



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](mailto:emd.support@elitechgroup.com)  
WEB site: [www.elitechgroup.com](http://www.elitechgroup.com)

## NOTICE of CHANGE dated 06/03/2026

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

### «HSV1/2 ELITE MGB<sup>®</sup> Kit» Ref. RTK403ING

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

- *Alignment with the current version of ISO 18113:2022*
- *Update of the paragraphs “Symbols” and “Notice to Purchaser: Limited License”.*

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



DIESE FASSUNG DER GEBRAUCHSANLEITUNG IST KOMPATIBEL MIT DER VORHERIGEN VERSION DES TESTKITS



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

Oficinas: Tel. 39-011 976 191 Fax 39-011 936 76 11  
Email: emd.support@elitechgroup.com  
WEB site: www.elitechgroup.com

## HSV 1&2 ELITe MGB® Kit

reactivos para la amplificación de PCR de ADN en tiempo real

REF RTK403ING



### ÍNDICE

USO PREVISTO	página 1
PRINCIPIO DEL ENSAYO	página 2
DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO	página 3
MATERIAL PROVISTO EN EL KIT	página 3
MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO	página 3
OTROS PRODUCTOS NECESARIOS	página 4
ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES	página 4
MUESTRAS Y CONTROLES	página 5
PROCEDIMIENTO	página 6
CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO	página 12
BIBLIOGRAFÍA	página 22
LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO	página 23
PROBLEMAS Y SOLUCIONES	página 24
SÍMBOLOS	página 25
AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA	página 26

### USO PREVISTO

El producto **HSV 1&2 ELITe MGB® Kit** es un producto sanitario para diagnóstico *in vitro* concebido para uso por parte de profesionales sanitarios como ensayo cualitativo de ácidos nucleicos mediante PCR en tiempo real para la detección y la diferenciación de ADN de virus del herpes simple tipo 1 y 2 (VHS1 y VHS2), extraído de muestras clínicas.

El ensayo se ha validado con el instrumento **ELITe InGenius®**, un sistema automatizado e integrado para la extracción, la PCR en tiempo real y la interpretación de los resultados utilizando muestras humanas de hisopados de lesiones cutáneas o subcutáneas en paciente con signos o síntomas de una infección por VHS1 o VHS2.

El producto sirve como ayuda en el diagnóstico diferencial de las infecciones por el VHS1 y el VHS2 junto con los datos clínicos y los resultados de otras pruebas analíticas del paciente.

Los resultados deben interpretarse en combinación con todas las observaciones clínicas pertinentes del paciente así como los resultados de otras pruebas de laboratorio.

## PRINCIPIO DEL ENSAYO

El ensayo consiste en la realización de una reacción múltiple de amplificación en tiempo real con el **ELITE InGenius**, un sistema integrado y automatizado para la extracción, amplificación y detección, así como para la interpretación de los resultados.

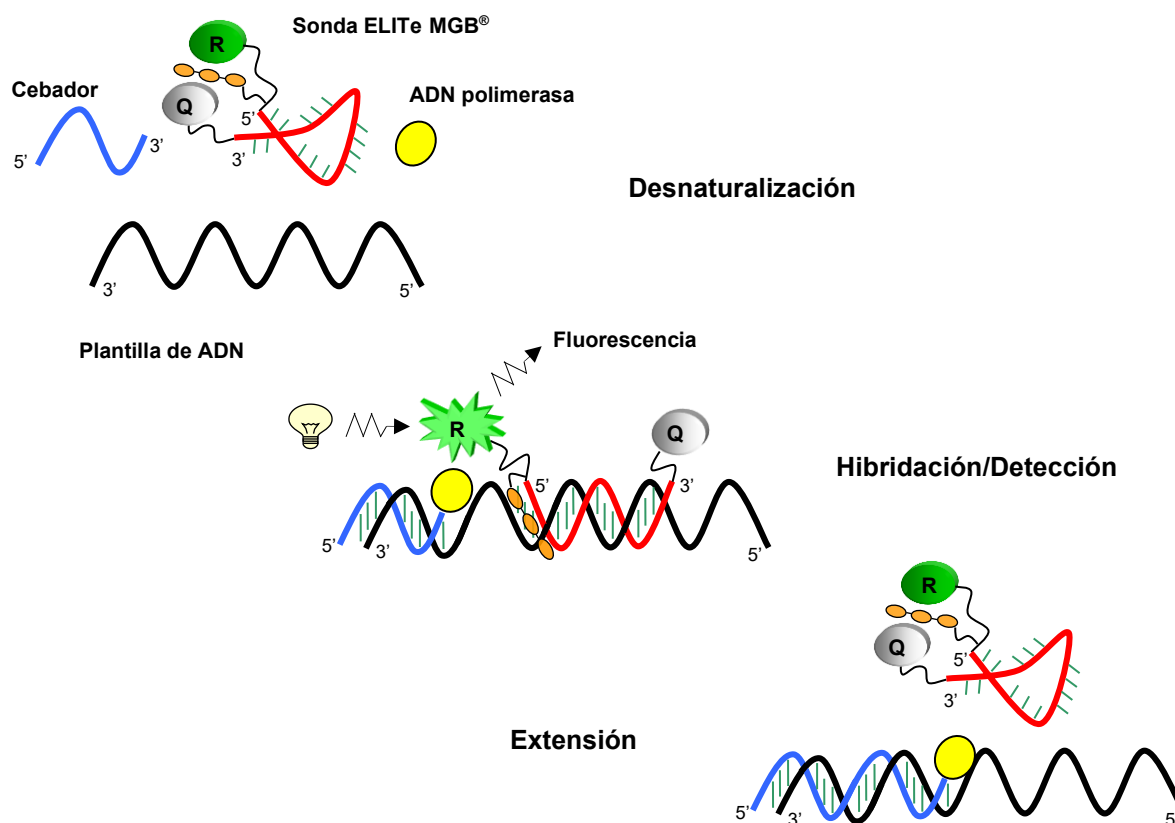
A partir del ADN extraído de cada muestra analizada, la **mezcla PCR del HSV 1 y 2** realiza varias reacciones de amplificación diferentes en el cartucho de PCR con el fin de amplificar las dianas siguientes:

- **HSV1** (gen de la glucoproteína D), detectado mediante la sonda específica en el canal **HSV1** del sistema ELITE InGenius (canal 4). La sonda específica del HSV1 se marca con el fluoróforo AP593, se estabiliza con el grupo MGB® y se inactiva con una porción no fluorescente.
- **HSV2** (gen de la glucoproteína G), detectado mediante la sonda específica del canal **HSV2** del sistema ELITE InGenius (canal 1). La sonda específica del HSV2 se marca con el fluoróforo FAM, se estabiliza con el grupo MGB® y se inactiva mediante una porción no fluorescente.
- **Control interno** (IC2 de la secuencia artificial), detectado mediante la sonda específica del canal **IC** del sistema ELITE InGenius (canal 2). La sonda específica del IC se marca con el fluoróforo AP525, se estabiliza con el grupo MGB® y se inactiva mediante una porción no fluorescente,

Las sondas que cuentan con la tecnología ELITE MGB® se activan cuando se hibridan con el producto específico de la reacción de amplificación. El instrumento mide y registra la emisión de fluorescencia. Al finalizar la sesión de amplificación, los gráficos de fluorescencia se analizan para identificar los ciclos umbral (Ct). La interpretación de los resultados permite detectar la presencia de los patógenos de interés.

El ensayo se ha validado con el **ELITE InGenius®**, un sistema integrado y automatizado para la extracción, amplificación y detección de ácidos nucleicos.

En la siguiente ilustración, se muestra de forma esquemática el mecanismo de activación y emisión de fluorescencia de la sonda con tecnología ELITE MGB®. Tenga en cuenta que la sonda no se hidroliza durante el ciclo de amplificación, por lo que puede utilizarse para el análisis de la curva de disociación.



**PRESENTACIÓN DEL KIT**

El producto «**HSV 1&2 ELITE MGB® Assay**» incluye los siguientes componentes:

• **HSV 1&2 PCR Mix**

Una mezcla de oligonucleótidos cebadores y sondas para la amplificación en tiempo real, en una solución estabilizadora, dividida en alícuotas en ocho probetas (tapón amarillo). Cada probeta contiene **280 µL** de solución, suficiente para **12 análisis** (procesando al menos 2 muestras por sesión) cuando se usa el sistema ELITE InGenius.

• **HSV 1&2 Negative Control**

Agua sin desoxirribonucleasa ni ribonucleasa, dividida previamente en alícuotas en dos probetas (tapón blanco). Cada probeta contiene **1800 µL** de agua, suficiente para **8 sesiones** (procesando 200 µL en una sesión integrada) cuando se utiliza el sistema **ELITE InGenius**.

• **HSV 1&2 Positive Control**

Una solución tamponada que contiene las plantillas de ADN plasmídico para el HSV1 y el HSV2, dividida previamente en alícuotas en dos probetas (tapón rojo). Cada probeta contiene **1800 µL** de solución, suficiente para **8 sesiones** (procesando 200 µL en una sesión integrada) cuando se utiliza el sistema **ELITE InGenius**.

• **HSV 1&2 Internal Control**

Solución tamponada que contiene el bacteriófago M13 recombinante con el IC2 de la secuencia artificial clonada en el genoma bacteriófago, dividida previamente en alícuotas en ocho probetas (tapón neutro). Cada probeta contiene **160 µL** de solución, suficiente para **12 extracciones** (procesando 10 µL por sesión) cuando se utiliza el sistema **ELITE InGenius**.

• **Sample Dilution Buffer**

La solución tampón de dilución de la muestra se utiliza para la dilución de la muestra cuando las muestras del análisis tienen una concentración demasiado alta según las indicaciones del software ELITE InGenius (error 30103). La solución tampón de dilución de la muestra es una solución tamponada, dividida previamente en alícuotas en ocho probetas (tapón marrón). Cada probeta contiene **1000 µL** de solución.

El kit es suficiente para **96 análisis utilizando el ELITE InGenius**, incluidos los controles.

**MATERIAL PROPORCIONADO CON EL KIT**

Caja	Componente	Descripción	Cantidad	Clasificación de peligros
1	HSV 1&2 PCR Mix	Mezcla de reacción para el HSV 1 y 2 <b>Tapón AMARILLO</b>	8 × 280 µL	-
	HSV 1&2 Negative Control	Agua sin desoxirribonucleasa ni ribonucleasa <b>Tapón BLANCO</b>	2 × 1800 µL	-
2	HSV 1&2 Internal Control	Solución de bacteriófago recombinante <b>Tapón NEUTRO</b>	8 × 160 µL	-
3	HSV 1&2 Positive Control	Solución de ADN plasmídico <b>Tapón ROJO</b>	2 × 1800 µL	-
	Sample Dilution Buffer	Solución tamponada <b>Tapón NARRON</b>	8 × 1000 µL	-

**MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL KIT**

- Campana de flujo laminar o cabina de seguridad biológica.
- Guantes sin talco desechables de nitrilo o de otro material similar.
- Agitadora vorticial.
- Microcentrifugadora de mesa (12.000–14.000 rpm).
- Micropipetas y puntas estériles con filtro para aerosoles o puntas estériles de desplazamiento positivo (2–20 µL, 5–50 µL, 50–200 µL, 200–1000 µL).

## OTROS PRODUCTOS NECESARIOS

Los reactivos para la extracción del ADN de las muestras que van a analizarse y los consumibles **no** están incluidos en el volumen de suministro de este producto.

Para la extracción automática del ADN, la PCR en tiempo real y la interpretación de los resultados de las muestras, es necesario utilizar el instrumento «**ELITE InGenius**» (ELITechGroup S.p.A., ref. INT030 y INT030-K) y los siguientes protocolos de ensayo específicos (ELITechGroup S.p.A.):

- parámetros para el control positivo de extracción y amplificación «**HSV ELITE\_PC**»,
- parámetros para el control negativo de extracción y amplificación «**HSV ELITE\_NC**»,
- parámetros para las muestras que deben procesarse y analizarse «**HSV ELITE\_MCS\_200\_50**».

Con el instrumento «**ELITE InGenius**», es necesario utilizar los siguientes productos genéricos:

- cartuchos de extracción «**ELITE InGenius® SP 200**» (ELITechGroup S.p.A., ref. INT032SP200),
- consumibles para extracción y amplificación «**ELITE InGenius® SP 200 Consumable Set**» (ELITechGroup S.p.A, ref. INT032CS),
- cartuchos de amplificación «**ELITE InGenius® PCR Cassette**» (ELITechGroup S.p.A, ref. INT035PCR),
- puntas «**300 µL Filter Tips Axygen**» (Axygen BioScience Inc., CA, USA, ref. TF-350-L-R-S),
- cajas «**ELITE InGenius® Waste Box**» (ELITechGroup S.p.A, ref. F2102-000).

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

**Este producto está diseñado para su uso exclusivo *in vitro*.**

### Advertencias y precauciones generales

Manipular y eliminar todas las muestras biológicas como si fueran potencialmente infecciosas. Evitar el contacto directo con las muestras biológicas. No derramar ni rociar ningún producto. Los materiales que entran en contacto con las muestras biológicas deben tratarse durante al menos 30 minutos con hipoclorito de sodio al 3%, o tratarse en autoclave durante una hora a 121°C antes de su eliminación.

Manipular y eliminar todos los reactivos y materiales utilizados para realizar el ensayo como si fueran potencialmente infecciosos. Evitar el contacto directo con los reactivos. No derramar ni rociar ningún producto. Los residuos deben tratarse y eliminarse conforme a las normas de seguridad aplicables. El material desechable combustible debe incinerarse. Los residuos líquidos que contienen ácidos o bases deben neutralizarse antes de eliminarlos.

Usar ropa de protección y guantes adecuados y protegerse los ojos y la cara.

No pipetear ninguna solución con la boca.

No comer, beber, fumar ni aplicarse cosméticos en el área de trabajo.

Lavarse bien las manos después de manipular muestras y reactivos.

Eliminar los reactivos sobrantes y los residuos conforme a las normas vigentes.

Consultar la versión actual de las instrucciones de uso disponibles en línea.

Antes de realizar el ensayo, leer atentamente todas las instrucciones proporcionadas con el producto.

Para realizar el ensayo, seguir las instrucciones proporcionadas con el producto.

No utilizar el producto después de la fecha de caducidad indicada.

Utilizar únicamente los reactivos incluidos en el volumen de suministro del producto y los recomendados por el fabricante.

No utilizar reactivos procedentes de lotes diferentes.

No utilizar reactivos de otros fabricantes.

### Advertencias y precauciones para los procedimientos de biología molecular

Con el fin de evitar el riesgo de resultados incorrectos, sobre todo debido a la degradación de los ácidos nucleicos de las muestras o a la contaminación de estas con productos de amplificación, para los procedimientos de biología molecular se requiere personal cualificado.

Es necesario disponer de batas, guantes y herramientas expresamente destinados a la sesión de trabajo de que se trate.

Las muestras deben ser aptas y, en la medida de lo posible, estar destinadas exclusivamente a este tipo de análisis. Las muestras deben manipularse bajo una campana de flujo laminar. Las pipetas utilizadas para manipular las muestras deben destinarse exclusivamente a dicho propósito. Las pipetas deben ser del tipo de desplazamiento positivo o utilizarse con puntas con filtro para aerosoles. Las puntas utilizadas deben ser estériles y no deben contener desoxirribonucleasas ni ribonucleasas, ni tampoco ADN ni ARN.

Los cartuchos de PCR deben manipularse evitando en lo posible la dispersión del producto de amplificación en el entorno para que las muestras y los reactivos no se contaminen.

#### Advertencias y precauciones específicas de los componentes

- **HSV1 &2 PCR Mix**

La **HSV 1&2 PCR Mix** debe conservarse a -20°C en un lugar protegido de la luz.

La **HSV 1&2 PCR Mix** puede congelarse y descongelarse un máximo de **cinco veces**: más ciclos de congelación y descongelación pueden reducir el rendimiento del producto.

- **HSV 1&2 Negative Control**

El **HSV1&2 ELITE Negative Control** debe conservarse a -20°C.

- **HSV 1&2 Positive Control**

El **HSV 1&2 Positive Control** debe conservarse a -20°C.

El **HSV 1&2 Positive Control** puede congelarse y descongelarse un máximo de **cinco veces**: más ciclos de congelación y descongelación pueden reducir el rendimiento del producto.

- **HSV 1&2 Internal Control**

El **HSV 1&2 Internal Control** debe conservarse a -20°C.

El **HSV 1&2 Internal Control** puede congelarse y descongelarse un máximo de **cinco veces**: más ciclos de congelación y descongelación pueden reducir el rendimiento del producto.

- **Sample Dilution Buffer**

La **Sample Dilution Buffer** debe conservarse a -20°C.

## MUESTRAS Y CONTROLES

### Muestras

Este producto debe utilizarse con las siguientes muestras clínicas:

#### Muestras de exudados de lesiones cutáneas y mucocutáneas

Las muestras de exudados de lesiones cutáneas y mucocutáneas para la extracción de ADN deben recogerse y conservarse en medios de transporte de virus UTM, M4, M4RT, M5 o M6, así como certificarse de acuerdo con las directrices para laboratorios. Las muestras deben transportarse y conservarse en un frigorífico (de +2°C a +8°C) durante un máximo de 7 días, o a -70°C durante un máximo de 3 meses.

Dividir las muestras en alícuotas antes de la congelación para evitar ciclos repetidos de congelación y descongelación.

Conservar los ácidos nucleicos purificados de a +2°C a +8°C si van a utilizarse el mismo día de la extracción, o a -20°C si van a conservarse durante más tiempo.

**Nota:** Para realizar la extracción del ADN de muestras de exudados de lesiones mucocutáneas utilizando el **ELITE InGenius** y la versión **1.3** del **software ELITE InGenius** (o versiones posteriores), utilizar el protocolo de ensayo: **HSV ELITE\_MCS\_200\_50**. Este protocolo procesa 200 µL de muestra, añade 10 µL de **control interno de HSV 1 y 2** por extracción y eluye los ácidos nucleicos en 50 µL.

Las muestras proporcionadas en una probeta primaria compatible con ELITE InGenius (probeta con tapón roscado de 12 mm×80 mm o 13x100 con forma cónica interna, Copan Italia S.p.A. o similar) con un volumen de muestra de al menos 2,2 mL pueden colocarse directamente en la gradilla primaria de muestras ELITE InGenius. Las muestras proporcionadas en una probeta que no es compatible con el ELITE InGenius, o que tienen un volumen de muestra inferior a 2,2 mL, necesitan que se transfiera una alícuota de 200 µL a una probeta para ultrasonidos colocada en una gradilla de probetas para ultrasonidos de ELITE InGenius. Para obtener más información, consultar el manual de usuario de ELITE InGenius (SCH mINT030\_en).

#### Controles de extracción y amplificación

Antes de analizar una muestra, es indispensable preparar y aprobar los controles de extracción y amplificación correspondientes para el lote de reactivos de amplificación que se desea utilizar en el análisis:

Como control positivo, utilizar el **HSV 1&2 Positive Control** incluido en el volumen de suministro de este kit, junto con el protocolo **HSV ELITE\_PC**.

Como control negativo, utilizar el **HSV 1&2 Negative Control** incluido en el volumen de suministro de este kit, junto con el protocolo **HSV ELITE\_PC**.

**Nota:** El sistema **ELITE InGenius** requiere resultados aprobados y válidos de los controles de extracción y amplificación para cada lote de reactivos guardado en su base de datos.

Los resultados de los controles, aprobados y guardados en la base de datos, caducan **después de 15 días**. Al llegar la fecha de caducidad, es necesario volver a procesar los controles positivo y negativo con el lote de reactivos de amplificación utilizado.

Además, los controles de extracción y amplificación deben volver a procesarse en los siguientes casos:

- Se utiliza un nuevo lote de reactivos de amplificación.
- Los resultados de los análisis de control (consultar el apartado siguiente) se encuentran fuera de las especificaciones.
- Se realiza una operación importante de mantenimiento en el instrumento **ELITE InGenius**.

### Controles de calidad

Se recomienda validar periódicamente todo el procedimiento de extracción y amplificación. Se pueden utilizar muestras ya analizadas o material de referencia certificado.

## PROCEDIMIENTO

El procedimiento para utilizar el producto **HSV 1&2 ELITE MGB® Kit** con el sistema **ELITE InGenius** comprende tres pasos:

- Verificación de la disponibilidad del sistema.
- Configuración de la sesión.
- Revisión y aprobación de los resultados

### Verificación de la disponibilidad del sistema

Antes de iniciar la sesión, es necesario realizar las siguientes tareas siguiendo las indicaciones de la documentación del instrumento:

- Encender el instrumento **ELITE InGenius** y seleccionar el modo de inicio de sesión «**CLOSED**».
- Comprobar que los controles de extracción y amplificación (controles, control positivo del HSV 1 y 2, control negativo del HSV 1 y 2) se han procesado con el lote de reactivos de amplificación pertinente y que los resultados se han aprobado y son válidos (estado). Si no se dispone de resultados aprobados o válidos de los controles de extracción y amplificación, es necesario generarlos tal como se indica en los siguientes apartados.
- Seleccionar el tipo de sesión siguiendo las instrucciones de la interfaz de usuario para configurar la sesión y utilizando los protocolos de ensayo proporcionados por ELITechGroup S.p.A. Estos protocolos de diagnóstico *in vitro* se han validado específicamente con los kits **ELITE MGB®**, el instrumento **ELITE InGenius** y la matriz mencionada.

En la tabla siguiente, se describe el protocolo de ensayo disponible para el análisis de muestras con el producto **HSV 1&2 ELITE MGB® Kit**.

Protocolo de ensayo para el producto HSV 1&2 ELITE MGB® Kit			
Nombre	Matriz	Informe	Características
HSV ELITE_MCS_200_50	Muestras de exudados de lesiones cutáneas y mucocutáneas	Positivo/ Negativo	Volumen de entrada de extracción: 200 µL Volumen del eluido de extracción 50 µL Control interno: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1 Volumen de la mezcla de PCR: 20 µL Volumen de entrada de PCR de la muestra: 10 µL

Si el protocolo de ensayo deseado no está cargado en el sistema, contactar con el servicio de atención al cliente de ELITechGroup más cercano.

### Configuración de la sesión

El producto **HSV 1&2 ELITE MGB® Kit** puede utilizarse con el sistema **ELITE InGenius** para realizar las siguientes tareas:

- A. Sesión integrada (modo de procesamiento «Extract + PCR»).
- B. Sesión de amplificación (modo de procesamiento «PCR Only»).
- C. Sesión integrada del control positivo y del control negativo (modo de procesamiento «Extract + PCR»).

Todos los parámetros necesarios para la sesión están incluidos en el protocolo de ensayo disponible en el instrumento y se abren automáticamente al seleccionar el protocolo de ensayo.

**Nota:** El sistema ELITE InGenius puede conectarse al sistema de información de laboratorios (LIS, «Laboratory Information System»), que permite cargar la información de la sesión de trabajo. Para obtener más información, consultar el manual de instrucciones del instrumento.

A continuación, se describen los pasos principales para configurar los tres tipos de sesión.

#### **A. Sesión integrada**

Para configurar una sesión integrada con la extracción y amplificación de la muestra, seguir las instrucciones de la interfaz de usuario que se indican a continuación:

1. Descongelar la probeta de la mezcla de PCR del HSV 1 y 2 para la sesión. Una probeta es suficiente para 12 reacciones en condiciones óptimas de consumo de reactivos (con al menos 2 muestras por sesión de trabajo). Mezclar suavemente y centrifugar el contenido durante 5 segundos.

**Nota:** Descongelar la mezcla de PCR del HSV 1 y 2 en un lugar oscuro, pues el reactivo es sensible a la luz.

2. Descongelar las probetas del control interno de HSV 1 y 2 para la sesión. Cada probeta es suficiente para 12 extracciones. Mezclar suavemente y centrifugar el contenido durante 5 segundos.
3. Seleccionar «Perform Run» en la pantalla «Home».
4. Asegurarse de que el volumen de entrada de extracción («Extraction Input Volume») sea de 200 µL y el volumen de eluido extraído («Extracted Eluate Volume»), de 50 µL.
5. Para cada pista deseada, rellenar el ID de la muestra («SampleID» o SID) escribiendo o escaneando el código de barras de la muestra.
6. En la columna «Assay», seleccionar el protocolo de ensayo que se desea utilizar (p. ej., HSV ELITE\_MCS\_200\_50).
7. Asegurarse de que el protocolo que se muestra sea «Extract + PCR».
8. En la columna «Sample Position», seleccionar la posición de carga de la muestra.
  - Si se utiliza una probeta primaria, seleccionar «Primary Tube».
  - Si se utiliza una probeta secundaria, seleccionar «Sonication Tube».Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
9. Cargar la mezcla de PCR del HSV 1 y 2 y el control interno del HSV 1 y 2 en el bloque de inventario seleccionado siguiendo las instrucciones de la interfaz de usuario.
10. Cargar y revisar las gradillas de puntas en el área de inventario seleccionada siguiendo las instrucciones de la interfaz de usuario. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
11. Cargar los cartuchos de PCR, así como los cartuchos de extracción «ELITE InGenius SP 200», todos los consumibles necesarios y las muestras que deben extraerse, siguiendo las instrucciones de la interfaz de usuario. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
12. Cerrar la puerta del instrumento.
13. Presionar «Start» para iniciar la sesión.

Una vez finalizado el proceso, el sistema **ELITE InGenius** permite mostrar, aprobar y guardar los resultados, así como imprimir y guardar el informe.

**Nota:** Al finalizar la sesión, la muestra no extraída que queda en la probeta primaria debe extraerse del instrumento, taparse y conservarse. Evitar derramar la muestra no extraída.

**Nota:** Al finalizar la sesión, la muestra extraída que queda en la probeta de elución debe extraerse del instrumento, taparse, identificarse y conservarse a -20°C. Evitar derramar la muestra extraída.

**Nota:** Al finalizar la sesión, los cartuchos de PCR que contienen los productos de reacción y los consumibles deben extraerse del instrumento y eliminarse sin contaminar el medio ambiente. Evitar derramar los productos de reacción.

**Nota:** La mezcla de PCR puede guardarse en el bloque refrigerado durante un máximo de 2 sesiones de trabajo de 3 horas cada una y durante el tiempo necesario para configurar una tercera sesión de trabajo.

## **B. Serie de amplificación**

Para configurar una sesión de amplificación a partir de los ácidos nucleicos extraídos, seguir las instrucciones de la interfaz de usuario que se indican a continuación:

1. Descongelar la probeta de la mezcla de PCR del HSV 1 y 2 para la sesión. Cada probeta es suficiente para 12 reacciones en condiciones óptimas de consumo de reactivos (con al menos 2 análisis por sesión). Mezclar suavemente y centrifugar el contenido durante 5 segundos.

**Nota:** Descongelar la mezcla de PCR del HSV 1 y 2 en un lugar oscuro, pues estos reactivos son sensibles a la luz.

2. Seleccionar «Perform Run» en la pantalla «Home».
3. Aunque no vaya a realizarse la extracción, asegurarse de que «Extraction Input Volume» esté configurado a 200 µL, y «Extracted Eluate Volume», a 50 µL.
4. Para cada pista deseada, rellenar el ID de la muestra escribiendo o escaneando el código de barras de la muestra.
5. En la columna «Assay», seleccionar el protocolo de ensayo que se desea utilizar (p.ej., HSV ELITE\_MCS\_200\_50).
6. En la columna «Protocol», seleccionar «PCR Only».
7. Asegurarse de que la posición de carga de la muestra de la columna «Sample Position» sea «Elution Tube (fila inferior)». Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
8. Cargar la mezcla de PCR del HSV 1 y 2 en el bloque de inventario siguiendo las instrucciones de la interfaz de usuario. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
9. Cargar y revisar las gradillas de puntas en el área de inventario seleccionada siguiendo las instrucciones de la interfaz de usuario. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
10. Cargar los cartuchos «PCR Cassette» y las muestras de los ácidos nucleicos extraídos siguiendo las instrucciones de la interfaz de usuario. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
11. Cerrar la puerta del instrumento.
12. Presionar «Start» para iniciar la sesión.

Una vez finalizado el proceso, el sistema **ELITE InGenius** permite mostrar, aprobar y guardar los resultados, así como imprimir y guardar el informe.

**Nota:** Al finalizar la sesión, la muestra extraída que queda en la probeta de elución debe extraerse del instrumento, taparse y conservarse a -20°C. Evitar derramar la muestra extraída.

**Nota:** Al finalizar la sesión, los cartuchos de PCR que contienen los productos de reacción y los consumibles deben extraerse del instrumento y eliminarse sin contaminar el medio ambiente. Evitar derramar los productos de reacción.

**Nota:** La mezcla de PCR puede guardarse en el bloque refrigerado durante un máximo de 2 sesiones de trabajo de 3 horas cada una y durante el tiempo necesario para configurar una tercera sesión de trabajo.

### C. Sesión integrada del control positivo y del control negativo

Para configurar la sesión integrada con la extracción y amplificación del control positivo y del control negativo, seguir las instrucciones de la interfaz de usuario que se indican a continuación:

1. Descongelar la probeta de la mezcla de PCR del HSV 1 y 2 para la sesión. Una probeta es suficiente para preparar 12 reacciones en condiciones óptimas de consumo de reactivos (con al menos 2 análisis por sesión). Mezclar suavemente y centrifugar el contenido durante 5 segundos.

**Nota:** Descongelar la mezcla de PCR del HSV 1 y 2 en un lugar oscuro, pues estos reactivos son sensibles a la luz.

2. Descongelar las probetas del control interno de HSV 1 y 2 para la sesión. Cada probeta es suficiente para 12 extracciones. Mezclar suavemente y centrifugar el contenido durante 5 segundos.
3. Descongelar la probeta del control positivo del HSV 1 y 2 para la sesión. Cada probeta es suficiente para 8 sesiones. Mezclar suavemente, centrifugar el contenido durante 5 segundos y transferir 200 µL de control positivo del HSV 1 y 2 a una probeta para ultrasonidos.
4. Descongelar la probeta del control negativo del HSV 1 y 2 para la sesión. Cada probeta es suficiente para 8 sesiones. Mezclar suavemente, centrifugar el contenido durante 5 segundos y transferir 200 µL de control positivo del HSV 1 y 2 a una probeta para ultrasonidos.
5. Seleccionar «Perform Run» en la pantalla «Home».
6. Asegurarse de que el volumen de entrada de extracción («Extraction Input Volume») sea de 200 µL y el volumen de eluido extraído («Extracted Eluate Volume»), de 50 µL.
7. En las pistas de interés, seleccionar en la columna «Assay» el protocolo de ensayo que se desea utilizar.
8. Para el control positivo, seleccionar HSV ELITE\_PC en la columna «Assay» y rellenar el número de lote y la fecha de caducidad de control positivo del HSV 1 y 2 .
9. Para el control negativo, seleccionar HSV ELITE\_NC, en la columna «Assay» y rellenar el número de lote y la fecha de caducidad del control negativo del HSV 1 y 2.
10. Asegurarse de que el protocolo que se muestra sea «Extract + PCR».
11. Asegurarse de que la posición de la muestra mostrada es: «Sonication Tube». Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
12. Cargar la mezcla de PCR del HSV 1 y 2 y el control interno de HSV 1 y 2 en el bloque de inventario seleccionado siguiendo las instrucciones de la interfaz de usuario.
13. Cargar y revisar las gradillas de puntas en el área de inventario seleccionada siguiendo las instrucciones de la interfaz de usuario. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
14. Cargar los cartuchos «PCR Cassette», los cartuchos de extracción «ELITE InGenius SP 200», todos los consumibles necesarios, el control positivo del HSV 1 y 2 y 200 µL de control negativo del HSV 1 y 2 que es preciso extraer en las pistas especificadas en el paso 7, siguiendo las instrucciones de la interfaz de usuario. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
15. Cerrar la puerta del instrumento.
16. Presionar «Start» para iniciar la sesión.

Una vez finalizado el proceso, el sistema **ELITE InGenius** permite mostrar, aprobar y guardar los resultados, así como imprimir y guardar el informe.

**Nota:** Al finalizar la sesión, los controles positivo y negativo extraídos que quedan deben eliminarse. Evitar derramar la muestra extraída.

**Nota:** Al finalizar la sesión, los cartuchos de PCR que contienen los productos de reacción y los consumibles deben extraerse del instrumento y eliminarse sin contaminar el medio ambiente. Evitar derramar los productos de reacción.

**Nota:** La mezcla de PCR puede guardarse en el bloque refrigerado durante un máximo de 2 sesiones de trabajo de 3 horas cada una y durante el tiempo necesario para configurar una tercera sesión de trabajo.

## Revisión y aprobación de los resultados

Al finalizar la sesión, aparece automáticamente la pantalla «Results Display», en la que se muestran los resultados de la muestra/de los controles y la información relativa a la sesión. En esta pantalla, es posible aprobar el resultado, así como imprimir o guardar los informes («Sample Report» o «Track Report»). Para obtener más información, consultar el manual de instrucciones del instrumento.

**Nota:** El sistema **ELITE InGenius** puede conectarse al sistema de información de laboratorios (LIS, «Laboratory Information System»), que permite enviar los resultados de la sesión de trabajo al centro de datos del laboratorio. Para obtener más información, consultar el manual de instrucciones del instrumento.

El sistema **ELITE InGenius** genera los resultados con el producto **HSV 1& 2 ELITE MGB® Kit** mediante el siguiente procedimiento:

- A. Validación de los resultados de los controles positivo y negativo
- B. Validación de los resultados de las muestras
- C. Elaboración de los informes de resultados de las muestras

### A. Validación de los resultados de los controles positivo y negativo

El software del instrumento analiza automáticamente e interpreta las señales de fluorescencia emitidas por las sondas diana (canales **HSV1** y **HSV2**) en las reacciones de amplificación del control positivo y del control negativo utilizando los parámetros incluidos en los protocolos de ensayo «HSV ELITE\_PC» y «HSV ELITE\_NC».

Los resultados del procesamiento del control positivo y del control negativo, específicos del lote de reactivos de amplificación, se guardan en la base de datos («Controls»). El personal cualificado como administrador («Administrator») o analista («Analyst») puede consultar dichos resultados y aprobarlos siguiendo las instrucciones de la interfaz de usuario.

Los resultados del procesamiento del control positivo y del control negativo, específicos del lote de reactivos de amplificación, caducan **después de 15 días**.

El software del instrumento utiliza los resultados de las sesiones de los controles positivo y negativo para configurar los gráficos de control, lo que permite controlar el rendimiento del paso de amplificación. Para obtener más información, consultar el manual de instrucciones del instrumento.

**Nota:** Si el resultado del procesamiento de los controles positivo o negativo no cumple los criterios de aceptación, el instrumento muestra el mensaje «Failed» en la pantalla «Controls» y no es posible aprobarlo. En este caso, es preciso volver a procesar el control positivo o del control negativo.

**Nota:** Si el control positivo o el control negativo se procesan junto con las muestras que van a analizarse y el resultado no es válido, se invalida la sesión entera. En este caso, también es preciso volver a procesar todas las muestras.

### B. Validación de los resultados de las muestras

El software del instrumento analiza automáticamente e interpreta las señales de fluorescencia emitidas por las sondas específicas del HSV1 y del HSV2 (canales **HSV1** y **HSV2**) y por la sonda específica del control interno (canal **IC**) en cada reacción de amplificación de la muestra utilizando los parámetros incluidos en el protocolo de ensayo HSV 1&2 ELITE\_MCS\_200\_50.

Los resultados se muestran en los informes generados por el instrumento («Result Display»).

La sesión de la muestra puede aprobarse cuando se cumplen las dos condiciones que se indican en la siguiente tabla.

<b>1) Control positivo</b>	<b>Estado</b>
HSV 1&2 Positive Control	APROBADO
<b>2) Control negativo</b>	<b>Estado</b>
HSV 1&2 Negative Control	APROBADO

Por cada muestra, el sistema interpreta automáticamente el resultado del ensayo según el algoritmo del **software ELITE® InGenius** y los parámetros del protocolo del ensayo.

En la siguiente tabla se incluyen los posibles mensajes de los resultados. Para cada muestra, el sistema muestra una combinación de los siguientes mensajes y especifica si el ADN de los patógenos se ha detectado o no.

Resultado de la sesión de la muestra		Interpretación
Resultado del HSV1	Resultado del HSV2	
HSV1:DNA Not Detected or below the LoD (HSV1:ADN No detectado o por debajo del límite de detección)	HSV2: DNA Not Detected or below the LoD (HSV2:ADN No detectado o por debajo del límite de detección)	<b>No se ha detectado ADN de HSV1 y HSV2</b> en la muestra. La muestra es negativa válida para estos patógenos o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
HSV1:DNA Not Detected or below the LoD (HSV1:ADN No detectado o por debajo del límite de detección)	HSV2:DNA Detected (HSV2:ADN Detectado)	<b>No se ha detectado ADN del HSV1</b> en la muestra. <b>Se ha detectado ADN de HSV2</b> en la muestra.
HSV1:DNA Detected (HSV1:ADN Detectado)	HSV2:DNA Not Detected or below the LoD (HSV2:ADN No detectado o por debajo del límite de detección)	<b>Se ha detectado ADN de HSV1</b> en la muestra. <b>No se ha detectado ADN de HSV2</b> en la muestra.
HSV1 DNA Detected (HSV1:ADN Detectado)	HSV2:DNA Detected (HSV2:ADN Detectado)	<b>Se ha detectado ADN de HSV1 y HSV2</b> en la muestra.
Invalid - Retest Sample. (No válido-Volver a probar muestra)		<b>Resultado no válido del ensayo</b> debido a un error en el control interno, como una extracción incorrecta o arrastre de inhibidores. Es necesario repetir el análisis.

Las muestras que el **software ELITE InGenius** notifica como «Invalid - Retest Sample» no son aptas para la interpretación de resultados. En este caso, el ADN del control interno no ha podido detectarse correctamente debido a problemas ocurridos durante los pasos de amplificación o extracción (degradación del ADN, reducción del título de ADN durante la extracción o arrastre de inhibidores en el eluido), lo que puede dar lugar a resultados incorrectos.

Si el volumen del eluido es suficiente, la muestra extraída puede volver a analizarse con una sesión de amplificación en el modo de procesamiento «PCR Only». Si se produce un segundo resultado no válido, la muestra debe volver a analizarse a partir del paso de la extracción de una nueva alícuota en el modo de procesamiento «Extract + PCR».

Las muestras que se notifican como «HSV1:DNA Not Detected or below LoD» (HSV1:ADN No detectado o por debajo del límite de detección) o «HSV2:DNA Not Detected or below LoD» (HSV2:ADN No detectado o por debajo del límite de detección) son aptas para el análisis, pero no ha sido posible detectar el ADN de las dianas. En este caso, no puede descartarse que el ADN de las dianas esté presente en una concentración inferior al límite de detección del ensayo (consultar el apartado «Características de rendimiento»).

**Nota:** Los resultados obtenidos con este ensayo deben interpretarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y los resultados de otras pruebas analíticas del paciente.

Los resultados de la sesión de la muestra se guardan en la base de datos y, si son válidos, pueden ser aprobados («Result Display») por personal que tenga la cualificación de administrador o analista y siga las instrucciones de la interfaz de usuario. La ventana «Result Display» permite imprimir y guardar los resultados de la sesión de la muestra como «Sample Report» y como «Track Report».

### C. Elaboración de los informes de resultados de las muestras

Los resultados de las muestras se guardan en la base de datos y pueden exportarse como «Sample Report» y como «Track Report».

En «Sample Report», se muestran los detalles de una sesión de trabajo ordenados por la muestra seleccionada (SID).

En «Track Report», se muestran los detalles de una sesión de trabajo ordenados por la pista seleccionada.

El personal autorizado puede imprimir y firmar los informes «Sample Report» y «Track Report».

**CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO**

**Reproducibilidad**

La reproducibilidad del producto «HSV 1&2 ELITE MGB® Kit» se evaluó en una investigación multicéntrica en la que se utilizaron muestras clínicas artificiales. Se prepararon paneles de análisis del HSV añadiendo HSV1 (cepa MacIntyre) o HSV2 (cepa MS) a un UTM (medio de transporte universal) a las concentraciones de <1 vez el LoD, 1 vez el LoD y 3 veces el LoD. Los componentes negativos del panel de HSV1 y HSV2 se incluyeron como controles de los componentes del panel. En la tabla siguiente, se muestra la composición del panel de reproducibilidad:

**Panel de reproducibilidad**

Nombre	Descripción del contenido	Carga vírica	Tasa de positividad esperada
M1	HSV1 C <sub>50</sub> (negativo alto) en UTM	<1× LoD	20%–80% positivos
M2	HSV1 C <sub>95</sub> (positivo bajo) en UTM	1× LoD	≥95% positivos
M3	HSV1 C <sub>100</sub> (positivo moderado) en UTM	2–3 × LoD	100% positivos
M4	HSV2 C <sub>50</sub> (negativo alto) en UTM	<1× LoD	20%–80% positivos
M5	HSV2 C <sub>95</sub> (positivo bajo) en UTM	1× LoD	≥95% positivos
M6	HSV2 C <sub>100</sub> (positivo moderado) en UTM	2–3 × LoD	100% positivos
M7	HSV negativo en UTM	Negativo	100% negativos

Los paneles fueron analizados en 3 centros por 2 operadores por centro con una sesión por operador y por día, durante 10 días no consecutivos y utilizando un lote único del producto «HSV 1&2 ELITE MGB® Kit». El análisis se realizó en un mínimo de 90 duplicados (30 por centro) por cada componente del panel. La variabilidad entre lotes se evaluó únicamente en ELITechGroup Inc. MDx (emplazamiento interno) utilizando 3 lotes del producto «HSV 1&2 ELITE MGB® Kit». Los controles se procesaron todos los días y se incluyeron en la primera sesión del día.

En la tabla siguiente se muestran el porcentaje de concordancia, los valores Ct medios y el %CV de cada panel y de cada centro.

**Resultados de reproducibilidad del producto «HSV 1&2 ELITE MGB® Kit»**

Diana	Muestra	Centro 1			Centro 2			Centro 3			% de concordancia con resultados esperados	IC del 95 %
		% de concordancia con resultados esperados	Ct medio	%CV total	% de concordancia con resultados esperados	Ct medio	%CV total	% de concordancia con resultados esperados	Ct medio	%CV total		
Resultado del HSV1	HSV1 pos bajo	100,0 % (30/30)	38,9	1,70 %	100,0 % (30/30)	38,3	2,10 %	100,0 % (30/30)	38,0	2,00 %	100,0 % (90/90)	del 95,9 % al 100,0 %
	HSV1 pos mod	100,0 % (30/30)	36,4	1,30 %	100,0 % (30/30)	35,5	5,20 %	100,0 % (30/30)	35,6	1,50 %	100,0 % (90/90)	del 95,9 % al 100,0 %
	HSV2 pos bajo	100,0 % (30/30) <sup>a</sup>	NA	NA	100,0 % (29/29) <sup>a</sup>	NA	NA	100,0 % (30/30) <sup>a</sup>	NA	NA	100,0 % (89/89)	del 95,6 % al 100,0 %
	HSV2 pos mod	100,0 % (30/30) <sup>a</sup>	NA	NA	100,0 % (30/30) <sup>a</sup>	NA	NA	100,0 % (30/30) <sup>a</sup>	NA	NA	100,0 % (90/90)	del 95,9 % al 100,0 %
	HSV neg	100,0 % (60/60) <sup>a</sup>	NA	NA	100,0 % (38/38) <sup>a</sup>	41,4	2,50 %	100,0 % (40/40) <sup>a</sup>	NA	NA	100,0 % (138/138)	del 97,3 % al 100,0 %
	Control pos	100,0 % (30/30)	27,5	1,30 %	100,0 % (5/5)	27,5	1,20 %	100,0 % (5/5)	27,0	0,80 %	100,0 % (40/40)	del 91,2 % al 100,0 %
	<b>Concordancia total</b>		<b>100,0 % (210/210)</b>			<b>100,0 % (162/162)</b>			<b>100,0 % (165/165)</b>			<b>100,0 % (537/537)</b>

<sup>a</sup> Los resultados esperados para muestras con resultado HSV2 positivo bajo, HSV2 positivo moderado y HSV negativo son «Negativos» para HSV1.

Continúa en la página siguiente.

## HSV 1&2 ELITE MGB® Kit

reactivos para la amplificación de ADN en tiempo real

REF RTK403ING

Diana	Muestra	Centro 1			Centro 2			Centro 3			% de concordancia con resultados esperados	IC del 95%
		% de concordancia con resultados esperados	Ct medio	%CV total	% de concordancia con resultados esperados	Ct medio	%CV total	% de concordancia con resultados esperados	Ct medio	%CV total		
Resultado del HSV2	HSV1 pos bajo	100,0 % (30/30) <sup>b</sup>	NA	NA	100,0 % (30/30) <sup>b</sup>	NA	NA	100,0 % (30/30) <sup>b</sup>	NA	NA	100,0 % (90/90)	del 95,9 % al 100,0 %
	HSV1 pos mod	100,0 % (30/30) <sup>b</sup>	NA	NA	100,0 % (30/30) <sup>b</sup>	NA	NA	100,0 % (30/30) <sup>b</sup>	NA	NA	100,0 % (90/90)	del 95,9 % al 100,0 %
	HSV2 pos bajo	100,0 % (30/30)	36,8	3,10 %	100,0 % (29/29)	37,8	2,30 %	100,0 % (30/30)	36,6	1,90 %	100,0 % (89/89)	del 95,9 % al 100,0 %
	HSV2 pos mod	100,0 % (30/30)	35,2	1,30 %	100,0 % (30/30)	35,95	1,60 %	100,0 % (30/30)	34,6	2,30 %	100,0 % (90/90)	del 95,9 % al 100,0 %
	HSV neg	100,0 % (60/60) <sup>b</sup>	NA	NA	100,0 % (38/38) <sup>b</sup>	NA	NA	100,0 % (40/40) <sup>b</sup>	NA	NA	100,0 % (138/138)	del 95,9 % al 100,0 %
	Control pos	100,0 % (30/30)	27,0	1,30 %	100,0 % (5/5)	27,4	1,50 %	100,0 % (5/5)	26,8	1,40 %	100,0 % (40/40)	del 95,9 % al 100,0 %
	<b>Concordancia total</b>		<b>100,0 % (210/210)</b>			<b>100,0 % (162/162)</b>			<b>100,0 % (165/165)</b>			<b>100,0 % (537/537)</b>

<sup>B</sup> Los resultados esperados para muestras con resultado HSV1 positivo bajo, HSV1 positivo moderado y HSV negativo son «Negativos» para HSV2.

Diana	Muestra	Centro 1			Centro 2			Centro 3			% de concordancia con resultados esperados	IC del 95%
		% de concordancia con resultados esperados	Ct medio	%CV total	% de concordancia con resultados esperados	Ct medio	%CV total	% de concordancia con resultados esperados	Ct medio	%CV total		
Resultado del IC	HSV1 pos bajo	100,0 % (30/30)	30,4	3,80 %	100,0 % (30/30)	30,3	2,00 %	100,0 % (30/30)	30,2	1,70 %	100,0 % (90/90)	del 95,9 % al 100,0 %
	HSV1 pos mod	100,0 % (30/30)	30,2	2,30 %	100,0 % (30/30)	30,4	2,80 %	100,0 % (30/30)	30,1	0,90 %	100,0 % (90/90)	del 95,9 % al 100,0 %
	HSV2 pos bajo	100,0 % (30/30)	29,9	0,50 %	100,0 % (29/29)	30,4	2,20 %	100,0 % (30/30)	30,2	0,60 %	100,0 % (89/89)	del 95,9 % al 100,0 %
	HSV2 pos mod	100,0 % (30/30)	29,7	0,80 %	100,0 % (30/30)	30,4	1,20 %	100,0 % (30/30)	30,1	0,60 %	100,0 % (90/90)	del 95,9 % al 100,0 %
	HSV neg	100,0 % (60/60)	30,2	1,10 %	100,0 % (40/40)	30,2	1,90 %	100,0 % (38/38)	30,1	0,90 %	100,0 % (138/138)	del 97,3 % al 100,0 %
	Control pos	100,0 % (30/30)	29,3	1,40 %	100,0 % (5/5)	30,2	2,10 %	100,0 % (5/5)	29,4	0,90 %	100,0 % (40/40)	del 91,2 % al 100,0 %
	<b>Concordancia total</b>		<b>100,0 % (210/210)</b>			<b>100,0 % (164/164)</b>			<b>100,0 % (163/163)</b>			<b>100,0 % (537/537)</b>

La mayor variabilidad entre centros con el producto «HSV 1&2 ELITE MGB® Kit» (medida como el %CV basado en los valores C<sub>T</sub>) es del 2,19 %; la máxima variabilidad entre lotes es del 0,23 % y la máxima variabilidad entre operadores es del 0,93 % para los componentes positivos moderados del panel.

### Límite de detección (LoD)/Sensibilidad analítica

El límite de detección del producto «HSV 1&2 ELITE MGB® Kit» se evaluó utilizando una aislados positivos para HSV cuantificados y disponibles comercialmente (dos para HSV1 y dos HSV2), que se mencionan en la tabla 13 que se incluye a continuación. Los aislados se diluyeron en UTM a 100 TCID<sub>50</sub>/mL y, después, se volvieron a diluir utilizando diluciones 1:3 en UTM. Los resultados del LoD se determinaron utilizando el software de análisis Logit Data (Analyse-it para Microsoft Excel v4.80.2, modelo de funciones logísticas). El LoD se determinó como la concentración más baja de la diana del HSV que puede detectarse de forma uniforme en al menos el 95 % de las muestras analizadas en condiciones de laboratorio estándar y con muestras de exudados mucocutáneos. El LoD se confirmó analizando veinte (20) duplicados adicionales a la concentración del LoD y demostrando que el virus se detectaba el 95 % del tiempo.

### Lista de aislados del LoD del HSV y resultados

Microorganismo	Aislado/Cepa	Línea celular	N.º de resultados cualitativos detectados/total	C <sub>T</sub> medio ± DE de los duplicados detectados	1×LoD TCID <sub>50</sub> /mL
HSV1	Cepa MacIntyre	Vero	20/20	37,91 ± 0,69	59,0 TCID <sub>50</sub> /mL
HSV1	Aislado n.º 15 (ZeptoMetrix)	Vero	20/20	39,94 ± 0,95	1,5 TCID <sub>50</sub> /mL
HSV2	Cepa MS	Vero	20/20	37,90 ± 0,92	5,4 TCID <sub>50</sub> /mL
HSV2	Aislado n.º 2 (ZeptoMetrix)	Vero	20/20	38,67 ± 1,03	0,3 TCID <sub>50</sub> /mL

También se confirmó que el límite de blanco (LoB) era cero para las dianas de HSV1 y HSV2 utilizando 60 duplicados de matriz de mejilla humana agrupada negativa para el HSV.

Se determinó que la eficacia de la elución del hisopo de nailon regular Copan TCID<sub>50</sub>/unidades de hisopo era de aproximadamente el 100 % y directamente proporcional al TCID<sub>50</sub>/mL, dependiendo únicamente del volumen de los medios del dispositivo de recogida.

**Valor de corte del ensayo**

El análisis del valor de corte del ensayo se realizó en un conjunto independiente de 141 muestras clínicas recogidas de 3 centros clínicos. Cada muestra clínica se evaluó utilizando el producto «HSV 1&2 ELITE MGB® Kit» en combinación con el instrumento ELITE InGenius y un método de referencia compuesto (ensayo de PCR en tiempo real aprobado por la FDA combinado con amplificación de PCR y secuenciación bidireccional). Las dos dianas de las muestras clínicas se detectaron hasta el ciclo 45. Por lo tanto, se estableció un valor C<sub>T</sub> de 45 como corte del ensayo diagnóstico para las dianas de HSV1 y HSV2.

**Reactividad analítica (inclusividad)**

La reactividad analítica (inclusividad) se evaluó preparando 44 aislados de HSV1 o HSV2 cuantificados y disponibles comercialmente (22 del HSV1 y 22 del HSV2) que se mencionan en la tabla 14 que se incluye a continuación. Cada aislado se diluyó en UTM a una concentración de 3 veces el LoD (177 TCID<sub>50</sub>/mL para el HSV1 y 16,2 TCID<sub>50</sub>/mL para el HSV2) y, después, se evaluó utilizando el producto «HSV 1&2 ELITE MGB® Kit» en combinación con el instrumento. Todos los aislados analizados de HSV1 y HSV2 de la tabla siguiente se detectaron con el producto «HSV 1&2 ELITE MGB® Kit» a concentraciones de 16,2 a 354 TCID<sub>50</sub>/mL.

**Resumen de los resultados de la reactividad analítica (inclusividad)**

N.º	Aislado	1×LoD estimados (TCID <sub>50</sub> /mL)	×LoD analizados	Conc. final del análisis (TCID <sub>50</sub> /mL)	Positividad
1	Cepa MacIntyre del HSV1	59	3×	177	3/3
2	Aislado n.º 1 del HSV1	59	3×	177	3/3
3	Aislado n.º 2 del HSV1	59	3×	177	3/3
4	Aislado n.º 3 del HSV1	59	3×	177	3/3
5	Aislado n.º 4 del HSV1	59	3×	177	3/3
6	Aislado n.º 5 del HSV1	59	3×	177	3/3
7	Aislado n.º 6 del HSV1	59	3×	177	0/3
		59	6×	354	3/3
8	Aislado n.º 7 del HSV1	59	3×	177	3/3
9	Aislado n.º 8 del HSV1	59	3×	177	3/3
10	Aislado n.º 9 del HSV1	59	3×	177	3/3
11	Aislado n.º 10 del HSV1	59	3×	177	3/3
12	Aislado n.º 11 del HSV1	59	3×	177	3/3
13	Aislado n.º 12 del HSV1	59	3×	177	3/3
14	Aislado n.º 13 del HSV1	59	3×	177	3/3
15	Aislado n.º 14 del HSV1	59	3×	177	3/3
16	Aislado n.º 15 del HSV1	59	3×	177	3/3
17	Aislado n.º 16 del HSV1	59	3×	177	3/3
18	Aislado n.º 17 del HSV1	59	3×	177	3/3
19	Aislado n.º 18 del HSV1	59	3×	177	3/3
20	Aislado n.º 19 del HSV1	59	3×	177	3/3
21	Aislado n.º 20 del HSV1	59	3×	177	0/3
		59	6×	354	3/3
22	Aislado n.º 21 del HSV1	59	3×	177	3/3
23	Cepa MS del HSV2	5,4	3×	16,2	3/3
24	Aislado n.º 1 de HSV2	5,4	3×	16,2	3/3
25	Aislado n.º 2 de HSV2	5,4	3×	16,2	3/3
26	Aislado n.º 3 de HSV2	5,4	3×	16,2	3/3
27	Aislado n.º 4 de HSV2	5,4	3×	16,2	3/3
28	Aislado n.º 5 de HSV2	5,4	3×	16,2	3/3
29	Aislado n.º 6 de HSV2	5,4	3×	16,2	3/3
30	Aislado n.º 7 de HSV2	5,4	3×	16,2	3/3
31	Aislado n.º 8 de HSV2	5,4	3×	16,2	2/3
		5,4	3×	16,2	3/3
32	Aislado n.º 9 de HSV2	5,4	3×	16,2	3/3
33	Aislado n.º 10 de HSV2	5,4	3×	16,2	3/3

N.º	Aislado	1×LoD estimados (TCID <sub>50</sub> /mL)	×LoD analizados	Conc. final del análisis (TCID <sub>50</sub> /mL)	Positividad
34	Aislado n.º 11 de HSV2	5,4	3×	16,2	2/3
		5,4	6×	32,4	3/3
35	Aislado n.º 12 de HSV2	5,4	3×	16,2	1/3
		5,4	6×	32,4	3/3
36	Aislado n.º 13 de HSV2	5,4	3×	16,2	0/3
		5,4	6×	32,4	2/3
		5,4	12×	64,8	2/3
37	Aislado n.º 14 de HSV2	5,4	24×	129,6	3/3
		5,4	3×	16,2	1/3
		5,4	6×	32,4	3/3
38	Aislado n.º 15 de HSV2	5,4	3×	16,2	0/3
		5,4	6×	32,4	3/3
39	Aislado n.º 16 de HSV2	5,4	3×	16,2	1/3
		5,4	6×	32,4	3/3
40	Aislado n.º 17 de HSV2	5,4	3×	16,2	1/3
		5,4	6×	32,4	1/3
		5,4	12×	64,8	3/3
41	Aislado n.º 18 de HSV2	5,4	3×	16,2	3/3
42	Aislado n.º 19 de HSV2	5,4	3×	16,2	2/3
		5,4	6×	32,4	1/3
		5,4	12×	64,8	3/3
43	Aislado n.º 20 de HSV2	5,4	3×	16,2	0/3
		5,4	6×	32,4	1/3
		5,4	12×	64,8	3/3
44	Aislado n.º 21 de HSV2	5,4	3×	16,2	3/3

### Especificidad analítica (reactividad cruzada)

La reactividad cruzada potencial del producto «HSV 1&2 ELITE MGB® Kit» se evaluó analizando microorganismos que están estrechamente relacionados con el HSV o provocan síntomas clínicos similares, o bien pueden estar presentes en los sitios cutáneos y mucocutáneos de las zonas anogenital y bucal que se analizaron con este dispositivo. Se evaluaron 49 reactantes cruzados potenciales. Para cada microorganismo, la muestra que debía analizarse se preparó a partir de solución madre cuantificada y diluida a la concentración necesaria utilizando un medio de transporte universal (UTM). En la tabla 15 que se incluye a continuación, se resumen los reactantes cruzados potenciales analizados, las concentraciones evaluadas y los resultados:

### Resultados de los análisis de reactividad cruzada

N.º	Reactantes cruzados potenciales	Concentración analizada	Resultado cualitativo (n.º detectado/n.º total)	
			HSV1	HSV2
1	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
2	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
3	Adenovirus tipo 2	1×10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	0/3	0/3
4	<i>Bacteroides fragilis</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
5	<i>Candida albicans</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
6	<i>Candida glabrata</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
7	<i>Candida guilliermondii</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
8	<i>Candida krusei</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
9	<i>Candida lusitanae</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
10	<i>Candida parapsilosis</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
11	<i>Candida tropicalis</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
12	<i>Chlamydia trachomatis</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
13	Citomegalovirus	1×10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	0/3	0/3
14	<i>Enterobacter cloacae</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
15	Enterovirus	1×10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	0/3	0/3
16	Virus de Epstein-Barr	1×10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	0/3	0/3
17	<i>Escherichia coli</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
18	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
19	<i>Gardnerella vaginalis</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
20	<i>Haemophilus ducreyi</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
21	ADN genómico humano	500 ng/exudado	0/3	0/3

N.º	Reactantes cruzados potenciales	Concentración analizada	Resultado cualitativo (n.º detectado/n.º total)	
			HSV1	HSV2
22	Virus del herpes humano 6	1×10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	0/3	0/3
23	Virus del herpes humano 7	1×10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	0/3	0/3
24	Virus del papiloma humano 16	1×10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	0/3	0/3
25	Virus del papiloma humano 18	1×10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	0/3	0/3
26	Virus del herpes simple 1 (HSV1), aislado 20, ZMC	1×10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	3/3	0/3
27	Virus del herpes simple 2 (HSV2), aislado 20, ZMC	1×10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	0/3	3/3
28	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
29	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
30	<i>Mobiluncus curtisii</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
31	<i>Mobiluncus mulieris</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
32	<i>Moraxella catarrhalis</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
33	<i>Mycoplasma hominis</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
34	<i>Neisseria gonorrhoea</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
35	<i>Neisseria meningitides</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
36	<i>Prevotella melaninogenica</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
37	Virus de la rubéola	1×10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	0/3	0/3
38	<i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA)	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
39	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (MRSE)	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
44	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
41	<i>Streptococcus mitis</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
42	<i>Streptococcus mutans</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
43	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
44	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
45	<i>Streptococcus salivarius</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
46	<i>Toxoplasma gondii</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
47	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3
48	Virus de la varicela-zóster (VVZ)	1×10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	0/3	0/3
49	<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	1×10 <sup>6</sup> ufc/mL	0/3	0/3

**Interferencia microbiana**

La interferencia microbiana se evaluó en presencia del HSV1 o del HSV2 añadidos a un nivel de 3 veces el LoD en UTM y los 49 microorganismos mencionados en la tabla 15 anterior. Cada microorganismo se analizó a una concentración de 1×10<sup>6</sup> ufc/mL o superior en el caso de aislados bacterianos, o de 1×10<sup>5</sup> TCID<sub>50</sub>/mL o superior en el caso de los virus. Ninguno de los microorganismos no diana cuya presencia cabe esperar razonablemente en muestras típicas de exudados cutáneos y mucocutáneos interfirieron en la detección de especies del HSV1 y del HSV2.

**Interferencia competitiva del HSV1 y del HSV2**

Se estudió la interferencia competitiva para evaluar los efectos de una posible coinfección de interés clínico, tanto por el HSV1 como por el HSV2, utilizando el producto «HSV 1&2 ELITE MGB® Kit».

El estudio evaluó si una alta concentración de un virus en la muestra podía afectar potencialmente al rendimiento del producto «HSV 1&2 ELITE MGB® Kit» para otras dianas presentes a bajos niveles. Se fabricó artificialmente una muestra positiva baja a una concentración de aproximadamente 3 veces el LoD para cada diana (cepa MacIntyre del HSV1 y cepa MS del HSV2), y se determinó un Ct de referencia para cada muestra. Cada virus infeccioso concomitante potencial se agregó a la muestra de bajo nivel y se analizó por triplicado. La interferencia competitiva del HSV2 se observó a niveles de 1×10<sup>5</sup>, 1×10<sup>4</sup> y 1×10<sup>3</sup> de dicho virus. En ninguno de los niveles se observó interferencia competitiva del HSV1. En la tabla siguiente se muestran los resultados del análisis.

**Interferencia competitiva de dianas de HSV1 y HSV2 a concentraciones distintas**

Referencia (bajo nivel)		Interferente competitivo (alta concentración)		Resultados cualitativos (n.º detectado/n.º total)	
Cepa	Concentración (TCID <sub>50</sub> /mL)	Cepa	Concentración (TCID <sub>50</sub> /mL)	HSV1	HSV2
MacIntyre del HSV1	177	MS del HSV2	1×10 <sup>5</sup>	0/3	3/3
MacIntyre del HSV1	177	MS del HSV2	1×10 <sup>4</sup>	1/3	3/3
MacIntyre del HSV1	177	MS del HSV2	1×10 <sup>3</sup>	1/3	3/3
MacIntyre del HSV1	177	MS del HSV2	1×10 <sup>2</sup>	3/3	3/3
MacIntyre del HSV1	177	MS del HSV2	0	3/3	0/3
MS del HSV2	16,2	MacIntyre del HSV1	1×10 <sup>5</sup>	3/3	3/3
MS del HSV2	16,2	MacIntyre del HSV1	1×10 <sup>4</sup>	3/3	3/3
MS del HSV2	16,2	MacIntyre del HSV1	1×10 <sup>3</sup>	3/3	3/3
MS del HSV2	16,2	MacIntyre del HSV1	1×10 <sup>2</sup>	3/3	3/3
MS del HSV2	16,2	MacIntyre del HSV1	0	0/3	3/3

Asimismo, en un estudio independiente, ambas cepas de analizaron a concentraciones similares o idénticas de 3×LoD, 1×10<sup>3</sup>y 1×10<sup>5</sup>, y no se observó ninguna interferencia competitiva.

**Interferencia competitiva de dianas de HSV1 y HSV2 a concentraciones idénticas**

Concentración del HSV1		Concentración del HSV2		Resultados cualitativos (n.º detectado/n.º total)		Resultados cuantitativos (%CV)	
Cepa	Concentración (TCID <sub>50</sub> /mL)	Cepa	Concentración (TCID <sub>50</sub> /mL)	HSV1	HSV2	HSV1	HSV2
MacIntyre del HSV1	1×10 <sup>5</sup>	MS del HSV2	1×10 <sup>5</sup>	5/5	5/5	3,02 %	1,64 %
MacIntyre del HSV1	1×10 <sup>3</sup>	MS del HSV2	1×10 <sup>3</sup>	5/5	5/5	1,09 %	2,95 %
MacIntyre del HSV1	177 (3×LoD)	MS del HSV2	16,2 (3×LoD)	5/5	5/5	1,74 %	1,88 %

**Sustancias interferentes**

El rendimiento del producto «HSV 1&2 ELITE MGB® Kit» se evaluó con sustancias potencialmente interferentes que podían encontrarse en muestras de exudados de lesiones obtenidas de ubicaciones cutáneas y mucocutáneas. La interferencia de las sustancias se evaluó en presencia del HSV1 o del HSV2 añadidos a un nivel de 3×LoD en UTM para 33 sustancias potencialmente interferentes a las concentraciones indicadas en la tabla 18 que se incluye a continuación. Cada componente del panel se evaluó por triplicado. No se observaron interferencias en la detección del HSV1 o del HSV2.

**Panel de análisis de sustancias interferentes**

Interferente potencial	Concentración interferente	N.º detectado/N.º total		
		HSV1	HSV2	IC
Sangre con EDTA	5% v/v	3/3	3/3	3/3
Capa leucoplaquetaria	5% v/v	3/3	3/3	3/3
Aciclovir	2,5 mg/mL	3/3	3/3	3/3
Albumina	5 mg/mL	3/3	3/3	3/3
Caseína	7 mg/mL	3/3	3/3	3/3
Orina de mujer	10% v/v	3/3	3/3	3/3
Orina de hombre	10% v/v	3/3	3/3	3/3
Gel lubricante marca K-Y	5% m/v	3/3	3/3	3/3
Lavado vaginal	10% v/v	3/3	3/3	3/3
Espemicida	5% m/v	3/3	3/3	3/3
Óvulos femeninos YeastGard	1% m/v	3/3	3/3	3/3
Monistat 1	5% m/v	3/3	3/3	3/3
Monistat 3	5% m/v	3/3	3/3	3/3
Crema Vagisil	1% m/v	3/3	3/3	3/3
Tioconazol 1	5% m/v	3/3	3/3	3/3
Lavado vaginal Rite, piel sensible	10% v/v	3/3	3/3	3/3
Crema vaginal clotrimazol 7	1% m/v	3/3	3/3	3/3
Gel analgésico bucal	5% m/v	3/3	3/3	3/3
Colutorio antiséptico Listerine	10% v/v	3/3	3/3	3/3

**HSV 1&2 ELITE MGB® Kit**

reactivos para la amplificación de ADN en tiempo real

REF

RTK403ING

Abreva	10% v/v	3/3	3/3	3/3
Bálsamo labial Carmex	1% m/v	3/3	3/3	3/3
Tratamiento en frío para llagas bucales Releev	1% v/v	3/3	3/3	3/3
Lip Clear Lisina	1% m/v	3/3	3/3	3/3
Pasta dentífrica	5% m/v	3/3	3/3	3/3
Paracetamol	5 mg/mL	3/3	3/3	3/3
Clorfenamina	5 mg/mL	3/3	3/3	3/3
Cold-Eeze	7% m/v	3/3	3/3	3/3
Non-GMO Almidón de maíz	1,25 mg/mL	3/3	3/3	3/3
Pomada de óxido de zinc	7% m/v	3/3	3/3	3/3
Antitusígeno Cough DM	10 mg/mL	3/3	3/3	3/3
Lanacane Max Strength Crema para el picor	7% m/v	3/3	3/3	3/3
Semen	7% v/v	3/3	3/3	3/3
Foscarnet sódico	5% v/v	3/3	3/3	3/3

**Arrastre y contaminación cruzada**

El arrastre y la contaminación cruzada se evaluaron con el producto «HSV 1&2 ELITE MGB® Kit» y utilizando el instrumento ELITE InGenius analizando de forma alterna muestras de HSV1 positivas altas y muestras de HSV1 y HSV2 negativas. No se observaron indicios de contaminación cruzada durante el estudio.

**Resultados de los análisis de arrastre y contaminación cruzada**

Descripción de la sesión	Muestras positivas		Muestras negativas	
	N.º neg	% neg.	N.º pos.	% pos.
Sesión 1, blanco	0/0	NA	0/10	0 %
Sesión 2, damero	0/5	0 %	0/6	0 %
Sesión 3, damero	0/6	0 %	0/6	0 %
Sesión 4, blanco	0/0	NA	0/10	0 %
Sesión 5, damero	0/6	0 %	0/6	0 %
Sesión 6, damero	0/6	0 %	0/6	0 %
Sesión 7, damero	0/6	0 %	0/6	0 %
Todas las sesiones	0/29	0 %	0/50	0 %

**Estabilidad de la muestra**

Este estudio evaluó tanto la estabilidad de la muestra en sí misma como la estabilidad al congelarla y descongelarla. Las muestras para la evaluación de la estabilidad se prepararon enriqueciendo las soluciones madre cuantificadas del HSV1 y del HSV2 del proveedor (cepa MacIntyre del VSH1 y cepa MS del HSV2) en medios UTM, M4, M4RT, M5 y M6. Cada conjunto de muestras de estabilidad constaba de los elementos siguientes:

- 5 duplicados enriquecidos a un nivel de  $3 \times \text{LoD}$ ,
- 5 duplicados enriquecidos a un nivel de  $1 \times 10^3$  TCID<sub>50</sub>/mL, y
- 5 duplicados enriquecidos a un nivel de  $1 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>/mL (15 duplicados en total para cada conjunto de muestras).

La estabilidad de cada conjunto de muestras se evaluó y confirmó mediante a incubación a aproximadamente +4°C durante una semana. Se confirmó que todas las muestras de HSV1 y HSV2 eran estables en los medios UTM, M4, M4RT, M5 y M6 durante una semana a aproximadamente +4°C.

Las condiciones de conservación también se validaron volviendo a analizar muestras clínicas ya analizadas con anterioridad que se habían conservado a -80°C en el congelador ( $\leq -70^\circ\text{C}$ ) durante un mínimo de 4 meses. Las concentraciones de las muestras cubrieron todo el rango clínico del HSV. Se analizaron diez muestras positivas para HSV1 o HSV2 para cada medio (excepto para el M6, para el que solo se disponía de 7 muestras positivas de HSV). La positividad de todas las muestras se confirmó después de conservarlas a -80°C en un congelador ( $\leq -70^\circ\text{C}$ ) durante 4 meses.

5 conjuntos de muestras preparadas de la forma anterior en medios UTM, M4, M4RT, M5 y M6 se sometió a tres ciclos de congelación y descongelación. Todas las muestras se analizaron con el producto «HSV 1&2 ELITE MGB® Kit» en el instrumento ELITE InGenius. Los datos obtenidos demuestran que el HSV1 y el HSV2 son estables después de tres ciclos de congelación y descongelación en medios UTM, M4, M4RT, M5 y M6.

**Resumen de los datos de estabilidad**

Medios/ Condiciones	+4°C (1 semana)	-70°C (4 meses)	3 ciclos de cong./descong.
UTM	+	+	+
M4	+	+	+
M4RT	+	+	+
M5	+	+	+
M6	+	+	+

**Estudio de comparación de matrices**

Como todos los estudios analíticos se realizaron en un UTM (medio de transporte universal) y los estudios clínicos se realizaron utilizando medios UTM, M4, M4RT, M5 y M6, se realizó el estudio de comparación de matrices.

El estudio de comparación de matrices se realizó utilizando un panel de muestras artificiales que se fabricaron enriqueciendo cepas víricas cuantificadas del HSV1 o del HSV2 en cada uno de los medios recomendados: UTM, M4, M4RT, M5 y M6. Cada conjunto de muestras estaba formado por 3 duplicados enriquecidos a un nivel de 3×LoD, 3 duplicados enriquecidos a 1×10<sup>3</sup> TCID<sub>50</sub>/mL y 3 duplicados enriquecidos a 1×10<sup>5</sup> TCID<sub>50</sub>/mL (9 duplicados en total para cada conjunto de muestras). Cada muestra se procesó en el InGenius utilizando el producto «HSV 1&2 ELITE MGB® Kit». Todos los duplicados se detectaron en todos los medios y mostraron resultados similares. Los resultados de la comparación de medios se muestran en la tabla 21 que se incluye a continuación:

**Resultados del estudio de comparación de matrices**

Diana/ canal	Título de la muestra TCID <sub>50</sub> /mL	Matriz de muestras					C <sub>T</sub> medio de todos los medios	DesvEst de todos los medios	Todos los medios %CV
		UTM, C <sub>T</sub> medio	M4, C <sub>T</sub> medio	M4RT, C <sub>T</sub> medio	M5, C <sub>T</sub> medio	M6, C <sub>T</sub> medio			
HSV2 can1, FAM	1.00E + 05	27,15	26,76	26,42	26,82	27,23	26,88	0,33	1,21 %
	1.00E + +03	33,86	33,59	33,76	33,51	34,15	33,77	0,25	0,74 %
	3×LoD	36,32	35,56	35,96	35,54	36,14	35,91	0,35	0,97 %
HSV1 can4, AP593	1.00E + 05	22,02	21,13	20,82	20,77	20,63	21,08	0,56	2,66 %
	1.00E + +03	28,01	28,47	27,97	28,58	26,72	27,95	0,74	2,64 %
	3×LoD	35,84	36,07	37,02	35,43	34,69	35,81	0,86	2,39 %

Todos los medios analizados presentaron un rendimiento similar y pueden recomendarse para la recogida de muestras y los análisis con el producto «HSV 1&2 ELITE MGB® Kit».

**Evaluación clínica**

**Descripción del estudio**

Para evaluar el rendimiento clínico del producto «HSV 1&2 ELITE MGB® Kit», el rendimiento del dispositivo se comparó con un método de referencia compuesto. Este consistió en un ensayo aprobado por la FDA y una PCR del HSV 1 y 2 seguidos de una secuenciación bidireccional de muestras positivas mediante electroforesis en gel. La PCR validada del HSV 1 y 2 se dirigió a regiones genómicas distintas del producto «HSV 1&2 ELITE MGB® Kit». Un resultado positivo obtenido con el método de referencia compuesto se define como un positivo mediante la PCR aprobada por la FDA o la secuenciación validada. Se necesitan dos resultados negativos para confirmar uno negativo.

Se tomaron un total de 1174 muestras de exudados archivadas sobrantes de lesiones cutáneas (546) y mucocutáneas (628) que se habían recogido de forma prospectiva de pacientes sintomáticos y dichas muestras se evaluaron en el estudio.

Las muestras se analizaron con el producto «HSV 1&2 ELITE MGB® Kit» y el método de referencia compuesto. De las 1174 muestras analizadas, dos de ellas dieron un resultado no válido con el producto «ELITE MGB® Kit», por lo que se excluyeron de las tablas del análisis de rendimiento.

De las 1172 muestras restantes, un resultado no válido adicional para el HSV1 y dos resultados no válidos adicionales para el HSV2 con el método de referencia compuesto se eliminaron de las tablas de análisis de rendimiento.

Por lo tanto, se analizaron 1171 muestras para el HSV1 y 1170 para el HSV2.

**Resultados: Valores esperados/Rango de referencia**

**Prevalencia del HSV 1 y 2**

Los valores esperados observados para el HSV1 y el HSV2 en la población del estudio utilizando el producto «HSV 1&2 ELITE MGB® Kit» se calcularon para las muestras cutáneas y mucocutáneas y se resumen para el conjunto de muestras combinadas por grupo de edad, sexo y fuente de muestras en las tablas siguientes. Un total de 6 positivos dobles para HSV1 y HSV2 detectados para el producto «ELITE MGB® Kit» y una de las muestras se confirmó como positiva mediante el método de referencia compuesto.

**Prevalencia del HSV 1 y 2 en muestras cutáneas y mucocutáneas por edad y sexo**

Sexo	Grupo de edad	Total	Resultados del HSV 1&2 ELITE MGB® Kit para el HSV1		Resultados del HSV 1&2 ELITE MGB® Kit para el HSV2	
			Positivo	Prevalencia	Positivo	Prevalencia
Mujeres	<20	42	18	42,9 %	12	28,6 %
	20-29	244	68	27,9 %	70	28,7 %
	30-39	143	24	16,8 %	45	31,5 %
	40-49	97	14	14,4 %	25	25,8 %
	50-59	88	18	20,5 %	24	27,3 %
	≥60	123	21	17,1 %	30	24,4 %
	<b>Todos</b>	<b>737</b>	<b>163</b>	<b>22,1 %</b>	<b>206</b>	<b>28,0 %</b>
Hombre	<20	20	4	20,0 %	2	10,0 %
	20-29	144	25	17,4 %	33	22,9 %
	30-39	117	15	12,8 %	25	21,4 %
	40-49	48	5	10,4 %	15	31,3 %
	50-59	44	6	13,6 %	9	20,5 %
	≥60	61	5	8,2 %	13	21,3 %
	<b>Todos</b>	<b>434</b>	<b>60</b>	<b>13,8 %</b>	<b>97</b>	<b>22,4 %</b>
<b>Género no identificado</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0 %</b>	<b>0</b>	<b>0 %</b>	
<b>TODOS</b>	<b>1172</b>	<b>223</b>	<b>19,0 %</b>	<b>303</b>	<b>25,9 %</b>	

**Prevalencia del HSV 1 y 2 en muestras cutáneas por fuente de la lesión**

Fuente de la lesión	Total	Resultados del HSV 1&2 ELITE MGB® Kit para el HSV1		Resultados del HSV 1&2 ELITE MGB® Kit para el HSV2	
		Positivo	Prevalencia	Positivo	Prevalencia
Genital/Anogenital	248	38	15,3 %	78	31,5 %
Lesión cutánea	297	47	15,8 %	53	17,8 %
<b>TODOS</b>	<b>545</b>	<b>85</b>	<b>15,6 %</b>	<b>131</b>	<b>24,0 %</b>

**Prevalencia del HSV 1 y 2 en muestras mucocutáneas por fuente de la lesión**

Fuente de la lesión	Total	Resultados del HSV 1&2 ELITE MGB® Kit para el HSV1		Resultados del HSV 1&2 ELITE MGB® Kit para el HSV2	
		Positivo	Prevalencia	Positivo	Prevalencia
Genital/Vaginal/Cervicouterina	501	109	21,8 %	163	32,5 %
Bucal	74	21	28,4 %	2	2,7 %
Otros	27	5	18,5 %	2	7,4 %
Anorrectal	12	2	16,7 %	5	41,7 %
Uretral	6	0	0 %	0	0 %
Ocular	5	0	0 %	0	0 %
Nasal	2	1	50,0 %	0	0 %
<b>Todos</b>	<b>627</b>	<b>138</b>	<b>22,0 %</b>	<b>172</b>	<b>27,4 %</b>

**Resultados: rendimiento clínico**

**Porcentajes de concordancia positiva/negativa (PPA/NPA) para el HSV1. Resumen de los resultados**

En la tabla siguiente, se resume el rendimiento PPA/NPA del producto «HSV 1&2 ELITe MGB® Kit» cuando se comparó con el método de referencia compuesto en la detección de ADN del HSV1 en lesiones cutáneas y mucocutáneas.

**Resumen de resultados para el HSV1 en muestras válidas de lesiones cutáneas (N=545)**

HSV 1&2 ELITe MGB® Kit	Método de referencia compuesto		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	78	7	85
Negativo	1	459	460
Total	79	466	545
	Resultados	IC del 95 %	
PPA	98,7 % (78/79)	93,2–99,8 %	
NPA	98,5 % (459/466)	96,9–99,3 %	

**Resumen de resultados para el HSV1 en muestras válidas de lesiones mucocutáneas (N=626)**

HSV 1&2 ELITe MGB® Kit	Método de referencia compuesto		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	126	12	138
Negativo	1	487	488
Total	127	499	626
	Resultados	IC del 95 %	
PPA	99,2 % (126/127)	95,7–99,9 %	
NPA	97,6 % (487/499)	95,8–98,6 %	

**HSV2 PPA/NPA. Resumen de los resultados:**

En la tabla que se incluye a continuación, se resumen los porcentajes de concordancia positiva y negativa (PPA/NPA) del producto «HSV 1&2 ELITe MGB® Kit» cuando se comparó con el método de referencia compuesto en la detección del ADN del HSV2 en lesiones cutáneas y mucocutáneas.

**Resumen de resultados para el HSV2 en muestras válidas de lesiones cutáneas (N=545)**

HSV 1&2 ELITe MGB® Kit	Método de referencia compuesto		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	125	6	131
Negativo	5	409	414
Total	130	415	545
	Resultados	IC del 95 %	
PPA	96,2 % (125/130)	91,3–98,3 %	
NPA	98,6 % (409/415)	96,9–99,3 %	

**Resumen de resultados para el HSV2 en muestras válidas de lesiones mucocutáneas (N=625)**

HSV 1&2 ELITe MGB® Kit	Método de referencia compuesto		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	164	8	172
Negativo	4	449	453
Total	168	457	625
	Resultados	IC del 95 %	
PPA	97,6 % (164/168)	94,0–99,1 %	
NPA	98,2 % (449/457)	96,6–99,1 %	

### Estudio del panel bucal artificial para el HSV2

Debido a la dificultad a la hora de obtener suficientes muestras bucales positivas para el HSV2, el análisis para el HSV2 se complementó utilizando un panel artificial. El panel constaba de 75 muestras de exudados de mejilla individuales negativas, recogidas en un medio de transporte universal (UTM) y enriquecidas con HSV1 y HSV2 a diversas concentraciones (tal como se muestra en la siguiente tabla).

**Panel de muestras bucales artificiales del HSV**

Nivel	N.º de muestras	Título de las muestras artificiales	× LoD
Nivel 1	10	Positivas para HSV2 a 5400 TCID <sub>50</sub> /mL	1.000×LoD
Nivel 2	10	Positivas para HSV2 a 1.080 TCID <sub>50</sub> /mL	200×LoD
Nivel 3	10	Positivas para HSV2 a 216 TCID <sub>50</sub> /mL	40×LoD
Nivel 4	10	Positivas para HSV2 a 43,2 TCID <sub>50</sub> /mL	8×LoD
Nivel 5	10	Positivas para HSV2 a 16,2 TCID <sub>50</sub> /mL	3×LoD
Nivel 6	10	Positivas para HSV1 a 590 TCID <sub>50</sub> /mL	10×LoD
Nivel 7	15	Muestras bucales negativas para HSV1/HSV2	
Total	75		

Todos los componentes del panel se aleatorizaron, se enmascararon para el evaluador y se analizaron con el producto «HSV 1&2 ELITE MGB® Kit» en el instrumento ELITE InGenius conforme al protocolo del estudio clínico.

El estudio del panel de muestras bucales artificiales constató que 49 de 50 muestras bucales artificiales de HSV2 eran positivas cuando se utilizó el producto «HSV 1&2 ELITE MGB® Kit» (98 % de detección).

**Nota:** Los datos y resultados completos de los análisis realizados para evaluar las características de rendimiento del producto con las matrices y el instrumento se registrarán en el archivo técnico del producto «HSV1&2 ELITE MGB® Kit», FTP RTK403ING.

### BIBLIOGRAFÍA

- J Schiffer et al. (2015) *Principles and Practice of Infectious Diseases* 2: 1713-30  
S. Vanjeri et al. (2012) *J Glob Infect Dis.* 4(3): 139-40  
E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e30

## **LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**

Utilizar este producto únicamente con las siguientes muestras clínicas: muestras de exudados de lesiones de pacientes guardadas en medios UTM, M4, M4RT, M5 o M6.

El rendimiento del producto no se evaluó en líquido cefalorraquídeo (LCR), ni tampoco en muestras de lesiones mucocutáneas uretrales, oculares ni nasales.

Los resultados obtenidos con este producto dependen de que las muestras se identifiquen, recojan, transporten, conserven y procesen de forma apropiada. Los resultados obtenidos con este producto también dependen del uso de productos relacionados adecuados. Por lo tanto, con el fin de evitar resultados incorrectos, realizar estos pasos con el debido cuidado y seguir estrictamente las instrucciones proporcionadas con los productos para la extracción de ácidos nucleicos.

Debido a su alta sensibilidad analítica, el método de amplificación en tiempo real utilizado en este producto puede desarrollar contaminación cruzada con las muestras positivas, los controles positivos y los propios productos de amplificación. Una contaminación cruzada puede dar lugar a resultados falsos positivos. El formato del producto puede limitar la contaminación cruzada. No obstante, esta solo puede evitarse procediendo conforme a las prácticas correctas de laboratorio y siguiendo estas instrucciones de uso.

Con el fin de evitar accidentes con consecuencias potencialmente graves para el usuario y otras personas, para utilizar este producto, se requiere personal cualificado y con la formación necesaria para procesar muestras biológicas potencialmente infecciosas o productos químicos clasificados como peligrosos.

Con el fin de evitar accidentes con consecuencias potencialmente graves para el usuario y otras personas, este producto requiere el uso de ropa de trabajo y áreas que sean adecuadas para procesar muestras biológicas potencialmente infecciosas o productos químicos clasificados como peligrosos.

Con el fin de evitar resultados falsos positivos, este producto requiere el uso de ropa de trabajo e instrumentos especiales expresamente destinados a la configuración de la sesión de trabajo de que se trate.

Debido a las diferencias inherentes que existen entre las distintas tecnologías, se recomienda a los usuarios realizar estudios de relación entre los diversos métodos para evaluar dichas diferencias antes de pasar a una nueva tecnología.

Se constató que la detección del HSV1 se inhibía en presencia de títulos de ADN de HSV2 de  $1 \times 10^3$  TCID<sub>50</sub>/mL o superiores en el estudio de interferencia analítica.

Un resultado negativo obtenido con este producto significa que el ADN de la diana no se ha detectado en el ADN extraído de la muestra, si bien no puede descartarse que el ADN de la diana presente un título inferior al límite de detección del producto (consultar el apartado «Características de rendimiento»). En este caso, el resultado puede ser un falso negativo.

Las interferencias potenciales debidas a condiciones concretas del paciente pueden dar lugar a resultados incorrectos.

En ocasiones, los resultados obtenidos con este producto pueden no ser válidos debido a un fallo del control interno. En este caso, la muestra debe volver a analizarse a partir del paso de extracción, lo que puede provocar retrasos a la hora de obtener los resultados finales.

Asimismo, los posibles polimorfismos dentro de la región del genoma vírico cubierto por los cebadores y la sonda del producto pueden afectar negativamente a la detección del ADN del HSV1 o del HSV2.

Como en cualquier otro producto sanitario para diagnóstico, los resultados obtenidos con este producto deben interpretarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y otras pruebas analíticas del paciente.

Como en cualquier otro producto sanitario para diagnóstico, existe un riesgo residual de que obtener con él resultados no válidos, falsos positivos y falsos negativos. Este riesgo residual no puede eliminarse ni reducirse aún más. En determinadas situaciones, el riesgo residual puede hacer que se tomen decisiones incorrectas, con consecuencias potencialmente graves para el paciente.

**PROBLEMAS Y SOLUCIONES**

<b>Reacción no válida del control positivo</b>	
<b>Posibles causas</b>	<b>Soluciones</b>
Error de la configuración de la sesión.	Comprobar la posición de la mezcla de PCR y la del control positivo. Comprobar el volumen de la mezcla de PCR y el del control positivo.
Degradación del control positivo.	Usar una nueva alícuota de control positivo.
Degradación de la mezcla de PCR.	Usar una nueva alícuota de la mezcla de PCR.
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

<b>Reacción no válida del control negativo</b>	
<b>Posibles causas</b>	<b>Soluciones</b>
Error de la configuración de la sesión.	Comprobar la posición de la mezcla de PCR y la del control negativo. Comprobar el volumen de la mezcla de PCR y el del control negativo.
Contaminación del control negativo	Usar una nueva alícuota de agua de calidad para biología molecular.
Contaminación de la mezcla de PCR.	Usar una nueva alícuota de la mezcla de PCR.
Contaminación del área de extracción, de las gradillas o del bloque de inventario.	Limpiar las superficies con detergentes acuosos, lavar las batas y sustituir las probetas y las puntas utilizados.
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

<b>Reacción de la muestra no válida</b>	
<b>Posibles causas</b>	<b>Soluciones</b>
Error de la configuración de la sesión.	Comprobar la posición de la mezcla de PCR y la de la muestra. Comprobar el volumen de la mezcla de PCR y el de la muestra.
Degradación del control interno.	Usar nuevas alícuotas del control interno.
Inhibición debido a sustancias interferentes con las muestras.	Repetir la amplificación con una dilución de 1:2 en agua de calidad para biología molecular de la muestra eluida en una sesión en el modo de procesamiento «PCR Only». Repetir la extracción y la amplificación con una dilución de 1:2 en agua de calidad para biología molecular de la muestra extraída en una sesión en el modo de procesamiento «Extract + PCR».
Degradación de la mezcla de PCR.	Usar una nueva alícuota de la mezcla de PCR.
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

<b>Error 30103</b>	
<b>Posibles causas</b>	<b>Soluciones</b>
Concentración demasiado alta de la diana en la muestra.	Si se observa una amplificación significativa en el gráfico de PCR, proceder de la manera siguiente: - Seleccionar la pista relativa a la muestra y aprobar manualmente el resultado. Si se necesita un valor Ct: - Repetir la amplificación con una dilución de 1:10 en agua de calidad para biología molecular de la muestra eluida en una sesión en el modo de procesamiento «PCR Only» o - Repetir la extracción con una dilución de 1:10 en la solución tampón de dilución de la muestra extraída en una sesión en el modo de procesamiento «Extract + PCR».

**SÍMBOLOS**



Número de catálogo



Límite superior de temperatura



Código de lote



Fecha de caducidad (último día del mes)



Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*



Cumple los requisitos de la Directiva 98/79/CE del Parlamento Europeo y del Consejo sobre productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*.



Contenido suficiente para «N» análisis.



Consúltense las instrucciones de uso.



Contenido



Control



Control positivo



Control negativo



Proteger de la luz solar.



Fabricante



País de fabricación

**AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA**

Los reactivos de detección ELITe MGB están cubiertos por una o varias patentes de EE. UU., 7319022, 7348146, 7541454, 7671218, 7723038, 7767834, 8163910, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529, así como por las patentes europeas 2689031, 2714939, 2736916, 2997161 y por solicitudes de patentes pendientes en la actualidad.

La tecnología ELITe InGenius® está cubierta por patentes y solicitudes de patentes.

Esta licencia limitada permite a la persona, o a la entidad legal a la que se ha suministrado el producto, utilizar este producto y los datos generados con el uso de este exclusivamente para el diagnóstico en humanos. Ni ELITechGroup S.p.A. ni sus licenciatarios conceden ninguna otra licencia, ni expresa ni implícita, para ningún otro propósito.

ELITe MGB®, el logotipo de ELITe MGB® y ELITe InGenius® son marcas registradas dentro de la Unión Europea.