocollo visualizzato sia: "Extract + PCR".	Nella colonna "Protocol" (Protocollo) selezionare "PCR Only".	Verificare che nella colonna "Protocol" (Protocollo) il protocollo visualizzato sia: "PCR Only".
8	Nella colonna "Sample Position" (Posizione campione) selezionare "Extraction Tube" (Tubo di estrazione) come posizione in cui caricare il campione.	Verificare nella colonna "Sample Position" (Posizione campione) che la posizione sia "Elution Tube"	Verificare nella colonna "Sample Position" (Posizione campione) che la posizione sia "Elution Tube"
9	Fare clic su "Next" (Avanti) per proseguire.	Fare clic su "Next" (Avanti) per proseguire.	Fare clic su "Next" (Avanti) per proseguire.
10	Caricare il CPE e la miscela completa di reazione 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 miscela completa di reazione 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 miscela completa di reazione 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: La **miscela completa di reazione** deve essere preparata ex novo per ogni sessione di lavoro e non può essere conservata per il riutilizzo.

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 **GI-V 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 ed approvazione dei risultati

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

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

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

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

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

A. Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo

Il **software ELITE InGenius** interpreta i risultati di PCR dei target del Controllo Positivo e del Controllo Negativo con i parametri inclusi negli Assay Protocol "**GI Viral PLUS ELITE_PC**" e "**GI Viral PLUS 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 del target (Canali **NV, SV, RV, ADV**, e **ASV**) e del controllo Interno (Canale **IC**) con i parametri inclusi nell' Assay Protocol **GI Viral PLUS ELITE_ST_200_100**.

I risultati vengono mostrati nella schermata "Results Display".

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

1) Controllo Positivo	Status
GI-V Positive Control	APPROVATO
2) Controllo Negativo	Status
GI-V 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 e RNA dei patogeni è stato rilevato o non rilevato.

Risultato di una sessione sul campione	Interpretazione
NV:RNA Rilevato Genogroup I	L'RNA di Norovirus è stato rilevato nel campione e tipizzato come Genogruppo I
NV:RNA Rilevato Genogroup II	L'RNA di Norovirus è stato rilevato nel campione e tipizzato come Genogruppo II
NV:RNA Rilevato Typing not determined	L'RNA di Norovirus è stato rilevato nel campione ma in quantità insufficiente per effettuare la tipizzazione. Il test deve essere ripetuto.
NV:RNA Non rilevato o inferiore LoD	L'RNA di Norovirus non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per l'RNA target oppure la sua concentrazione è inferiore al Limite di Rilevazione (LoD) del saggio.
SV:RNA Rilevato	L'RNA di Sapovirus è stato rilevato nel campione.
SV:RNA Non rilevato o inferiore LoD	L'RNA di Sapovirus non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per l'RNA target oppure la sua concentrazione è inferiore al limite di rilevazione del saggio (LoD).
RV:RNA Rilevato	L'RNA di Rotavirus è stato rilevato nel campione.
RV:RNA Non rilevato o inferiore LoD	L'RNA di Rotavirus non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per l'RNA target oppure la sua concentrazione è inferiore al Limite di Rilevazione (LoD) del saggio.
ADV:DNA Rilevato Serotype F40	Il DNA di Adenovirus è stato rilevato nel campione e tipizzato come Serotipo F40.
ADV:DNA Rilevato Serotype F41	Il DNA di Adenovirus è stato rilevato nel campione e tipizzato come Serotipo F41.
ADV:DNA Rilevato Typing not determined	Il DNA di Adenovirus è stato rilevato nel campione, ma in quantità insufficiente per effettuare la tipizzazione. Il test deve essere ripetuto.
ADV:DNA Non rilevato o inferiore LoD	Il DNA di Adenovirus non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per l'RNA target oppure la sua concentrazione è inferiore al Limite di Rilevazione (LoD) del saggio.
ASV:RNA Rilevato	L'RNA di Astrovirus è stato rilevato nel campione.
ASV:RNA Not rilevato o inferiore LoD	L'RNA di Astrovirus non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per l'RNA target oppure la sua concentrazione è inferiore al Limite di Rilevazione (LoD) del saggio.
Non valido - Ripeti test su campione.	Risultato del saggio non valido per un errore del controllo interno (estrazione errata, presenza di un inibitore). Il test deve essere ripetuto.

Campioni che riportano il risultato "Non valido - Ripeti test su campione": in questo caso, l'RNA del Controllo Interno non è stato rilevato in maniera efficace per problemi nella fase di campionamento, pretrattamento, estrazione, retrotrascrizione o amplificazione (es. errato campionamento, degradazione o perdita di RNA 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").

I campioni segnalati come "XXX: RNA/DNA Non rilevato o inferiore LoD", sono idonei per l'analisi, ma non è stato possibile rilevare l'RNA/DNA dei target. In tal caso non si può escludere che l'RNA/DNA dei target di interesse sia presente ad una concentrazione inferiore al limite di rilevabilità del saggio (vedi "Caratteristiche delle prestazioni").

I campioni segnalati come "XXX: RNA/DNA Rilevato Typing not determined" non sono idonei per la tipizzazione del Genogruppo I o II di Norovirus e del Serotipo F40 o F41 di Adenovirus. Tuttavia, i campioni sono positivi per l'RNA di Norovirus e/o il DNA di Adenovirus.

Nota: I risultati ottenuti con questo saggio devono essere interpretati 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 dei campioni

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

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

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

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

PROCEDURA ELITE BeGenius

La procedura di utilizzo del prodotto **GI Viral PLUS ELITE MGB Kit** con **ELITE BeGenius** si articola 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 (**GI-V Positive Control**, **GI-V Negative Control**) siano processati, approvati e non scaduti (Status) per il lotto di **GI-V 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 **GI Viral PLUS ELITE MGB Kit** può essere utilizzato con il sistema **ELITE BeGenius** 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 vengono richiamati automaticamente nel momento in cui lo si seleziona.

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

Prima di impostare una sessione:

1. Scongellare le provette necessarie di **GI-V PCR Mix** a temperatura ambiente per 30 minuti. Ogni provetta contiene un volume sufficiente per **24 test** in condizioni ottimali (2 o più test per sessione). Mescolare delicatamente le provette per 10 secondi, ripetendo l'operazione per tre volte, centrifugarle per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e conservare in ghiaccio o in blocco freddo.

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

2. Prelevare le provette contenenti **RT EnzymeMix** necessarie per la sessione, tenendo presente che ciascuna contiene un volume sufficiente per **48 reazioni**. Agitare delicatamente le provette, centrifugarle per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mettere in ghiaccio o in blocco freddo.

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

3. Preparare una provetta da 2 mL con tappo a vite (Sarstedt cod. 72.694.005, non fornito con il kit) per la **miscela completa di reazione** e contrassegnarla con un pennarello a inchiostro permanente.
4. Calcolare i volumi di **GI-V PCR Mix** e **RT EnzymeMix** necessari per preparare la **miscela completa di reazione** in funzione del numero di campioni (N) da analizzare, come descritto nella tabella sottostante.

Numero di campioni (N)	GI-V PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0,3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0,3 µL
N = 12	290 µL	4,4 µL
13 ≤ N ≤ 18	(N + 3) x 20 µL	(N + 3) x 0,3 µL
19 ≤ N ≤ 23	(N + 4) x 20 µL	(N + 4) x 0,3 µL
N = 24	580 µL	8,7 µL

5. Preparare la **miscela completa di reazione** aggiungendo nella provetta etichettata da 2 mL i volumi calcolati dei due componenti. Mescolare mediante **agitatore a bassa velocità** la provetta per 10 secondi ripetendo l'operazione per tre volte. Centrifugare per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e mettere in ghiaccio o blocco freddo.

Nota: La **miscela completa di reazione** deve essere preparata ex novo per ogni sessione di lavoro e non può essere conservata per il riutilizzo

Nota: La **miscela completa di reazione** è fotosensibile per cui non esporla 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. Pretrattare i campioni secondo la procedura descritta nel paragrafo "Campioni e Controlli". Per l'analisi, 200 µL di campione pretrattato devono essere trasferiti in un Tubo Sarstedt da 2 mL precedentemente etichettato.	Scongela a temperatura ambiente gli "Elution tubes" (Provetta con eluato) con i campioni di acidi nucleici estratti da analizzare. Mescolare delicatamente, centrifugare le provette per 5 secondi, conservare in ghiaccio o in blocco freddo.	Scongela 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	Scongela 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). 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). 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). 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.
9	Verificare che "Extraction Input Volume" (volume estrazione input) sia impostato a 200 µL e che l'" Extracted Eluate 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 Eluate 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 Eluate 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. Nota: Quando devono essere analizzati più di 12 campioni, ripetere la procedura dal punto 6.	Fare clic su "Next" per proseguire.	Fare clic su "Next" per proseguire.
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

	A. Corsa dei campioni (Extract + PCR)	B. Corsa dei campioni estratti (PCR Only)	C. Corsa del Controllo Positivo e del Controllo Negativo (PCR Only)
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). 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). 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). 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: La **miscela completa di reazione** deve essere preparata ex novo per ogni sessione di lavoro e non può essere conservata per il riutilizzo.

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 **GI-V 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 ed approvazione dei risultati

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

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

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

ELITE BeGenius genera i risultati del prodotto **GI Viral PLUS 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 ELITE BeGenius e ELITE InGenius testando campioni di feci positivamente con materiali di riferimento di Norovirus GI, Norovirus GII, Astrovirus, Adenovirus F40, Adenovirus F41 and Rotavirus (ZeptoMetrix e ATCC) e con plasmidi EG SpA di Sapovirus G1/III/IV e Sapovirus GV.

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.

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

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

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

Inclusività: Efficienza di rilevazione su differenti ceppi e isolati

L'inclusività del saggio, come efficienza di rilevazione su diversi genotipi o isolati di Norovirus (GI/GII), Astrovirus, Adenovirus (F40/F41), Rotavirus e Sapovirus (GI/III/IV/GV) è stata valutata mediante analisi *in silico*. L'analisi ha mostrato una conservazione di sequenza e l'assenza di mutazioni significative per tutti i target ad eccezione di Norovirus. Quindi si prevede un'efficienza di rilevazione diversa per alcuni ceppi o isolati di Norovirus.

L'inclusività è stata verificata anche mediante l'analisi di 10 materiali di riferimento (Qnostics, Vircell, ZeptoMetrix e ATCC) e testando 14 DNA plasmidici che rappresentano le varianti genomiche più importanti di Norovirus GI e Norovirus GII.

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

Target	Fornitore	Positivi / Replicati	Esito
Norovirus GI	ZeptoMetrix	6 / 6	NV:RNA rilevato Genogroup I
Norovirus GII	Vircell	6 / 6	NV:RNA rilevato Genogroup II
Adenovirus F40	ZeptoMetrix	6 / 6	ADV:DNA rilevato Serotype F40
Adenovirus F41	Vircell	6 / 6	ADV:DNA rilevato Serotype F41
Adenovirus F41	Qnostics	6 / 6	ADV:DNA rilevato Serotype F41
Rotavirus	Vircell	6 / 6	RV:RNA rilevato
Rotavirus	Qnostics	6 / 6	RV:RNA rilevato
Sapovirus	ATCC	6 / 6	SV:RNA rilevato
Astrovirus I	ATCC	6 / 6	ASV:RNA rilevato
Astrovirus V	ATCC	6 / 6	ASV:RNA rilevato

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

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

Campione	Copie / reazione	Positivi / Replicati	Esito
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID MN938461)	750	6 / 6	NV:RNA rilevato Genogroup I
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID KP027330)	750	6 / 6	NV:RNA rilevato Genogroup I
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID MZ470608)	4x10 ⁴	6 / 6	NV:RNA rilevato Genogroup I
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID OK562729)	3x10 ⁴	6 / 6	NV:RNA rilevato Genogroup I
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID MN421562)	1x10 ⁵	6 / 6	NV:RNA rilevato Genogroup II
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID LC378987)	1x10 ⁷	6 / 6	NV:RNA rilevato Genogroup I
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID MW647681)	750	6 / 6	NV:RNA rilevato Genogroup I
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID OK147886)	750	6 / 6	NV:RNA rilevato Genogroup I
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID MW362461)	750	6 / 6	NV:RNA rilevato Genogroup I
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID EU085525)	750	6 / 6	NV:RNA rilevato Genogroup I
Plasmide Norovirus GII (SEQ ID MK328934)	1x10 ²	6 / 6	NV:RNA rilevato Genogroup II
Plasmide Norovirus GII (SEQ ID MG674721)	1x10 ²	6 / 6	NV:RNA rilevato Genogroup I
Plasmide Norovirus GII (SEQ ID MG495078)	1x10 ²	6 / 6	NV:RNA rilevato Genogroup I
Plasmide Norovirus GII (SEQ ID KC464491)	1x10 ²	6 / 6	NV:RNA rilevato Genogroup II

Con alcune varianti di Norovirus GI, la sensibilità del prodotto può aumentare fino a 10,000 volte. Con il genotipo 9 di Norovirus GI, il prodotto restituisce una tipizzazione errata come "Norovirus GII". Con i genotipi 6 e 7 di Norovirus GII, il prodotto restituisce una tipizzazione errata come "Norovirus GI".

Interferenza fra target

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

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

Target in test (basse copie)	Interferenza tra targets a 50,000 copie / reazione)						
	NV1	NV2	SV124	SV5	RV	ADV-F40	ASV
NV1	-	-	50 c / rxn				
NV2	-	-	100 c / rxn				
SV124	100 c / rxn	100 c / rxn	-	-	100 c / rxn	100 c / rxn	100 c / rxn
SV5	50 c / rxn	50 c / rxn	-	-	50 c / rxn	50 c / rxn	50 c / rxn
RV	250 c / rxn	250 c / rxn	250 c / rxn	250 c / rxn	-	250 c / rxn	250 c / rxn
ADV-F40	50 c / rxn	50 c / rxn	50 c / rxn	50 c / rxn	50 c / rxn	-	50 c / rxn
ASV	250 c / rxn	250 c / rxn	250 c / rxn	250 c / rxn	250 c / rxn	250 c / rxn	-

Il prodotto GI Viral PLUS ELITE MGB Kit mostra un'interferenza minima fra i target. Tutti i target possono essere rilevati anche quando hanno una concentrazione circa 200 volte inferiore rispetto agli altri target presenti nel campione.

Organismi potenzialmente interferenti: Cross-reattività

La potenziale cross-reattività con organismi diversi che possono essere trovati in campioni clinici di feci è stata valutata per il saggio mediante analisi *in silico*. L'analisi non ha mostrato alcuna omologia significativa con altri organismi (virus, batteri, protozoi e funghi) e pertanto non sono attese cross-reattività, ad eccezione di alcuni Adenovirus diversi da F40 e F41.

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

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

Campione	Positivi / Replicati					Esito
	NV	SV	RV	ADV	ASV	
<i>Aeromonas hydrophilia</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Bacteroides fragilis</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Helicobacter pylori</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Escherichia coli</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Serratia Marcescens</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Candida albicans</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Citrobacter freundii</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Clostridium difficile</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Proteus mirabilis</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Enterobacter cloacae</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Giardia lamblia</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Cryptosporidium parvum</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Entamoeba histolytica</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Salmonella enterica</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Shigella flexneri</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Vibrio cholera</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
<i>Campylobacter jejuni</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Echovirus 4	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Adenovirus specie C	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	Cross-reattività per ADV
Adenovirus specie A	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Adenovirus specie B	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Adenovirus specie C	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	Cross-reattività per ADV
Adenovirus specie D	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	Cross-reattività per ADV
Adenovirus specie E	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Adenovirus specie G	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	Cross-reattività per ADV

Tutti gli organismi potenzialmente interferenti testati non hanno mostrato alcuna cross-reattività per l'amplificazione dei target utilizzando il GI Viral PLUS ELITE MGB Kit, ad eccezione di Adenovirus C, D e G.

Organismi potenzialmente interferenti: Inibizione

La potenziale inibizione da parte di organismi diversi che possono essere trovati nei campioni clinici di feci è stata verificata per il saggio attraverso l'analisi di un pannello di materiali di riferimento (ATCC, ZeptoMetrix, DSMZ e DNA plasmidici EG SpA).

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

Organismo	Positivi / Replicati						Esito
	NV1	NV2	RV	ADV-F40	ADV-F41	ASV	
<i>Aeromonas hydrophilia</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
<i>Bacteroides fragilis</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
<i>Helicobacter pylori</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
<i>Escherichia coli</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
<i>Serratia Marcescens</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
<i>Acinetobacter baumannii</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
<i>Candida albicans</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
<i>Citrobacter freundii</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
<i>Clostridium difficile</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
<i>Proteus mirabilis</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
<i>Enterobacter cloacae</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
<i>Giardia lamblia</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
<i>Cryptosporidium parvum</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
<i>Entamoeba histolytica</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
<i>Yersinia enterocolitica</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
<i>Salmonella enterica</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
<i>Shigella flexneri</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
<i>Vibrio cholera</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
<i>Campylobacter jejuni</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Echovirus 4	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Adenovirus specie C	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Adenovirus specie A	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Adenovirus specie B	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Adenovirus specie C	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Adenovirus specie D	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Adenovirus specie E	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Adenovirus specie G	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza

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

Sostanze potenzialmente interferenti: Cross-reattività

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

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

Sostanza	Positivi / Replicati						Esito
	NV1	NV2	RV	ADV-F40	ADV-F41	ASV	
Olio di vaselina	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Nonoxynol-9	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Subsalicilato di bismunto	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Loperamide cloridrato	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Bisacodile	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Azitromicina	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Vancomicina	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Metronidazolo	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Ampicillina	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Cefpodoxima	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Ciprofloxacina	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Idrocortisone	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Carbonato di Calcio	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Acido alginico	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Idrossido di alluminio	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Trisilicato di magnesio	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Sangue intero	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Mucina	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Acido palmitico	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività
Acido stearico	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Nessuna cross-reattività

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

Sostanze potenzialmente interferenti: Inibizione

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

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

Organismo	Positivi / Replicati						Esito
	NV1	NV2	RV	ADV-F40	ADV-F41	ASV	
Olio di vaselina	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Nonoxynol-9	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Subsalicilato di bismunto	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Loperamide cloridrato	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Bisacodile	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Azitromicina	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Vancomicina	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Metronidazolo	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Ampicillina	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Cefpodoxima	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Ciprofloxacina	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Idrocortisone	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Carbonato di Calcio	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza

Organismo	Positivi / Replicati						Esito
	NV1	NV2	RV	ADV-F40	ADV-F41	ASV	
Acido alginico	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Idrossido di alluminio	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Trisilicato di magnesio	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Sangue intero	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Mucina	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Acido palmitico	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza
Acido stearico	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Nessuna interferenza

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

Cross-contaminazione

La possibile cross-contaminazione durante l'analisi è stata valutata per il saggio testando 60 replicati di un campione di feci negativo alternati a 60 replicati dello stesso campione positivamente con Adenovirus F40 (ZeptoMetrix) alla concentrazione di ~ 1 x 10⁴ TCID₅₀ / mL.

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

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

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

Tasso totale di errore di sistema

Il tasso totale di errore di sistema per il saggio è stato valutato testando 52 diversi campioni di feci e 52 campioni di feci raccolte in FecalSwab positivamente con Norovirus GII (Zeptomatrix) ad una concentrazione di 3x LoD.

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

Campioni	N	Positivi	Negativi	Tasso totale di errore di sistema
Feci positivate a 3x LoD	52	52	0	0%
Feci in FecalSwab positivate a 3x LoD	52	52	0	0%

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

Ripetibilità

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

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

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

Campione	Target	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Neg	RV (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		6	30,18	0,29	0,95	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		6	-	-	-	100%
3xLoD SV124		6	-	-	-	100%
Neg	ADV (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		6	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		6	34,17	0,81	2,37	100%
3xLoD SV124	ADV (Tm)	6	70,4	0,27	0,38	100%
Neg	ADV (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		6	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		6	27,14	0,36	1,32	100%
3xLoD SV124		6	-	-	-	100%

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

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

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

Campione	Target	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Neg	NV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		12	30,97	0,43	1,39	100%
3xLoD ADV-F40+ASV	NV (Tm)	12	68,4	0,16	0,24	100%
3xLoD SV124	NV (Ct)	12	-	-	-	100%
Neg		12	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		12	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		12	-	-	-	100%
3xLoD SV124	SV (Ct)	12	32,37	0,45	1,39	100%
Neg		12	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		12	-	-	-	100%

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

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

Campione	Target	N	Media	SD	%CV	%Concordanza
Neg	NV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		12	30,08	0,46	1,53	100%
3xLoD ADV-F40+ASV	NV (Tm)	12	68,9	0,11	0,16	100%
3xLoD SV124	NV (Ct)	12	-	-	-	100%
Neg		12	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		12	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		12	-	-	-	100%
3xLoD SV124	SV (Ct)	12	32,74	0,78	2,37	100%
Neg		12	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		12	30,18	0,40	1,32	100%
3xLoD ADV-F40+ASV	RV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD SV124		12	-	-	-	100%
Neg		12	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV	ADV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		12	34,44	0,63	1,82	100%
3xLoD SV124	ADV (Tm)	12	71,0	0,14	0,19	100%
Neg	ADV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		12	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		12	27,03	0,41	1,51	100%
3xLoD SV124		12	-	-	-	100%

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

Riproducibilità

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

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

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

GI Viral PLUS ELITE MGB® Kit
reagenti per la trascrizione inversa dell'RNA e la Real-Time PCR

REF RTSS501ING

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

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

Sample	Target	N	Mean	SD	%CV	%Agreement
Neg	NV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	30,54	0,55	1,80	100%
3xLoD ADV-F40+ASV	NV (Tm)	36	69,1	0,21	0,30	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%
Neg	SV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	32,75	0,57	1,74	100%
Neg	RV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	30,41	0,41	1,35	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%
Neg	ADV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		36	33,66	0,78	2,31	100%
3xLoD SV124		36	70,8	0,30	0,43	100%
Neg	ASV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%

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

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

GI Viral PLUS ELITE MGB® Kit
reagenti per la trascrizione inversa dell'RNA e la Real-Time PCR

REF RTSS501ING

Sample	Target	N	Mean	SD	%CV	%Agreement
Neg	RV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	30,80	0,53	1,73	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%
Neg	ADV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		36	32,91	0,68	2,07	100%
3xLoD SV124		36	70,5	0,37	0,52	100%
Neg	ASV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		36	28,26	0,95	3,35	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%

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

Sample	Target	N	Mean	SD	%CV	%Agreement
Neg	NV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	30,74	0,62	2,02	100%
3xLoD ADV-F40+ASV	NV (Tm)	36	69,1	0,21	0,30	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%
Neg	SV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	32,66	0,47	1,43	100%
Neg	RV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	30,28	0,42	1,38	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%
Neg	ADV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		36	32,78	0,63	1,91	100%
3xLoD SV124		36	70,8	0,37	0,52	100%
Neg	ASV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLoD ADV-F40+ASV		36	25,57	0,88	3,18	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%

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

Specificità Diagnostica: Conferma dei campioni negativi

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

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

I risultati sono riassunti nella tabella seguente.

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

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

La Specificità Diagnostica di GI Viral PLUS ELITE MGB Kit in associazione alla matrice feci, in questa prova, è risultata uguale a 100% per tutti i target.

Il cut-off del Ct del Controllo Interno è impostato a 34 per ELITE InGenius e a 35 per ELITE BeGenius.

Specificità Diagnostica: Conferma dei campioni positivi

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

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

I risultati sono riassunti nella tabella seguente.

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

La Sensibilità Diagnostica di GI Viral PLUS ELITE MGB Kit in associazione alla matrice feci, in questa prova, è risultata uguale a 100% per ADV F40/F41, 92,9% per NV GI/GII, 100% per RV, 100% per ASV e 92,7% per SV.

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

BIBLIOGRAFIA

V. P. Ramanan et al. (2017) *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 87: 325-327
 Y. Liu et al. (2012) *J. Clin. Microbiol.* 50: 2384-2389
 F. Jakab et al. (2019) *J. Med. Virol.* 74: 71-7
 S. Q. Zeng et al. (2008) *J. Virol. Methods* 153: 238-240
 M. Diez-Valcarce et al. (2018) *J. Clin. Virol.* 104, 65-72
 E. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e 30
 P. Chhabra et al. (2019) *J. Gen. Virol.* 100: 1393 - 1406
 K. Kumthip et al. (2019) *Ann Res Hosp* 3: 1 - 3
 B. Lopman et al. (2015) *CDC Review*: 1-44

LIMITI DELLA PROCEDURA

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

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

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, trascrizione inversa, PCR e rilevazione di acidi nucleici, per evitare risultati errati.

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

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

Un risultato negativo ottenuto con questo prodotto indica che l'RNA o il DNA target non è stato rilevato negli acidi nucleici estratti dal campione, ma non si può escludere che l'RNA o il DNA target abbia un titolo più basso del limite di rilevabilità del prodotto (si veda "Caratteristiche delle Prestazioni"). In questo caso il risultato potrebbe essere un falso negativo.

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

Talvolta, i risultati ottenuti con questo prodotto possono non essere validi per via di un difetto del controllo interno. In questo caso il campione dovrà essere analizzato di nuovo, a cominciare dall'estrazione, con conseguente possibile ritardo nel conseguimento dei risultati finali.

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

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

In caso di presenza di Adenovirus specie D nel campione, il prodotto lo rileverà e fornirà una tipizzazione come Adenovirus sierotipo F41.

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 miscela completa di reazione e del Controllo Positivo. Controllare i volumi della miscela completa di reazione e del Controllo Positivo.
Errore di preparazione della miscela completa di reazione.	Controllare i volumi dei reagenti utilizzati durante la preparazione della miscela completa di reazione.
Degradazione della miscela completa di reazione o dei suoi componenti.	Non riutilizzare la miscela di reazione completa, prepararla ex novo per ogni sessione di lavoro. Non lasciare la miscela completa di reazione a temperatura ambiente per più di 30 minuti. Non lasciare la RT EnzymeMix a temperatura più alte di -20 °C più di 10 minuti. Preparare nuovamente la miscela completa di reazione. Utilizzare una nuova aliquota dei componenti.
Degradazione del Controllo Positivo.	Non utilizzare il Controllo Positivo per più di 4 sessioni indipendenti (3 ore ciascuna nell'area di estrazione o nel blocco refrigerato). Utilizzare nuove aliquote di Controllo Positivo.
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup S.p.A..

Reazione del Controllo Negativo non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errata impostazione dello strumento.	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 del Controllo Negativo.	Non utilizzare il Controllo Negativo per più di 1 sessione. Utilizzare una nuova aliquota di acqua per biologia molecolare.
Contaminazione della miscela completa di reazione o dei suoi componenti.	Preparare nuovamente la miscela completa di reazione. Utilizzare una nuova aliquota dei componenti.
Contaminazione dell'area di estrazione, dei rack e dell'area reagenti o dell'unità refrigerata.	Pulire le superfici con detergenti acquosi, lavare i camici, sostituire provette e puntali in uso.
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup S.p.A..

Reazione del campione non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errata impostazione dello strumento.	Controllare la posizione della miscela completa di reazione, del Controllo Interno e del campione. Controllare i volumi della miscela completa di reazione, del Controllo Interno e del campione.
Errore di preparazione della miscela completa di reazione.	Controllare i volumi dei reagenti utilizzati durante la preparazione della miscela completa di reazione.
Degradazione della miscela completa di reazione o dei componenti.	Non riutilizzare la miscela di reazione completa, prepararla ex novo per ogni sessione di lavoro. Non lasciare la miscela completa di reazione a temperatura ambiente per più di 30 minuti. Non lasciare l'RT EnzymeMix a temperature superiori a -20 °C per più di 10 minuti. Preparare nuovamente la miscela completa di reazione. Utilizzare una nuova aliquota dei componenti.
Degradazione del Controllo Interno.	Utilizzare una nuova aliquota di Controllo Interno.
Inibizione dovuta a sostanze interferenti con il campione.	Ripetere la reazione di amplificazione con una diluizione 1:2 in acqua per biologia molecolare del campione eluito in una sessione in modalità "PCR Only" (solo PCR). Ripetere l'estrazione con una diluizione 1:2 in acqua per biologia molecolare del campione in una sessione in modalità "Extract + PCR".
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica di ELITechGroup S.p.A..

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.	<p>Se nel PCR plot appare un'amplificazione significativa selezionare il track relativo al campione e approvare manualmente il risultato come positivo.</p> <p>Se nel PCR plot non appare nessuna amplificazione selezionare il rack relativo al campione e approvare manualmente il risultato come negativo o lasciarlo invalido.</p> <p>Se è richiesto un valore di Ct:</p> <ul style="list-style-type: none"> - ripetere la reazione di amplificazione del campione eluito con una diluizione 1:10 in acqua per biologia molecolare in una sessione in modalità "PCR Only" (solo PCR) oppure - ripetere l'estrazione del campione pretrattato 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 preanalitiche.	<p>Pulire la micropipetta, con una soluzione fresca di ipoclorito di sodio al 3% (candeggina) o un detergente per DNA/RNA, dopo aver pipettato ciascun campione.</p> <p>Non utilizzare pipette Pasteur. Le pipette devono essere del tipo a spostamento positivo o utilizzate con puntali con filtro per aerosol.</p> <p>Introdurre campioni nelle ultime posizioni degli strumenti, come indicato dalla GUI. Seguire la sequenza di caricamento indicata dal software.</p>
Contaminazione ambientale di laboratorio	<p>Pulire tutte le superfici a contatto con l'operatore e i campioni (comprese le pipette) con una soluzione fresca di ipoclorito di sodio al 3% (candeggina) o un detergente per DNA/RNA.</p> <p>Eseguire un ciclo di decontaminazione UV.</p> <p>Preparare nuovamente la miscela completa di reazione e/o utilizzare una nuova aliquota di CTR CPE</p>

LEGENDA DEI SIMBOLI

-  Numero di catalogo.
-  Limite superiore di temperatura.
-  Codice del lotto.
-  Da utilizzare prima del (ultimo giorno del mese).
-  Dispositivo medico diagnostico *in vitro*.
-  Conforme ai requisiti del Regolamento Europeo 2017/746/EC relativo ai dispositivi medici diagnostici *in vitro*. Certificazione rilasciata da TÜV SÜD Product Service GmbH, Germany.
-  Numero Unico Identificativo del dispositivo
-  Contenuto sufficiente per "N" test.
-  Attenzione, consultare le istruzioni per l'uso.
-  Contenuto.
-  Tenere lontano dalla luce solare.
-  Fabbricante.

AVVISO PER L'UTILIZZATORE

Qualsiasi incidente grave che si verifichi in relazione al dispositivo deve essere segnalato al fabbricante e all'autorità competente dello Stato membro in cui risiedono l'utilizzatore e/o il paziente. Al momento dell'attuale revisione dell'IFU, non si sono verificati incidenti gravi o richiami del dispositivo, aventi un impatto sulle prestazioni e sulla sicurezza del dispositivo.

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.

GI Viral PLUS ELITE MGB® Kit

used in association with Genius series® platforms

Ref: RTS501ING



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

Intended use

The product GI Viral PLUS ELITE MGB® Kit is an in vitro diagnostic medical device intended to be used by healthcare professionals as qualitative multiplex nucleic acids reverse transcription and Real-Time PCR assay for the detection and identification of the genomic DNA of Adenovirus (ADV), and the genomic RNA of Norovirus (NV), Rotavirus (RV), Astrovirus (ASV) and Sapovirus (SV), extracted from clinical specimens.

The assay is able to detect the DNA of Adenovirus belonging to serotypes F40 and F41 (typed by melting analysis), the RNA of Norovirus belonging to genogroups GI and GII (typed by melting analysis), Rotavirus belonging to group A, human Astrovirus and human Sapovirus.

The assay is validated in association with the ELITE InGenius® and ELITE BeGenius® instruments, automated and integrated systems for extraction, reverse transcription, Real-Time PCR and results interpretation, using human stool specimens.

The product is intended for use as an aid in the diagnosis of gastrointestinal viral infections in patients suspected of having Adenovirus, Norovirus, Rotavirus, Astrovirus or Sapovirus infection.

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

Amplified sequence

Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
Target 1	GI and GII Polyprotein	FAM	NV
Target 2	capsid protein	AP690	ASV
Target 3	F40 and F41 Hexon protein	AP639	ADV
Target 4	group A NSP3	AP593	RV
Target 5	GI/GII/GIV and GV Polyprotein	AP559	SV
Internal Control	phage MS2	AP525	IC

Validated matrix

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

Kit content and related products

GI Viral PLUS ELITE MGB Kit (RTS501ING)		GI Viral PLUS - ELITE Positive Control (CTR501ING)	
 X 4	 X 2	 X 3	
GI-V PCR Mix 4 tubes of 600 µL 24 reactions per tube 96 reactions per kit 5 freeze-thaw cycles per tube	RT Enzyme Mix 2 tubes of 20 µL 48 reactions per tube 96 reactions per kit 10 freeze-thaw cycles	GI-V Positive Control 3 tubes of 160 µL 4 reactions per tube 12 reactions per kit 4 freeze-thaw cycles	
Maximum shelf-life:	18 months	Maximum shelf-life	24 months
Storage temperature	≤ -20°C	Storage temperature	≤ -20°C

Other products required not provided in the kit

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

ELiTe InGenius and ELiTe BeGenius Protocol

› Sample volume	200 µL	› Eluate PCR input volume	10 µL
› CPE volume	10 µL	› GI-V 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	Sensitivity	Specificity
Native Stool / Stool collected in FecalSwab	Norovirus GI	219 TCID₅₀/mL	92.9% (130/140)	100% (101/101)
	Norovirus GII	151 TCID₅₀/mL		
	Astrovirus	690 TCID₅₀/mL	100% (50/50)	100% (100/100)
	Adenovirus F40	0.082 TCID₅₀/mL	100% (50/50)	100% (101/101)
	Adenovirus F41	0.006 TCID₅₀/mL		
	Rotavirus	2.4 TCID₅₀/mL	100% (50/50)	100% (101/101)
	Sapovirus GV	792 copies/mL	92.7% (51/55)	100% (101/101)
	Sapovirus GI/II/IV	1119 copies/mL		

Sample preparation

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

Sample type	Transport/Storage conditions			
	+16 / +26 °C (room temperature)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Native stool collected without preservatives	≤ 24 hours	≤ 48 hours	≤ 1 month	≤ 2 months
Stool collected in FecalSwab (Modified Cary Blair medium)	≤ 48 hours	≤ 5 days	≤ 1 month	≤ 2 months

Note: The specimens have to be pre-treated before use according to the procedure described in the complete IFU.

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, reverse transcription, 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: **GI-V Positive Control** and **GI-V Negative Control** in the "Controls" menu.
Note: Both must have been run, approved and not expired.
- Thaw the **GI-V PCR Mix** and the **CTRCPE** tubes. Vortex gently. Spin down 5 sec.

- Prepare the complete reaction mixture

Sample Number (N)	GI-V PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0.3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0.3 µL
N = 12	290 µL	4.4 µL

- Vortex gently. Spin down 5 sec. Keep the complete reaction mixture in ice. Do not expose to direct light.

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", elution: "100 µL"	3. Scan the sample barcodes with hand-barcode reader or type the sample ID
4. Select the "Assay Protocol" of interest: GI Viral PLUS ELiTe_ST_200_100	5. Select the method "Extract + PCR" and the sample position "Extraction Tube"	6. Load the complete reaction mixture and the Internal Control in the Inventory Block
7. Load: PCR cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip Cassette, Extraction Tube racks	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results

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

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", elution: "100 µL"	3. Scan the sample barcodes with hand-barcode reader or type the sample ID
4. Select the "Assay Protocol" of interest: GI Viral PLUS ELITE_ST_200_100 or GI Viral PLUS ELITE_PC or GI Viral PLUS ELITE_NC	5. Select the method "PCR Only" and the sample position "Elution Tube"	6. Load the complete reaction mixture 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, reverse transcription, 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: GI-V Positive Control and GI-V Negative Control in the "Controls" menu. <i>Note:</i> Both must have been run, approved and not expired.	3. Thaw the GI-V PCR Mix and the CTRCPE tubes. Vortex gently. Spin down 5 sec.
---	--	--

4. Prepare the complete reaction mixture

Sample Number (N)	GI-V PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0.3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0.3 µL
N = 12	290 µL	4.4 µL
13 ≤ N ≤ 18	(N + 3) x 20 µL	(N + 3) x 0.3 µL
19 ≤ N ≤ 23	(N + 4) x 20 µL	(N + 4) x 0.3 µL
5. N = 24	580 µL	8.7 µL

5. Vortex gently
Spin down 5 sec
Keep the complete reaction mixture in ice. Do not expose to direct light.

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «Extract + PCR»	2. Insert the Sample Rack with the barcoded samples in the Cooler Unit. The barcode scan is already active	3. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "100 µL"
4. Select the "Assay Protocol" of interest: GI Viral PLUS ELITE_Be_ST_200_100 Note: if a second extraction is performed repeat steps from 2 to 4	5. Print the labels to barcode the empty elution tubes. Load the tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit	6. Load the complete reaction mixture and the Internal Control in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit
7. Load "PCR Basket" with "PCR Cassette" and the "Extraction Basket" with the "ELITE InGenius SP 200" extraction cartridges and the required extraction consumables	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «PCR Only»	2. Load the extracted nucleic acid or controls barcoded tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit	3. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "100 µL"
4. Select the "Assay Protocol" of interest: GI Viral PLUS ELITE_Be_ST_200_100 or GI Viral PLUS ELITE_Be_PC or GI Viral PLUS ELITE_Be_NC	5. Load the Complete reaction mixture in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit	6. Load "PCR Basket" with "PCR Cassette"
7. Close the door. Start the run	8. View, approve and store the results	