

DELIBERAZIONE

N° 180 del 12/02/2024

Struttura proponente UOC ACQUISIZIONE FORNITURE, SERVIZI E LAVORI	Proposta n. 193 (Digitale) del 07/02/2024
Oggetto: Fornitura di sistemi e di materiale di consumo di Microbiologia, suddivisa in 9 lotti- Affidamento di servizi supplementari ai sensi dell'art. 106, comma 1 lett. b) del D.L.gs 50/2016. Operatore economico: Elettrobiocchimica S.r.l. - CIG: 95561597DF.	
A CURA DELLA STRUTTURA PROPONENTE <i>Il Direttore, a seguito dell'istruttoria effettuata, con la sottoscrizione del presente atto, <u>ATTESTA CHE</u>, come meglio riportato nel preambolo e nel dispositivo deliberativo:</i> <ul style="list-style-type: none">• <i>L'atto è legittimo e utile per il pubblico servizio;</i>• <i>I costi/ricavi, così come riportati nel dispositivo, sono correttamente valorizzati in relazione agli effetti derivanti dal presente atto</i> Gli oneri derivanti dal presente atto sono ricompresi nel budget di assegnazione	
L'estensore Manuela Marzetti	Data 07/02/2024
Responsabile del Procedimento: Manuela Marzetti	Data 07/02/2024
Il Direttore Francesco Quagliariello	Data 07/02/2024
A CURA DEL DIRETTORE UOC RISORSE ECONOMICHE E FINANZIARIE <i>Il Direttore, con la sottoscrizione del presente atto:</i> <u>ATTESTA</u> che i costi/ricavi di cui al presente atto, così come riportati e valorizzati nel dispositivo a cura della struttura Proponente, sono correttamente imputati sui conti/sottoconti economici/patrimoniali ivi indicati. <u>CONFERMA</u> che gli oneri di cui al presente atto sono ricompresi nel budget di assegnazione.	
Il Direttore Stefano Piccari	Data 08/02/2024
Parere Direttore Amministrativo <i>Favorevole</i> Francesco Quagliariello 09/02/2024	Parere Direttore Sanitario <i>Favorevole</i> Andrea Magrini 12/02/2024
Il Direttore Generale	<i>Firmato</i> Giuseppe Quintavalle
<i>La presente deliberazione si compone di n. 24 pagine, di cui n. 19 pagine di allegati, che ne formano parte integrante e sostanziale</i>	

Fondazione PTV POLICLINICO TOR VERGATA

Sede legale: Viale Oxford, 81 – 00133 Roma

IL DIRETTORE GENERALE

PREMESSO CHE con Deliberazione del Consiglio di Amministrazione assunta in data 26/02/2021, su designazione del Presidente della Regione Lazio con proprio Decreto n. T00026 del 25.02.2021 d'intesa con il Rettore della Università Tor Vergata, il Dott. Giuseppe Quintavalle è stato nominato Direttore Generale della Fondazione PTV Policlinico Tor Vergata e dell'Azienda ospedaliera universitaria PTV Policlinico Tor Vergata;

VISTA la Circolare del Direttore Generale del PTV, prot. n. 0007972/2016 del 25/03/2016, che riporta le *“DISPOSIZIONI in materia di redazione degli atti deliberativi a firma del Direttore Generale”* e alla quale si fa integrale rinvio;

PREMESSO CHE la Fondazione PTV, con Deliberazione n. 56 del 15.01.2024, ha aggiudicato la *“Procedura aperta in ambito comunitario, ai sensi dell'art. 60 del D. Lgs. 50/2016 e s.m.i., espletata in modalità telematica, per l'affidamento della fornitura di sistemi e di materiale di consumo di Microbiologia per le esigenze della Fondazione PTV Policlinico Tor Vergata, suddivisa in 9 lotti”*, per la durata di 60 mesi, il cui Lotto n. 2 (CIG 95561597DF), avente ad oggetto la fornitura in service di *“Sistemi per la ricerca contemporanea del genoma dei principali patogeni causa di diarrea, infezioni del tratto urogenitale, da ulcere genitali e delle vie respiratorie con tecnica RT-PCR”*, è stato aggiudicato in favore dell'operatore economico Elettrobiocimica S.r.l. per un periodo di 5 anni e per un importo pari a € 3.825.080,00 IVA esclusa e, dunque, pari a € 4.666.597,60 IVA inclusa (CIG 95561597DF);

TENUTO CONTO CHE il Direttore dell'esecuzione del contratto della fornitura oggetto del sopracitato Lotto 2, con nota del 17.01.2024, sentito il Prof. Di Cave, Responsabile dell'Unità di Parassitologia, afferente alla UOC Medicina di Laboratorio, ha richiesto la diponibilità di fornitura supplementare, nell'ambito di detto Lotto 2, per l'acquisizione di *“Kit Progenie Molecular-Pneumocystis Jirovecii”*, per tutta la durata dell'affidamento ex Deliberazione n. 56/2024;

CONSIDERATO CHE il citato Prof. Di Cave, con nota a mezzo email del 07.02.2024, agli atti della UOC Acquisizione, ha evidenziato la necessità della sopradescritta fornitura supplementare *“alla luce delle esigenze di attività della Unit di Parassitologia del PTV, per il mantenimento della procedura di diagnostica molecolare, svolta e validata precedentemente attraverso analogo approccio, per garantire la migliore sensibilità e specificità nella diagnosi di Pneumocystis Jiroveci, agente eziologico di polmoniti interstiziali in pazienti immunodepressi, trapiantati e oncoematologici”*.

ACQUISITE le schede tecniche del prodotto oggetto della fornitura supplementare e la relativa offerta economica dall'operatore Elettrobiocimica S.r.l., allegate al presente provvedimento (Allegato 1), per un importo di fornitura, per tutta la durata dell'affidamento ex deliberazione n. 56/2024, pari complessivamente ad € 117.500,00 oltre Iva al 22% e, dunque, pari ad € 143.350,00 Iva al 22% inclusa, onnicomprensivo di quanto previsto dagli atti di gara con riferimento al sopracitato Lotto 2;

RICHIAMATO l'art. 106 comma 1 lett. b) del Codice, secondo cui i contratti di appalto per lavori, servizi o forniture supplementari possono essere modificati senza una nuova procedura di affidamento qualora siano ravvisabili esigenze non prevedibili nell'appalto iniziale;

TENUTO CONTO CHE, conformemente al dettato dell'art 106 comma 7 del Codice, l'importo complessivo dell'affidamento oggetto del presente provvedimento, corrisponde a circa il 3,07% e, dunque, rientrante nel 50% del valore complessivo del contratto;

Fondazione PTV POLICLINICO TOR VERGATA

Sede legale: Viale Oxford, 81 – 00133 Roma

RITENUTO PERTANTO NECESSARIO per quanto sopra esposto, procedere ai sensi dell'art. 106, comma 1, lett. b) del Codice, alla modifica del contratto relativamente al Lotto 2 della "Procedura aperta in ambito comunitario, ai sensi dell'art. 60 del D. Lgs. 50/2016 e s.m.i., espletata in modalità telematica, per l'affidamento della fornitura di sistemi e di materiale di consumo di Microbiologia per le esigenze della Fondazione PTV Policlinico Tor Vergata, suddivisa in 9 lotti" richiamato in superiore premessa, e, per l'effetto autorizzare l'affidamento all'Operatore Elettrobiocimica S.r.l., aggiudicatario del sopracitato Lotto 2, della fornitura di *Kit Progenie Molecular-Pneumocystis Jirovecii* dettagliata nell'offerta economica (Allegato 1), per un importo complessivo pari a ad € 117.500,00 oltre Iva al 22% e, dunque, pari ad € 143.350,00 Iva al 22% inclusa;

VERIFICATO CHE per quanto riguarda la definizione degli oneri derivanti dall'affidamento in parola, gli stessi, pari a complessivi € 143.350,00 Iva al 22% inclusa, graveranno sul seguente sottoconto per gli esercizi di seguito indicati, fino alla scadenza dell'affidamento originario disposto con ex Deliberazione n. 56/2024 richiamata in superiori premesse:

BUDGET FARMACIA CLINICA					
Sottoconto	2024	2025	2026	2027	2028
502011604991 - 920 - Prestazioni laboratorio service diagnostico	€ 28.670,00	€ 28.670,00	€ 28.670,00	€ 28.670,00	€ 28.670,00

DATO ATTO, ALTRESÌ, CHE con Deliberazioni n. 177 del 15/12/2021 e n. 1070 di pari data relative rispettivamente alla Azienda Ospedaliera Universitaria e alla Fondazione PTV, entrambe aventi ad oggetto - approvazione accordi sindacali in merito all'adozione dei regolamenti recanti le norme per la ripartizione degli incentivi di cui all'art. 113 del d.lgs. 50/2016 "Forniture e Servizi" e "Lavori"- sono stati approvati i regolamenti per la ripartizione degli incentivi ex art. 113 comma 2 del Codice;

CONSIDERATO, PERTANTO, CHE per detti incentivi è stato individuato un apposito fondo per la successiva ripartizione degli stessi, e che, in relazione all'affidamento del presente provvedimento, detti incentivi sono pari ad € 2.350,00 (stanziamento del 2% sull'importo dell'affidamento al netto dell'IVA pari ad € 117.500,00) e, precisamente:

- 516040605000 - € 1.880,00 (1,60% massimo destinato al personale);
- 516040605999 - € 470,00 (0,40% destinato all'accantonamento fondo PTV);

DATO ATTO CHE la quota parte relativa alle funzioni tecniche di cui all' art. 113 comma 2 del d.lgs. n.50/2016 sarà oggetto di ripartizione a favore del personale all'uopo individuato;

ACQUISITA da parte del responsabile della struttura proponente assegnataria dello stanziamento di budget, l'attestazione, tramite la sottoscrizione riportata in frontespizio, che gli oneri di cui al presente atto - così come sopra individuati nel dispositivo unitamente ai sotto-conti economici di rispettivo riferimento - non comportano alcuno scostamento rispetto al budget di assegnazione di cui alla DDG n. 1510 del 29/12/2023 ad oggetto "Proposta di Bilancio Economico Preventivo (BEP) per l'esercizio 2024 ai sensi dell'art. 25 del D.Lgs n. 118/2021 e ss.mm.ii." approvato dal CdA nella seduta del 30/12/2023, e che la restante quota parte sarà ricompresa nei rispettivi bilanci di previsione;

PRESO ATTO che il Direttore proponente il presente provvedimento, sottoscrivendolo, attesta che lo stesso, a seguito dell'istruttoria effettuata, nella forma e nella sostanza è legittimo e utile per il servizio pubblico;

VISTO il parere del Direttore Sanitario e del Direttore Amministrativo in frontespizio riportato, formulato per quanto di rispettiva competenza;

Fondazione PTV POLICLINICO TOR VERGATA

Sede legale: Viale Oxford, 81 – 00133 Roma

DELIBERA

per i motivi e le valutazioni sopra riportate, che formano parte integrante del presente atto:

1. di autorizzare, ai sensi dell'art. 106, comma 1 lett. b) del Codice, l'affidamento di fornitura supplementare di "Kit Progenie Molecular-Pneumocystis Jirovecii", nell'ambito del Lotto n. 2 (CIG 95561597DF) in favore dell'operatore economico Elettrobiocchimica S.r.l. - avente ad oggetto la fornitura in service di "Sistemi per la ricerca contemporanea del genoma dei principali patogeni causa di diarrea, infezioni del tratto urogenitale, da ulcere genitali e delle vie respiratorie con tecnica RT-PCR" - di cui alla "Procedura aperta in ambito comunitario, ai sensi dell'art. 60 del D. Lgs. 50/2016 e s.m.i., espletata in modalità telematica, per l'affidamento della fornitura di sistemi e di materiale di consumo di Microbiologia per le esigenze della Fondazione PTV Policlinico Tor Vergata, suddivisa in 9 lotti", per la durata di 60 mesi, aggiudicata con deliberazione n. 56/2024;
2. di autorizzare la fornitura supplementare, per la durata quinquennale dell'affidamento ex deliberazione n. 56/2024, come dettagliato nell'offerta economica dell'operatore economico Elettrobiocchimica S.r.l. (Allegato 1), per un importo complessivo pari ad € 117.500,00 oltre Iva al 22% e, dunque, pari ad € 143.350,00 Iva al 22% inclusa, corrispondente al 3,07% e, dunque, rientrante nel 50% del valore complessivo dell'affidamento ex Deliberazione n. 56/2024;
3. di autorizzare, secondo quanto stabilito all'art. 6 comma 3 dei Regolamenti di cui alle Deliberazioni n. 177/2021 e 1070/2021, la ripartizione degli incentivi per le funzioni tecniche, ai sensi dell'art.113 comma 2 del Codice che, per l'affidamento di cui al punto 1, sono pari a € 2.350,00 (stanziamento del 2% sull'importo dell'affidamento al netto dell'IVA pari ad € 117.500,00) e, precisamente:
 - 516040605000 - € 1.880,00 (1,60% massimo destinato al personale);
 - 516040605999 - € 470,00 (0,40% destinato all'accantonamento fondo PTV);dando atto che la quota parte relativa alle funzioni tecniche di cui all' art. 113 comma 2 del d.lgs. n.50/2016 saranno oggetto di ripartizione a favore del personale all'uopo individuato;
4. di far gravare gli oneri economici di cui al punto 1 sul seguente sottoconto per i seguenti esercizi, fino alla scadenza naturale dell'affidamento disposto con la citata Deliberazione 56/2024:

BUDGET FARMACIA CLINICA					
Sottoconto	2024	2025	2026	2027	2028
502011604991 - 920 - Prestazioni laboratorio service diagnostico	€ 28.670,00	€ 28.670,00	€ 28.670,00	€ 28.670,00	€ 28.670,00

dando atto che detti oneri non comportano alcuno scostamento rispetto al budget di assegnazione di cui alla DDG n. 1510 del 29/12/2023 ad oggetto "Proposta di Bilancio Economico Preventivo (BEP) per l'esercizio 2024 ai sensi dell'art. 25 del D.Lgs n. 118/2021 e ss.mm.ii." approvato dal CdA nella seduta del 30/12/2023 e che la restante quota parte sarà ricompresa nei rispettivi bilanci di previsione;

5. di confermare quale Responsabile Unico del Procedimento la Manuela Marzetti, collaboratore amministrativo presso la UOC Acquisizione forniture, servizi e lavori e Direttore dell'esecuzione del contratto la Dott.ssa Angela Maria Elena Frazzetto, Dirigente presso la UOC Farmacia Clinica.

La presente deliberazione è composta di n. 1 allegato che costituisce parte integrante della presente

Fondazione PTV POLICLINICO TOR VERGATA

Sede legale: Viale Oxford, 81 – 00133 Roma

deliberazione:

- Allegato 1: Offerta tecnica ed economica servizi supplementari Elettrobiochimica S.r.l., costituito da n. 19 pagine.

La presente deliberazione è posta in pubblicazione all'Albo pretorio *on online* sul sito *web* istituzionale aziendale www.ptvonline.it per quindici giorni consecutivi ed è resa disponibile, tramite canale telematico, al Collegio dei Revisori.

GIUSEPPE QUINTAVALLE
Direttore Generale

Fornitura di sistemi e di materiale di consumo di Microbiologia, suddivisa in 9 lotti– Affidamento di servizi supplementari ai sensi dell'art. 106, comma 1 lett. b) del D.L.gs 50/2016. Operatore economico: Elettrobiochimica S.r.l. - CIG: 95561597DF.



Spett.le
Fondazione PTV
POLICLINICO TOR VERGATA
VIALE OXFORD, 81
00133 ROMA

Roma li, 30 gennaio 2024.

Oggetto: Procedura aperta per l'affidamento della fornitura di sistemi e di materiale di consumo di Microbiologia per le esigenze della Fondazione PTV Policlinico Tor Vergata, suddivisa in 9 lotti – Integrazione delibera 56/2024.

Facendo seguito alla mail datata 30/01/2024, di seguito proponiamo la seguente offerta per il prodotto richiesto, del quale allegiamo scheda tecnica.

Precisiamo che il prezzo proposto è in linea con quanto offerto in gara e quindi a referto.

CODICE	NOME E CONF.TO	QUANTITA'	PREZZO	TOTALE
PJIR-UX	pneumocisti jirovecii – 30 test	1000 test anno	€ 23,50 a test refertato	€. 23.500,00 anno

La fornitura si intende per tutta la durata della delibera indicata in oggetto

Cordiali saluti.

Elettrobiochimica s.r.l.
Legale Rappresentante
Dario Dechiodoro

www.elettrobiochimasrl.it



DICHIARAZIONE DI CONFORMITÀ

Progenie Molecular S.L. dichiara che i prodotti sotto elencati soddisfano tutti i requisiti essenziali descritti nell'Allegato III della Direttiva Europea 98/79/EEC relativi ai prodotti sanitari diagnostici "in vitro".

Progenie Molecular S.L. dichiara inoltre di aver ottenuto le idonee certificazioni tecniche relative alle Norme ISO 9001:2008 e ISO 13485:2003. Tali certificazioni sono in corso di validità ed hanno il seguente scopo: "Progettazione, sviluppo, produzione e commercializzazione di prodotti diagnostici "in vitro" e reagenti per ricerca basati sulla biologia molecolare".

Progenie Molecular S.L. dichiara altresì che il 9 Maggio 2011 l'Agenzia Spagnola di Medicinali e Dispositivi Medici (AEMPS) ha rilasciato la licenza medica pertinente per la produzione e l'importazione di dispositivi diagnostici medici "in vitro".

Codice	Prodotto CE-IVD
PJIR	Rilevazione del DNA di <i>Pneumocystis jirovecii</i>
PJIR-U	Rilevazione del DNA di <i>Pneumocystis jirovecii</i>
PJIR-G	Rilevazione del DNA di <i>Pneumocystis jirovecii</i>
PJIR-UX	Rilevazione del DNA di <i>Pneumocystis jirovecii</i>
PJIR-GX	Rilevazione del DNA di <i>Pneumocystis jirovecii</i>

Valencia (Spagna), 27 Maggio 2016

PROGENIE
MOLECULAR
Progenie molecular S.L.
CIF: B97262158
C/. Valle de la Ballestera 56 - 46015 Valencia
Tel. 902 91 05 05 - Fax: 902 91 05 06
www.progenie-molecular.com

Inma Llorens
Departamento Qualità



Scheda di sicurezza

Conforme al Regolamento EU: Regolamento (CE) N. 1907/2006
 Data di pubblicazione: 09/07/2018

1) IDENTIFICAZIONE DEL PRODOTTO E DELL' AZIENDA PRODUTTRICE

Nome prodotto: RealCycler
 Reference: PJIR / PJIR-T / PJIR-U / PJIR-G / PJIR-UX / PJIR-GX
 Utilizzazione: Rilevamento del DNA di *Pneumocystis jirovecii*
 Identificazione della società: Progenie Molecular, S.L.
 Edificio Progenie. Valle de la Ballestera, 56
 Valencia 46015
 ESPAÑA
 Tel: +34 902 91 05 05
 Fax: +34 902 91 05 06
 Telefono di emergenza: Spagna (Servizio di Informazione Tossicologica): 91 562 04 20
 Internazionale: + 1 703 527 3887

2) COMPOSIZIONE / INFORMAZIONE DEI REAGENTI

Caratterizzazione chimica: Soluzione in acqua.

References: PJIR / PJIR-T / PJIR-U / PJIR-G / PJIR-UX / PJIR-GX

I pericoli e i rischi degli ingredienti attivi sono applicabili agli ingredienti puri. Le quantità presenti nel prodotto, secondo il Regolamento (CE) N. 1272/2008, sono al di sotto dei livelli di soglia. Poiché questo prodotto non contiene più dell'1% dei componenti classificati di rischio né più del 0,1% dei componenti classificati come cancerogeni, una MSDS non è necessaria.

3) IDENTIFICAZIONE DEI PERICOLI

Questa sostanza non è classificata come pericolosa secondo il Regolamento (CE) N. 1272/2008

4) INTERVENTI DI PRIMO SOCCORSO

Contatto con la pelle Lavare la pelle con acqua e sapone e risciacquare abbondantemente. Rimuovere gli indumenti contaminati.
Contatto con oculare Risciacquare gli occhi per almeno 15 minuti con abbondante acqua, tenendoli ben aperti.
 Consultare il dottore se l'irritazione persiste.
Ingestione Risciacquare la bocca. Bere molta acqua. Consultare il medico in caso di comparsa di sintomi o irritazione.
Inalazione Respirare all'aria aperta. In caso di arresto della respirazione, procedere alla respirazione artificiale.
 In caso di respirazione difficoltosa, somministrare ossigeno.

5) MISURE ANTINCENDIO

Mezzi di estinzione Acqua nebulizzata, diossido di carbonio, schiuma secca.
Rischi di incendio/ esplosione Emissione di fumi tossici o irritanti in caso di incendio.
Dispositivi di protezione Indossare un autorespiratore ed indumenti protettivi per la protezione di pelle e occhi.

6) PROVVEDIMENTI IN CASO DI DISPERSIONE ACCIDENTALI

Precauzioni personali Indossare guanti e occhiali protettivi. Evitare di respirare e il contatto con i vapori.
Precauzioni ambientali Il prodotto non deve entrare in contatto con il terreno, fognatura e corsi d'acqua.
Metodi di pulitura / raccolta Raccogliere il liquido versato con materiale adsorbente inerte e collocarlo in un contenitore per lo smaltimento.
 Lavare il sito del versamento, dopo aver completato il ritiro del materiale.

7) MANIPOLAZIONE ED IMMAGAZZINAMENTO

Gestione	Osservare le buone pratiche di laboratorio durante la manipolazione del prodotto.
Conservazione	Conservare nel contenitore originale, a -20 ± 5 °C.

8) CONTROLLO DELL'ESPOSIZIONE / PROTEZIONE PERSONALE

Valori limite di esposizione	Il prodotto non contiene quantità rilevanti di sostanze i cui valori limite devono essere tenuti sotto controllo negli ambienti di lavoro.
Protezione oculare	Indossare gli occhiali di protezione
Protezione delle mani	Indossare guanti sintetici o di gomma
Protezione della pelle	Indossare il camice da laboratorio
Misure di igiene	Tenere lontano da alimenti e bevande Evitare il contatto con pelle e Non mangiare, né bere, né fumare mentre si lavora.
Apparecchiature di respirazione	Non richiesti

9) PROPRIETÀ FISICHE E CHIMICHE

Forma:	Soluzioni in acqua	Inflammabilità (solidi, gas):	Non ci sono dati disponibili
Colore:	Incolore	Proprietà ossidanti:	Non ci sono dati disponibili
Odore:	Inodore	Densità relativa:	Non ci sono dati disponibili
Punto di ebollizione:	Non ci sono dati disponibili	Idrosolubilità:	Non ci sono dati disponibili
Temperatura di infiammabilità:	Non ci sono dati disponibili	Coefficiente di ripartizione n-ottanolo/acqua:	Non ci sono dati disponibili
Proprietà esplosive:	Non ci sono dati disponibili	Viscosità:	Non ci sono dati disponibili
Pressione del vapore:	Non ci sono dati disponibili	Densità di vapore:	Non ci sono dati disponibili
pH:	Non ci sono dati disponibili	Velocità di evaporazione:	Non ci sono dati disponibili

10) STABILITÀ E REATTIVITÀ

Stabilità	Stabile in condizioni normali di manipolazione e conservazione
Degradazione	Monossido di carbonio, diossido di carbonio, diossido di zolfo
Condizioni da evitare	Evitare agenti fortemente ossidanti, fuoco, esposizione alla luce.

11) INFORMAZIONI TOSSICOLOGICHE

Non ci sono dati disponibili

12) INFORMAZIONI ECOLOGICHE

Non ci sono dati disponibili

13) CONSIDERAZIONI SULLO SMALTIMENTO

Smaltire il prodotto in modo controllato nel sistema fognario. I rifiuti del prodotto (avanzi e residui derivanti da un uso normale) non pone seri rischi se utilizzato nella proporzione adeguata.
Il prodotto e l'imballaggio devono essere smaltiti in conformità alle istruzioni delle autorità locali.

14) INFORMAZIONI SUL TRASPORTO

RID/ADR	Non pericoloso per il trasporto terrestre
IMDG	Non pericoloso per il trasporto marittimo
IATA	Non pericoloso per il trasporto aereo

15) INFORMAZIONI SULLA NORMATIVA

Disposizioni legislative e regolamentari su salute, sicurezza e ambiente specifiche per la sostanza o la miscela

Questa sostanza non è classificata come pericolosa secondo il Regolamento (CE) N. 1272/2008

Valutazione della sicurezza chimica

Per questo prodotto non è stata eseguita la valutazione della sicurezza chimica

16) ALTRE INFORMAZIONI

Le informazioni sopra riportate sono ritenute corrette, tuttavia non pretendono di essere esaustive, e devono essere utilizzate solo come guida. Le informazioni contenute in questo documento sono basate sullo stato attuale delle nostre conoscenze e sono applicabili ai prodotti prestando attenzione alle precauzioni di sicurezza. Non rappresenta alcuna garanzia delle proprietà del prodotto. Progenie Molecular, S.L. non potrà essere ritenuta responsabile per qualsiasi danno derivante dall'impiego o dal contatto con il prodotto.

Per uso diagnostico in vitro.

RealCycler[®] Chic-Out PJIR-UX PJIR-GX v.2



PROGENIE
MOLECULAR

1 Finalità d'uso

RealCycler PJIR-UX / PJIR-GX è un kit di reagenti per diagnostico *in vitro* che permette la rilevazione del DNA di *Pneumocystis jirovecii* in campioni clinici.

2 Principio del test

La reazione a catena della polimerasi (PCR) si basa sull'amplificazione di una regione specifica di DNA/RNA, mediante l'utilizzo di primers complementari alla sequenza bersaglio. Nella Real-time PCR si utilizzano sonde marcate con fluoroforo, che emettono fluorescenza a seguito della reazione di amplificazione. Il ciclo della PCR in cui si evidenzia una fluorescenza significativa è proporzionale alla quantità di DNA/RNA presente nel campione. Questo valore è definito il *Ciclo soglia (Ct - Cycle Threshold)*.

Il sistema include un flacone con un controllo interno CHIC (*Competitive Heterologous Internal Control*) fuori dell'Amplimix, per verificare l'estrazione degli acidi nucleici e per la prevenzione dei falsi negativi dovuti all'inibizione della reazione.

L'amplificazione di *Pneumocystis jirovecii* viene rilevata con il fluoroforo FAM e quella da CHIC con HEX.

3 Specifiche tecniche

Sensibilità

Pneumocystis jirovecii: 5 copie/µL.

La sensibilità analitica è stata calcolata sulla base di diluizioni successive. La sensibilità è stata determinata in prove ripetute, mostrando una riproducibilità di oltre il 95%.

Specificità

Pneumocystis jirovecii: gene large subunit mitochondrial ribosomal RNA.

La validazione della specificità è stata eseguita in accordo alle prove sperimentali e l'analisi bioinformatica.

4 Contenuti

RealCycler PJIR-UX / PJIR-GX include la miscela di reazione AmpliMix PJIR Chic-Out, un flacone di CHIC ed un Controllo Positivo PJIR, costituito da una costruzione artificiale di DNA di *Pneumocystis jirovecii*. I kit RealCycler Chic-Out non includono controlli di estrazioni (positivi o negativi).

Tutti i reagenti sono pronti all'uso e non necessitano né l'aggiunta né la ricostituzione di nessun componente.

Componenti	Flaconi		Volume
	PJIR-UX	PJIR-GX	
AmpliMix PJIR Chic-Out	1	2	430 µL
Controllo Positivo PJIR	1	2	60 µL
CHIC	1	2	200 µL

Numero di determinazioni: RealCycler PJIR-UX permette l'esecuzione di 30 reazioni di 20 µL e 24 reazioni di 25 µL. RealCycler PJIR-GX permette l'esecuzione 60 reazioni di 20 µL e 48 reazioni di 25 µL.

5 Stabilità e modalità di conservazione

Il kit è stabile a -20°C fino alla scadenza indicata sull'etichetta esterna del kit. Tutti i componenti del kit RealCycler PJIR-UX / PJIR-GX devono essere stoccati a -20°C.

6 Materiali e strumenti addizionali richiesti e non forniti

- Sistema di PCR Real-time.
- Microcentrifughe.
- Kit di purificazione del DNA.
- Guanti monouso.
- Pipette calibrate.
- Puntali per pipette con filtro.
- Freezer (-20 °C).
- Controllo positivo e negativo di estrazione (campione positivo o negativo per il patogeno a studiare).

7 Avvertenze e precauzioni

- Tutti i componenti del kit devono essere mantenuti al freddo mentre vengono manipolati.
- Dopo l'aggiunta del DNA si deve ridurre il tempo necessario per iniziare il programma di amplificazione.
- Non esporre i tubi di reazione contenenti la mix di amplificazione alla luce per lungo tempo.
- Ripetuti cicli di congelamento/scongelamento possono ridurre la sensibilità del kit.

- Utilizzare quanti monouso.
- Utilizzare pipette adeguate calibrate e puntali per pipette con filtro.
- Gli studi devono essere fatti da personale qualificato e seguendo le buone pratiche di laboratorio.
- Si raccomanda di includere controlli positivi ed negativi ogni volta che si fanno le analisi.
- Non utilizzare il kit oltre la data di scadenza.
- La presenza di polimorfismi nelle sequenze di unione delle sonde o degli oligonucleotidi di DNA/RNA degli agenti patogeni possono generare risultati erronei. In caso di discordanza tra osservazione clinica e i risultati ottenuti si consiglia di verificare i risultati con un metodo alternativo.
- I risultati negativi non escludono la infezione causata dal patogeno. I risultati ottenuti con questo kit diagnostico devono essere interpretati nel contesto di un quadro clinico generale e non possono essere l'unico criterio nel processo decisionale clinico.
- Quando vengono usati campioni con una concentrazione del patogeno inferiore al limite di rilevabilità, i risultati ottenuti hanno una riproducibilità inferiore al 95%.
- Per uso diagnostico *in vitro*.
- Nelle AmpliMix Chic-Out, il limite di rilevabilità può essere modificato a seconda del sistema di estrazione.

8 Campioni clinici

- Prelevare i campioni clinici in appositi contenitori sterili.
- Mantenere e trasportare i campioni congelati a -20°C fino all'uso.
- Il kit è compatibile con qualsiasi campione nel quale il patogeno sia presente e siisca a estrarre un DNA di qualità.

Campioni clinici validati:

- *Pneumocystis jirovecii*: lavaggio broncoalveolare ed sputo.

9 Procedura

a) Incorporazione di CHIC

- Campioni: Aggiungere 5 µL di CHIC al volume di campione che si vuole estrarre oppure al campione di fsi. Eseguire con la procedura di purificazione degli acidi nucleici abituale.
- Controllo Positivo: Non aggiungere CHIC al Controllo Positivo fornito nel kit.
- Controllo negativo (non fornito): Utilizzare come controllo negativo DNA di campioni negativi ben caratterizzati. Eseguire la stessa procedura usata per i campioni.

b) Purificazione degli acidi nucleici

Il DNA deve essere purificato dai campioni clinici utilizzando una procedura adeguata. Sono disponibili in commercio numerosi kit di purificazione di acidi nucleici. Si prega di eseguire il processo di purificazione in accordo alle istruzioni del produttore a partire dal volume di campione raccomandato.

Sistema di purificazione validato:

- Arrow/LIAISON® IXT (reference 12.06.02 Viral NA Extraction Kit), DiaSorin.

I kit RealCycler sono compatibili con la maggior parte dei sistemi di purificazione, tra i quali:

- BioRobot EZ1, Qiagen.
- QIAamp DNA Blood Mini kit, Qiagen.
- QIAcube, Qiagen.
- MagCore® Automated Nucleic Acid Extractor, RBCBioscience.
- Maxwell® 16 Cell LEV DNA Purification kit, Promega Corporation.
- NucliSENS® easyMAG®, bioMérieux.

c) Profilo termico

Impostare il protocollo di amplificazione "PJIR" in accordo con le seguenti specificazioni:

Tempo	Temperatura	Cicli	Fluorescenza
15:00	95 °C	1	OFF
0:15	95 °C		OFF
0:30	60 °C	45	ON
0:30	72 °C		OFF

d) Preparazione della reazione

- Scongelare l'AmpliMix PJIR Chic-Out e il Controllo Positivo PJIR.
- Preparare un numero adeguato di tubi di reazione, per i campioni e per i controlli.

d.1) SmartCycler® (Cepheid®)

- Pipettare 17,5 µL di AmpliMix in ciascun tubo di reazione.
- Aggiungere 7,5 µL di DNA di ogni campione o del controllo in ciascun tubo.
- Spinnare i tubi perché la reazione ci sia nella zona ottica del tubo. Verificare l'assenza di bolle in tale area.
- Cancare i tubi nello strumento.
- Create Run > Dye Set > FATA25.

- Add/Remove Sites: assegnare il protocollo "PJIR" alle posizioni corrispondenti ai campioni e ai controlli.
- Start Run: Avviare il programma di amplificazione.

d.2) ABI 7500 (Thermo Fisher Scientific)

- Aprire il software ABI 7500 (versione 2.0.6).
- Set up > Advanced Set up.
- Selezionare tipo di esperimento Quantitation-Standard Curve.
- Selezionare TaqMan® Reagents.
- Definire un Template con il profilo termico PJIR.
- Selezionare an Add New Target fino ad avere 4 righe disponibili. Introdurre i nomi dei fluorofori corrispondenti in accordo alla seguente tabella.

Target Name	Reporter	Quencher
FAM	FAM	None
HEX	VIC	None
TxR	TxR	None
ATTO647N	CY5	None

- Pipettare 14 µL di AmpliMix in ciascun tubo di reazione.
- Aggiungere 6 µL di DNA di ogni campione o del controllo in ciascun tubo.
- Spinnare i tubi. Verificare l'assenza di bolle.
- Introdurre i tubi di reazione nello strumento.
- File > New experiment > From template > Selezionare protocollo PJIR > Open.
- Selezionare Plate Setup.
- Selezionare Assign Targets and Samples
- Selezionare Assign per tutti i Targets definiti.
- Select the dye to use as passive reference > None.
- Selezionare Run Method.
- Reaction volume per well > 20 µL.
- Start run.

d.3) CFX96™ (Bio-Rad)

- Pipettare 14 µL di AmpliMix in ciascun tubo di reazione.
- Aggiungere 6 µL di DNA di ogni campione o del controllo in ciascun tubo.
- Spinnare i tubi. Verificare l'assenza di bolle.
- Introdurre i tubi di reazione nello strumento.
- Aprire il software CFX™ Manager (versione 1.8)
- Selezionare File > New Plate > Selezionare tutta la piastra o i pocelli utilizzati.
- Selezionare Sample type > Unknown > OK.
- Selezionare i canali: FAM, HEX, TxR e Cy5.
- Nella finestra Experiment Setup > Protocol > Select Existing > selezionare il protocollo PJIR (indicare 20 µL di Volume) > Save > Start Run.

d.4) Rotor-Gene® Q (Qiagen)

- È indispensabile processare solo una AmpliMix RealCycler in ogni corsa dovuto al calcolo della sottrazione di fluorescenza dello strumento.
- Pipettare 14 µL di AmpliMix in ciascun tubo di reazione.
- Aggiungere 6 µL di DNA di ogni campione o del controllo in ciascun tubo.
- Mettere i tubi nello strumento. È indispensabile compensare la posizione non utilizzate del rotore e aggiungere sempre il Controllo Positivo della AmpliMix nella posizione 1 del tubo.
- File > New > Selezionare PJIR > New.
- Select rotortype > 36 well Rotor > Select Locking Ring Attached > Next.
- Indicare il volume di reazione 20 µL > Next.
- In Edit profile confermare il profilo termico e i canali (Green, Yellow, Orange e Red).
- Selezionare Gain optimization > nella finestra Auto-Gain-Optimization setup selezionare Perform Optimization Before 1st Acquisition > Selezionare Optimize all per selezionare Auto-Gain-Optimization per ogni canale. Selezionare Target Sample Range: 5 FI up to 10 FI > OK.
- Selezionare Tube position 1 per tutti i canali > Close > Next > Start Run.
- Nella finestra New Run Wizard, assegnare il nome dei campioni (del 1 al 36) > Finish.

d.5) Altri strumenti

- Pipettare 14 µL di AmpliMix in ciascun tubo di reazione.
- Aggiungere 6 µL di DNA di ogni campione o del controllo in ciascun tubo.
- Introdurre i tubi di reazione nello strumento.
- Selezionare i fluorofori corrispondenti.
- Selezionare il protocollo "PJIR".
- Avviare il programma di amplificazione.

e) Regolare la soglia di fluorescenza

Una volta la corsa è finita si devono fissare le soglie di fluorescenza per ogni canale secondo i valori indicati a continuazione. Questo adeguamento è indispensabile per la corretta interpretazione dei risultati.

Se si utilizza l'applicazione informatica Visor RealCycler non si necessita aggiustare questi valori perché sono inclusi nella banca dati.

e.1) SmartCycler® (Cepheid®)

- Analysis settings > Manual Thresh Fluor Units > 30.0.

e.2) ABI 7500 (Thermo Fisher Scientific)

- Nella finestra di Analysis fare clic su Analysis Settings.
- Nella finestra che appare fare clic su Edit Default Settings.
- Deselezionare Automatic Threshold.
- Indicare Threshold Target a Target.

Target 1 (P. jirovecii) 20.000.
Target 2 (CHIC) 10.000.

- Selezionare Save Changes.
- Selezionare Apply Analysis Settings.

e.3) CFX96™ (Bio-Rad)

Regolare la soglia di fluorescenza per ogni canale

- FAM Settings > Baseline Threshold > User defined > 250 > OK.
- HEX Settings > Baseline Threshold > User defined > 250 > OK.

e.4) Rotor-Gene® Q (Qiagen)

Regolare la soglia di fluorescenza per ogni canale

- Green: CT calculation > Threshold > 0.02.
- Yellow: CT calculation > Threshold > 0.01.

e.5) Altri strumenti

Si raccomanda di fare analisi con campioni di risultato conosciuto (positivi e negativi) per stabilire la segnale basale e fissare le soglie di fluorescenza.

f) Interpretazione dei risultati dei controlli

- Risultati validi dei controlli

Controllo	Canali			
	Ch1 FAM	Ch2 HEX CHIC	Ch3 TxR	Ch4 ATTO647N
POS	POS	NEG	-	-
NEG	NEG	POS	-	-

- Utilizzare come Controllo Positivo il fliccone fornito nel kit.
- Utilizzare come controllo negativo DNA di un campione negativo al quale è stato aggiunto CHIC previamente alla sua estrazione.

- Risultati invalidi dei controlli

In caso di ottenere un risultato negativo in alcun canale del Controllo Positivo (eccetto CHIC) il risultato è invalido. I risultati ottenuti nei campioni inclusi nella serie di lavoro devono essere scartati (non valutabili).

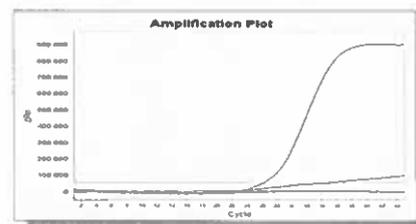
In caso di ottenere un risultato positivo (Ct > 0) in alcun canale del controllo negativo (eccetto CHIC) il risultato è invalido. I risultati ottenuti nei campioni inclusi nella serie di lavoro devono essere scartati (non valutabili).

g) Interpretazione dei risultati dei campioni

Interpretare il risultato ottenuto in ogni campione secondo la combinazione dei segnali indicati nella tabella seguente:

	Canali				Interpretazione
	Ch1 FAM	Ch2 HEX CHIC	Ch3 TxR	Ch4 ATTO647N	
POS	Indifferente	-	-	-	POSITIVO <i>P. jirovecii</i>
NEG	POS	-	-	-	NON SI RILEVA
NEG	NEG	-	-	-	NON VALUTABILE

h) Esempio di un risultato



Risultati ottenuti da processare un campione positivo (verde) e un campione negativo (blu). Campione positivo curva esponenziale. Campione negativo segnale sotto soglia. Altre forme di curve devono essere considerate anomale e vanno interpretati come segnali individuali come i segnali linear (rosa) al di sopra della soglia.

10 Interpretazione dei risultati utilizzando l'applicazione informatica Visor RealCycler

Si raccomanda utilizzare il Visor RealCycler, compatibile con gli strumenti di Real-time PCR più usati.

Specificazioni

- Gestione degli utenti e dei permessi.
- Importazione dei dati dallo strumento da PCR.
- Soglia di fluorescenza predefinita.
- Interpretazione dei risultati di ogni campione secondo il risultato di CHIC.
- Interpretazione della serie secondo il risultato dei controlli.
- Monitoraggio delle possibili incidenze.
- Quantificazione simultanea di diversi patogeni.
- Calcolo automatico della carica del patogeno nel campione.
- Generazione di un report con i risultati.
- Conservazione delle rette di calibrazione.
- Archivio delle serie di lavoro.



11 Controllo qualità

Ciascun lotto di RealCycler PJIR-UX / PJIR-GX è stato testato in accordo alle specifiche del metodo Real-time PCR utilizzando lo strumento SmartCycler® (Cepheid®).

12 Osservazioni

I reagenti *RealCycler* includono i fluorofori FAM, HEX, TxR e ATTO647N che emettono nelle lunghezze d'onda indicate nella tabella (considerate canali del 1 al 4). Se uno strumento non riconosce esplicitamente questi fluorofori, deve essere configurato in accordo a uno di questi criteri

- 1) Selezione di lunghezze d'onda d'emissione equivalente alle indicate nella tabella.
- 2) Selezione di fluorofori equivalenti (emettono nelle stesse lunghezze d'onda che gli utilizzati nel reagente).

Canale	Fluoroforo usate	Emissione (nm)	Fluorofori equivalenti
Ch1	FAM	519	---
Ch2	HEX	556	JOE, VIC, Alexa 532, CAL Fluor Orange 560
Ch3	Texas Red	610	ROX, LC Red 610, CAL Fluor Red 610
Ch4	ATTO647N	669	Cy5, Alexa 647, LC Red 670, Quasar 670, Oyster 645

Data di pubblicazione: Novembre, 2016.

Ciao, sono CeloSmart. Posso aiutarti?
supporto@progenie-molecular.com



Marchi registrati proprietà di altre compagnie: ABI 7500 (Thermo Fisher Scientific); Cephid® e SmartCycler® (Cepheid Corporation); CFX88™ (Bio-Rad); Rotor-Gene® Q (Qiagen); ArrowLAISSON® 0x1 (DuSera); BioRobot EZ1, QIAamp e QIAcube (Qiagen); MagCera® Automated Nucleic Acid Extractor (RBC Bioscience); Maxwell® (Promega Corporation); NucliSENS® easyTAG® (bioMérieux).



Progenie Molecular
 Edificio Progenie, Valle de la Balletera 56 - 46015, España
 T: +34 902 91 05 05 F: +34 902 91 05 06
www.progenie-molecular.com



DICHIARAZIONE DI CONFORMITÀ

Progenie Molecular S.L. dichiara che i prodotti sotto elencati soddisfano tutti i requisiti essenziali descritti nell'Allegato III della Direttiva Europea 98/79/EEC relativi ai prodotti sanitari diagnostici "in vitro".

Progenie Molecular S.L. dichiara inoltre di aver ottenuto le idonee certificazioni tecniche relative alle Norme ISO 9001:2008 e ISO 13485:2003. Tali certificazioni sono in corso di validità ed hanno il seguente scopo: "Progettazione, sviluppo, produzione e commercializzazione di prodotti diagnostici "in vitro" e reagenti per ricerca basati sulla biologia molecolare".

Progenie Molecular S.L. dichiara altresì che il 9 Maggio 2011 l'Agenzia Spagnola di Medicinali e Dispositivi Medici (AEMPS) ha rilasciato la licenza medica pertinente per la produzione e l'importazione di dispositivi diagnostici medici "in vitro".

Codice	Prodotto CE-IVD
PJIR	Rilevazione del DNA di <i>Pneumocystis jirovecii</i>
PJIR-U	Rilevazione del DNA di <i>Pneumocystis jirovecii</i>
PJIR-G	Rilevazione del DNA di <i>Pneumocystis jirovecii</i>
PJIR-UX	Rilevazione del DNA di <i>Pneumocystis jirovecii</i>
PJIR-GX	Rilevazione del DNA di <i>Pneumocystis jirovecii</i>

Valencia (Spagna), 27 Maggio 2016

PROGENIE
MOLECULAR
Progenie molecular S.L.
CIF: B97262158
C/. Valle de la Ballestera 56 - 46015 Valencia
Tel. 902 91 05 05 - Fax: 902 91 05 08
www.progenie-molecular.com

Inma Llorens
Dipartimento Qualità



Scheda di sicurezza

Conforme al Regolamento EU: Regolamento (CE) N. 1907/2006
 Data di pubblicazione: 09/07/2018

1) IDENTIFICAZIONE DEL PRODOTTO E DELL' AZIENDA PRODUTTRICE

Nome prodotto: RealCycler
 Reference: PJIR / PJIR-T / PJIR-U / PJIR-G / PJIR-UX / PJIR-GX
 Utilizzazione: Rilevamento del DNA di *Pneumocystis jirovecii*
 Identificazione della società: Progenie Molecular, S.L.
 Edificio Progenie. Valle de la Ballestera, 56
 Valencia 46015
 ESPAÑA
 Tel: +34 902 91 05 05
 Fax: +34 902 91 05 06
 Telefono di emergenza: Spagna (Servizio di Informazione Tossicologica): 91 562 04 20
 Internazionale: + 1 703 527 3887

2) COMPOSIZIONE / INFORMAZIONE DEI REAGENTI

Caratterizzazione chimica: Soluzione in acqua.

References: PJIR / PJIR-T / PJIR-U / PJIR-G / PJIR-UX / PJIR-GX

I pericoli e i rischi degli ingredienti attivi sono applicabili agli ingredienti puri. Le quantità presenti nel prodotto, secondo il Regolamento (CE) N. 1272/2008, sono al di sotto dei livelli di soglia. Poiché questo prodotto non contiene più dell'1% dei componenti classificati di rischio né più del 0,1% dei componenti classificati come cancerogeni, una MSDS non è necessaria.

3) IDENTIFICAZIONE DEI PERICOLI

Questa sostanza non è classificata come pericolosa secondo il Regolamento (CE) N. 1272/2008

4) INTERVENTI DI PRIMO SOCCORSO

Contatto con la pelle Lavare la pelle con acqua e sapone e risciacquare abbondantemente. Rimuovere gli indumenti contaminati.
Contatto con oculare Risciacquare gli occhi per almeno 15 minuti con abbondante acqua, tenendoli ben aperti.
 Consultare il dottore se l'irritazione persiste.
Ingestione Risciacquare la bocca. Bere molta acqua. Consultare il medico in caso di comparsa di sintomi o irritazione.
Inalazione Respirare all'aria aperta. In caso di arresto della respirazione, procedere alla respirazione artificiale.
 In caso di respirazione difficoltosa, somministrare ossigeno.

5) MISURE ANTINCENDIO

Mezzi di estinzione Acqua nebulizzata, diossido di carbonio, schiuma secca.
Rischi di incendio/ esplosione Emissione di fumi tossici o irritanti in caso di incendio.
Dispositivi di protezione Indossare un autorespiratore ed indumenti protettivi per la protezione di pelle e occhi.

6) PROVVEDIMENTI IN CASO DI DISPERSIONE ACCIDENTALI

Precauzioni personali Indossare guanti e occhiali protettivi. Evitare di respirare e il contatto con i vapori.
Precauzioni ambientali Il prodotto non deve entrare in contatto con il terreno, fognatura e corsi d'acqua.
Metodi di pulitura / raccolta Raccogliere il liquido versato con materiale adsorbente inerte e collocarlo in un contenitore per lo smaltimento.
 Lavare il sito del versamento, dopo aver completato il ritiro del materiale.

7) MANIPOLAZIONE ED IMMAGAZZINAMENTO

Gestione	Osservare le buone pratiche di laboratorio durante la manipolazione del prodotto.
Conservazione	Conservare nel contenitore originale, a -20 ± 5 °C.

8) CONTROLLO DELL'ESPOSIZIONE / PROTEZIONE PERSONALE

Valori limite di esposizione	Il prodotto non contiene quantità rilevanti di sostanze i cui valori limite devono essere tenuti sotto controllo negli ambienti di lavoro.
Protezione oculare	Indossare gli occhiali di protezione
Protezione delle mani	Indossare guanti sintetici o di gomma
Protezione della pelle	Indossare il camice da laboratorio
Misure di igiene	Tenere lontano da alimenti e bevande Evitare il contatto con pelle e Non mangiare, né bere, né fumare mentre si lavora.
Apparecchiature di respirazione	Non richiesti

9) PROPRIETÀ FISICHE E CHIMICHE

Forma:	Soluzioni in acqua	Inflammabilità (solidi, gas):	Non ci sono dati disponibili
Colore:	Incolore	Proprietà ossidanti:	Non ci sono dati disponibili
Odore:	Inodore	Densità relativa:	Non ci sono dati disponibili
Punto di ebollizione:	Non ci sono dati disponibili	Idrosolubilità:	Non ci sono dati disponibili
Temperatura di infiammabilità:	Non ci sono dati disponibili	Coefficiente di ripartizione n-ottanolo/acqua:	Non ci sono dati disponibili
Proprietà esplosive:	Non ci sono dati disponibili	Viscosità:	Non ci sono dati disponibili
Pressione del vapore:	Non ci sono dati disponibili	Densità di vapore:	Non ci sono dati disponibili
pH:	Non ci sono dati disponibili	Velocità di evaporazione:	Non ci sono dati disponibili

10) STABILITÀ E REATTIVITÀ

Stabilità	Stabile in condizioni normali di manipolazione e conservazione
Degradazione	Monossido di carbonio, diossido di carbonio, diossido di zolfo
Condizioni da evitare	Evitare agenti fortemente ossidanti, fuoco, esposizione alla luce.

11) INFORMAZIONI TOSSICOLOGICHE

Non ci sono dati disponibili

12) INFORMAZIONI ECOLOGICHE

Non ci sono dati disponibili

13) CONSIDERAZIONI SULLO SMALTIMENTO

Smaltire il prodotto in modo controllato nel sistema fognario. I rifiuti del prodotto (avanzi e residui derivanti da un uso normale) non pone seri rischi se utilizzato nella proporzione adeguata.
Il prodotto e l'imballaggio devono essere smaltiti in conformità alle istruzioni delle autorità locali.

14) INFORMAZIONI SUL TRASPORTO

RID/ADR	Non pericoloso per il trasporto terrestre
IMDG	Non pericoloso per il trasporto marittimo
IATA	Non pericoloso per il trasporto aereo

15) INFORMAZIONI SULLA NORMATIVA

Disposizioni legislative e regolamentari su salute, sicurezza e ambiente specifiche per la sostanza o la miscela

Questa sostanza non è classificata come pericolosa secondo il Regolamento (CE) N. 1272/2008

Valutazione della sicurezza chimica

Per questo prodotto non è stata eseguita la valutazione della sicurezza chimica

16) ALTRE INFORMAZIONI

Le informazioni sopra riportate sono ritenute corrette, tuttavia non pretendono di essere esaustive, e devono essere utilizzate solo come guida. Le informazioni contenute in questo documento sono basate sullo stato attuale delle nostre conoscenze e sono applicabili ai prodotti prestando attenzione alle precauzioni di sicurezza. Non rappresenta alcuna garanzia delle proprietà del prodotto. Progenie Molecular, S.L. non potrà essere ritenuta responsabile per qualsiasi danno derivante dall'impiego o dal contatto con il prodotto.

Per uso diagnostico in vitro.

RealCycler[®] Chic-Out PJIR-UX PJIR-GX v.2



EROPENE
LABORATORIA

1 Finalità d'uso

RealCycler PJIR-UX / PJIR-GX è un kit di reagenti per diagnostico *in vitro* che permette la rilevazione del DNA di *Pneumocystis jirovecii* in campioni clinici.

2 Principio del test

La reazione a catena della polimerasi (PCR) si basa sull'amplificazione di una regione specifica di DNA/RNA, mediante l'utilizzo di primers complementari alla sequenza bersaglio. Nella Real-time PCR si utilizzano sonde marcate con fluorofori, che emettono fluorescenza a seguito della reazione di amplificazione. Il ciclo della PCR in cui si evidenzia una fluorescenza significativa è proporzionale alla quantità di DNA/RNA presente nel campione. Questo valore è definito il *Ciclo soglia* (Ct - *Cycle Threshold*).

Il sistema include un flacone con un controllo interno CHIC (*Competitive Heterologous Internal Control*) fuori dell'AmpliMix, per verificare l'estrazione degli acidi nucleici e per la prevenzione dei falsi negativi dovuti all'inibizione della reazione.

L'amplificazione di *Pneumocystis jirovecii* viene rilevata con il fluoroforo FAM e quella da CHIC con HEX.

3 Specifiche tecniche

Sensibilità

Pneumocystis jirovecii: 5 copie/µL.

La sensibilità analitica è stata calcolata sulla base di diluizioni successive. La sensibilità è stata determinata in prove ripetute, mostrando una riproducibilità di oltre il 95%.

Specificità

Pneumocystis jirovecii: gene *large subunit mitochondrial ribosomal RNA*.

La validazione della specificità è stata eseguita in accordo alle prove sperimentali e l'analisi bioinformatica.

4 Contenuti

RealCycler PJIR-UX / PJIR-GX include la miscela di reazione AmpliMix PJIR Chic-Out, un flacone di CHIC ed un Controllo Positivo PJIR, costituito da una costruzione artificiale di DNA di *Pneumocystis jirovecii*. Il kit RealCycler Chic-Out non include controlli di estrazioni (positivi o negativi).

Tutti i reagenti sono pronti all'uso e non necessitano né l'aggiunta né la ricostituzione di nessun componente.

Componenti	Flaconi		Volume
	PJIR-UX	PJIR-GX	
AmpMix PJIR Chic-Out	1	2	430 µL
Controllo Positivo PJIR	1	2	60 µL
CHIC	1	2	200 µL

Numero di determinazioni: RealCycler PJIR-UX permette l'esecuzione di 30 reazioni di 20 µL e 24 reazioni di 25 µL. RealCycler PJIR-GX permette l'esecuzione 60 reazioni di 20 µL e 48 reazioni di 25 µL.

5 Stabilità e modalità di conservazione

Il kit è stabile a -20°C fino alla scadenza indicata sull'etichetta esterna del kit. Tutti i componenti del kit RealCycler PJIR-UX / PJIR-GX devono essere stoccati a -20°C.

6 Materiali e strumenti aggiuntivi richiesti e non forniti

- Sistema di PCR Real-time.
- Microcentrifughe.
- Kit di purificazione del DNA.
- Guanti monouso.
- Pipette calibrate.
- Puntali per pipette con filtro.
- Freezer (-20 °C).
- Controllo positivo e negativo di estrazione (campione positivo o negativo per il patogeno a studiare).

7 Avvertenze e precauzioni

- Tutti i componenti del kit devono essere mantenuti al freddo mentre vengono manipolati.
- Dopo l'aggiunta del DNA si deve ridurre il tempo necessario per iniziare il programma di amplificazione.
- Non esporre i tubi di reazione contenenti la mix di amplificazione alla luce per lungo tempo.
- Ripetuti cicli di congelamento/scongelo possono ridurre la sensibilità del kit.

- Utilizzare guanti monouso.
- Utilizzare pipette adeguate calibrate e puntali per pipette con filtro.
- Gli studi devono essere fatti da personale qualificato e seguendo le buone pratiche di laboratorio.
- Si raccomanda di includere controlli positivi ed negativi ogni volta che si fanno le analisi.
- Non utilizzare il kit oltre la data di scadenza.
- La presenza di polimorfismi nelle sequenze di unione delle sonde o degli oligonucleotidi di DNA/RNA degli agenti patogeni possono generare risultati erranei. In caso di discordanza tra osservazione clinica e i risultati ottenuti si consiglia di verificare i risultati con un metodo alternativo.
- I risultati negativi non escludono la infezione causata dal patogeno. I risultati ottenuti con questo kit diagnostico devono essere interpretati nel contesto di un quadro clinico generale e non possono essere l'unico criterio nel processo decisionale clinico.
- Quando vengono usati campioni con una concentrazione del patogeno inferiore al limite di rilevabilità, i risultati ottenuti hanno una riproducibilità inferiore al 95%.
- Per uso diagnostico *in vitro*.
- Nelle AmpliMix Chic-Out, il limite di rilevabilità può essere modificato a seconda del sistema di estrazione.

8 Campioni clinici

- Prelevare i campioni clinici in appositi contenitori sterili.
- Mantenere e trasportare i campioni congelati a -20°C fino all'uso.
- Il kit è compatibile con qualsiasi campione nel quale il patogeno sia presente e si riesca a estrarre un DNA di qualità.

Campioni clinici validati:

- *Pneumocystis jirovecii* lavaggio broncoalveolare ed sputo.

9 Procedura

a) Incorporazione di CHIC

- Campioni: Aggiungere 5 µL di CHIC al volume di campione che si vuole estrarre oppure al tampone di lisi. Eseguire con la procedura di purificazione degli acidi nucleici abituale.
- Controllo Positivo: Non aggiungere CHIC al Controllo Positivo fornito nel kit.
- Controllo negativo (non fornito). Utilizzare come controllo negativo DNA di campioni negativi ben caratterizzati. Eseguire la stessa procedura usata per i campioni.

b) Purificazione degli acidi nucleici

Il DNA deve essere purificato dai campioni clinici utilizzando una procedura adeguata. Sono disponibili in commercio numerosi kit di purificazione di acidi nucleici. Si prega di eseguire il processo di purificazione in accordo alle istruzioni del produttore a partire dal volume di campione raccomandato.

Sistema di purificazione validato:

- ArrowLIAISON® DXT (reference 12.08.02 Viral NA Extracation Kit), DiaSorin.

I kit RealCycler sono compatibili con la maggior parte dei sistemi di purificazione, tra i quali:

- BioRobot EZ1, Qiagen.
- QIAamp DNA Blood Mini kit, Qiagen.
- QIAcube, Qiagen.
- MagCore® Automated Nucleic Acid Extractor, RBCBioscience.
- Maxwell® 16 Cell LEV DNA Purification kit, Promega Corporation.
- NucleoSENS® easyMAG®, bioMérieux.

c) Profilo termico

Impostare il protocollo di amplificazione "PJIR" in accordo con le seguenti specificazioni:

Tempo	Temperatura	Cicli	Fluorescenza
15.00	95 °C	1	OFF
0.15	95 °C		OFF
0.30	60 °C	45	ON
0.30	72 °C		OFF

d) Preparazione della reazione

- Scongellare l'Amplimix PJIR Chic-Out e il Controllo Positivo PJIR.
- Preparare un numero adeguato di tubi di reazione, per i campioni e per i controlli.

d.1) SmartCycler® (Cepheid®)

- Pipettare 17,5 µL di AmpliMix in ciascun tubo di reazione.
- Aggiungere 7,5 µL di DNA di ogni campione o del controllo in ciascun tubo.
- Spinnare i tubi perché la reazione ci sia nella zona ottica del tubo. Verificare l'assenza di bolle in tale area.
- Caricare i tubi nello strumento.
- Create Run > Dye Set > FATA25.

- Add/Remove Sites: assegnare il protocollo "PJIR" alle posizioni corrispondenti ai campioni e ai controlli.
- Start Run: Avviare il programma di amplificazione.

d.2) ABI 7500 (Thermo Fisher Scientific)

- Aprire il software ABI 7500 (versione 2.0.6).
- Set up > Advanced Set up.
- Selezionare tipo di esperimento Quantitation-Standard Curve.
- Selezionare TaqMan® Reagents.
- Definire un Template con il profilo termico PJIR.
- Selezionare in Add New Target fino ad avere 4 righe disponibili. Introdurre i nomi dei fluorofori corrispondenti in accordo alla seguente tabella.

Target Name	Reporter	Quencher
FAM	FAM	None
HEX	VIC	None
TxR	TxR	None
ATTO647N	CYS	None

- Pipettare 14 µL di AmpliMix in ciascun tubo di reazione.
- Aggiungere 6 µL di DNA di ogni campione o del controllo in ciascun tubo.
- Spinnare i tubi. Verificare l'assenza di bolle.
- Introdurre i tubi di reazione nello strumento.
- File > New experiment > From template > Selezionare protocollo PJIR > Open.
- Selezionare Plate Setup.
- Selezionare Assign Targets and Samples.
- Selezionare Assign per tutti i Targets definiti.
- Select the dye to use as passive reference > None.
- Selezionare Run Method.
- Reaction volume per well > 20 µL.
- Start run.

d.3) CFX96™ (Bio-Rad)

- Pipettare 14 µL di AmpliMix in ciascun tubo di reazione.
- Aggiungere 6 µL di DNA di ogni campione o del controllo in ciascun tubo.
- Spinnare i tubi. Verificare l'assenza di bolle.
- Introdurre i tubi di reazione nello strumento.
- Aprire il software CFX™ Manager (versione 1.8).
- Selezionare File > New Plate > Selezionare tutta la piastra o i pocetti utilizzati.
- Selezionare Sample type > Unknown > OK.
- Selezionare i canali: FAM, HEX, TxR e Cy5.
- Nella finestra Experiment Setup > Protocol > Select Existing > selezionare il protocollo PJIR (indicare 20 µL di Volume) > Save > Start Run.

d.4) Rotor-Gene® Q (Qiagen)

- È indispensabile processare solo una AmpliMix RealCycler in ogni corsa dovuto al calcolo della sottrazione di fluorescenza dello strumento.
- Pipettare 14 µL di AmpliMix in ciascun tubo di reazione.
- Aggiungere 6 µL di DNA di ogni campione o del controllo in ciascun tubo.
- Mettere i tubi nello strumento. È indispensabile compensare la posizione non utilizzato del rotore e aggiungere sempre il Controllo Positivo della AmpliMix nella posizione 1 del tubo.
- File > New > Selezionare PJIR > New.
- Select rotortype > 36 well Rotor > Select Locking Ring Attached > Next.
- Indicare il volume di reazione 20 µL > Next.
- In Edit profile confermare il profilo termico e i canali (Green, Yellow, Orange e Red).
- Selezionare Gain optimization > nella finestra Auto-Gain-Optimization setup selezionare Perform Optimization Before 1st Acquisition > Selezionare Optimize all per selezionare Auto-Gain-Optimization per ogni canale. Selezionare Target Sample Range: 5 FI up to 10 FI > OK.
- Selezionare Tube position 1 per tutti i canali > Close > Next > Start Run.
- Nella finestra New Run Wizard, assegnare il nome dei campioni (dal 1 al 36) > Finish.

d.5) Altri strumenti

- Pipettare 14 µL di AmpliMix in ciascun tubo di reazione.
- Aggiungere 6 µL di DNA di ogni campione o del controllo in ciascun tubo.
- Introdurre i tubi di reazione nello strumento.
- Selezionare i fluorofori corrispondenti.
- Selezionare il protocollo "PJIR".
- Avviare il programma di amplificazione.

e) Regolare la soglia di fluorescenza

Una volta la corsa è finita si devono fissare le soglie di fluorescenza per ogni canale secondo i valori indicati a continuazione. Questo adeguamento è indispensabile per la corretta interpretazione dei risultati.

Se si utilizza l'applicazione informatica Visor RealCycler non si necessita aggiustare questi valori perché sono inclusi nella banca dati.

e.1) SmartCycler® (Cepheid®)

- Analysis settings > Manual Thresh Fluor Units > 30.0.

e.2) ABI 7500 (Thermo Fisher Scientific)

- Nella finestra di Analysis fare clic su Analysis Settings.
- Nella finestra che appare fare clic su Edit Default Settings.
- Deselezionare Automatic Threshold.
- Indicare Threshold Target a Target.

Target 1 (P. jirovecii): 20.000.
Target 2 (CHIC): 10.000.

- Selezionare Save Changes.
- Selezionare Apply Analysis Settings.

e.3) CFX96™ (Bio-Rad)

Regolare la soglia di fluorescenza per ogni canale.

- FAM Settings > Baseline Threshold > User defined > 250 > OK.
- HEX Settings > Baseline Threshold > User defined > 250 > OK.

e.4) Rotor-Gene® Q (Qiagen)

Regolare la soglia di fluorescenza per ogni canale.

Green: CT calculation > Threshold > 0.02.
Yellow: CT calculation > Threshold > 0.01.

e.5) Altri strumenti

Si raccomanda di fare analisi con campioni di risultato conosciuto (positivi e negativi) per stabilire la segnale basale e fissare le soglie di fluorescenza.

f) Interpretazione dei risultati dei controlli

- Risultati validi dei controlli

Controlli	Canali			
	Ch1 FAM	Ch2 HEX CHIC	Ch3 T ₊ R	Ch4 ATT0647N
POS	POS	NEG	-	-
NEG	NEG	POS	-	-

- Utilizzare come Controllo Positivo il flacone fornito nel kit.
- Utilizzare come controllo negativo DNA di un campione negativo al quale è stato aggiunto CHIC previamente alla sua estrazione.

- Risultati invalidi dei controlli

In caso di ottenere un risultato negativo in alcun canale del Controllo Positivo (eccetto CHIC) il risultato è invalido. I risultati ottenuti nei campioni inclusi nella serie di lavoro devono essere scartati (non valutabili).

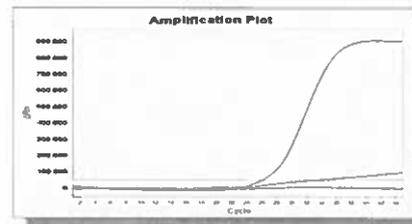
In caso di ottenere un risultato positivo (CT > 40) in alcun canale del controllo negativo (eccetto CHIC) il risultato è invalido. I risultati ottenuti nei campioni inclusi nella serie di lavoro devono essere scartati (non valutabili).

g) Interpretazione dei risultati dei campioni

Interpretare il risultato ottenuto in ogni campione secondo la combinazione dei segnali indicati nella tabella seguente

Canali	Ch1	Ch2	Ch3	Ch4	Interpretazione
	FAM	HEX CHIC	T ₊ R	ATT0647N	
POS	Indifferente	-	-	-	POSITIVO P. jirovecii
NEG	POS	-	-	-	NON SI RILEVA
NEG	NEG	-	-	-	NON VALUTABILE

h) Esempio di un risultato



Risultati ottenuti da processare un campione positivo (verde) e un campione negativo (blu). Campione positivo: curva esponenziale. Campione negativo: segnale sotto soglia. Altre forme di curve devono essere considerate anomale e vanno interpretati come segnali individuali: come i segnali linear (rosa) al di sopra della soglia.

10 Interpretazione dei risultati utilizzando l'applicazione informatica Visor RealCycler

Si raccomanda utilizzare il Visor RealCycler, compatibile con gli strumenti di Real-time PCR più usati.

Specificazioni

- Gestione degli utenti e dei permessi.
- Importazione dei dati dallo strumento da PCR.
- Soglia di fluorescenza predefinita.
- Interpretazione dei risultati di ogni campione secondo il risultato di CHIC.
- Interpretazione della serie secondo il risultato dei controlli.
- Monitoraggio delle possibili incidenze.
- Quantificazione simultanea di diversi patogeni.
- Calcolo automatico della carica del patogeno nel campione.
- Generazione di un report con i risultati.
- Conservazione delle rette di calibrazione.
- Archivio delle serie di lavoro.



11 Controllo qualità

Ciascun lotto di RealCycler PJIR-UX / PJIR-GX è stato testato in accordo alle specifiche del metodo Real-time PCR utilizzando lo strumento SmartCycler® (Cepheid®).

www.progenie-molecular.com

Supporto tecnico soporia@progenie-molecular.com

12 Osservazioni

I reagenti *RealCycler* includono i fluorofori FAM, HEX, TxR e ATTO647M che emettono nelle lunghezze d'onda indicate nella tabella (considerate canali del 1 al 4). Se uno strumento non riconosce esplicitamente questi fluorofori, deve essere configurato in accordo a uno di questi criteri

- 1) Selezione di lunghezze d'onda d'emissione equivalente alle indicate nella tabella.
- 2) Selezione di fluorofori equivalenti (emettono nelle stesse lunghezze d'onda che gli utilizzati nel reagente).

Canale	Fluoroforo usato	Emissione (nm)	Fluorofori equivalenti
Ch1	FAM	519	---
Ch2	HEX	556	JOE, VIC, Alexa 532, CAL Fluor Orange 560
Ch3	Texas Red	610	RDX, LC Red 610, CAL Fluor Red 610
Ch4	ATTO647M	669	Cy5, Alexa 647, LC Red 670, Quasar 670, Oyster 645

Data di pubblicazione: Novembre, 2016.

Ciao, sono CalaSmart. Posso aiutarti?
soporia@progenie-molecular.com



Marchi registrati proprietà di altre compagnie: ABI 7500 (Thermo Fisher Scientific), CapScribe® e SmartCycler® (Cepheid Corporation), CFX96™ (Bio-Rad), Real-Cycler® G (Qiagen), ArrayUNISON® E1T (BioSera), BioRobot E21, QIAamp e QIAcube (Qiagen), MagCore® Automated Nucleic Acid Extractor (RBC Bioscience), Maxwell® (Promega Corporation), NucliSENS® easyMAG® (bioMérieux).

Progenie Molecular
 Edificio Progenie, Valle de la Ballestera 56 46015, España
 T: +34 902 91 05 05 F: +34 902 91 05 06
www.progenie-molecular.com