



ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185
10149 Torino ITALY

Offices: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76 11
E. mail: emd.support@elitechgroup.com
WEB site: www.elitechgroup.com

NOTICE of CHANGE dated 14/03/19

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«Meningitis Viral ELITe MGB® Panel» Ref. RTS507ING

This new revision of the Instruction for Use (IFU) contains the following changes:

- *Modification of the indication of the number of reactions to be prepared in excess during preparation of the complete reaction mixture MV PCR Mix.*

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

PLEASE NOTE



LA REVISIONE DI QUESTO IFU E' COMPATIBILE ANCHE CON LA VERSIONE PRECEDENTE DEL KIT



THE REVIEW OF THIS IFU IS ALSO COMPATIBLE WITH THE PREVIOUS VERSION OF THE KIT



CET IFU MIS A JOUR ANNULE ET REMPLACE ET EST PARFAITEMENT COMPATIBLE AVEC LA VERSION PRECEDENTE DU KIT



LA REVISIÓN DE ESTE IFU ES COMPATIBLE TAMBIÉN CON LA VERSIÓN ANTERIOR DEL KIT



A REVISÃO DO ESTE IFU ÉTAMBÉM COMPATÍVEL COM A VERSÃO ANTERIOR DO KIT



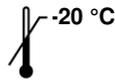
DIE REVIEW VON DIESER IFU IST KOMPATIBLE MIT DER VORIGE VERSION VON DEM TEST-KIT



Meningitis Viral ELITE MGB® Panel

reagente per l'amplificazione Real Time del DNA

REF RTS507ING



SOMMARIO

USO PREVISTO	pag. 1
PRINCIPIO DEL SAGGIO	pag. 2
DESCRIZIONE DEL PRODOTTO	pag. 2
MATERIALE INCLUSO NEL PRODOTTO	pag. 3
MATERIALE RICHIESTO NON INCLUSO NEL PRODOTTO	pag. 3
ALTRI PRODOTTI RICHIESTI	pag. 3
AVVERTENZE E PRECAUZIONI	pag. 4
CAMPIONI E CONTROLLI	pag. 5
PROCEDURA	pag. 6
CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI	pag. 13
LIMITI DELLA PROCEDURA	pag. 17
PROBLEMI E SOLUZIONI	pag. 18
LEGENDA DEI SIMBOLI	pag. 19
AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA	pag. 20

USO PREVISTO

Il prodotto «Meningitis Viral ELITE MGB® Panel» è parte di un saggio multiplex qualitativo di amplificazione degli acidi nucleici per la rilevazione del DNA di herpes simplex virus 1 e 2 e di varicella zoster virus a partire da campioni di liquido cefalorachidiano (CSF).

Il prodotto trova impiego nella diagnosi delle infezioni da herpes simplex virus 1 e 2 e da varicella zoster virus, insieme ai dati clinici del paziente e agli esiti di altri esami di laboratorio.

Meningitis Viral ELITE MGB® Panel
reagente per l'amplificazione Real Time del DNA

REF RTS507ING

PRINCIPIO DEL SAGGIO

Il saggio prevede l'esecuzione di una reazione multiplex di amplificazione Real Time con un sistema integrato automatizzato di estrazione, amplificazione Real Time ed interpretazione dei risultati.

A partire dal DNA estratto dai campioni in esame, nella cartuccia si effettuano tre reazioni di amplificazione specifiche per i seguenti virus:

- herpes simplex virus 1, rilevato da una sonda specifica letta nel canale "HSV1" di ELITE InGenius
- herpes simplex virus 2, rilevato da una sonda specifica letta nel canale "HSV2" di ELITE InGenius
- varicella zoster, rilevato da una sonda specifica letta nel canale "VZV" di ELITE InGenius

Inoltre nella cartuccia è anche amplificato il controllo interno di estrazione e inibizione (IC), basato su un target esogeno (sequenze del citomegalovirus murino mCMV) e rilevato da una sonda specifica letta nel canale "IC" di ELITE InGenius.

Le sonde con tecnologia MGB® TaqMan™ sono attivate quando ibridano con il prodotto specifico della reazione di amplificazione e sono idrolizzate dall'enzima DNA polimerasi termostabile. L'emissione della fluorescenza aumenta con l'aumentare dei prodotti specifici della reazione di amplificazione ed è misurata e registrata dall'apparecchio. L'elaborazione dei dati permette di rilevare la presenza dei DNA virali su elencati nel campione di partenza.

Il saggio è stato validato sul sistema integrato automatizzato di estrazione, amplificazione e rilevazione degli acidi nucleici **ELITE InGenius®**.

DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

Il prodotto «Meningitis Viral ELITE MGB® Panel», fornisce i seguenti componenti:

- **MV primer and probe mix**

Una miscela di primer oligonucleotidi per l'amplificazione Real Time, in una soluzione stabilizzata, prealiquotata in due provette (tappo VIOLA). Ogni provetta contiene **90 µL** di soluzione, sufficiente per **48 test** in condizioni ottimali di consumo di reagente (numeri di reazioni corrispondenti a multipli di 4 e con un massimo di 8 sessioni) in associazione al sistema **ELITE InGenius**.

- **MV buffer mix**

Una miscela ottimizzata e stabilizzata di reagenti per l'amplificazione Real Time, prealiquotata in due provette (tappo ARANCIONE). Ogni provetta contiene **750 µL** di soluzione, sufficiente per **48 test** in condizioni ottimali di consumo di reagente (numeri di reazioni corrispondenti a multipli di 4 e con un massimo di 8 sessioni) in associazione al sistema **ELITE InGenius**.

- **MV enzyme**

Una miscela ottimizzata e stabilizzata di enzimi per l'amplificazione Real Time, prealiquotata in due provette (tappo GIALLO). Ogni provetta contiene **60 µL** di soluzione, sufficiente per **48 test** in condizioni ottimali di consumo di reagente (numeri di reazioni corrispondenti a multipli di 4 e con un massimo di 8 sessioni) in associazione al sistema **ELITE InGenius**.

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

MATERIALE INCLUSO NEL PRODOTTO

Componente	Descrizione	Quantità	Classificazione dei pericoli
MV primer and probe mix	miscela di primer e probe per HSV1, HSV2, VZV e IC (mCMV) (tappo VIOLA)	2 x 90 µL	-
MV buffer mix	miscela di reagenti RT-PCR (tappo ARANCIONE)	2 x 750 µL	-
MV enzyme	miscela di enzimi RT-PCR (tappo GIALLO)	2 x 60 µL	-

MATERIALE RICHIESTO NON INCLUSO NEL PRODOTTO

- Cappa a flusso laminare.
- Guanti senza polvere monouso in nitrile o simili.
- Miscelatore vortex.
- Microcentrifuga da banco (12.000 - 14.000 RPM).
- Micropipette e puntali sterili con filtro per aerosol o a dispensazione positiva (0.5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Acqua ultrapura per biologia molecolare.
- tubi Sarstedt da 2.0 mL skirted screw-cap (Sarstedt Ref. 72.694.005).

ALTRI PRODOTTI RICHIESTI

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

Per l'esecuzione automatica dell'estrazione del DNA, dell'amplificazione Real Time e dell'interpretazione dei risultati dei campioni da analizzare sono richiesti lo strumento «**ELiTe InGenius**» (ELiTechGroup S.p.A., codice INT030) e i seguenti Assay protocols specifici:

- parametri per il controllo positivo di amplificazione «**MV ELiTe_PC**» (ELiTechGroup S.p.A.),
- parametri per il controllo negativo di amplificazione «**MV ELiTe_NC**» (ELiTechGroup S.p.A.),
- parametri per il campione in analisi «**MV ELiTe_CSF_200_100**» (ELiTechGroup S.p.A.).

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

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

Come controllo interno di estrazione e di inibizione è richiesto l'impiego del prodotto generico «**500-Internal Control**» (ELiTechGroup S.p.A., codice IC500), una soluzione stabilizzata contenente citomegalovirus murino (mCMV).

Come controllo positivo di amplificazione è richiesto l'impiego del prodotto specifico «**Meningitis Viral-ELiTe Positive Control**» (ELiTechGroup S.p.A. codice CTR507ING), una soluzione stabilizzata contenente DNA plasmidici.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

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

Avvertenze e precauzioni generali

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

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

Indossare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi / la faccia.

Non pipettare a bocca alcuna soluzione.

Non mangiare, bere, fumare o applicare cosmetici nelle aree di lavoro.

Lavarsi bene le mani dopo avere maneggiato i campioni e i reagenti.

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

Leggere attentamente tutte le istruzioni fornite nel prodotto prima di eseguire il saggio.

Attenersi alle istruzioni fornite nel prodotto durante l'esecuzione del saggio.

Rispettare la data di scadenza del prodotto.

Utilizzare solo i reagenti presenti nel prodotto e quelli consigliati dal fabbricante.

Non utilizzare reagenti provenienti da lotti diversi.

Non utilizzare reagenti di altri fabbricanti.

Avvertenze e precauzioni per la biologia molecolare

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

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

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

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

Avvertenze e precauzioni specifiche per i componenti

• **MV primer and probe mix**

La miscela MV primer and probe deve essere conservata al buio a -20 °C.

La miscela MV primer and probe può essere congelata e scongelata per un massimo di **otto volte**: ulteriori cicli di congelamento / scongelamento possono causare un calo delle prestazioni del prodotto.

• **MV enzyme**

La miscela MV enzyme deve essere conservata a -20°C.

La miscela MV enzyme non deve essere esposta a temperature superiori a -20 °C per più di 10 minuti. Si raccomanda di mantenere la miscela in ghiaccio o nel blocco refrigerato. La miscela MV enzyme può essere utilizzata per un massimo di **otto sessioni**.

• **MV buffer mix**

La miscela MV buffer deve essere conservata a -20°C.

La miscela MV buffer può essere congelata e scongelata per un massimo di **otto volte**: ulteriori cicli di congelamento / scongelamento possono causare un calo delle prestazioni del prodotto.

CAMPIONI E CONTROLLI

Campioni

Questo prodotto deve essere utilizzato con i seguenti campioni clinici:

Liquido cefalorachidiano (CSF)

I campioni di liquido cefalorachidiano destinati all'estrazione del DNA, devono essere raccolti secondo le indicazioni del laboratorio, evitando la contaminazione da sangue del paziente, trasportati a +2/+8°C per un massimo di quattro ore, in alternativa devono essere congelati e conservati a -20°C per un massimo di trenta giorni, oppure a -70 °C per tempi più lunghi.

Si raccomanda di suddividere i campioni in aliquote prima del congelamento, al fine di evitare ripetuti cicli di congelamento e scongelamento. Quando si utilizzano campioni congelati, scongelare i campioni immediatamente prima dell'estrazione al fine di evitare possibile degradazione dell'acido nucleico.

Nota bene: quando si esegue l'estrazione del DNA da campioni di liquido cefalorachidiano con **ELITE InGenius** e con **ELITE InGenius® Software** versione 1.1 (o versioni successive equivalenti) utilizzare l'Assay protocol **MV ELITE_CSF_200_100**. Questo protocollo processa 200 µL di campione, aggiungendo 10 µL di controllo interno **500 Internal Control** e eluisce gli acidi nucleici in 100 µL.

Controlli di amplificazione

Prima di analizzare un campione con il prodotto, è obbligatorio generare e approvare i controlli di amplificazione relativi al lotto di reagente di amplificazione che si intende utilizzare:

come Controllo Positivo di amplificazione, utilizzare il prodotto **Meningitis Viral-ELITE Positive Control** (non fornito con il kit) in associazione con l'Assay protocol **MV ELITE_PC**, come Controllo Negativo di amplificazione, utilizzare acqua ultrapura per biologia molecolare (non fornita con il kit) in associazione con l'Assay protocol **MV ELITE_NC**.

Nota bene: il sistema **ELITE InGenius** richiede la presenza di risultati approvati e validi dei controlli di amplificazione per ogni lotto di reagente di amplificazione che è memorizzato nel suo database. I risultati dei controlli dell'amplificazione, approvati e memorizzati nel database, scadono dopo **15 giorni**. Alla data di scadenza, è necessario eseguire nuovamente l'analisi dei controlli positivi e negativi con il lotto di reagente di amplificazione.

Inoltre i controlli di amplificazione devono essere eseguiti nuovamente quando:

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

Controlli di qualità

È consigliato convalidare periodicamente l'intera procedura di analisi, estrazione ed amplificazione, utilizzando un campione negativo e un campione positivo già testati oppure del materiale di riferimento.

PROCEDURA

La procedura di utilizzo del prodotto **Meningitis Viral ELITE MGB® Panel** con il sistema **ELITE InGenius** comprende tre fasi:

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

Verifica che il sistema sia pronto

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

- accendere **ELITE InGenius** e accedere al sistema con la modalità "**CLOSED**";
- verificare che i risultati dei controlli di amplificazione (Controls, MV Positive Control, MV Negative Control) siano presenti, approvati e non scaduti (Status) per il lotto di reagente di amplificazione che si intende utilizzare. Se non sono presenti risultati dei controlli di amplificazione approvati e validi, generare gli stessi come descritto di seguito;
- scegliere il tipo di corsa, seguendo le istruzioni della Graphical User Interface (GUI) per impostare la sessione e utilizzando gli Assay protocol forniti da ELITechGroup S.p.A.. Questi protocolli IVD sono stati validati specificamente con i prodotti **ELITE MGB® Panel**, lo strumento **ELITE InGenius** e la matrice indicata. L'Assay protocol per l'analisi dei campioni clinici disponibile per il prodotto **Meningitis Viral ELITE MGB® Panel** è descritto nella tabella seguente.

Protocollo del saggio per Meningitis Viral ELITE MGB® Panel			
Nome	Matrice	Risultato	Caratteristiche
MV ELITE_CSF_200_100	liquido cefalorachidiano (CSF)	Positivo / Negativo	Volume iniziale d'Estrazione: 200 µL Volume di Eluizione dell'estratto: 100 µL Controllo Interno: 10 µL Sonicazione: NO Fattore di diluizione: 1 Volume PCR Mix: 15 µL Volume del campione in PCR: 10 µL

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

Impostazione della sessione

Il prodotto **Meningitis Viral ELITE MGB® Panel** in associazione al sistema **ELITE InGenius** può essere utilizzato per eseguire:

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

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

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

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

A Corsa integrata

Prima di iniziare la sessione di analisi è necessario:

1. prelevare e scongelare a temperatura ambiente (+18 / 25°C) le provette con i campioni da analizzare. Mescolare con vortex per 10 secondi, centrifugare le provette per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e tenerle in ghiaccio;
2. prelevare e scongelare per 30 minuti a temperatura ambiente (+18 / 25°C) le provette di MV primer and probe mix (tappo VIOLA) necessarie per la sessione ricordando che il contenuto di ciascuna provetta è sufficiente per allestire **48 reazioni**. Mescolare il reagente con vortex per 10 secondi per tre volte, centrifugare le provette per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e tenerle in ghiaccio;
3. prelevare e scongelare e per 30 minuti a temperatura ambiente (+18 / 25°C) le provette di MV buffer mix (tappo ARANCIONE) necessarie per la sessione ricordando che il contenuto di ciascuna provetta è sufficiente per allestire **48 reazioni**. Mescolare il reagente con vortex per 10 secondi per tre volte, centrifugare le provette per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e tenerle in ghiaccio;
4. prelevare al momento dell'uso le provette di MV enzyme (tappo GIALLO) necessarie per la sessione ricordando che il contenuto di ciascuna provetta è sufficiente per allestire **48 reazioni**. Agitare gentilmente le provette, centrifugarle per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e tenerle in ghiaccio.

Nota Bene: l' MV Enzyme non deve rimanere esposto a temperature superiori a -20 °C per più di 10 minuti. Dopo lo scongelamento si raccomanda di conservare la miscela in ghiaccio o nel blocco refrigerato.

5. preparare una microprovetta per biologia molecolare in polipropilene da 2 mL (non fornita nel kit) per la miscela completa di reazione MV PCR Mix e marcarla in modo riconoscibile con un pennarello indelebile.
6. calcolare i volumi dei tre componenti forniti dal kit necessari per preparare la miscela completa di reazione MV PCR Mix in base al numero dei campioni da analizzare, come descritto nella tabella seguente.

Nota Bene: per il calcolo dei volumi dei tre componenti è necessario definire il numero di reazioni (N) della sessione di lavoro sommando i campioni clinici da testare più una reazione (quando si analizzano da 1 a 4 campioni), due reazioni (quando si analizzano da 5 a 8 campioni), o tre reazioni (quando si analizzano da 9 a 12 campioni) come margine di sicurezza.

Numero di reazioni	MV primer and probe mix	MV buffer mix	MV enzyme
1	1.5 µL	12.5 µL	1 µL
N	N x 1.5 µL	N x 12.5 µL	N x 1 µL

7. Preparare la miscela di reazione completa MV PCR Mix trasferendo nella provetta dedicata i volumi calcolati dei tre componenti.

Nota Bene: preparare la miscela di reazione completa, immediatamente prima di effettuare il caricamento sullo strumento.

Nota Bene: la miscela di reazione completa **non può** essere conservata, è stabile per 3 sessioni consecutive se mantenuta sullo strumento (Inventory Aerea), ma è importante mescolarla tra una sessione e l'altra.

Nota Bene: quando si preleva il liquido non immergere il puntale per intero per evitare spreco di materiale e per ottenere volumi accurati; il prelievo e la dispensazione devono essere effettuate molto lentamente al fine di prevenire la formazione di bolle d'aria; rimuovere l'eccesso di liquido all'esterno del puntale, prima della dispensazione, appoggiando il puntale sul bordo della provetta; avere cura di cambiare il puntale dopo ogni step di prelievo e dispensazione.

8. Miscelare con vortex a bassa velocità per tre volte per circa 10 secondi, centrifugare la provetta per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e tenere in ghiaccio.
9. Scongelare le provette di **500 Internal Control** necessarie per la sessione. Ogni provetta è sufficiente per 32 reazioni. Mescolare delicatamente, centrifugare il contenuto per 5 secondi prima di ogni sessione.

Per impostare la corsa integrata eseguire le seguenti indicazioni come da GUI:

10. Selezionare "Perform Run" dalla schermata "Home".
11. Assicurarsi che "Extraction Input Volume" sia impostato a 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia impostato a 100 µL.
12. Per ogni "Track" di interesse compilare il "SampleID" (SID) digitando o scansionando il codice a barre del campione.
13. Selezionare l'Assay protocol da utilizzare nella colonna "Assay" (ad esempio MV ELiTe_CSF_200_100).
14. Assicurarsi che il "Protocol" visualizzato sia: "Extract + PCR".
15. Selezionare la posizione di caricamento del campione nella colonna "Sample Position":
 - se è utilizzato il tubo primario, selezionare "Primary Tube",
 - se è utilizzato un tubo secondario, selezionare "Sonicator Tube".
 Fare clic su "Next" per procedere con l'operazione successiva.
16. Caricare il 500 Internal Control e la MV PCR Mix nell'Inventory Block" selezionato seguendo le istruzioni della GUI. Fare clic su "Next" per procedere con l'operazione successiva.
17. Caricare e controllare i Rack dei puntali nell'Inventory Area" selezionata seguendo le istruzioni della GUI. Fare clic su "Next" per procedere con l'operazione successiva.
18. Caricare le "PCR Cassette", le cartucce di estrazione "ELiTe InGenius SP 200", tutti i consumabili e i campioni da estrarre nella posizione specificata al punto 15, seguendo le istruzioni della GUI. Fare clic su "Next" per procedere con l'operazione successiva.
19. Chiudere lo sportello dello strumento.
20. Premere "Start" per avviare la corsa.

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

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

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

B Corsa di amplificazione

1. prelevare e scongelare a temperatura ambiente (+18 / 25°C) le provette con i campioni estratti. Mescolare con vortex per 10 secondi, centrifugare le provette per 5 secondi per riportare il contenuto sul fondo e tenerle in ghiaccio;
2. preparare la miscela completa di reazione MV PCR Mix trasferendo nel tubo dedicato i volumi calcolati dei tre componenti come descritto nel paragrafo A. Corsa integrata (dal punto 2 a punto 8).

Per impostare la corsa di amplificazione eseguire le seguenti indicazioni come da GUI:

3. Selezionare "Perform Run" dalla schermata "Home".
4. Anche se l'estrazione non sarà eseguita, assicurarsi che "Extraction Input Volume" sia impostato a 200 µL e che "Extracted Elute Volume" sia impostato a 100 µL.
5. Per ogni Track di interesse compilare il SID digitando o scansionando il codice a barre del campione.
6. Selezionare l'Assay protocol da utilizzare nella colonna "Assay" (ad esempio MV ELITE_CSF_200_100).
7. Selezionare "PCR Only" nella colonna "Protocol".
8. Assicurarsi che la posizione di caricamento del campione nella colonna "Sample Position" sia "ExtraTube (bottom row)". Fare clic su "Next" per procedere con l'operazione successiva.
9. Caricare la MV PCR Mix nell'"Inventory Block" selezionato seguendo le istruzioni della GUI. Fare clic su "Next" per procedere con l'operazione successiva.
10. Caricare e controllare i Rack dei puntali nell'"Inventory Area" selezionata seguendo le istruzioni della GUI. Fare clic su "Next" per procedere con l'operazione successiva.
11. Caricare le "PCR Cassette" e i campioni degli acidi nucleici estratti seguendo le istruzioni della GUI. Fare clic sul pulsante "Next" per procedere con l'operazione successiva.
12. Chiudere la porta dello strumento,
13. Premere "Start" per iniziare la corsa.

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

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

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

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

1. preparare la miscela completa di reazione MV PCR Mix trasferendo nel tubo dedicato i volumi calcolati dei tre componenti come descritto nel paragrafo A. Corsa integrata (dal punto 2 a punto 8; non scongelare il 500 Internal Control).
2. Scongela il tubo di MV Positive Control per la sessione. Ogni provetta è sufficiente per 6 sessioni. Mescolare delicatamente, centrifugare il contenuto per 5 secondi.
3. Trasferire almeno 50 µL di acqua ultrapura per biologia molecolare in un "Elution tube", fornito nell'ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.

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

4. Selezionare "Perform Run" dalla schermata "Home".
5. Nelle "Track" di interesse, selezionare l'Assay protocol da utilizzare nella colonna "Assay".
6. Per il controllo positivo, selezionare il protocollo MV ELITE_PC nella colonna "Assay" e inserire il numero di lotto e la data di scadenza del MV Positive Control.
7. Per il controllo negativo, selezionare il protocollo del test MV ELITE_NC nella colonna "Assay" e inserire il numero di lotto e la data di scadenza dell'acqua ultrapura per biologia molecolare.
8. Fare clic su "Next" per procedere con l'operazione successiva.
9. Caricare la MV PCR Mix nell'"Inventory Block" selezionato seguendo le istruzioni della GUI. Fare clic su "Next" per procedere con l'operazione successiva.
10. Caricare / controllare i Rack dei puntali nell'"Inventory Area" seguendo le istruzioni della GUI. Fare clic su "Next" per procedere con l'operazione successiva.
11. Caricare le "PCR Cassette", il tubo di MV Positive Control e il tubo di controllo negativo seguendo le istruzioni della GUI. Fare clic sul pulsante "Next" per procedere con l'operazione successiva.
12. Chiudere la porta dello strumento,
13. Premere "Start" per iniziare la corsa.

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

Nota bene: I risultati dei test dei Controlli Positivi e dei Controlli Negativi eseguiti sono utilizzati dal software dello strumento per compilare le "Control Chart". Quattro risultati dei Controlli Positivi e dei Controlli Negativi, da quattro sessioni diverse, sono richiesti per impostare la carta di controllo. I risultati successivi dei Controlli Positivi e dei Controlli Negativi sono utilizzati per monitorare le prestazioni della fase di amplificazione. Fare riferimento al manuale d'uso dello strumento per ulteriori dettagli.

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

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

Esame e approvazione dei risultati

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

Nota bene: il sistema ELITE InGenius può essere collegato ad un sistema di interfacciamento LIS tramite il quale è possibile inviare automaticamente i risultati approvati al centro elaborazione dati del laboratorio. Per informazioni dettagliate consultare il manuale di istruzioni dello strumento.

Il sistema **ELITE InGenius** genera i risultati con il prodotto **Meningitis Viral ELITE MGB® Panel** attraverso questa procedura:

- A. Validazione dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo di amplificazione,
- B. Validazione dei risultati del campione,
- C. Refertazione dei risultati del campione.

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

I segnali di fluorescenza emessi dalle sonde per i geni target ("HSV1", "HSV2", "VZV") nella reazione di amplificazione del Controllo Positivo e del Controllo Negativo sono analizzati automaticamente e interpretati dal software dello strumento con i parametri inclusi negli Assay protocols "MV ELITE_PC" e "MV ELITE_NC".

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

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

Prima di analizzare un campione è necessario verificare la presenza dei risultati dell'amplificazione del Controllo Positivo e del Controllo Negativo approvati e validi per il lotto di reagente di amplificazione che si intende utilizzare. La disponibilità del risultato del Controllo Positivo e del Controllo Negativo di amplificazione "Approved" (Status) è visualizzata nella finestra "Controls" della GUI. Se non sono presenti dei risultati del Controllo Positivo e del Controllo Negativo di amplificazione approvati e validi, generarli come descritto sopra.

Nota Bene: Quando un risultato dell'amplificazione del Controllo Positivo o del Controllo Negativo non soddisfa i criteri di accettazione, lo strumento visualizza il messaggio "not passed" nella schermata "Controls" e non è possibile approvarlo. In questo caso la reazione di amplificazione del Controllo Positivo o del Controllo Negativo deve essere ripetuta.

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

B. Validazione dei risultati del campione

I segnali di fluorescenza emessi dalle sonde per i geni target ("HSV1", "HSV2", "VZV") e dalla sonda per il Controllo Interno ("IC") nelle reazioni di amplificazione dei campioni sono analizzati automaticamente e interpretati dal software dello strumento con i parametri inclusi nell' Assay protocol MV ELITE_CSF_200_100.

Nota Bene: Prima di analizzare un campione, verificare la presenza di risultati dei controlli di amplificazione approvati e validi per il lotto di reagente di amplificazione che si intende utilizzare. La disponibilità di risultati dei controlli di amplificazione "Approved" (Status) è visualizzata nella finestra "Controls" della GUI. Se non sono presenti ai risultati dei controlli di amplificazione approvati e validi, generarli come descritto sopra.

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

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

1) Controllo Positivo	Status
MV Positive Control	APPROVED
2) Controllo Negativo	Status
MV Negative Control	APPROVED

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

I possibili messaggi relativi al risultato di un campione sono riportati nella tabella sottostante. Per ogni campione valido il sistema riporta una combinazione di tre messaggi che specificano se i geni RV sono rilevati o non rilevati.

Risultato della corsa del campione	Interpretazione
HSV1: DNA Detected.	Il DNA del gene del virus herpes simplex 1 è stato rilevato nel campione.
HSV2: DNA Detected.	Il DNA del gene del virus herpes simplex 2 è stato rilevato nel campione.
VZV: DNA Detected.	Il DNA del gene del virus varicella zoster è stato rilevato nel campione.
HSV1: DNA Not Detected or below LoD.	Il DNA del gene del virus herpes simplex 1 non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per questo gene oppure la sua presenza è al di sotto del limite di rilevazione del prodotto.
HSV2: DNA Not Detected or below LoD.	Il DNA del gene del virus herpes simplex 2 non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per questo gene oppure la sua presenza è al di sotto del limite di rilevazione del prodotto.
VZV: DNA Not Detected or below LoD.	Il DNA del virus varicella zoster non è stato rilevato nel campione. Il campione è negativo per questo gene oppure la sua presenza è al di sotto del limite di rilevazione del prodotto.
Invalid - Retest Sample.	Risultato del saggio non valido a causa di un problema con il Controllo Interno (estrazione errata o presenza di un inibitore).

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

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

I campioni idonei in cui non è stato possibile rilevare il DNA dei geni dei virus herpes simplex 1 e 2 e del virus varicella zoster sono segnalati come "Not Detected or below LoD". In questo caso non si può escludere che il DNA dei geni per le resistenze sia presente ad un titolo inferiore al limite di rivelazione del prodotto (vedi paragrafo "Caratteristiche delle prestazioni").

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

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

C. Refertazione dei risultati del campione

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

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

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

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

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Limite di Rilevazione (LoD)

Il limite di rilevazione (LoD) del saggio utilizzato con campioni di liquido cefalorachidiano in associazione al sistema ELITE InGenius è stato verificato testando diluizioni seriali di plasmidi (in liquido cefalorachidiano negativo e poi estratti e amplificati per mimare campioni reali) contenenti la sequenza target per ciascun patogeno rilevato dal saggio multiplex (80.000-40.000-20.000-10.000-5.000-2.500-1.250-625-312 copies/ml).

Il LoD ottenuto dai risultati di 10 replicati di ogni diluizione è stato definito come la concentrazione corrispondente all'ultimo step di diluizione al quale il 100% dei replicati fornisce un risultato positivo.

I risultati sono riportati nella seguente tabella.

Limite di Rilevazione per campioni di liquido cefalorachidiano e ELITE InGenius (copie / mL)	
Target	LoD (copies / mL)
herpes simplex virus 1 (HSV1)	2.500
herpes simplex virus 2 (HSV2)	1.250
varicella zoster virus (VZV)	1.250

E' stata inoltre analizzata la sensibilità analitica mediante regressione lineare. La regressione lineare è stata calcolata su diluizioni seriali di plasmidi, con il 100% di rate positivo, per calcolare il coefficiente di regressione R² e la pendenza. I valori di R² per i tre patogeni sono maggiori di 0,99, a dimostrazione della buona linearità all'interno di questo intervallo di diluizione.

Ripetibilità

La ripetibilità, come imprecisione intra-sessione, del saggio in associazione allo strumento ELITE InGenius è stata testata eseguendo 10 replicati di due concentrazioni (10xLoD e 3xLoD) di un campione clinico caratterizzato per ciascun target, testato mediante estrazione e PCR dallo stesso operatore, con lo stesso lotto di reagenti, stesso strumento e nello stesso ambiente.

I risultati del test hanno mostrato una ripetibilità dei risultati molto buona, con un Coefficiente di Variabilità percentuale (CV%) inferiore all'1,5% per ciascun campione e per ciascuna concentrazione (10xLoD e 3xLoD).

Il riassunto dei risultati è riportato nella tabella sottostante.

Ripetibilità di Meningitis Viral ELITE MGB® Panel					
Campione	Concentrazione	Ct medio	σ	CV%	% positivi
HSV1 campione1	10xLoD	30,2	0,3	1,0	100
HSV1 campione1	3xLoD	32,1	0,4	1,1	100
HSV2 campione 2	10xLoD	31,3	0,3	1,0	100
HSV2 campione 2	3xLoD	33,9	0,3	0,9	100
VZV campione 3	10xLoD	30,3	0,3	1,1	100
VZV campione 3	3xLoD	31,7	0,3	1,0	100

Riproducibilità

La riproducibilità, in termini di variabilità tra lotti e tra strumenti, del saggio utilizzato in associazione al sistema ELITE InGenius, è stata testata utilizzando gli stessi campioni e gli stessi lotti di reagenti da differenti operatori, in tempi diversi, con diversi strumenti e laboratori.

La precisione è stata espressa sulla base delle misure statistiche della imprecisione, quali la deviazione standard (σ) e il Coefficiente di variazione (CV%).

L'analisi dei dati ha mostrato una alta riproducibilità dei risultati con valori di CV% inferiori all' 1,5%.

Il riassunto dei risultati è riportato nella tabella sottostante.

Riproducibilità di Meningitis Viral ELITE MGB® Panel					
Campione	Concentrazione	Ct Medio	σ	CV%	% positivi
HSV1 campione 1	10xLoD	30,5	0,4	1,4	100
HSV1 campione 1	3xLoD	32,3	0,4	1,3	100
HSV2 campione 3	10xLoD	31,2	0,1	0,5	100
HSV2 campione 3	3xLoD	33,2	0,2	0,6	100
VZV campione 2	10xLoD	29,7	0,3	0,9	100
VZV campione 2	3xLoD	31,7	0,4	1,3	100

Specificità analitica e test di Materiali di riferimento

La specificità del saggio in associazione al sistema ELITE InGenius, è stata testata eseguendo una estrazione e una PCR sui pannelli QCMD (Qnostics Ltd, U.K.) di herpes simplex virus 1 e 2 (HSVDNA16C1-2) e varicella zoster virus (VZVDNA16C1-2).

Tutti i campioni positivi sono stati rilevati correttamente con il kit **Meningitis Viral ELITE MGB® Panel**.

Il campione VZVDNA16C1-02 è stato rilevato in un replicato su due e con un Ct elevato (36,9). Questo campione, secondo i dati riportati per questo pannello, è stato rilevato nel 37,8% dei casi sul totale dei test eseguiti, suggerendo quindi essere un basso positivo.

Nessuno dei campioni negativi dei pannelli HSVDNA16C1-2 e VZVDNA16C1-2 è stato rilevato come positivo con il kit **Meningitis Viral ELITE MGB® Panel**.

Inoltre, i target non specifici dei pannelli QCMD (VZV per il pannello HSVDNA16C1-2 oppure HSV1 and HSV2 per il pannello VZVDNA16C1-2) hanno dato tutti risultati negativi in associazione al sistema ELITE InGenius, dimostrando la buona specificità del saggio.

Il riassunto dei risultati è riportato nella tabella sottostante.

Campione	Descrizione	Stato del campione	Valore di Ct		
			HSV1	HSV2	VZV
HSVDNA16C1-01	Herpes Simplex Virus 2 (09-015681)	frequentemente rilevato	neg	28,7	neg
HSVDNA16C1-02	Herpes Simplex Virus 1 (95/1906)	frequentemente rilevato	31,1	neg	neg
HSVDNA16C1-03	HSV Negative	negativo	neg	neg	neg
HSVDNA16C1-04	Herpes Simplex Virus 1 (MacIntyre)	frequentemente rilevato	31,3	neg	neg
HSVDNA16C1-05	Herpes Simplex Virus 2 (09-015681)	rilevato	neg	33,9	neg
HSVDNA16C2-01	Herpes Simplex Virus 1 (95/1906)	rilevato	33,9	neg	neg
HSVDNA16C2-02	Herpes Simplex Virus 2 (09-015681)	frequentemente rilevato	neg	30,1	neg
HSVDNA16C2-03	Herpes Simplex Virus 1 (95/1906)	frequentemente rilevato	31,2	neg	neg
HSVDNA16C2-04	HSV Negative	negativo	neg	neg	neg
HSVDNA16C2-05	Herpes Simplex Virus 2 (MS)	rilevato	neg	34,0	neg
VZVDNA16C1-01	VZV Negative	negativo	neg	neg	neg
VZVDNA16C1-02	Varicella-zoster virus (Ellen)	non frequentemente rilevato	neg	neg	36,9 (1/2)
VZVDNA16C1-03	Varicella-zoster virus (63/1444)	frequentemente rilevato	neg	neg	32,9
VZVDNA16C1-04	Varicella-zoster virus (Ellen)	frequentemente rilevato	neg	neg	31,2
VZVDNA16C1-05	Varicella-zoster virus (9/84)	frequentemente rilevato	neg	neg	29,5
VZVDNA16C2-01	Varicella-zoster virus (OKA)	frequentemente rilevato	neg	neg	32,1
VZVDNA16C2-02	Varicella-zoster virus (9/84)	frequentemente rilevato	neg	neg	29,6
VZVDNA16C2-03	Varicella-zoster virus (9/84)	frequentemente rilevato	neg	neg	33,3
VZVDNA16C2-04	Varicella-zoster virus (Ellen)	frequentemente rilevato	neg	neg	31,1
VZVDNA16C2-05	Varicella-zoster virus (Ellen)	rilevato	neg	neg	33,8

La specificità è stata inoltre valutata testando circa 80 campioni clinici contenenti batteri e virus. Nessun patogeno, ad eccezione di quelli attesi, è stato rilevato. Il riassunto dei risultati è riportato nella tabella sottostante.

Patogeni (virus)	Risultato
Adenovirus	negativo
Astrovirus	negativo
Coronavirus 229	negativo
Coronavirus 43	negativo
Coronavirus 63	negativo
Cytomegalovirus	negativo
Enterovirus	negativo
Epstein-Barr virus	negativo
Herpes simplex virus 1	positivo
Herpes simplex virus 2	positivo
Human herpes virus 6	negativo
Human herpes virus 7	negativo
Human metapneumovirus	negativo
Influenza A virus	negativo
Influenza B virus	negativo
Measles virus	negativo
Mumps virus	negativo
Norovirus G1	negativo
Norovirus G2	negativo
Parainfluenza 1	negativo
Parainfluenza 2	negativo
Parainfluenza 3	negativo
Parainfluenza 4	negativo
Parvovirus B19	negativo
Polyomavirus 1 (BKV)	negativo
Respiratory syncytial virus A	negativo
Respiratory syncytial virus B	negativo
Rhinovirus	negativo
Rotavirus	negativo
Sapovirus	negativo
Varicella-zoster virus	positivo

Patogeni (batteri e parassiti)	Risultati	Patogeni (batteri e parassiti)	Risultati
<i>Aeromonas hydrophila</i>	negativo	<i>Legionella pneumophila</i>	negativo
<i>Bacillus ssp.</i>	negativo	<i>Legionella ansia</i>	negativo
<i>Bifidobacterium</i>	negativo	<i>Listeria monocytogenes</i>	negativo
<i>Bordetella pertussis</i>	negativo	<i>Moraxella catarrhalis</i>	negativo
<i>Campylobacter jejuni</i>	negativo	<i>Morganella morganii</i>	negativo
<i>Campylobacter coli</i>	negativo	<i>Mycoplasma genitalium</i>	negativo
<i>Chlamydia trachomatis</i>	negativo	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	negativo
<i>Citrobacter freundii</i>	negativo	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	negativo
<i>Clostridium difficile</i>	negativo	<i>Proteus mirabilis</i>	negativo
<i>Clostridium perfringens</i>	negativo	<i>Proteus vulgaris</i>	negativo
<i>EHEC vtx+</i>	negativo	<i>Rhodococcus equi</i>	negativo
<i>EIEC</i>	negativo	<i>Salmonella typhimurium</i>	negativo
<i>Enterococcus faecalis</i>	negativo	<i>Shigella boydii</i>	negativo
<i>EPEC</i>	negativo	<i>Staphylococcus aureus</i>	negativo
<i>ETEC</i>	negativo	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	negativo
<i>Haemophilus influenzae</i>	negativo	<i>Treponema pallidum</i>	negativo
<i>Hafnia alvei</i>	negativo	<i>Vibrio cholerae</i>	negativo
<i>Klebsiella oxytoca</i>	negativo	<i>Yersinia enterocolitica</i>	negativo
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	negativo		

Sensibilità diagnostica: conferma di campioni positivi

La sensibilità diagnostica del saggio, come conferma dei campioni clinici positivi, è stata valutata analizzando alcuni campioni d'archivio provenienti da differenti pazienti positivi, in precedenza caratterizzati con un metodo di riferimento.

In aggiunta è stato creato un pannello di campioni positivizzati diluendo materiale di riferimento positivo per i target in analisi in diversi campioni di pazienti negativi.

I risultati sono riassunti nella tabella sottostante.

Campione	N	Positivi	Negativi	Invalidi
CSF HSV1 positivo	10	9	1	0
CSF positivizzato HSV1	22	22	0	0
CSF HSV2 positivo	10	10	0	0
CSF positivizzato HSV2	20	20	0	0
CSF VZV positivo	10	10	0	0
CSF positivizzato VZV	20	20	0	0

Il campione discrepante, che con il metodo di riferimento aveva un Ct vicino al limite di rilevabilità, potrebbe essere spiegato dalla concentrazione di virus nel campione molto bassa, al di sotto del limite di rilevabilità del metodo; tale campione potrebbe risultare casualmente positivo o negativo.

In questo test la sensibilità diagnostica del saggio è risultata uguale a 96,9% per HSV1 e a 100% per HSV2 e VZV.

Specificità diagnostica: conferma di campioni negativi

La specificità diagnostica del saggio, come conferma di campioni clinici negativi, è stata valutata analizzando alcuni campioni d'archivio provenienti da differenti pazienti negativi, in precedenza caratterizzati con un metodo di riferimento.

I risultati sono riassunti nella tabella sottostante.

Campione	N	Positivi	Negativi	Invalidi
CSF negativo per HSV1, HSV2 e VZV	30	0	30	0

In questo test la specificità del saggio è risultata uguale al 100% per HSV1, HSV2 e VZV

Nota bene: I dati e i risultati completi delle prove eseguite per la valutazione delle caratteristiche delle prestazioni del prodotto con le matrici e lo strumento sono registrati nel Fascicolo Tecnico di Prodotto "Meningitis Viral ELITe MGB Panel", FTP RTS507ING.

LIMITI DELLA PROCEDURA

Utilizzare con questo prodotto soltanto i seguenti campioni clinici: liquido cefalorachidiano (CSF). Non sono disponibili dati riguardo eventuali fenomeni di inibizione da parte di farmaci antivirali, antibiotici, chemioterapici o immunosoppressori.

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

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

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

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

Questo prodotto richiede personale competente e addestrato per le procedure di biologia molecolare, come l'estrazione, l'amplificazione e la rilevazione di acidi nucleici per evitare risultati errati.

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

A causa delle differenze intrinseche alle diverse tecnologie, si raccomanda di eseguire studi di correlazione per stimare queste differenze prima di passare a un nuovo prodotto.

Un risultato negativo ottenuto con questo prodotto indica che gli acidi nucleici target del saggio non sono stati rilevati negli acidi nucleici estratti dal campione ma non si può escludere che il DNA target sia presente ad un titolo inferiore al limite di rilevazione del prodotto (vedi Caratteristiche delle prestazioni). In questo caso il risultato sarebbe un falso negativo.

In caso di co-infezioni la sensibilità di un target può essere influenzata dall'amplificazione di un secondo target.

Un risultato non valido ottenuto con questo prodotto indica che non è stato possibile rilevare in modo efficiente il Controllo Interno. In questo caso l'analisi del campione dovrà essere ripetuta con possibili ritardi nell'ottenimento del risultato.

Eventuali polimorfismi nelle regioni del DNA target in cui ibridano gli oligonucleotidi di innesco e le sonde del prodotto potrebbero compromettere la rilevazione del DNA target.

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

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

PROBLEMI E SOLUZIONI

Reazione del Positive Control non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errore durante l'impostazione della sessione.	Controllare la posizione di PCR Mix e controllo positivo. Controllare i volumi di PCR Mix e controllo positivo.
Degradazione del Positive Control.	Usare una nuova aliquota di controllo positivo.
Degradazione della PCR Mix.	Usare una nuova aliquota di PCR Mix.
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica ELITechGroup S.p.A.

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

Reazione dei campioni non valida	
Possibili cause	Soluzioni
Errore durante l'impostazione della sessione.	Controllare la posizione di PCR Mix e campione. Controllare i volumi di PCR Mix e campione.
Degradazione della PCR Mix.	Utilizzare una nuova aliquota di PCR Mix.
Inibizione causata da sostanze interferenti con il campione.	Ripetere l'amplificazione diluendo il campione 1 : 2 in acqua ultrapura per biologia molecolare, impostando la sessione "PCR only". Ripetere l'estrazione diluendo il campione 1 : 2 in acqua ultrapura per biologia molecolare, impostando la sessione "Extract + PCR".
Errore dello strumento.	Contattare l'assistenza tecnica ELITechGroup S.p.A.

LEGENDA DEI SIMBOLI

REF

Numero di catalogo.



Limite superiore di temperatura.

LOT

Codice del lotto.



Da utilizzare prima del (ultimo giorno del mese).



Conforme ai requisiti della Direttiva Europea 98\79\CE relativa ai dispositivi medici diagnostici *in vitro*.



Contenuto sufficiente per "N" test.



Attenzione, consultare le istruzioni per l'uso.

CONT

Contenuto.



Tenere lontano dalla luce solare.



Fabbricante.

AVVISO PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA

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

Questa licenza limitata consente alla persona o all'entità legale a cui questo prodotto è stato fornito di usare il prodotto, e i dati generati dall'uso del prodotto, solo per la diagnostica umana. Né ELITechGroup S.p.A. né i suoi licenziatari attribuiscono qualsiasi altra licenza, esplicita o implicita per qualsiasi altro scopo.

ELITE MGB® e il logo ELITE MGB® sono marchi registrati da ELITechGroup nell'Unione Europea.

ELITE InGenius® è un marchio registrato di ELITechGroup.

TaqMan™ è un marchio commerciale di Roche Molecular Systems, Inc