

Instructions for use

HCV ELITe MGB® Kit

Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real



REF RTK601ING

UDI 08033891487072

CE **IVD**
0123

HISTORIAL DE CAMBIOS

Rev.	Información del cambio	Fecha (dd/mm/aa)
10-R	Ampliación del uso del producto cuando se utiliza el instrumento MyGenius PRO (REF INT050) con matrices de plasma recogido en EDTA o en AD y de suero. Actualización al «Modelo 2, versión 4.0.2» de los Assay Protocols (protocolos de ensayo) para los instrumentos ELITE InGenius® (REF INT030) y ELITE BeGenius® (REF INT040). Nuevo diseño de los gráficos y del contenido de las instrucciones de uso	16/09/26
09-R	Actualización de la prueba de reactividad cruzada	10/04/26
08-R	Sustitución de la probeta 953-217 de 2 mL y del tapón blanco 953-223 por la probeta 953-065 de 2 mL relacionada con la probetas del componente PCR Mix.	01/08/25
07-R	Actualización para el cumplimiento de los requisitos del Reglamento (UE) 2017/746 del Parlamento Europeo y del Consejo sobre los productos sanitarios para diagnóstico <i>in vitro</i> . Actualización de los rendimientos analítico y diagnóstico en la sección «CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO». NOTA! La composición del producto permanece sin cambios.	06/06/25
04	Otros productos necesarios: nota relativa a la disponibilidad de HCV ELITE Standard (Ref STD601ING) y HCV - ELITE Positive Control (Ref CTR601ING) como productos independientes. Procedimiento del ELITE BeGenius: instrucciones detalladas para la preparación de la mezcla de reacción completa cuando se utiliza un número de muestras superior a 12, en combinación con el instrumento ELITE BeGenius. Procedimiento del ELITE BeGenius: corrección tipográfica en la descripción del Assay Protocol (protocolo del ensayo). Advertencias y precauciones específicas de los componentes: ampliación del plazo de uso de cada probeta de reactivo hasta 60 días después de la primera apertura.	07/06/24
00-03	Desarrollo de un nuevo producto con los cambios consiguientes	

INDICE

1 USO PREVISTO	4
2 PRINCIPIO DEL ENSAYO	4
3 DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO.....	4
4 MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO.....	6
5 MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO	6
6 OTROS PRODUCTOS NECESARIOS	7
7 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES.....	9
8 Muestras y controles para el ELiTe InGenius, el ELiTe BeGenius y el MyGenius PRO.....	10
9 PROCEDIMIENTO CON EL ELiTe InGenius.....	13
10 PROCEDIMIENTO CON EL ELiTe BeGenius	21
11 PROCEDIMIENTO CON EL MyGenius PRO.....	27
12 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ELiTe InGenius, del ELiTe BeGenius y del MyGenius PRO.....	34
13 BIBLIOGRAFÍA	50
14 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO.....	50
15 PROBLEMAS Y SOLUCIONES	51
16 SÍMBOLOS.....	57
17 NOTA PARA LOS USUARIOS	58
18 AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA.....	58
Appendix A QUICK START GUIDE.....	59
Appendix B QUICK START GUIDE.....	65

1 USO PREVISTO

El producto **HCV ELITe MGB® Kit** es un producto sanitario para diagnóstico *in vitro* concebido para uso por parte de profesionales sanitarios como ensayo cuantitativo de ácidos nucleicos mediante retrotranscriptasa y PCR en tiempo real para la detección y la cuantificación de ARN de virus de la hepatitis C (VHC) extraído de muestras clínicas.

El ensayo se ha validado con los instrumentos **ELITe InGenius®**, **ELITe BeGenius®** y **MyGenius PRO®** (nombre registrado ELIVERSE®), que son sistemas automatizados e integrados para la extracción, la retrotranscriptasa, la PCR en tiempo real y la interpretación de resultados utilizando muestras humanas de plasma recogido en EDTA o en ACD y de suero.

El producto está concebido para utilizarlo como ayuda en el tratamiento de personas infectadas por el VHC que están recibiendo un tratamiento antivírico.

Los resultados deben interpretarse teniendo en cuenta todas las observaciones clínicas y los resultados de otras pruebas analíticas del paciente.

El producto no está concebido para utilizarlo en análisis de cribado ni para detectar la presencia de agentes contagiosos o la exposición a ellos en sangre, hemoderivados, células, tejidos, órganos o cualquiera de sus derivados a la hora de evaluar su idoneidad para una transfusión, un trasplante o una administración de células. El producto tampoco está concebido como prueba de diagnóstico para confirmar la presencia de una infección por el VHC.

2 PRINCIPIO DEL ENSAYO

Este es un ensayo cuantitativo en un solo paso de retrotranscriptasa y PCR en tiempo real para la detección de ARN de VHC aislado de muestras, sometido a retrotranscriptasa y amplificado a continuación utilizando una mezcla completa de reacción que contiene cebadores y sondas con la tecnología ELITe MGB®.

Las sondas ELITe MGB se activan cuando se hibridan con los productos de PCR relacionados. El **ELITe InGenius**, el **ELITe BeGenius** y el **MyGenius PRO** controlan el aumento de fluorescencia y calculan los ciclos umbral (Ct) y las temperaturas de fusión (Tm). La cantidad de VHC se calcula basándose en una curva de calibración almacenada.

En las sondas ELITe MGB, los fluoróforos se inhiben en el estado de cadena simple con estructura en espiral aleatoria de la sonda. Los fluoróforos están activos en el dúplex sonda/amplicón, ya que el inhibidor se encuentra separado espacialmente del fluoróforo. Cabe señalar que el fluoróforo no se escinde durante la PCR y puede utilizarse para el análisis de disociación y el cálculo de la temperatura de fusión.

3 DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

El producto **HCV ELITe MGB Kit** incluye los siguientes componentes:

- **HCV ELITe MGB Mix**

Este componente incluye los dos subcomponentes siguientes:

- **HCV PCR Mix** Una mezcla PCR Mix optimizada y estabilizada que contiene lo siguiente:
 - Cebadores y sondas específicos para **VHC**, región 5' UTR, detectada en el canal **HCV**; la sonda se estabiliza con la tecnología MGB®, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher® y se marca con colorante FAM.®, and labeled by FAM dye.
 - Cebadores y sondas específicos para el Internal Control (**IC**) específico para una región del ARN genómico del bacteriófago **MS2**, detectado en el canal **IC**; la sonda se estabiliza con la tecnología MGB®, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher, y se marca con colorante AquaPhluor® AP525.
 - Solución tampón, cloruro de magnesio, nucleótidos trifosfatos y la enzima ADN polimerasa con activación térmica («hot-start»).
- **RT EnzymeMix**, una mezcla optimizada y estabilizada de enzimas para retrotranscriptasa.

El producto **HCV ELITe MGB Mix** contiene suficientes reactivos para realizar **96 análisis** en el **ELITe InGenius**, el **ELITe BeGenius** y el **MyGenius PRO** cuando se utilizan 20 µL de **HCV PCR Mix** y 0,3 µL de **RT EnzymeMix** en cada reacción.

- **HCV ELITE Standard**

Este componente incluye los subcomponentes **HCV Q-PCR Standard**, que son cuatro soluciones estabilizadas de ADN plasmídico con la región 5' UTR amplificada de VHC a un **título conocido**. El componente **HCV ELITE Standard** debe utilizarse con el producto **HCV ELITE MGB Mix** en los instrumentos ELITE InGenius, ELITE BeGenius y MyGenius PRO con el fin de calcular la curva de calibración del sistema (lote de producto e instrumento) para la cuantificación de VHC.

NOTA!

La concentración de ADN plasmídico se determinó en copias/mL con un espectrofotómetro UV y, después, dicha concentración se relacionó con el «6º Estándar internacional de la OMS para VHC» (NIBSC, Reino Unido, código 18/184), aplicando un factor de conversión que permitió realizar una cuantificación de VHC en unidades internacionales/mL (UI/mL).

El producto **HCV ELITE Standard** contiene suficientes reactivos para realizar **2 sesiones** en los instrumentos **ELITE InGenius**, **ELITE BeGenius** y **MyGenius PRO** cuando se utilizan 20 µL en cada reacción.

- **HCV - ELITE Positive Control**

Este componente contiene el subcomponente **HCV Positive Control**, una solución estabilizada de ADN plasmídico con la región 5' UTR amplificada de VHC a un **título conocido**. El producto **HCV Positive Control** debe utilizarse con el componente **HCV ELITE MGB Mix** en los instrumentos **ELITE InGenius**, **ELITE BeGenius** y **MyGenius PRO** para elaborar los gráficos de control («Control Charts») que permiten realizar la verificación del sistema (lote de producto e instrumento).

El producto **HCV Positive Control** contiene suficientes reactivos para realizar **8 sesiones** en los instrumentos **ELITE InGenius**, **ELITE BeGenius** y **MyGenius PRO** (**4 sesiones por cada probeta**) cuando se utilizan 20 µL en cada reacción.

- **HCV Internal Control**

Este componente contiene el subcomponente **HCV CPE** (Internal Control exógeno), una solución estabilizada de ARN genómico del bacteriófago MS2. El producto **HCV Internal Control** debe utilizarse en los instrumentos **ELITE InGenius** y **ELITE BeGenius** y se añade a los reactivos de extracción para validar los resultados de las muestras negativas para VHC.

El producto **HCV Internal Control** contiene suficientes reactivos para realizar **96 análisis** en los instrumentos **ELITE InGenius** y **ELITE BeGenius** (**12 análisis por cada probeta**), cuando se utilizan 10 µL en cada reacción.

El producto **HCV Internal Control NO** debe utilizarse con el instrumento **MyGenius PRO**; en este caso, es necesario utilizar el producto Internal Control Maxi (ref. ICMAXI), no incluido en el kit.

4 MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

Tabla 1

Componente	Subcomponente	Descripción	Cantidad	Clasificación de peligros
HCV ELiTe MGB Mix ref. RTS601ING	HCV PCR Mix ref. RTS601ING	Mezcla de reactivos para retrotranscriptasa y PCR en tiempo real en una probeta con tapón de color natural	4×600 µL	-
	RT EnzymeMix ref. RTS003-RT	Enzimas de retrotranscriptasa en una probeta con tapón con inserto NEGRO	2×20 µL	-
HCV ELiTe Standard ref. STD601ING	HCV Q-PCR Standard 10 ⁵ ref. STD601ING-5	Solución plasmídica en probeta con tapón rojo	1×160 µL	-
	HCV Q-PCR Standard 10 ⁴ ref. STD601ING-4	Solución plasmídica en probeta con tapón azul	1×160 µL	
	HCV Q-PCR Standard 10 ³ ref. STD601ING-3	Solución plasmídica en probeta con tapón verde	1×160 µL	
	HCV Q-PCR Standard 10 ² ref. STD601ING-2	Solución plasmídica en probeta con tapón amarillo	1×160 µL	
HCV - ELiTe Positive Control ref. CTR601ING	HCV Positive Control ref. CTR601ING	Solución plasmídica en probeta con tapón negro	2×160 µL	-
HCV Internal Control ref. CPE601ING	HCV Internal Control ref. CPE601ING	Solución de ADN plasmídicos y ARN genómico del MS2 en probeta con tapón de color natural	8×160 µL	-

5 MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

- Campana de flujo laminar.
- Guantes sin talco desechables de nitrilo o de otro material similar.
- Agitador vórtex
- Centrifugadora de sobremesa (aproximadamente 5000 rpm).
- Centrifugadora de sobremesa (aproximadamente 13.000 rpm).
- Micropipetas y puntas estériles con filtro para aerosoles o puntas estériles de desplazamiento positivo (rango de volumen: 0,5–1000 µL).
- Probetas estériles de 2,0 mL con tapón roscado (Sarstedt, Alemania, ref. 72.694.005).
- Probetas estériles de 0,5 mL con tapón roscado (Sarstedt, Alemania, ref. 72.730.005).
- Agua de calidad para biología molecular.

6 OTROS PRODUCTOS NECESARIOS

Los reactivos para la extracción de ARN de las muestras y los consumibles **no** se incluyen en con este producto. Para la extracción automatizada de ácidos nucleicos, la retrotranscriptasa, la PCR en tiempo real y la interpretación de los resultados de las muestras, es necesario utilizar los siguientes productos.

Tabla 2

Instrumento y software	Producto y reactivos
ELiTe InGenius (ELiTechGroup S.p.A., EG SpA ref. INT030) ELiTe InGenius Software versión 1.4.0 (o posterior) HCV ELiTe_PC, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control HCV ELiTe_NC, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Negative Control. HCV ELiTe_STD, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de los calibradores HCV ELiTe_PL_600_50, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de plasma HCV ELiTe_Se_600_50, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de suero	ELiTe InGenius SP 1000 (EG SpA, ref. INT033SP1000) Consumibles para el ELiTe InGenius y el ELiTe BeGenius (consulte las instrucciones de uso del ELiTe InGenius y del ELiTe BeGenius)
ELiTe BeGenius (EG SpA, ref. INT040) ELiTe BeGenius Software versión 2.3.0. (o posterior) HCV ELiTe_Be_PC, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control. HCV ELiTe_Be_NC, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Negative Control HCV ELiTe_Be_STD, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de los calibradores HCV ELiTe_Be_PL_600_50, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de plasma HCV ELiTe_Be_Se_600_50, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de suero	
MyGenius PRO (EG SpA ref: ref. INT050). MyGenius PRO Software versión BB—04 (o posterior) HCV ELiTe_My_PC, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control. HCV ELiTe_My_NC, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Negative Control HCV ELiTe_My_STD, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de los calibradores HCV ELiTe_My_PL_IU_600_50, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de plasma HCV ELiTe_My_PL_cmL_600_50, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de plasma y la presentación de los resultados en copias/mL HCV ELiTe_My_Se_IU_600_50, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de plasma HCV ELiTe_My_Se_cmL_600_50, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de suero y la presentación de los resultados en copias/mL	Internal Control Maxi (EG SpA, Ref. ICMAXI) Negative Control (EG SpA, Ref. CTRNEG) Consumibles para el MyGenius PRO (consultar las instrucciones de uso del MyGenius Pro)

7 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Este producto está diseñado exclusivamente para uso *in vitro*.

7.1 Advertencias y precauciones generales

- Manipular y eliminar todas las muestras biológicas como si fueran infecciosas. Evitar el contacto directo con las muestras biológicas. Evitar salpicaduras o pulverizaciones. Las probetas, las puntas y el resto de materiales que entran en contacto con las muestras biológicas deben tratarse con hipoclorito de sodio (lejía) al 3 % durante al menos 30 minutos, o bien procesarse 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 infecciosos. Evitar el contacto directo con los reactivos. Evitar salpicaduras o pulverizaciones. 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. Evitar que los reactivos de extracción entren en contacto con hipoclorito de sodio (lejía).
- Utilizar 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.
- Leer atentamente todas las instrucciones incluidas antes de realizar el ensayo.
- Durante la realización del 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.

7.2 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 la PCR, para los procedimientos de biología molecular se requiere personal debidamente formado y cualificado.

Es necesario disponer de batas, guantes e instrumentos específicos para las sesiones de trabajo.

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 reactivos deben manipularse bajo una campana de flujo laminar. Las pipetas utilizadas para manipular los reactivos 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 productos de extracción deben manipularse de forma que se evite su dispersión al medio ambiente y la contaminación de la zona de trabajo del instrumento.

Con el fin de evitar la dispersión del producto de PCR hacia el entorno o la contaminación por arrastre de sustancias, los «PCR Cassettes» deben manipularse con cuidado y no deben abrirse nunca.

7.3 Advertencias y precauciones específicas para los componentes:

Tabla 3

Componente (subcomponente)	Temperatura de almacenamiento	Uso a partir de la primera apertura	Ciclos de congelación y descongelación	Estabilidad con carga (ELiTe InGenius y ELiTe BeGenius)	Estabilidad con carga (MyGenius PRO)
HCV ELiTe MGB Mix (HCV PCR Mix)	-20 °C o una temperatura inferior (protegido de la luz)	60 días	máximo cinco	—	—
HCV ELiTe MGB Mix (RT EnzymeMix)	-20 °C o una temperatura inferior	60 días	máximo diez veces, durante diez minutos cada una a una temperatura comprendida entre 2 °C y +8 °C	—	—
HCV ELiTe Standard (HCV Q-PCR Standard)	-20 °C o una temperatura inferior	60 días	máximo dos	hasta 2 sesiones independientes de 2 horas cada una	hasta dos horas cuatro veces*
HCV ELiTe – Positive Control (HCV Positive Control)	-20 °C o una temperatura inferior	60 días	Cuatro como máximo	hasta 4 sesiones independientes de 3 horas cada una	hasta tres horas cuatro veces*
HCV ELiTe Internal Control (HCV Internal Control)	-20 °C o una temperatura inferior	60 días	hasta seis	hasta 6 sesiones independientes de 3 horas cada una	—

* con ciclos de congelación y descongelación intermedios

8 Muestras y controles para el ELiTe InGenius, el ELiTe BeGenius y el MyGenius PRO

8.1 Muestras y protocolos de ensayo

Este producto está concebido para utilizarlo en uno de los instrumentos **ELiTe InGenius**, **ELiTe BeGenius** o **MyGenius PRO** con las siguientes muestras clínicas validadas pertinentes, identificadas y manipuladas conforme a las directrices para laboratorios y obtenidas, transportadas y conservadas en las condiciones siguientes:

Tabla 4

Muestra	Requisitos de obtención	Condiciones de transporte y almacenamiento			
		de +16 °C a +26 °C (temperatura ambiente)	de +2 °C a +8 °C	-20 °C ± 10 °C	-70 °C ± 15 °C
Plasma	EDTA o ACD	≤1 día	≤3 días	≤1 mes	≤6 meses
Suero	-	≤1 día	≤5 días	≤1 mes	≤6 meses

ACD: solución con ácido cítrico, citrato sódico y dextrosa; EDTA: ácido edético

Con el fin de evitar ciclos repetidos de congelación y descongelación, se recomienda dividir las muestras en alícuotas antes de congelarlas. Si se utilizan muestras congeladas, descongelarlas inmediatamente antes de la extracción para evitar una posible degradación de los ácidos nucleicos.

Para realizar el análisis de las muestras en el **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius**, es necesario utilizar los siguientes Assay Protocols (protocolos de ensayo). Estos protocolos para diagnóstico *in vitro* se han validado específicamente con los productos ELITE MGB Kit y los instrumentos **ELITE InGenius** o **ELITE BeGenius** con las matrices indicadas.

Tabla 5 Protocolo de ensayo para el producto HCV ELITE MGB Kit

Muestra	Instrumento	Protocolo de ensayo	Informe	Características
Plasma	ELITE InGenius	HCV ELITE_PL_600_50	copias/mL o UI/mL	Volumen inicial de extracción: 600 µL Volumen de elución de extracción: 50 µL Internal Control: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1,7 Volumen de PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL
	ELITE BeGenius	HCV ELITE_Be_PL_600_50	copias/mL o UI/mL	Volumen inicial de extracción: 600 µL Volumen de elución de extracción: 50 µL Internal Control: 10 µL Factor de dilución: 1 Volumen de PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL
Suero	ELITE InGenius	HCV ELITE_Se_600_50	copias/mL o UI/mL	Volumen inicial de extracción: 600 µL Volumen de elución de extracción: 50 µL Internal Control: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1,7 Volumen de PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL
	ELITE BeGenius	HCV ELITE_Be_Se_600_50	copias/mL o UI/mL	Volumen inicial de extracción: 600 µL Volumen de elución de extracción: 50 µL Internal Control: 10 µL Factor de dilución: 1 Volumen de PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL

Para analizar las muestras en el **MyGenius PRO**, es necesario utilizar los siguientes Assay Protocols (protocolos de ensayo). Estos protocolos para diagnóstico *in vitro* se han validado específicamente con los productos **ELITE MGB Kit** y el instrumento **MyGenius PRO** con las matrices indicadas.

Tabla 6 Assay Protocols (protocolos de ensayo) para el producto HCV ELITE MGB Kit y el instrumento MyGenius PRO

Muestra	Instrumento	Nombre del protocolo de ensayo	Informe	Características
Plasma recogido en ACD o en EDTA	MyGenius PRO	HCV ELITE_My_PL_IU_600_50	UI/mL	Volumen inicial de extracción: 600 µL Volumen de elución de extracción: 50 µL
		HCV ELITE_My_PL_cmL_600_50	copias/mL	Internal Control: 10 µL Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL
Suero	MyGenius PRO	HCV ELITE_My_Se_IU_600_50	UI/mL	Volumen inicial de extracción: 600 µL Volumen de elución de extracción: 50 µL
		HCV ELITE_My_Se_cmL_600_50	copias/mL	Internal Control: 10 µL Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL

NOTA!

Verificar si la probeta primaria y el volumen de la muestra son compatibles con el ELITE InGenius, el ELITE BeGenius o el MyGenius PRO conforme a las instrucciones de uso del instrumento en cuestión.

El volumen de la muestra en la probeta primaria varía en función del tipo de probeta que se haya cargado. Para obtener más información sobre la configuración y realización del procedimiento de extracción, consultar las instrucciones de uso del kit de extracción.

Si es necesario, verter 600 µL de muestra en el «Extraction Tube» (tubo de extracción), en el caso del ELITE InGenius, o bien en una probeta Sarstedt de 2 mL, en el caso del ELITE BeGenius, así como 660 µL de muestra en una probeta Sarstedt de 2 mL en el caso del MyGenius PRO.

NOTA!

El pipeteado de las muestras desde la probeta primaria hasta el **Extraction Tube** (tubo de extracción) o la **probeta Sarstedt de 2 mL** puede **desarrollar contaminación**. Así pues, utilizar pipetas apropiadas y seguir todas las recomendaciones indicadas en la sección «7 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES page 9».

Los ácidos nucleicos purificados pueden dejarse a temperatura ambiente durante 16 horas o conservarse a -20 °C o a una temperatura inferior durante un máximo de un mes.

Consultar el apartado «Sustancias potencialmente interferentes» en la sección «12 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ELITE InGenius, del ELITE BeGenius y del MyGenius PRO page 34» para comprobar los datos relativos a tales sustancias.

No utilizar plasma recogido en heparina, ya que es un inhibidor de la PCR.

No utilizar plasma hemolítico, pues la hemoglobina inhibe la reacción de la PCR

8.2 Calibradores y controles de PCR

La curva de calibración debe generarse y aprobarse para cada lote de reactivo de reactivo de PCR.

- Para la curva de calibración, utilizar los cuatro niveles del componente HCV ELITE Standard, incluido con este kit, junto con los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **HCV ELITE_STD**, **HCV ELITE_Be_STD** o **HCV ELITE_My_STD**,

NOTA!

Las concentraciones de los calibradores Q-PCR Standard se expresan en copias/reacción (10^5 copias/reacción, 10^4 copias/reacción, 10^3 copias/reacción y 10^2 copias/reacción). Consultar «Incertidumbre de la curva de calibración» en la sección 12 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ELITE InGenius, del ELITE BeGenius y del MyGenius PRO page 34

Los resultados del control de la PCR deben generarse y aprobarse para cada lote de reactivo de reactivo de PCR.

- Para el Positive Control, utilizar el **HCV - ELITE Positive Control** incluido con este kit con los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **HCV ELITE_PC**, **HCV ELITE_Be_PC** o **HCV ELITE_My_PC**.

- Para el Negative Control, utilizar agua para biología molecular (no incluida con este kit) con los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **HCV ELITE_NC** o **HCV ELITE_Be_NC**, o utilizar el **Negative Control** (no incluido con este kit) con el Assay Protocol (protocolo de ensayo) **HCV ELITE_My_NC**.

NOTA!

El **ELITE InGenius**, el **ELITE BeGenius** y el **MyGenius PRO** permiten generar y guardar la curva de calibración y validar el control de PCR para cada lote de reactivos de PCR.

Las curvas de calibración caducan **a los 60 días**, después de los cuales es necesario volver a realizar la calibración.

Los resultados del control de PCR caducan a los **15 días**, después de los cuales es necesario volver a procesar el Positive Control y el Negative Control.

Los calibradores y los controles de PCR deben volver a procesarse si se produce alguna de las siguientes circunstancias:

- Se utiliza un nuevo lote de reactivos.
- Los resultados del análisis de control de calidad (consultar el apartado siguiente) están fuera de las especificaciones.
- Se realiza una operación importante de mantenimiento en uno de los instrumentos **ELITE InGenius**, **ELITE BeGenius** o **MyGenius PRO**.

8.3 Controles de calidad

Se recomienda verificar la extracción y el procedimiento de PCR. Se pueden utilizar muestras archivadas o material de referencia certificado. Deben realizarse controles externos de acuerdo con las disposiciones de los organismos de acreditación locales, estatales o federales, según proceda.

9 PROCEDIMIENTO CON EL ELITE InGenius

El procedimiento para utilizar el producto **HCV ELITE MGB Kit** con el **ELITE InGenius** comprende tres pasos:

Tabla 7

PASO 1	Verificación de la disponibilidad del sistema	
PASO 2	Configuración de la sesión	A) Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).
		B) Sesión con la muestra eluida; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).
		C) Sesión de calibración; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
		D) Sesión para el Positive Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)

Tabla 7 (continued)

PASO 3	Evaluación y aprobación de los resultados	1) Validación de la curva de calibración
		2) Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
		3) Validación de los resultados de las muestras
		4) Generación del informe de los resultados de la muestra

9.1 PASO 1. Verificación de la disponibilidad del sistema

Antes iniciar la sesión, es necesario realizar las siguientes tareas:

- Encender el **ELiTe InGenius** e iniciar sesión en el modo «**CLOSED**».
- En el menú «Calibration» (Calibración) de la pantalla «Home» (Inicio), verificar que los calibradores (**Q - PCR Standard**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de **PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de calibradores válidos para el lote de mezcla **PCR Mix**, realizar la calibración tal como se describe en los apartados siguientes.
- En el menú «Controls» (Controles) de la página «Home» (Inicio), verificar que los controles de PCR (**Positive Control, EV Negative Control**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de mezcla **PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de controles de PCR válidos para el lote de **PCR Mix**, procesar los controles de la PCR tal como se describe en los apartados siguientes.
- Seleccionar el tipo de sesión siguiendo las instrucciones de la interfaz para configurar la sesión y utilizando los protocolos de ensayo (Assay Protocols) proporcionados por EG SpA (consultar la sección «Muestras y controles»).

Si el Assay Protocol (protocolo de ensayo) deseado no está cargado en el sistema, contactar con el servicio de atención al cliente de ELiTechGroup más cercano.

9.2 PASO 2. Configuración de la sesión

El producto **HCV ELiTe MGB Kit** puede utilizarse con el **ELiTe InGenius** para realizar las siguientes tareas:

- A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)
- B. Sesión con la muestra eluida; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
- C. Sesión de calibración en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
- D. Sesión para el Positive Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)

Todos los parámetros necesarios están incluidos en el protocolo de ensayo disponible en el instrumento y se cargan automáticamente al seleccionar el protocolo de ensayo.

NOTA!

El **ELiTe InGenius** puede conectarse al «Laboratory Information System» (sistema de información de laboratorios, LIS), que permite descargar la información de la sesión. Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

Antes de configurar una sesión:

1. Descongelar las probetas necesarias de **HCV PCR Mix** a temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para **24 análisis** (es decir, realizando al menos 5 análisis por sesión). Mezclar mediante vórtex a baja velocidad tres veces durante 10 segundos, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservar en hielo o en el bloque refrigerado.

NOTA!

Conservar **PCR Mix** en un lugar protegido de la luz mientras se descongela, pues este reactivo es fotosensible.

2. Tomar las probetas de **RT EnzymeMix** que se necesiten. Cada probeta es suficiente para **48 análisis**. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.

NOTA!

La mezcla **RT EnzymeMix** no debe exponerse a temperaturas superiores a unos -20°C durante más de 10 minutos.

- Preparar una probeta de 2 mL (Sarstedt ref. 72.694.005, no incluida en el kit) para la **mezcla completa de reacción** y etiquetarla con un rotulador permanente.
- Calcular los volúmenes necesarios de las mezclas **HCV PCR Mix** y **RT EnzymeMix** para preparar la **mezcla completa de reacción** basándose en el número de muestras (N) que van a analizarse, tal como se describe en la tabla siguiente.

Tabla 8

Número de muestra (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 12$	290 μL	4,4 μL

- Preparar la **mezcla completa de reacción** vertiendo los volúmenes calculados de los dos componentes en la probeta de 2 mL etiquetada. Mezclar mediante vórtex a baja velocidad tres veces durante 10 segundos, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservar en hielo o en el bloque refrigerado.

NOTA!

La **mezcla completa de reacción** puede utilizarse en el transcurso de **7** horas si se conserva en un bloque refrigerado (para dos sesiones de 3 horas cada una y durante el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión). La mezcla completa de reacción **no puede** guardarse para reutilizarla.

NOTA!

La **mezcla completa de reacción** es fotosensible, por lo que no debe exponerse a la luz directa.

Para configurar uno de los cuatro tipos de sesión, realizar los pasos siguientes conforme a las instrucciones de la interfaz:

Tabla 9

	A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)	B. Sesión con la muestra; eluida modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
1	Identificar las muestras y, en caso necesario, descongelar a temperatura ambiente, mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Para este ensayo, es necesario verter 600 μL de muestra en un «Extraction Tube» (tubo de extracción) previamente etiquetado. Cualquier volumen sobrante se dejará en el «Extraction Tube» (tubo de extracción) utilizando el instrumento ELITE InGenius. Descongelar las probetas necesarias de CPE a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.	Descongelar los «Elution Tubes» (tubos de elución) que contienen los ácidos nucleicos extraídos a temperatura ambiente. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.
2	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).

Tabla 9 (continued)

	A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)	B. Sesión con la muestra; eluida modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
3	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 1000 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 50 µL.	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 1000 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 50 µL.
4	Para cada muestra, asignar un carril e introducir el «SampleID» o SID (ID de la muestra), ya sea rellenándolo directamente o escaneando su código de barras.	Para cada muestra, asignar un carril e introducir el «SampleID» o SID (ID de la muestra), ya sea rellenándolo directamente o escaneando su código de barras.
5	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».
6	Asegurarse de que el protocolo que se muestra en el área «Protocol» (Protocolo) sea «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	Seleccionar «PCR Only» en la columna «Protocol» (Protocolo).
7	En la columna «Sample Position» (Posición de la muestra), seleccionar la posición de carga «Extraction Tube» (Tubo de extracción) para la muestra. Asegurarse de que la opción «Dilution factor» (Factor de dilución) esté configurada a «1,7».	Asegurarse de que la posición de carga de la muestra en la columna «Sample Position» (Posición de la muestra) sea «Elution Tube (bottom row)» (Tubo de elución [fila inferior]). Asegurarse de que la opción «Dilution factor» (Factor de dilución) esté configurada a «1,7».
8	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
9	Cargar el CPE y la mezcla completa de reacción en el «Inventory Block» (administrador de inventarios) en función de la «Load List» (Cargar lista) y, después, introducir el número de lote del CPE y de la mezcla PCR Mix, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.	Cargar la mezcla completa de reacción en el «Inventory Block» (administrador de inventarios), en función de la «Load List» (Cargar lista) y, después, introducir el número de lote de la mezcla PCR Mix, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.
10	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
11	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.
12	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
13	Cargar el PCR Cassette, los «Elution Tubes» (tubos de elución), los cartuchos de extracción ELITE InGenius SP 1000, así como todos los consumibles necesarios y las muestras que deben extraerse.	Cargar el PCR Cassette y los «Elution Tubes» (tubos de elución) con las muestras extraídas.
14	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
15	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.
16	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).

Tabla 10

	C. Sesión de calibración (modo de procesamiento «PCR Only»).	D. Sesión del Positive Control y del Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
1	Descongelar las probetas necesarias de Q-PCR Standard tubes (Cal1: Q-PCR Standards 10^2 , Cal2: Q-PCR Standards 10^3 , Cal3: Q-PCR Standards 10^4 , Cal4: Q-PCR Standards 10^5) a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar mediante vórtex a baja velocidad tres veces durante 10 segundos, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservar en hielo o en el bloque refrigerado.	Descongelar las probetas de Positive Control a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar mediante vórtex a baja velocidad tres veces durante 10 segundos, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservar en hielo o en el bloque refrigerado. Preparar el Negative Control vertiendo al menos 50 µL de agua para biología molecular en el «Elution Tube» (tubo de elución) que se incluye con el producto ELiTe InGenius SP 1000 SP 200 Consumable Set.
2	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).
3	Asegurarse de que el volumen de entrada de extracción («Extraction Input Volume») sea de 1000 µL y el volumen de eluido extraído («Extracted Eluate Volume»), de 50 µL.	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 1000 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 50 µL.
4	Para el calibrador Q-PCR, asignar el carril («Track»), seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo) y, después, rellenar el número de lote y la fecha de caducidad de los reactivos.	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles». Introducir el número de lote y la fecha de caducidad del Positive Control y del agua para biología molecular.
5	En la columna «Protocol» (Protocolo), asegurarse de que esté seleccionado «PCR Only» (Solo PCR).	En la columna «Protocol» (Protocolo), asegurarse de que esté seleccionado «PCR Only» (Solo PCR).
6	Asegurarse de que la posición de carga de la muestra en la columna «Sample Position» (Posición de la muestra) sea «Elution Tube (bottom row)» (Tubo de elución [fila inferior])	Asegurarse de que la posición de carga de la muestra en la columna «Sample Position» (Posición de la muestra) sea «Elution Tube (bottom row)» (Tubo de elución [fila inferior]).
7	Cargar la mezcla mezcla completa de reacción en el bloque de inventario («Inventory Block»), en función de la «Load List» (Cargar lista) y, después, introducir el número de lote de la PCR Mix, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.	Cargar la mezcla completa de reacción en el «Inventory Block» (administrador de inventarios), en función de la «Load List» (Cargar lista) y, después, introducir el número de lote de la mezcla PCR Mix, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.
8	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
9	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) del «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.
10	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
11	Cargar el PCR Cassette y las probetas de Q-PCR Standard.	Cargar el PCR Cassette, el Positive Control y el Negative Control.
12	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
13	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.
14	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).

Una vez finalizada la sesión, el **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 «**Elution Tube**» (probeta de elución) debe extraerse del instrumento, taparse, identificarse y conservarse a -20 ± 10 °C durante un máximo de un mes. Evitar derramar la muestra extraída.

NOTA!

La **mezcla completa de reacción** puede guardarse en el bloque refrigerado durante un máximo de 7 horas (para dos sesiones de 3 horas cada una y durante el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión). Mezclar con cuidado y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos antes de iniciar la siguiente sesión. La mezcla completa de reacción **no puede** conservarse para reutilizarla.

NOTA!

Al finalizar la sesión, la parte que queda del **Q-PCR Standards** puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a -20 °C o a una temperatura inferior. Evitar derramar los calibradores **Q - PCR Standard**.

NOTA!

El calibrador **Q-PCR-Standard** puede utilizarse para 2 sesiones independientes de 2 horas cada una.

NOTA!

Al finalizar la sesión, la parte que queda del **Positive Control** puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a -20 °C o a una temperatura inferior. Evite cualquier derrame del componente Positive Control. La parte que queda del Negative Control debe eliminarse.

NOTA!

El **Positive Control** puede utilizarse para 4 sesiones independientes de 3 horas cada una.

NOTA!

Al finalizar la sesión, el **PCR Cassette** y los consumibles deben eliminarse siguiendo las normativas gubernamentales y medioambientales. Evitar derramar los productos de reacción.

9.3 PASO 3. Evaluación y aprobación de los resultados

El **ELITe InGenius** supervisa las señales de fluorescencia de la diana y del Internal Control para cada reacción y aplica automáticamente los parámetros del Assay Protocol (protocolo de ensayo) para generar curvas de PCR que, después, se convierten en resultados.

At the end of the run, the "Results Display" screen is automatically shown. En esta pantalla se muestran los resultados y la información de la sesión. Desde esta pantalla, es posible aprobar dichos resultados, así como imprimir o guardar los informes («Sample Report» o «Track Report»). Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

NOTA!

El **ELITe InGenius** puede conectarse al «Laboratory Information System» (sistema de información de laboratorios, LIS), que permite cargar los resultados de la sesión en el centro de datos del laboratorio. Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

El instrumento **ELITe InGenius** genera los resultados con el producto **HCV ELITe MGB Kit** mediante el siguiente procedimiento:

1. Validación de la curva de calibración
2. Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
3. Validación de los resultados de las muestras.
4. Generación del informe de los resultados de la muestra.

9.3.1 Validación de la curva de calibración

El **ELiTe InGenius Software** interpreta los resultados de la PCR para la diana de las reacciones del calibrador utilizando los parámetros del Assay Protocol (Protocolo de ensayo) **ELiTe_STD**. La relación Ct a concentración resultante da lugar a la curva de calibración.

Las curvas de calibración, específicas del lote de reactivos de PCR, se registran en la base de datos («Calibration»). Los usuarios cualificados como administrador («Administrator») o analista («Analyst») pueden consultar dichos resultados y aprobarlos siguiendo las instrucciones de la interfaz.

La curva de calibración caduca **a los 60 días**.

NOTA!

si la curva de calibración no cumple los criterios de aceptación, en el menú «Calibration» (Calibración) aparece el mensaje «Failed» (Error). En este caso, los resultados no pueden aprobarse y es necesario repetir las reacciones de amplificación del calibrador. Además, si se incluyeron muestras en la sesión, estas no se cuantifican, por lo que también deberán repetirse para generar resultados cuantitativos.

9.3.2 Validación de los resultados del Positive Control y Negative Control de la amplificación

El **ELiTe InGenius software** interpreta los resultados de la PCR para la diana de las reacciones del Positive Control y del Negative Control utilizando los parámetros de los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **ELiTe_PC** y **ELiTe_NC**. Los valores de Ct resultantes se convierten en concentraciones y se utilizan para verificar el sistema (lote de reactivos e instrumento).

Los resultados del Positive Control y del Negative Control, específicos del lote de reactivos de PCR, se registran en la base de datos («Controls»). Los usuarios cualificados como administrador («Administrator») o analista («Analyst») pueden consultar dichos resultados y aprobarlos siguiendo las instrucciones de la interfaz.

Los resultados del Positive Control y del Negative Control caducan **a los 15 días**.

El **ELiTe InGenius Software** procesa los resultados del Positive Control y del Negative Control y genera los gráficos de control («Control Charts»). La aprobación del Positive Control se basa en la evaluación de la cantidad logarítmica obtenida que debe estar dentro del rango de cantidad logarítmica que se espera (gráfico del PC), lo que garantiza que el rendimiento del sistema se encuentra dentro de los criterios de aceptación. El segundo gráfico (gráfico de L-J) está concebido exclusivamente para controlar la tendencia del Positive Control a lo largo del tiempo. Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

NOTA!

Si el resultado del Positive Control y del Negative Control no cumple los criterios de aceptación, en la pantalla «Controls» (Controles) aparece el mensaje «Failed» (Error). En este caso, los resultados no pueden aprobarse y es necesario repetir el procesamiento del Positive Control y del Negative Control.

NOTA!

si el resultado del Positive Control o del Negative Control no es válido y se incluyeron muestras en la misma sesión, las muestras pueden aprobarse, pero los resultados no se validan. En este caso, es necesario repetir el procesamiento del control o los controles que han producido un error y el de todas las muestras.

9.3.3 Validación de los resultados de la muestra

El **ELiTe InGenius Software** interpreta los resultados de la PCR para la diana (canal **HCV**) y el Internal Control (canal **IC**) con los parámetros de los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **HCV ELiTe_PL_600_50** y **HCV ELiTe_Se_600_50**. Los valores resultantes del Ct de la diana se convierten en concentración.

Los resultados se muestran en la pantalla «Results Display» (Presentación de resultados).

Los resultados de la muestra pueden aprobarse cuando se cumplen las tres condiciones que se indican en la tabla siguiente.

Tabla 11

1) Curva de calibración	Estado
HCV Q-PCR Standard	APROBADO
2) Positive Control	Estado
HCV Positive Control	APROBADO
3) Negative Control	Estado
HCV Negative Control	APROBADO

El **ELITE InGenius Software** interpreta automáticamente los resultados de las muestras utilizando los parámetros del Assay Protocol (protocolo de ensayo). En la tabla siguiente se muestran los posibles mensajes de los resultados.

Para cada muestra, el sistema muestra una combinación de los siguientes mensajes y especifica si los ARN de los patógenos se han detectado o no.

Tabla 12

Resultado de la sesión de la muestra	Interpretación
HCV:RNA Detected, quantity equal to XXX copies/mL or IU/mL (HCV:ARN detectado, cantidad igual a ·XXX· copias/mL o UI/mL)	Se ha detectado ARN de VHC en la muestra dentro del rango de medición del ensayo y se indica su concentración.
HCV:RNA Detected, quantity below “LLOQ” copies/mL or IU/mL (HCV:ARN detectado, cantidad por debajo de «LLOQ» copias/mL o UI/mL)	Se ha detectado ARN de VHC en la muestra, pero su concentración se encuentra por debajo del límite inferior de cuantificación del ensayo.
HCV:RNA Detected, quantity beyond “ULOQ” copies/mL or IU/mL (HCV:ARN detectado, cantidad mas alta de «ULOQ» copias/mL o UI/mL)	Se ha detectado ARN de VHC en la muestra, pero su concentración se encuentra por encima del límite superior de cuantificación del ensayo.
HCV:RNA Not Detected or below the “LoD” copies/mL or IU/mL (HCV:ARN no detectado o por debajo de «LoD» copias/mL o UI/mL)	No se ha detectado ARN de VHC en la muestra. La muestra es negativa para el ARN diana, o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
Invalid-Retest Sample (No válido-Volver a probar muestra)	Resultado no válido del ensayo causado por un fallo en el Internal Control (p. ej., debido a una extracción incorrecta o al arrastre de inhibidores). Es necesario repetir la prueba.

Las muestras que se notifican como «Invalid-Retest Sample» (No válido-Volver a probar muestra) no son aptas para la interpretación de resultados. En este caso el ARN del Internal Control no ha podido detectarse correctamente, por ejemplo, debido a problemas en la retrotranscriptasa, la PCR o el paso de extracción (degradación o pérdida de ARN durante la extracción o presencia de inhibidores en el eluido), lo que puede dar lugar a resultados incorrectos.

Si queda un volumen de eluido suficiente, dicho eluido puede volver a analizarse (tal cual o diluido) con una sesión de amplificación en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR). Si se produce un segundo resultado no válido, la muestra debe volver a analizarse a partir del paso de extracción de una nueva muestra utilizando el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR); consultar la sección «[15 PROBLEMAS Y SOLUCIONES page 51](#)».

Las muestras que se notifican como «HCV:RNA Not Detected or below “LoD” copies/mL or IU/mL» (HCV:ARN no detectado o por debajo del «LoD» copias/mL o UI/mL) son aptas para el análisis, pero no ha sido posible detectar ARN de VHC. En este caso, puede que dichas muestras sean negativas para ARN de VHC,

o bien que el ARN de VHC esté presente a una concentración inferior al límite de detección del ensayo (consultar la sección [12 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ELITE InGenius, del ELITE BeGenius y del MyGenius PRO page 34](#)).

Si se detectan muestras positivas para ARN de VHC a una concentración inferior al límite de detección (y al límite inferior de cuantificación) del ensayo, estas se notifican como «HCV:RNA Detected, quantity below “LLOQ” copies/mL or IU/mL» (HCV:ARN detectado, cantidad por debajo del «LLOQ» copias/mL o UI/mL); consultar la sección [12 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ELITE InGenius, del ELITE BeGenius y del MyGenius PRO page 34](#).

Las muestras positivas para ARN de VHC dentro del rango de medición lineal (consultar la sección [12 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ELITE InGenius, del ELITE BeGenius y del MyGenius PRO page 34](#)) se detectan y notifican como «HCV:RNA Detected, quantity equal to “XXX” copies/mL or IU/mL» (HCV:ARN detectado, cantidad igual a «XXX» copias/mL o UI/mL).

Las muestras positivas para ARN de VHC que se encuentran por encima del límite superior de cuantificación se notifican como «HCV: RNA Detected, quantity beyond “ULOQ” copies/mL or IU/mL» (HCV: ARN detectado, cantidad mas alta de «ULOQ» copias/mL o UI/mL) y no son aptas para la cuantificación. En caso necesario, es posible diluir la muestra antes de la extracción o de la PCR y volver a analizarla para obtener resultados dentro del rango de medición lineal del ensayo.

NOTA!

Los resultados obtenidos con este ensayo deben interpretarse teniendo en cuenta todas las observaciones clínicas y los resultados de otras pruebas analíticas del paciente.

Los resultados de la muestra se guardan en la base de datos y, si son válidos, pueden ser aprobados en la pantalla «Results Display» (Presentación de resultados) por personal cualificado como administrador («Administrator») o analista («Analyst»), siguiendo las instrucciones de la interfaz. La pantalla «Results Display» (Presentación de resultados) permite imprimir y guardar los resultados de la sesión de la muestra como «Sample Report» y como «Track Report».

9.3.4 Generación del informe de los resultados de la muestra

Los resultados de la muestra se guardan en la base de datos y los informes pueden exportarse como «Sample Report» y como «Track Report».

El «Sample Report» muestra los detalles de los resultados ordenados por la muestra seleccionada (SID).

El «Track Report» muestra los detalles de los resultados ordenados por el carril seleccionado.

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

10 PROCEDIMIENTO CON EL ELITE BeGenius

El procedimiento para utilizar el producto **HCV ELITE MGB Kit** con el **ELITE BeGenius** comprende tres pasos:

Tabla 13

PASO 1	Verificación de la disponibilidad del sistema	
PASO 2	Configuración de la sesión	A) Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).
		B) Sesión con la muestra eluida; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
		C) Sesión de calibración; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
		D) Sesión para el Positive Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
PASO 3	Evaluación y aprobación de los resultados	1) Validación de la curva de calibración
		2) Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
		3) Validación de los resultados de las muestras
		4) Generación del informe de los resultados de la muestra

10.1 PASO 1. Verificación de la disponibilidad del sistema

Antes iniciar la sesión, es necesario realizar las siguientes tareas:

- Encender el **ELiTe BeGenius** e iniciar sesión en el modo «**CLOSED**».
- En el menú «Calibration» (Calibración) de la pantalla «Home» (Inicio), verificar que los calibradores (**Q - PCR Standard**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de **PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de calibradores válidos para el lote de mezcla **PCR Mix**, realizar la calibración tal como se describe en los apartados siguientes.
- En el menú «Controls» (Controles) de la página «Home» (Inicio), verificar que los controles de PCR (**Positive Control, EV Negative Control**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de mezcla **PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de controles de PCR válidos para el lote de **PCR Mix**, procesar los controles de la PCR tal como se describe en los apartados siguientes.
- Seleccionar el tipo de sesión siguiendo las instrucciones de la interfaz para configurar la sesión, y utilizar los Assay Protocols (protocolos de ensayo) proporcionados por EG SpA (consultar la sección «Muestras y controles»).

Si el Assay Protocol (protocolo de ensayo) deseado no está cargado en el sistema, contactar con el servicio de atención al cliente de ELiTechGroup más cercano.

10.2 PASO 2. Configuración de la sesión

El producto **HCV ELiTe MGB Kit** puede utilizarse con el instrumento **ELiTe BeGenius** para realizar las siguientes tareas:

- A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)
- B. Sesión con la muestra eluida; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
- C. Sesión de calibración en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
- D. Sesión del Positive Control y del Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)

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

NOTA!

El **ELiTe BeGenius** puede conectarse al «Laboratory Information System» (sistema de información de laboratorios, LIS), que permite descargar la información de la sesión. Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

Antes de configurar una sesión:

1. Descongelar las probetas necesarias de **PCR Mix** a temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para **24 análisis** en condiciones óptimas de uso (es decir, realizando al menos 5 análisis por sesión). Mezclar mediante vórtex a baja velocidad tres veces durante 10 segundos, a continuación, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservar en hielo o en el bloque refrigerado.

NOTA!

Conservar **PCR Mix** en un lugar protegido de la luz mientras se descongela, pues este reactivo es fotosensible.

2. Tomar las probetas de **RT EnzymeMix** que se necesiten. Cada probeta es suficiente para 48 análisis en condiciones óptimas de uso (es decir, realizando al menos 5 análisis por sesión). Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.

NOTA!

La mezcla **RT EnzymeMix** no debe exponerse a temperaturas superiores a unos -20 °C durante más de 10 minutos.

3. Preparar una probeta de 2 mL (Sarstedt ref. 72.694.005, no incluida en el kit) para la **mezcla completa de reacción** y etiquetarla con un rotulador permanente.

4. Calcular los volúmenes necesarios de **PCR Mix** y de **RT EnzymeMix** para preparar la **mezcla completa de reacción** en función del número de muestras (N) que vayan a analizarse, tal como se describe en la tabla siguiente.

Tabla 14

Número de muestra (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 12$	290 μL	4,4 μL
$13 \leq N \leq 18$	$(N + 3) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 3) \times 0,3 \mu\text{L}$
$19 \leq N \leq 23$	$(N + 4) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 4) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 24$	580 μL	8,7 μL

5. Preparar la **mezcla completa de reacción** vertiendo los volúmenes calculados de los dos componentes en la probeta de 2 mL etiquetada. Mezclar mediante vórtex a baja velocidad tres veces durante 10 segundos, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservar en hielo o en el bloque refrigerado.

NOTA!

La **mezcla completa de reacción** puede utilizarse en el transcurso de **7 horas** si se conserva en un bloque refrigerado (para dos sesiones de 3 horas cada una y durante el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión). La mezcla completa de reacción **no puede** guardarse para reutilizarla.

NOTA!

La **mezcla completa de reacciones** fotosensible, por lo que no debe exponerse a la luz directa.

Para configurar uno de los cuatro tipos de sesión, realizar los pasos siguientes conforme a las instrucciones de la interfaz.

Tabla 15

	A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)	B. Sesión con la muestra; eluida modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
1	Identificar las muestras y, en caso necesario, descongelar a temperatura ambiente, mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. En caso necesario, verter 600 μL de muestra en una probeta Sarstedt de 2 ml (no incluida) previamente etiquetada. Cualquier volumen sobrante se dejará en la probeta Sarstedt de 2 mL utilizando el instrumento ELITE BeGenius. Descongelar las probetas necesarias de CPE a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.	Si es necesario, descongelar a temperatura ambiente los «Elution Tubes» (tubos de elución) que contiene los ácidos nucleicos extraídos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.
2	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).
3	Extraer todas las gradillas de la «Cooler Unit» y colocarlas en la mesa de preparación.	Extraer las racks de los «Lanes» 1, 2 y 3 (L1, L2, L3) de la «Cooler Unit» y colocarlas en la mesa de preparación.

Tabla 15 (continued)

	A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)	B. Sesión con la muestra; eluida modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
4	Seleccionar el «Run Mode»: «Extract + PCR» (Extracción + PCR). Nota: Cuando se cargan probetas secundarias «2 mL Tubes», utilizar los adaptadores azules para el «Sample Rack» (rack de muestras).	Seleccionar el «Run Mode»: «PCR Only» (Solo PCR).
5	Cargar las muestras en la «Sample Rack» (rack de muestras).	Cargar las muestras en la «Elution Rack» (rejilla de elución).
6	Insertar el «Sample Rack» (rack de muestras) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 5 (L5). En caso necesario, para cada «Position» (Posición), insertar el «Sample ID» (ID de la muestra) o SID. si se cargan probetas secundarias, marcar la probeta de 2 mL. Si las probetas secundarias no tienen códigos de barras, introducir manualmente el ID de las muestras.	Insertar la «Elution Rack» (rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). En caso necesario, para cada «Position» (Posición), introducir el «SID» (ID de la muestra), la «Sample matrix» (matriz de la muestra), el «Extraction Kit» (kit de extracción) y el «Extracted Eluate Volume» (volumen de elución extraído).
7	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
8	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 600 µL y «Extraction Elution Volume» (Volumen de elución extraído), a 50 µL.	No aplicable
9	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».
10	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
11	Si se procesan más de 12 muestras, repetir el procedimiento a partir del punto 6 utilizando el «Lane 4» (L4).	Si se procesan más de 12 muestras, repetir el procedimiento a partir del punto 6 utilizando el «Lane 4» (L4).
12	Cargar los «Elution Tubes» (tubos de elución) en la «Elution Rack» (rejilla de elución); los «Elution tubes» (tubos de elución) pueden etiquetarse con un código de barras para mejorar la rastreabilidad.	No aplicable
13	Insertar la «Elution Rack» (rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). Si se procesan más de 12 muestras, repetir el procedimiento utilizando el «Lane 2» (L2).	No aplicable
14	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	No aplicable
15	Cargar el CPE y la mezcla completa de reacción en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución).	Cargar la mezcla completa de reacción en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución).
16	Insertar la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) en el Lane 2 (L2) de la «Cooler Unit» o, si está disponible, en el Lane 1 (L1). En caso necesario, para cada reactivo de PCR Mix o cada CPE, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).	Insertar la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) en el Lane 2 (L2) de la «Cooler Unit» o, si está disponible, en el Lane 1 (L1). En caso necesario, para cada PCR Mix o cada CPE, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).
17	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.

Tabla 15 (continued)

	A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)	B. Sesión con la muestra; eluida modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
18	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.
19	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
20	Cargar la «PCR Rack» (rejilla de PCR) con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario).	Cargar la «PCR Rack» (rejilla de PCR) con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario).
21	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
22	Cargar la «Extraction Rack» (gradilla de extracción) con los cartuchos de extracción «ELiTe InGenius SP 1000 SP 200» y los consumibles de extracción necesarios.	No aplicable
23	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.
24	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).

Tabla 16

	C. Sesión de calibración (modo de procesamiento «PCR Only»).	D. Sesión del Positive Control y del Negative Control (modo de procesamiento «PCR Only»)
1	Descongelar las probetas necesarias de Q-PCR Standard tubes (Cal1: Q-PCR Standards 10 ² , Cal2: Q-PCR Standards 10 ³ , Cal3: Q-PCR Standards 10 ⁴ , Cal4: Q-PCR Standards 10 ⁵) durante 30 minutos a temperatura ambiente. Mezclar mediante vórtex a baja velocidad tres veces durante 10 segundos, a continuación, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservar en hielo o en el bloque refrigerado.	Descongelar las probetas de Positive Control a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Preparar el Negative Control vertiendo al menos 50 µL de agua para biología molecular en el «Elution Tube» (tubo de elución) que se incluye con el ELiTe InGenius SP 1000 Consumable Set.
2	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).
3	Extraer las racks de los «Lanes» 1, 2 y 3 (L1, L2, L3) de la «Cooler Unit» y colocarlas en la mesa de preparación.	Extraer las racks de los «Lanes» 1, 2 y 3 (L1, L2, L3) de la «Cooler Unit» y colocarlas en la tabla de preparación.
4	Seleccionar el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).	Seleccionar el «Run Mode»: «PCR Only» (Solo PCR)
5	Cargar las probetas de Q-PCR Standard en la «Elution Rack» (rejilla de elución).	Cargar las probetas de Positive Control y de Negative Control en la «Elution Rack» (rejilla de elución).
6	Insertar la «Elution Rack» (rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). En caso necesario, para cada «Position» introducir el «Reagent name» (nombre del reactivo), el «S/N» (número de serie) el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).	Insertar la «Elution Rack» (rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). En caso necesario, para cada «Position» introducir el «Reagent name» (nombre del reactivo), el «S/N» (número de serie) el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).
7	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
8	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».

Tabla 16 (continued)

	C. Sesión de calibración (modo de procesamiento «PCR Only»).	D. Sesión del Positive Control y del Negative Control (modo de procesamiento «PCR Only»)
9	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
10	Cargar la mezcla completa de reacción en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución).	Cargar la mezcla completa de reacción en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución).
11	Insertar la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) en el Lane 2 (L2) de la «Cooler Unit» o, si está disponible, en el Lane 1 (L1). En caso necesario, para cada PCR Mix rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).	Insertar la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) en el «Lane» 2 (L2) de la «Cooler Unit». En caso necesario, para cada PCR Mix rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).
12	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
13	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.
14	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
15	Cargar la «PCR Rack» (rejilla de PCR) con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario).	Cargar la «PCR Rack» (rejilla de PCR) con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario).
16	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
17	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.
18	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).

Una vez finalizada la sesión, el **ELiTe BeGenius** permite mostrar, aprobar y guardar los resultados, así como imprimir y guardar el informe.

NOTA!

Al finalizar la sesión, la parte que queda de la muestra extraída en la **«Elution Tube»** (probeta de elución) debe extraerse del instrumento, taparse, identificarse y conservarse a -20 ± 10 °C durante un máximo de un mes. Evitar cualquier derrame de la muestra extraída.

NOTA!

La **mezcla completa de reacción** puede guardarse en el bloque refrigerado durante un máximo de 7 horas (para dos sesiones de 3 horas cada una y durante el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión). Mezclar con cuidado y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos antes de iniciar la siguiente sesión. La mezcla completa de reacción **no puede** conservarse para reutilizarla.

NOTA!

Al finalizar la sesión, la parte que queda del **Q-PCR Standards** puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a -20 °C o a una temperatura inferior. Evite cualquier derrame del componente Q-PCR Standards.

NOTA!

El calibrador **Q-PCR-Standard** puede utilizarse para 2 sesiones independientes de 2 horas cada una.

NOTA!

Al finalizar la sesión, la parte que queda del **Positive Control** puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a -20°C o a una temperatura inferior. Evite cualquier derrame del componente Positive Control. La parte que queda del Negative Control debe eliminarse.

NOTA!

El **Positive Control** puede utilizarse para 4 sesiones independientes de 3 horas cada una.

NOTA!

Al finalizar la sesión, el **PCR Cassette** y los consumibles deben eliminarse siguiendo las normativas gubernamentales y medioambientales. Evitar derramar los productos de reacción.

10.3 PASO 3. Evaluación y aprobación de los resultados

El **ELiTe BeGenius** supervisa las señales de fluorescencia de la diana y del Internal Control para cada reacción y aplica automáticamente los parámetros del Assay Protocol (protocolo de ensayo) para generar curvas de PCR que, después, se convierten en resultados.

At the end of the run, the "Results Display" screen is automatically shown. En esta pantalla se muestran los resultados y la información de la sesión. Desde esta pantalla, es posible aprobar dichos resultados, así como imprimir o guardar los informes («Sample Report» o «Track Report»). Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

NOTA!

El **ELiTe BeGenius** puede conectarse al «Laboratory Information System» (sistema de información de laboratorios, LIS), que permite cargar los resultados de la sesión en el centro de datos del laboratorio. Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

El instrumento **ELiTe BeGenius** genera los resultados con el producto **HCV ELiTe MGB Kit** mediante el siguiente procedimiento:

1. Validación de la curva de calibración
2. Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
3. Validación de los resultados de las muestras.
4. Generación del informe de los resultados de la muestra.

NOTA!

Consultar el mismo apartado del **procedimiento con el ELiTe InGenius** para obtener más información.

11 PROCEDIMIENTO CON EL MyGenius PRO

El procedimiento para utilizar el producto **HCV ELiTe MGB Kit** con el **MyGenius PRO** comprende tres pasos:

Tabla 17

PASO 1	Verificación de la disponibilidad del sistema	
PASO 2	Configuración de la sesión	A) Sesión de análisis para la muestra en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)
		B) Sesión de análisis para la calibración en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
		C) Sesión de análisis para el Positive Control y el Negative Control en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).

Tabla 17 (continued)

PASO 3	Evaluación y aprobación de los resultados	1) Validación de la curva de calibración
		2) Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
		3) Validación de los resultados de las muestras
		4) Generación del informe de los resultados de la muestra

11.1 PASO 1. Verificación de la disponibilidad del sistema

Antes de iniciar la sesión de análisis, es necesario realizar las siguientes tareas:

- Encienda el MyGenius PRO e inicie sesión; la unidad se pone en marcha en el modo «STAND-BY» (ESPERA).
- En el menú «Calibration» (Calibración) de la pantalla «Home» (Inicio), verificar que los calibradores (**Q - PCR Standard**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de **PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de calibradores válidos para el lote de mezcla **PCR Mix**, realizar la calibración tal como se describe en los apartados siguientes.
- En el menú «Controls» (Controles) de la página «Home» (Inicio), verificar que los controles de PCR (**Positive Control, EV Negative Control**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de mezcla **PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de controles de PCR válidos para el lote de **PCR Mix**, procesar los controles de la PCR tal como se describe en los apartados siguientes.
- Seguir las instrucciones de la interfaz para configurar la sesión, y utilizar los Assay Protocols (protocolos de ensayo) proporcionados por EG SpA (consultar la sección «Muestras y controles»).

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

11.2 PASO 2. Configuración del flujo de trabajo en el sistema

El producto **HCV ELITe MGB Kit** puede utilizarse en el **MyGenius PRO** para realizar las siguientes tareas:

- A. Sesión de análisis de la muestra en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)
- B. Sesión de análisis para la calibración en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
- C. Sesión de análisis para el Positive Control y el Negative Control en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).

Todos los parámetros necesarios están incluidos en los Assay Protocols (protocolos de ensayo) disponibles en el instrumento y se cargan automáticamente al seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo).

NOTA!

El **MyGenius PRO** puede conectarse al «Laboratory Information System» (sistema de información de laboratorios, LIS), que permite descargar la información para el flujo de trabajo. Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

Antes de configurar una sesión de análisis, proceder de la siguiente manera:

1. Descongelar las probetas necesarias de **PCR Mix** a temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para realizar **24 análisis** (es decir, realizando al menos 5 análisis por sesión). Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.
2. Tomar las probetas de **RT EnzymeMix II** que se necesiten. Cada probeta es suficiente para realizar **48 análisis**. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.
3. Preparar una probeta de 2 mL (Sarstedt ref. 72.694.005, no incluida en el kit) para la **mezcla completa de reacción** y etiquetarla con un rotulador permanente.

4. Calcular los volúmenes necesarios de **PCR Mix** y de **RT EnzymeMix II** para preparar la **mezcla completa de reacción** en función del número de muestras (N) que vayan a analizarse, tal como se describe en la tabla siguiente.

Número de muestras (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 12$	290 μL	4,4 μL
$13 \leq N \leq 18$	$(N + 3) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 3) \times 0,3 \mu\text{L}$
$19 \leq N \leq 23$	$(N + 4) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 4) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 24$	580 μL	8,7 μL

NOTA!

Si el número de reacciones supera los 24 análisis, preparar una probeta adicional de 2 mL que contenga el número necesario de reacciones, siguiendo las instrucciones que figuran en la tabla anterior.

5. Preparar la **mezcla completa de reacción** vertiendo los volúmenes calculados de los dos componentes en la probeta de 2 mL etiquetada. Mezclar mediante vórtex a baja velocidad tres veces durante 10 segundos, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservar en hielo o en el bloque refrigerado.

NOTA!

La **mezcla completa de reacción** puede conservarse en el bloque refrigerado durante un máximo de 7 horas. La mezcla completa de reacción **no puede** conservarse para reutilizarla.

NOTA!

Conservar la **PCR Mix** en un lugar protegido de la luz mientras se descongela, pues este reactivo es fotosensible.

NOTA!

La mezcla **RT EnzymeMix** no debe exponerse a temperaturas superiores a -20°C durante más de 10 minutos.

Para configurar uno de los tres tipos de sesión de análisis, realizar los pasos siguientes conforme a las instrucciones de la interfaz:

	A. Sesión de análisis para la muestra en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)	B. Sesión de análisis para la calibración en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)	C. Sesión de análisis para el Positive Control y del Negative Control en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
1	Identificar las muestras y, en caso necesario, descongelar a temperatura ambiente, mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Si la probeta primaria es compatible con las gradillas del MyGenius PRO, insertar la probeta con las muestras en las gradillas; si esto no es posible, verter 660 µL de muestra en una probeta secundaria (2 mL) previamente etiquetada. Descongelar las probetas necesarias de Internal Control Maxi IC MAXI a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos. Cada probeta es suficiente para 72 análisis.	Descongelar las probetas necesarias de calibrador Q-PCR Standard (Cal1: Q-PCR Standard 102, Cal2: Q-PCR Standard 103, Cal3: Q-PCR Standard 104, Cal4: Q-PCR Standard 105) a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.	Descongelar las probetas de Positive Control a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Centrifugar las probetas de Negative Control durante 5 segundos.
2	Si el instrumento está conectado al LIS, el MyGenius lee y detecta automáticamente los códigos de barras de las muestras cuando se colocan en el área de las muestras. Si el instrumento no está conectado al LIS; asignar manualmente las muestras utilizando las funciones ASSIGN TEST (ASIGNAR PRUEBA) o ASSIGN SAMPLE (ASIGNAR MUESTRA) en la página «Sample List» (Lista de muestras) de la interfaz antes de cargarlas en el instrumento. Estas funciones también permiten asignar el protocolo de prueba correcto a cada muestra.	Cargar las probetas de PCR Mix y de Q-PCR Standard en el carrusel refrigerado para reactivos.	Cargar las probetas de PCR Mix y de Positive Control y Negative Control en el carrusel refrigerado para reactivos.
3	En modo STAND-BY (ESPERA), comprobar que haya una cantidad suficiente de consumibles para completar la prueba y que los niveles de residuos sólidos y líquidos sean adecuados para que el instrumento funcione. En caso necesario, cargar los consumibles necesarios en los cajones correspondientes y vaciar la caja de residuos y el depósito de líquidos. Para obtener más información sobre los procedimientos de carga, consultar las instrucciones de uso del instrumento.	En modo STAND-BY (ESPERA), comprobar que haya una cantidad suficiente de consumibles para completar la prueba y que los niveles de residuos sólidos y líquidos sean adecuados para que el instrumento funcione. En caso necesario, cargar los consumibles necesarios en los cajones correspondientes y vaciar la caja de residuos y el depósito de líquidos. Para obtener más información sobre los procedimientos de carga, consultar las instrucciones de uso del instrumento.	En modo STAND-BY (ESPERA), comprobar que haya una cantidad suficiente de consumibles para completar la prueba y que los niveles de residuos sólidos y líquidos sean adecuados para que el instrumento funcione. En caso necesario, cargar los consumibles necesarios en los cajones correspondientes y vaciar la caja de residuos y el depósito de líquidos. Para obtener más información sobre los procedimientos de carga, consultar las instrucciones de uso del instrumento.
4	Pulsar «Start» (Iniciar) en la página «Home» (Inicio) y esperar a que el instrumento pase al estado «Preparation» (Preparación) y, luego, al de «Operation» (Funcionamiento).	Pulsar «Start» (Iniciar) en la página «Home» (Inicio) y esperar a que el instrumento pase al estado «Preparation» (Preparación) y, luego, al de «Operation» (Funcionamiento).	Pulsar «Start» (Iniciar) en la página «Home» (Inicio) y esperar a que el instrumento pase al estado «Preparation» (Preparación) y, luego, al de «Operation» (Funcionamiento).
5	Cargar la PCR Mix en el carrusel refrigerado para reactivos.	Hacer clic en el botón «Calibration» (Calibración) en la pantalla «Home» (Inicio).	Hacer clic en el botón «Controls» (Controles) en la pantalla «Home» (Inicio).

	A. Sesión de análisis para la muestra en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)	B. Sesión de análisis para la calibración en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)	C. Sesión de análisis para el Positive Control y del Negative Control en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
6	Registrar la apertura de la puerta en el área del muestreador automático y cargar las muestras y el IC MAXI.	En la página «Calibration» (Calibración), seleccionar la probeta de Q-PCR Standard que se ha cargado en el paso 2 y, a continuación, pulsar «Order» (Pedido).	En la página «Control», seleccionar el Positive Control y el Negative Control que se han cargado en el paso 2 y, a continuación, pulsar «Order» (Pedido).
7	Cerrar la puerta del muestreador automático para iniciar la sesión de análisis.		

En cuanto se obtiene un resultado, el **MyGenius PRO** permite mostrar, aprobar y guardar los resultados, así como guardar el informe definitivo.

NOTA!

Al finalizar la sesión de análisis, la parte que queda del calibrador **Q-PCR Standard** puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a -20 °C o a una temperatura inferior. Evitar derramar el calibrador Q - PCR Standard.

NOTA!

El **Q-PCR Standard** puede utilizarse para 2 calibraciones, dejándolo en el instrumento durante un máximo de 2 horas por cada calibración.

NOTA!

Al finalizar la sesión de análisis, la parte que queda del **Positive Control** puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a -20 °C o a una temperatura inferior. Evitar derramar el **Positive Control**. La parte que queda del **Negative Control** debe eliminarse.

NOTA!

El **Positive Control** puede utilizarse para 4 calibraciones, dejándolo en el instrumento durante un máximo de 3 horas por cada calibración..

NOTA!

Si es necesario o si el instrumento así lo requiere, retirar el **PCR Cassette** del cajón del instrumento y desechar el resto de consumibles de acuerdo con las regulaciones gubernamentales y medioambientales. Evitar derramar los productos de reacción.

NOTA!

El **MyGenius PRO** puede conectarse al «Laboratory Information System» (sistema de información de laboratorios, LIS), que permite descargar la información de la sesión. Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

11.3 PASO 3. Evaluación y aprobación de los resultados

El **MyGenius PRO** supervisa las señales de fluorescencia de la diana y del Internal Control para cada reacción y aplica automáticamente los parámetros del Assay Protocol (protocolo de ensayo) para generar curvas de PCR que, después, se convierten en resultados.

Una vez completado el análisis de cada muestra, los resultados se pueden ver en la pantalla «Results» (Resultados), en la que se muestran los resultados y la información sobre las muestras. Esta pantalla permite aprobar los resultados o guardar los informes correspondientes. Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

El **MyGenius PRO** genera los resultados con el producto **HCV ELITE MGB Kit** mediante el siguiente procedimiento:

1. Validación de la curva de calibración
2. Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
3. Validación de los resultados de las muestras.
4. Generación del informe de los resultados de la muestra.

Validación de la curva de calibración

El **MyGenius PRO Software** interpreta los resultados de la PCR para la diana de las reacciones del calibrador utilizando los parámetros del Assay Protocol (protocolo de ensayo) **HCV ELITE_My_STD**. La relación Ct a concentración resultante da lugar a la curva de calibración.

Las curvas de calibración, específicas del lote de reactivos de PCR, se registran en la base de datos («Calibrations»). El usuario puede verlas y aprobarlas seleccionando la calibración en cuestión en la sección «View chart» (Ver gráfico).

La curva de calibración caduca **a los 60 días**.

NOTA!

Si la curva de calibración no cumple los criterios de aceptación, en el menú «Calibrations» (Calibraciones) aparece el mensaje «Error». En este caso, los resultados no pueden aprobarse y es necesario repetir las reacciones de amplificación del calibrador. Además, si se han incluido muestras en la sesión de análisis, no se cuantifican: en este caso, tras repetir la calibración, es necesario interpretar y aprobar todos los resultados (consultar la sección dedicada a los resultados de las muestras).

Validación de los resultados del Positive Control y Negative Control de la amplificación

El **MyGenius PRO Software** interpreta los resultados de la PCR para la diana de las reacciones del Positive Control y del Negative Control utilizando los parámetros de los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **HCV ELITE_My_PC** y **HCV ELITE_My_NC**. Los valores de Ct resultantes se convierten en concentraciones y se utilizan para verificar el sistema (lote de reactivos e instrumento).

Los resultados del Positive Control y del Negative Control, específicos del lote de reactivos de PCR, se registran en la base de datos («Controls»). El usuario puede verlos y aprobarlos seleccionando el control en cuestión en la sección «View chart» (Ver gráfico).

Los resultados del Positive Control y del Negative Control caducan **a los 15 días**.

El **MyGenius PRO Software** procesa los resultados del Positive Control y del Negative Control y genera los gráficos de control («Control Charts»). El software analiza los resultados para garantizar que el rendimiento del sistema se encuentre dentro de los criterios de aceptación que se muestran en los gráficos de control («Control Charts»). Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

NOTA!

Si el resultado del Positive Control y del Negative Control no cumple los criterios de aceptación, en la pantalla «Controls» (Controles) aparece el mensaje «Error». En este caso, los resultados no pueden aprobarse y es necesario repetir el procesamiento del Positive Control y del Negative Control.

NOTA!

Si el resultado del Positive Control o del Negative Control no es válido y se incluyeron muestras en la misma sesión de análisis, las muestras no pueden aprobarse. En este caso, una vez realizada la repetición de los controles, es necesario interpretar y aprobar todos los resultados (consultar la sección dedicada a los resultados de las muestras).

Validación de los resultados de la muestra

El **MyGenius PRO Software** interpreta los resultados de la PCR para la diana (canal **CMV**) y el Internal Control (canal **IC**) con los parámetros de los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **HCV ELITE_My_PL_IU_600-50**, **HCV ELITE_My_PL_cml_600-50**, **HCV ELITE_My_Se_IU_600-50** y **HCV ELITE_My_Se_cml_600-50**. Los valores resultantes del Ct de la diana se convierten en concentración.

Los resultados se muestran en la pantalla «Results» (Resultados).

Los resultados de la muestra pueden aprobarse cuando se cumplen las tres condiciones que se indican en la tabla siguiente.

1) Curva de calibración	Estado
HCV Q-PCR Standard	APROBADO
2) Positive Control	Estado
HCV Positive Control	APROBADO
3) Negative Control	Estado
HCV Negative Control	APROBADO

El **MyGenius PRO Software** interpreta automáticamente los resultados de las muestras utilizando los parámetros del Assay Protocol (protocolo de ensayo) correspondiente si se han aprobado los resultados de la calibración y de los controles asociados. Si no se dispone de calibraciones y controles válidos y aprobados cuando se obtienen los resultados de las muestras, estas no pueden interpretarse ni aprobarse; en este caso, es preciso aprobar las calibraciones y los controles y, a continuación, cada muestra debe interpretarse en la sección «Sample list» (Lista de muestras) y aprobarse en la sección «Results» (Resultados) utilizando los botones correspondientes..

En la tabla siguiente se muestran los posibles mensajes de los resultados.

Para cada muestra el sistema indica una combinación de los mensajes siguientes y especifica si se ha detectado o no el ADN de los patógenos.

Resultado de la sesión de la muestra	Interpretación
HCV:RNA Detected, quantity equal to XXX copies/mL or IU/mL (HCV:ARN detectado, cantidad igual a XXX copias/mL o UI/mL)	Se ha detectado ARN de VHC en la muestra dentro del rango de medición del ensayo y se indica su concentración.
HCV:RNA Detected, quantity below «LLOQ» copies/mL or IU/mL (HCV:ARN detectado, cantidad por debajo de «LLOQ» copias/mL o UI/mL)	Se ha detectado ARN de VHC en la muestra, pero su concentración se encuentra por debajo del límite inferior de cuantificación del ensayo.
HCV:RNA Detected, quantity beyond «ULOQ» copies/mL or IU/mL (HCV:ARN detectado, cantidad mas alta de «ULOQ» copias/mL o UI/mL)	Se ha detectado ARN de VHC en la muestra, pero su concentración se encuentra por encima del límite superior de cuantificación del ensayo.
HCV:RNA Not Detected or below «LoD» copies/mL or IU/mL (HCV:ARN no detectado o por debajo de «LoD» copias/mL o UI/mL)	No se ha detectado ARN de VHC en la muestra. La muestra es negativa para ARN de VHC, o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
INVALID-RETEST SAMPLE (NO VÁLIDO-VOLVER A PROBAR MUESTRA)	Resultado no válido del ensayo causado por un fallo en el Internal Control (p. ej., debido a una extracción incorrecta o al arrastre de inhibidores). Es necesario repetir la prueba.

Las muestras que se notifican como «Invalid: Retest Sample» (No válido-Volver a probar muestra) indican que el ADN del Internal Control no ha podido detectarse correctamente, probablemente debido a problemas en los pasos de recogida de la muestra, extracción o PCR (p. ej., obtención incorrecta de la muestra, degradación o pérdida de ARN durante la extracción o presencia de inhibidores en el eluido), lo que puede dar lugar a resultados incorrectos. Si esto ocurre, la muestra debe volver a analizarse a partir de la extracción de una muestra nueva.

Las muestras que se notifican como «HCV:RNA Not Detected or below “LoD” copies/mL or IU/ml» (HCV:ARN no detectado o por debajo de «LoD» copias/mL o UI/mL) son aptas para el análisis, pero no ha sido posible detectar VHC. En este caso, puede que la muestra sea negativa para ARN de VHC, o que el ARN de VHC presente una concentración inferior al límite de detección del ensayo (consultar la sección [12 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ELITE InGenius, del ELITE BeGenius y del MyGenius PRO page 34](#)).

Si se detectan muestras positivas para ARN de VHC a una concentración inferior al límite de detección (y al límite inferior de cuantificación) del ensayo, estas se notifican como «HCV:RNA Detected, quantity below “LLOQ” copies/mL or IU/mL» (HCV:ARN detectado, cantidad por debajo del «LLOQ» copias/mL o UI/mL); consultar la sección [12 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ELITE InGenius, del ELITE BeGenius y del MyGenius PRO page 34](#).

Las muestras positivas para ARN de VHC dentro del rango de medición lineal se detectan y notifican como «HCV:RNA Detected, quantity equal to “XXX” copies/mL or IU/mL» (HCV:ARN detectado, cantidad igual a «XXX» copias/mL o UI/mL); consultar la sección [12 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ELITE InGenius, del ELITE BeGenius y del MyGenius PRO page 34](#).

Las muestras positivas para ARN de VHC que superan el límite superior de cuantificación se notifican como «HCV:RNA Detected, quantity beyond “ULoQ” copies/mL or IU/mL» (HCV:ARN detectado, cantidad más alta de alta de «ULoQ» copias/mL o UI/mL) y no son aptas para la cuantificación; consultar la sección [12 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ELITE InGenius, del ELITE BeGenius y del MyGenius PRO page 34](#)). En caso necesario, es posible diluir la muestra antes de la extracción y volver a analizarla para obtener resultados dentro del rango de medición lineal del ensayo.

NOTA!

Los resultados obtenidos con este ensayo deben interpretarse teniendo en cuenta todas las observaciones clínicas y los resultados de otras pruebas analíticas del paciente.

Los resultados de la muestra se guardan en la base de datos y, si son válidos, pueden ser aprobados en la pantalla «Results Display» (Presentación de resultados) por personal cualificado como administrador («Administrator») o analista («Analyst»), siguiendo las instrucciones de la interfaz. La pantalla «Results Display» (Presentación de resultados) permite imprimir y guardar los resultados de la sesión de la muestra como «Sample Report» y como «Track Report».

Generación del informe de los resultados de la muestra

Los resultados de la muestra se guardan en la base de datos y los informes pueden exportarse como «Summary Report» (Informe resumen) o como «Details Report» (Informe detallado).

El «Details Report» (Informe detallado) muestra los detalles de los resultados para cada muestra seleccionada (SID).

El «Summary Report» (Informe resumen) muestra los detalles de los resultados para todas las muestras seleccionadas (SID).

El personal autorizado puede imprimir y firmar el «Details Report» (Informe detallado) y el «Summary Report» (Informe resumen).

12 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ELITE InGenius, del ELITE BeGenius y del MyGenius PRO

12.1 Límite de detección (LoD)

El límite de detección (LoD) del ensayo se determinó en el ELITE InGenius, analizando un panel de muestras de plasma recogido en ACD negativas para VHC y enriquecidas con material de referencia de VHC (6° Estándar internacional de la OMS, NIBSC). Se realizó un análisis de regresión de Probit en los resultados y el LoD se definió como la concentración correspondiente al 95 % de probabilidad de un resultado positivo.

Los resultados se muestran en las tablas siguientes.

Tabla 18

Límite de detección (UI/mL) para muestras de plasma recogido en ACD y el ELITE InGenius			
Diana	Límite de detección	Intervalo de confianza del 95 %	
		Límite inferior	Límite superior
VHC	26	19	48

El LoD expresado en copias/mL para plasma recogido en ACD se calculó aplicando el factor de conversión específico (2,4 UI/copia) indicado en el apartado [12.13 Factor de conversión a unidades internacionales page 46](#). La sensibilidad analítica, expresada como copias/mL, se indica a continuación.

Tabla 19

Límite de detección (copias/mL) para muestras de plasma recogido en ACD y el ELITE InGenius			
Diana	Límite de detección	Intervalo de confianza del 95 %	
		Límite inferior	Límite superior
VHC	11	8	20

El valor calculado para el LoD se verificó analizando en el ELITE InGenius y el ELITE BeGenius un conjunto de muestras de plasma recogido en ACD, un conjunto de muestras de plasma recogido en EDTA y un conjunto de muestras de suero, que se enriquecieron con material de referencia certificado de VHC a la concentración declarada.

Los resultados obtenidos confirmaron la concentración declarada para la diana del producto HCV ELITE MGB Kit, tanto en el ELITE InGenius como en el ELITE BeGenius.

El valor del LoD calculado para el ELITE InGenius también es válido para el MyGenius PRO.

12.2 Equivalencia de matrices: plasma recogido en EDTA frente a plasma recogido en ACD y suero

La equivalencia de matrices del producto **HCV ELITE MGB Kit** se verificó analizando muestras emparejadas (del mismo donante) de plasma recogido en ACD, de plasma recogido en EDTA y de suero en el ELITE InGenius.

Para 30 muestras que habían dado un resultado negativo para VHC en un inmunoensayo para diagnóstico *in vitro* con marcado CE, se evaluaron el porcentaje de concordancia negativa (NPA) y el coeficiente de variación porcentual (%CV) de los valores del Ct del Internal Control.

Los resultados se muestran en las tablas siguientes.

Tabla 20

Muestra	N	Positivas	Negativas	NPA	%CV del Ct del IC	%CV total del Ct del IC
Plasma recogido en EDTA	30	0	30	100 %	0,89	0,95
Plasma recogido en ACD	30	0	30		1,02	

Tabla 21

Muestra	N	Positivas	Negativas	NPA	%CV del Ct de VHC	%CV total del Ct de VHC
Plasma recogido en EDTA	30	30	0	100 %	0,90	1,11
Suero	30	30	0		1,28	

Para 30 muestras enriquecidas con material de referencia certificado (6° Estándar internacional de la OMS para VHC, NIBSC), se evaluaron el porcentaje de concordancia positiva (PPA) y el coeficiente de variación (%CV) de los valores del Ct de VHC.

Los resultados se muestran en las tablas siguientes.

Tabla 22

Muestra	N	Positivas	Negativas	PPA	%CV del Ct de VHC	%CV total del Ct de VHC
Plasma recogido en EDTA	30	30	0	100 %	1,96	1,79
Plasma recogido en ACD	30	30	0		1,60	
Plasma recogido en EDTA	30	30	0	100 %	1,84	1,81
Suero	30	30	0		1,77	

En estos análisis, tanto las 30 muestras emparejadas de plasma recogido en EDTA y de plasma recogido en ACD como las 30 muestras emparejadas de plasma recogido en EDTA y de suero presentaron un rendimiento equivalente cuando se analizaron con el producto **HCV ELITE MGB Kit** utilizando el ELITE InGenius.

Se realizaron análisis adicionales de equivalencia de matrices durante el estudio del rango de medición lineal que se menciona en el apartado siguiente.

La equivalencia de matrices verificada en relación con el ELITE InGenius también es válida para el ELITE BeGenius y el MyGenius PRO.

12.3 Rango de medición lineal

El rango de medición lineal del ensayo se determinó analizando muestras de plasma en el ELITE InGenius y el ELITE BeGenius, utilizando un panel de diluciones de material de referencia de VHC (AcroMetrix) en muestras negativas de plasma recogido en EDTA..

Los resultados se muestran en las figuras siguientes.

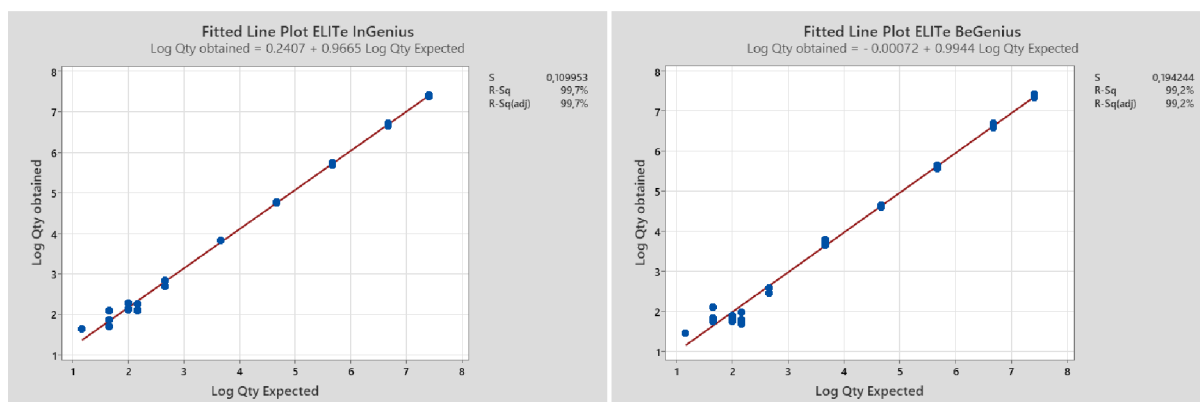


Fig. 1

El rango de medición lineal expresado en copias/mL para plasma recogido en EDTA se calculó aplicando el factor de conversión específico que se indica en el apartado siguiente.

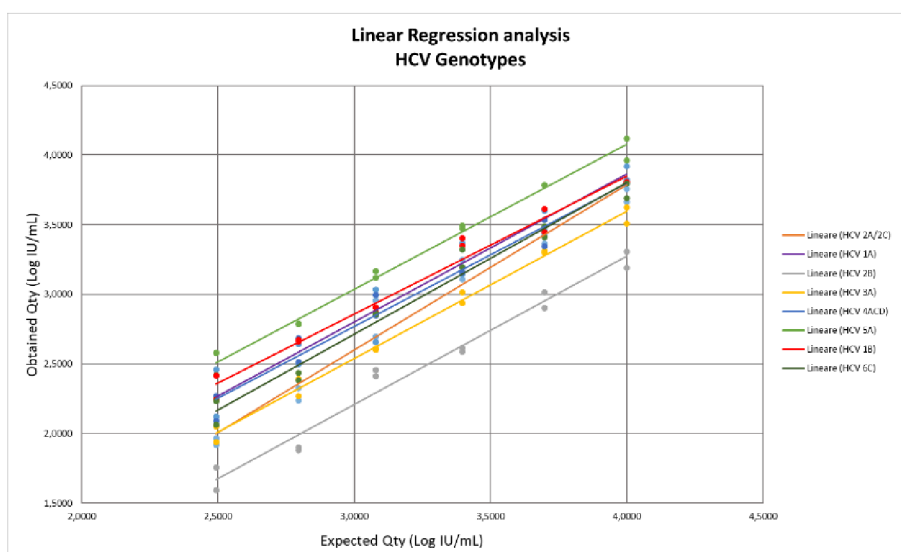
Los resultados finales se resumen en la tabla siguiente.

Tabla 23

Rango de medición lineal para el producto HCV ELITE MGB Kit y los instrumentos ELITE InGenius y ELITE BeGenius	
Límite inferior	Límite superior
26 UI/mL	25000001 UI/mL
11 copias/mL	10.416.667 copias/mL

Para los principales genotipos de VHC (1, 2, 3, 4, 5, 6), se verificó la linealidad de la cuantificación analizando muestras negativas de plasma recogido en EDTA que se enriquecieron con material de referencia de VHC (SeraCare).

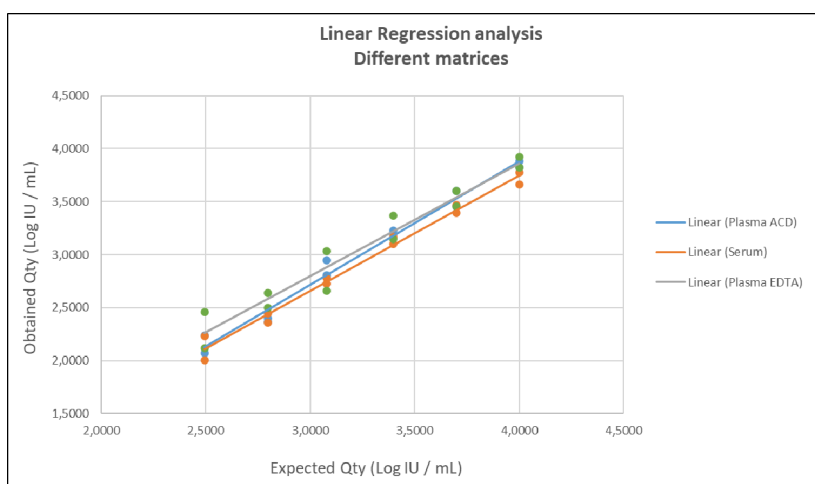
Los resultados se muestran en la siguiente figura.

**Fig. 2**

La linealidad del ensayo se confirmó para los principales genotipos de VHC (1, 2, 3, 4, 5, 6): el valor R2 osciló entre 0,950 y 0.992 y los resultados cuantitativos se encontraron dentro del margen de $\pm 0,5$ log UI/mL, con la excepción del genotipo 2B de VHC, que se infravaloró en aproximadamente 0,8 log UI/mL en comparación con el valor teórico. No obstante, las mismas muestras se infravaloraron con el «cobas® HCV for use on the 6800 Systems» (Roche Diagnostics).

La linealidad del ensayo se verificó analizando muestras negativas de plasma recogido en EDTA, muestras negativas de plasma recogido en ACD y muestras negativas de suero, que se enriquecieron con material de referencia de VHC (6º Estándar internacional de la OMS, NIBSC).

Los resultados se muestran en la siguiente figura.

**Fig. 3**

La linealidad del ensayo se verificó para muestras de plasma recogido en EDTA, muestras de plasma recogido en ACD y muestras de suero que dieron resultados cuantitativos en el margen de $\pm 0,5$ log UI/mL y un R² de 0,950 para plasma recogido en EDTA, de 0,984 para plasma recogido en ACD y de 0,987 para suero.

El rango de medición lineal determinado para el ELITE InGenius también es válida para el ELITE BeGenius y el MyGenius PRO.

12.4 Incertidumbre de la curva de calibración

El valor de incertidumbre de la curva de calibración se calculó combinando los errores aleatorios (DE) de todas las cuantificaciones de nivel y multiplicando por el factor de cobertura $k = 2$ (incertidumbre combinada ampliada) y resultó ser de 0,1416 log copias/reacción.

Tabla 24

Niveles de la curva de calibración	Teóricos Log copias/reacción	DE	Incertidumbre combinada ampliada
HCV Standard 10^5	5,0000	0,0652	0,1416
HCV Standard 10^4	4,0000	0,0641	
HCV Standard 10^3	3,0000	0,0489	
HCV Standard 10^2	2,0000	0,0964	

12.5 Inclusividad: Eficacia de detección y cuantificación en distintos genotipos

La inclusividad del ensayo, definida como la eficacia de detección de diferentes genotipos de VHC, se evaluó mediante un análisis informático de las secuencias disponibles en las bases de datos de nucleótidos. El análisis mostró la conservación de la secuencia y la ausencia de mutaciones reseñables, por lo que cabe esperar una detección eficaz de las diferentes cepas y los diferentes aislados.

La inclusividad del ensayo se verificó analizando tres paneles de materiales de referencia de VHC (SeraCare, AccuTrak, Qnostics) a una concentración de 3 veces el LoD.

Los resultados se muestran en las tablas siguientes.

Tabla 25

AccuTrak HCV RNA Genotype Performance Panel (SeraCare)		
ID de la muestra	Pos/Dup	Resultado
HCV 1a	3/3	Se ha detectado VHC
HCV 1b	3/3	Se ha detectado VHC
VHC 2a/2c	3/3	Se ha detectado VHC
HCV 2b	3/3	Se ha detectado VHC
HCV 3a	3/3	Se ha detectado VHC
DHCV 4acd	3/3	Se ha detectado VHC
HCV 5a	3/3	Se ha detectado VHC
HCV 6c	3/3	Se ha detectado VHC
AccuTrak HCV RNA Genotype Performance Panel (SeraCare)		
ID de la muestra	Pos/Dup	Resultado
HCV 1a	3/3	Se ha detectado VHC
HCV 1b	3/3	Se ha detectado VHC
HCV 2b	3/3	Se ha detectado VHC
HCV 3a	3/3	Se ha detectado VHC
HCV 4a	3/3	Se ha detectado VHC
HCV 5a	3/3	Se ha detectado VHC
HCV 6a	3/3	Se ha detectado VHC
AccuTrak HCV RNA Genotype Performance Panel (SeraCare)		
ID de la muestra	Pos/Dup	Resultado
HCV 1a	3/3	Se ha detectado VHC
HCV 1b	3/3	Se ha detectado VHC
HCV 2i	3/3	Se ha detectado VHC
HCV 3a	3/3	Se ha detectado VHC
HCV 4r	3/3	Se ha detectado VHC
HCV 5a	3/3	Se ha detectado VHC
HCV 6l	3/3	Se ha detectado VHC

Todas las muestras se detectaron correctamente como positivas y se cuantificaron en el margen de $\pm 0,5$ log utilizando el producto **HCV ELITe MGB® Kit** en el ELITe InGenius.

12.6 Marcadores potencialmente interferentes: reactividad cruzada

La reactividad cruzada potencial de los microorganismos imprevistos que pueden encontrarse en muestras clínicas se evaluó mediante un análisis informático. El análisis no presentó homologías reseñables con otros microorganismos imprevistos (virus, bacterias, protozoos y hongos), por lo que no cabe esperar que se produzca una reactividad cruzada.

La ausencia de reactividad cruzada con otros microorganismos también se verificó analizando un panel de microorganismos imprevistos (ATCC, NIBSC, Vircell y ZeptoMetrix) a un título alto.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 26

ID de la muestra	Pos/Dup	Resultado
VIH-1	0/3	Sin reactividad cruzada
VIH-2	0/3	Sin reactividad cruzada
VIH-1	0/3	Sin reactividad cruzada
VIH-2	0/3	Sin reactividad cruzada
CMV	0/3	Sin reactividad cruzada
VEB	0/3	Sin reactividad cruzada
VHA	0/3	Sin reactividad cruzada
VHB	0/3	Sin reactividad cruzada
VHE	0/3	Sin reactividad cruzada
VHS1	0/3	Sin reactividad cruzada
VHS2	0/3	Sin reactividad cruzada
VHH-6	0/3	Sin reactividad cruzada
VVZ	0/3	Sin reactividad cruzada
Gripe A	0/3	Sin reactividad cruzada
Gripe B	0/3	Sin reactividad cruzada
VRS	0/3	Sin reactividad cruzada
ADV	0/3	Sin reactividad cruzada
WNV	0/3	Sin reactividad cruzada
DV3	0/3	Sin reactividad cruzada
EV	0/3	Sin reactividad cruzada
PVB19	0/3	Sin reactividad cruzada
Staphylococcus aureus	0/3	Sin reactividad cruzada
<i>Candida albicans</i>	0/3	Sin reactividad cruzada
WNV (NIBSC)	0/12	Sin reactividad cruzada
WNV (ATCC)	0/3	Sin reactividad cruzada
WNV (Vircell)	0/5	Sin reactividad cruzada
DV1	0/5	Sin reactividad cruzada
DV2	0/5	Sin reactividad cruzada
DV3 (Vircell)	0/5	Sin reactividad cruzada
DV3 (ATCC)	0/3	Sin reactividad cruzada
DV4	0/5	Sin reactividad cruzada

Tabla 26 (continued)

ID de la muestra	Pos/Dup	Resultado
Virus de la fiebre amarilla	0/5	Sin reactividad cruzada
Virus de Zika asiático	0/5	Sin reactividad cruzada
Virus de Zika	0/5	Sin reactividad cruzada
Virus de chikungunya	0/5	Sin reactividad cruzada

Ninguno de los marcadores potencialmente interferentes analizados mostró reactividad cruzada para la amplificación de la diana de VHC cuando se utilizó el producto **HCV ELITE MGB Kit**.

12.7 Marcadores potencialmente interferentes: inhibición

La inhibición potencial de microorganismos imprevistos que pueden encontrarse en las muestras clínicas se evaluó para el ensayo analizando paneles de microorganismos imprevistos (ATCC, NIBSC y ZeptoMetrix) a 3 veces el LoD.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 27

ID de la muestra	Pos./Dup. de VHC	Resultado
VIH-1	3/3	Sin interferencia
VIH-2	3/3	Sin interferencia
VIH-1	3/3	Sin interferencia
VIH-2	3/3	Sin interferencia
CMV	3/3	Sin interferencia
VEB	3/3	Sin interferencia
VHA	3/3	Sin interferencia
VHB	3/3	Sin interferencia
VHE	3/3	Sin interferencia
VHS1	3/3	Sin interferencia
VHS2	3/3	Sin interferencia
VHH-6	3/3	Sin interferencia
VVZ	3/3	Sin interferencia
Gripe A	3/3	Sin interferencia
Gripe B	3/3	Sin interferencia
VRS	3/3	Sin interferencia
ADV	3/3	Sin interferencia
WNV	3/3	Sin interferencia
DV3	3/3	Sin interferencia
EV	3/3	Sin interferencia
PVB19	3/3	Sin interferencia

Tabla 27 (continued)

ID de la muestra	Pos./Dup. de VHC	Resultado
Staphylococcus aureus	3/3	Sin interferencia
<i>Candida albicans</i>	3/3	Sin interferencia

Ninguno de los microorganismos potencialmente interferentes mostraron inhibición de la detección y cuantificación de la diana de VHC cuando se utilizó el producto **HCV ELITe MGB Kit**.

12.8 Sustancias potencialmente interferentes: Inhibición

La inhibición potencial de sustancias interferentes (endógenas y exógenas) que pueden encontrarse en muestras clínicas se evaluó para el ensayo analizando un panel de sustancias a la concentración pertinente en muestras de plasma positivas para las dianas.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 28

Muestra	Pos./Dup. de VHC	Resultado
Bilirrubina	3/3	Sin interferencia
Triglicéridos	3/3	Sin interferencia
Hemoglobina alta	1/3	Interferencia
Hemoglobina media	3/3	Interferencia
Hemoglobina baja	3/3	Sin interferencia
Heparina	0/3	Interferencia
EDTA	3/3	Sin interferencia
Ganciclovir	3/3	Sin interferencia
Azitromicina	3/3	Sin interferencia
Sofosbuvir	3/3	Sin interferencia
Pibrentasvir	3/3	Sin interferencia
Glecaprevir	3/3	Sin interferencia
Ribavirina	3/3	Sin interferencia
Velpatasvir	3/3	Sin interferencia

La mayoría de las sustancias analizadas no interfirieron en la amplificación del VHC o del Internal Control.

NOTA!

la hemoglobina a una concentración media (1,7–2,3 g/dL) se considera una sustancia interferente, pues no permite cuantificar la diana de VHC con valores medios de cantidad logarítmica objetivo dentro del intervalo exigido por las directrices internacionales tras la suma o sustracción del valor SEM como error de medición.

NOTA!

Se confirmó que la heparina y la hemoglobina a altas concentraciones (de 3,4 a 4,6 g/dL) inhibían la amplificación del VHC; sin embargo, debido al valor de corte del Ct del Internal Control (Ct del IC inferior a 31), las muestras presentaron un resultado «no válido» y no «falso negativo» en la mayoría de los casos.

12.9 Contaminación cruzada

La posible contaminación cruzada durante el análisis se evaluó analizando 30 muestras de plasma negativas para ARN de VHC, que se alternaron con 30 muestras de plasma enriquecidas con material de referencia certificado de VHC (Zeptomatrix) a un título alto.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 29

Muestras	N	Positivas	Negativas
Plasma recogido en ACD enriquecido a $6,26 \times 10^7$ UI/mL de VHC	30	30	0
Plasma recogido en ACD negativo para VHC	30	0	30

En este análisis con el producto **HCV ELITE MGB Kit**, no se detectó contaminación cruzada dentro de las propias sesiones ni entre las sesiones.

12.10 Tasa total de fallos del sistema

La tasa total de fallos del sistema para el ensayo se evaluó en el ELITE InGenius y el ELITE BeGenius, analizando un panel de muestras que se enriquecieron con material de referencia certificado (6° Estándar Internacional de la OMS, NISBC) a una concentración de 3 veces el LoD (aproximadamente 78 UI/mL).

Los resultados se resumen en las tablas siguientes.

Tabla 30 ELITE InGenius. Tasa total de fallos del sistema

Muestras	N	UI/mL teóricas	Positivas	Negativas	Tasa total de fallos del sistema
Plasma recogido en EDTA y enriquecido con VHC	100	78	100	0	0 %
Plasma recogido en ACD y enriquecido con VHC	30	78	30	0	0 %
Suero enriquecido con VHC	30	78	30	0	0 %

Tabla 31 ELITE BeGenius. Tasa total de fallos del sistema

Matriz	N	UI/mL teóricas	Positivas	Negativas	Tasa total de fallos del sistema
Plasma recogido en EDTA y enriquecido con VHC	100	78	100	0	0 %

En el análisis con el producto **HCV ELITE MGB Kit**, ninguna de las muestras positivas para ARN de VHC analizadas presentó resultados falsos negativos. En este análisis, la tasa total de fallos del sistema fue del 0 %.

12.11 Repetibilidad

La repetibilidad dentro de las sesiones y entre sesiones del ensayo se evaluó en el ELITE InGenius y el ELITE BeGenius analizando un panel de muestras de plasma, que contenía también una muestra negativa y dos muestras enriquecidas con material de referencia certificado de VHC (6° Estándar Internacional de la OMS, NIBSC).

En las tablas siguientes se incluye un ejemplo de repetibilidad dentro de las sesiones (en un día).

Tabla 32 Repetibilidad dentro de las sesiones en el ELITE InGenius (día 1)

Muestra	N	VHC			
		Ct medio	Ct medio	Ct medio	% de concordancia
Negativas	8	-	-	-	100 %
3×LoD	8	37,28	0,34	0,92	100 %
10×LoD	8	35,37	0,43	1,23	100 %

Tabla 33 Repetibilidad dentro de las sesiones en el ELITE BeGenius (día 1)

Muestra		VHC			
		Ct medio	Ct medio	Ct medio	% de concordancia
Negativas	8	-	-	-	100 %
3×LoD	8	37,83	1,15	3,05	100 %
10×LoD	8	35,45	0,30	0,85	100 %

En las tablas siguientes se incluye un ejemplo de repetibilidad entre sesiones (en dos días).

Tabla 34 Repetibilidad entre sesiones del ELITE BeGenius (día 1 + día 2)

Muestra	N	VHC			
		Ct medio	Ct medio	Ct medio	% de concordancia
Negativas	16	-	-	-	100 %
3×LoD	16	37,37	0,67	1,78	100 %
10×LoD	16	35,40	0,43	1,22	100 %

Tabla 35 Repetibilidad entre sesiones del ELITE BeGenius (día 1 + día 2)

Muestra	N	VHC			
		Ct medio	Ct medio	Ct medio	% de concordancia
Negativas	16	-	-	-	100 %
3×LoD	16	37,68	0,25	2,31	100 %
10×LoD	16	35,54	0,10	0,96	100 %

En la prueba de repetibilidad, el producto HCV ELITE MGB Kit detectó todas las muestras tal como se esperaba y presentó una variación máxima de los valores de Ct de la diana como un %CV inferior al 5 %.

12.12 Reproducibilidad

La reproducibilidad entre centros del ensayo se evaluó en el ELITE InGenius analizando un panel de muestras de plasma negativas o enriquecidas con VHC (6° Estándar internacional de la OMS, NIBSC).

En las tablas siguientes se incluye un resumen de la reproducibilidad entre centros (en dos centros).

Tabla 36 Reproducibilidad entre centros del ELITE InGenius

Muestra	VHC				
	N	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia
Negativas	24	Sin determinar	-	-	100 %
3×LoD	24	36,89	0,55	1,48	100 %
10×LoD	24	35,03	0,46	1,32	100 %

En la prueba de reproducibilidad entre centros, el producto **HCV ELITE MGB Kit** detectó la diana y presentó una variación máxima de los valores de Ct de la diana como un %CV del 1,48 %.

La reproducibilidad del ensayo se evaluó en el ELITE BeGenius y el ELITE InGenius analizando un panel de muestras de plasma negativas o enriquecidas con VHC (6° Estándar Internacional de la OMS, NIBSC).

En las tablas siguientes se incluye un resumen de la reproducibilidad entre instrumentos (en tres instrumentos).

Tabla 37 Reproducibilidad entre instrumentos del ELITE InGenius

Muestra	VHC				
	N	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia
Negativas	24	Sin determinar	-	-	100 %
3×LoD	24	37,03	0,53	1,44	100 %
10×LoD	24	33,97	0,38	1,11	100 %

Tabla 38 Reproducibilidad entre instrumentos en el ELITE InGenius

Muestra	VHC				
	N	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia
Negativas	24	Sin determinar	-	-	100 %
3×LoD	23	38,00	0,71	1,86	100 %
10×LoD	24	36,44	0,67	1,84	100 %

En las tablas siguientes se incluye un resumen de la reproducibilidad entre lotes (en tres lotes).

Tabla 39 Reproducibilidad entre lotes del ELITE InGenius

Muestra	VHC				
	N	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia
Negativas	48	Sin determinar	-	-	100 %
3×LoD	48	37,32	0,64	1,72	100 %
10×LoD	48	35,44	0,38	1,07	100 %

Tabla 40 Reproducibilidad entre lotes del ELITE BeGenius

Muestra	VHC				
	N	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia
Negativas	48	Sin determinar	-	-	100 %
3×LoD	48	37,60	0,71	1,88	100 %
10×LoD	48	35,78	0,48	1,33	100 %

En la prueba de reproducibilidad entre instrumentos y entre lotes, el producto HCV ELITE MGB Kit detectó todas las muestras correctamente tal como se esperaba y presentó una variación máxima de los valores de Ct de la diana como un %CV inferior al 5 %.

12.13 Factor de conversión a unidades internacionales

El factor de conversión utilizado para notificar los resultados cuantitativos en UI/mL a partir de copias/mL se calculó utilizando material de referencia calibrado y certificado del 6º Estándar internacional de la OMS para VHC (NIBSC).

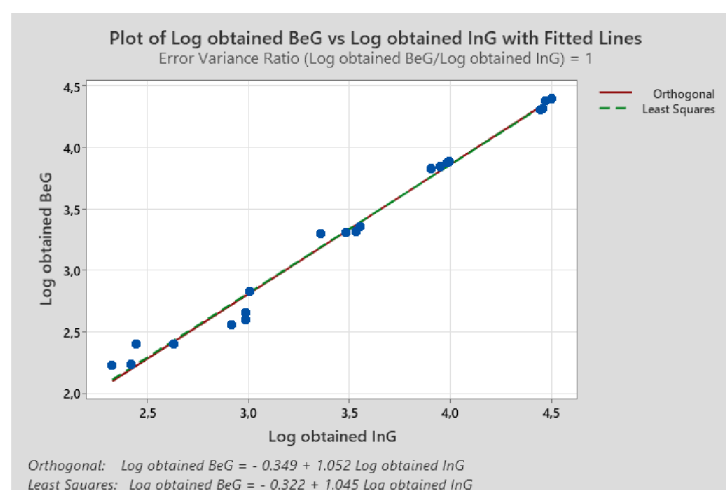
El factor de conversión se determinó en **2,4 UI/copia**.

Como se demostró previamente la equivalencia entre el plasma recogido en EDTA, el plasma recogido en ACD y el suero, el factor de conversión puede aplicarse a las tres matrices.

El factor de conversión del producto **HCV ELITE MGB Kit** cuando se analizaron muestras de plasma recogido en EDTA se verificó en los instrumentos ELITE BeGenius y ELITE InGenius utilizando material de referencia calibrado y certificado del 6º Estándar internacional de la OMS para VHC (NIBSC). Los resultados obtenidos se analizaron mediante un análisis de regresión ortogonal y lineal con el fin de calcular la relación entre los métodos.

El factor de conversión a unidades internacionales calculado para el ELITE InGenius también es válido para el MyGenius PRO.

Los resultados se resumen en la figura siguiente.

**Fig. 4**

El análisis de regresión ortogonal generó una intersección de 0,3494 (IC del 95 %: 0,5546; 0,1442) y una pendiente de 1,0523 (IC del 95 %: 0,9943; 1,1103). El análisis de regresión lineal generó un valor de R² de 0,985.

12.14 MyGenius PRO: relación entre métodos

El análisis de relación entre los diferentes métodos se evaluó en el MyGenius PRO analizando muestras de VHC de pacientes que presentaban una carga vírica dentro del rango de medición del método de referencia (ELITE InGenius). Los resultados obtenidos con el MyGenius PRO y el método de referencia (ELITE InGenius) se analizaron mediante análisis de regresión de ortogonal y lineal.

El estudio de relación se realizó en un centro con 103 muestras clínicas positivas de plasma recogido en EDTA, que se certificaron como positivas para ADN de VHC o se enriquecieron con material de referencia utilizando el ELITE InGenius como comparador.

Los resultados se resumen en la figura siguiente.

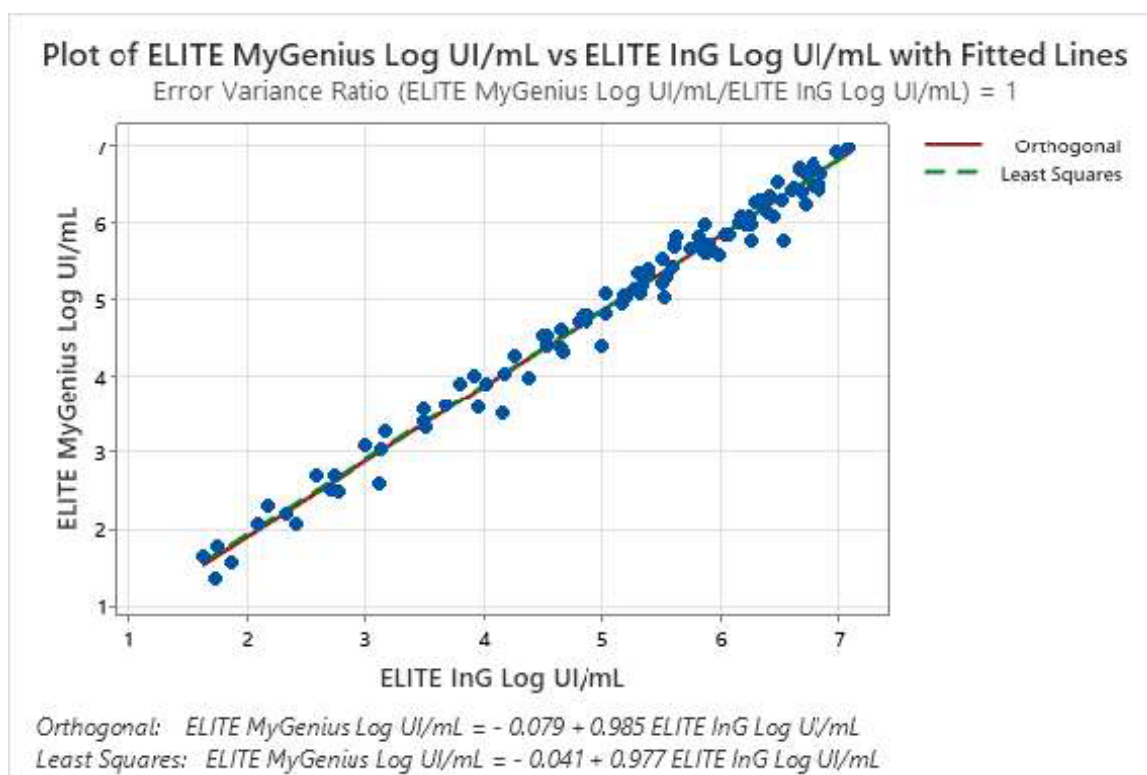


Fig. 5

El análisis de regresión ortogonal generó una intersección de 0,0791 (IC del 95 %: 0,2047; 0,0464) y una pendiente de 0,9849 (IC del 95 %: 0,9611; 1,0088). El análisis de regresión lineal generó un R² de 0,985.

Los resultados de relación entre métodos también son válidos para la matrices de plasma recogido en ACD y de suero.

12.15 Especificidad diagnóstica: confirmación de las muestras negativas

La especificidad diagnóstica del ensayo, evaluada como porcentaje de concordancia negativa, se evaluó en tres centros diferentes en el **ELITE InGenius** analizando muestras clínicas negativas para ARN de VHC, que también se habían analizado con métodos de referencia para diagnóstico molecular *in vitro* con marcado CE.

Como el ELITE BeGenius presenta un rendimiento analítico equivalente al del ELITE InGenius, el rendimiento diagnóstico del ensayo observado en los dos instrumentos también se considera equivalente. Así pues, la especificidad diagnóstica del ensayo obtenida con el ELITE InGenius también es aplicable al ELITE BeGenius.

Como el MyGenius PRO presentó un rendimiento analítico equivalente al del ELITE InGenius, el rendimiento diagnóstico del ensayo observado en los dos instrumentos también se considera equivalente. Así pues, la especificidad diagnóstica del ensayo obtenida con el ELITE InGenius también es aplicable al MyGenius PRO.

En la tabla siguiente se resumen los resultados del estudio de especificidad diagnóstica después del análisis con resultado distinto, ambos diferenciados según el método de referencia («cobas® HCV for use on the 4800 System» y «cobas® HCV for use on the 6800 System», de Roche Diagnostics) que, después, se combinaron, pues presentaron un rendimiento equivalente.

Tabla 41

Muestras de plasma recogido en EDTA y de suero negativas para ARN de VHC	N	Positivas	Negativas	Especificidad diagnóstica
Método de referencia: cobas HCV for use on the 6800 System	100	0	100	100 %
Método de referencia: cobas HCV for use on the 4800 System	222	5	217	97,7 %
Resultados combinados	322	5	317	98,4 %

El valor de corte del Ct del IC para muestras de plasma recogido en EDTA, de plasma recogido en ACD y de suero se estableció en 31 cuando el análisis se realizó con el ELITE InGenius y el MyGenius PRO, y en 33 cuando se realizó con el ELITE BeGenius.

12.16 Sensibilidad diagnóstica: relación entre métodos

La sensibilidad diagnóstica del ensayo, evaluada mediante un análisis de la relación entre diferentes métodos, se evaluó en tres centros diferentes con el **ELITE InGenius** analizando muestras clínicas positivas para ARN de VHC, que procedían de pacientes que estaban recibiendo un tratamiento antivírico y que presentaban una carga vírica dentro del rango de medición del producto **HCV ELITE MGB Kit** y de otros métodos de diagnóstico molecular de referencia para diagnóstico *in vitro* con marcado CE. Los resultados obtenidos con el producto **HCV ELITE MGB Kit** y el método de referencia se analizaron mediante un análisis de regresión de Deming y de regresión lineal.

El estudio de relación se realizó en un centro con 95 muestras clínicas de plasma recogido en EDTA positivas para ARN de VHC, utilizando el «cobas® HCV for use on the 6800 System» como comparador.

Los resultados se resumen en la figura siguiente.

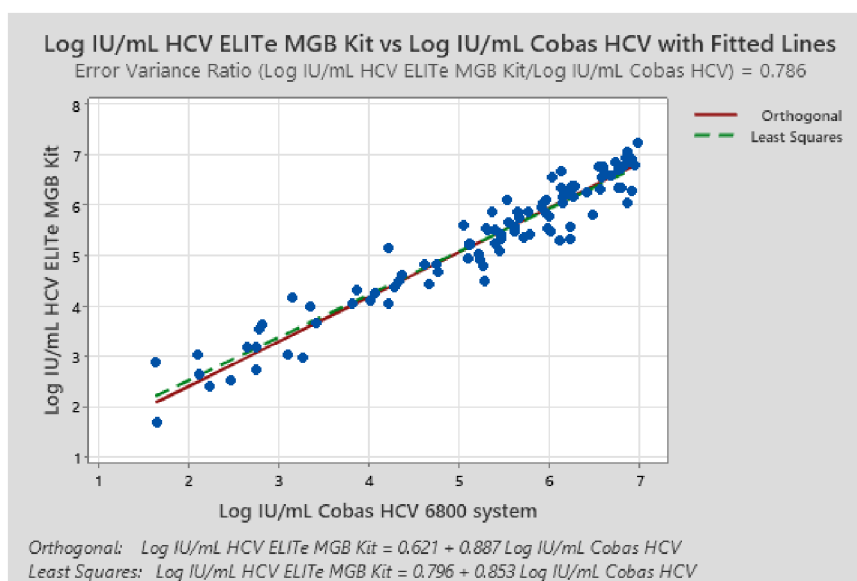


Fig. 6

En esta prueba, el análisis de regresión de Deming generó una pendiente de 0,887 (IC del 95 %: 0,836; 0,938) y una intersección de 0,621 (IC del 95 %: 0,345; 0,896). El análisis de regresión lineal generó un valor de R^2 de 0,926.

El estudio de relación se realizó en otros dos centros con 184 muestras clínicas de plasma recogido en EDTA y de suero positivas para ARN de VHC, utilizando el «cobas® HCV for use on the 4800 System» como comparador.

Los resultados se resumen en la figura siguiente.

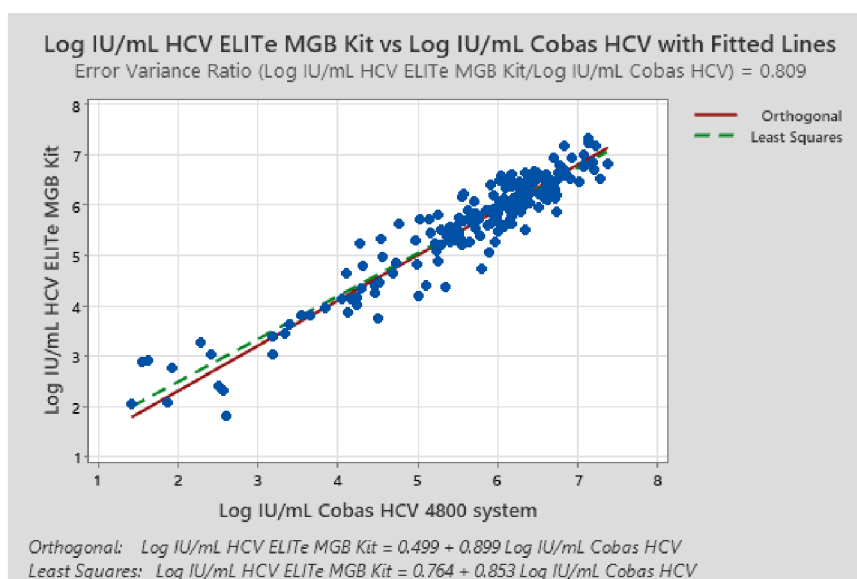


Fig. 7

En esta prueba, el análisis de regresión de Deming generó una pendiente de 0,899 (IC del 95 %: 0,856; 0,943) y una intersección de 0,499 (IC del 95 %: 0,245; 0,753). El análisis de regresión lineal generó un valor de R^2 de 0,899.

Como los dos métodos de referencia («cobas® HCV for use on the 4800 System» y «cobas® HCV for use on the 6800 System», de Roche Diagnostics) tienen un rendimiento equivalente, el estudio de relación se realizó también en los resultados combinados de los tres centros.

Los resultados se resumen en la figura siguiente.

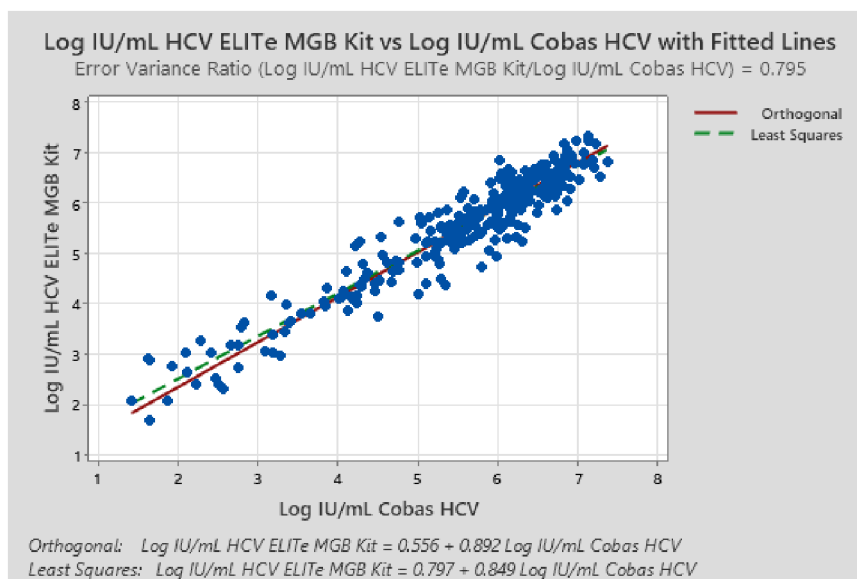


Fig. 8

En esta prueba, el análisis de regresión de Deming generó una pendiente de 0,892 (IC del 95 %: 0,858; 0,926) y una intersección de 0,556 (IC del 95 %: 0,363; 0,749). El análisis de regresión lineal generó un valor de R^2 de 0,905.

Como el **ELITE BeGenius** presenta un rendimiento analítico equivalente al del **ELITE InGenius**, el rendimiento diagnóstico del ensayo observado en los dos instrumentos también se considera equivalente. Así pues, la sensibilidad diagnóstica del ensayo obtenida con el **ELITE InGenius** también es aplicable al **ELITE BeGenius**.

Como el **MyGenius PRO** presentó un rendimiento analítico equivalente al del ELITe InGenius, el rendimiento diagnóstico del ensayo observado en los dos instrumentos también se considera equivalente. Por lo tanto, la sensibilidad diagnóstica del ensayo obtenida con el ELITe InGenius también es aplicable al MyGenius PRO.

NOTA!

Los datos y resultados completos de las pruebas realizadas para evaluar las características de rendimiento del producto con las matrices y el instrumento indicados se incluyen en la documentación técnica del producto **HCV ELITe MGB® Kit**, FTP FTP601ING.

13 BIBLIOGRAFÍA

P. Halfon *et al.* (2006) J Clin Microbiology 44: 2507–2511

E. A. Lukhtanov *et al.* (2007) Nucleic Acids Res. 35: e30.

WHO Prequalification of In Vitro Diagnostics Public Report (WHO PQ Public Report), number PQDx 0465-118-00, 03/2021, versión 1,0.

<https://ltd.aruplab.com> (número de ensayo 3000572).

<https://www.mayocliniclabs.com> (ID de la prueba: HCVQN).

H. H. Kessler *et al.* (2001) J. Clin. Microb. 39: 1788-1790.

K. Sener *et al.* (2010) J. Clin. Lab. Analysis 24: 134 - 138.

C. Baleriola *et al.* (2011) J. Clin. Microbiol. 49: 3163–3167

OMS (Organización Mundial de la salud), 2018, Guidelines for the care and treatment of persons diagnosed with chronic hepatitis C virus infection.

CDC (Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades), 2020, CDC Recommendations for Hepatitis C Screening Among Adults. Estados Unidos, 2020.

AASLD (Asociación Americana para el estudio de enfermedades hepáticas) e IDSA (Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas), 2022, HCV Guidance: Recommendations for testing, managing and treating Hepatitis C.

EASL (Asociación Europea para el Estudio del Hígado), 2020, EASL recommendations on treatment of Hepatitis C 2020, Journal of Hepatology.

Ministerio Italiano de Sanidad, 2022, Linee di indirizzo Nazionali sui percorsi diagnostico terapeutici assistenziali per l'infezione da virus dell'epatite C.

14 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Utilizar este producto únicamente con las siguientes muestras clínicas: Plasma recogido en EDTA o en ACD, y suero

Las muestras de plasma recogido en EDTA o en ACD y de suero se obtendrán de sangre almacenada a temperatura ambiente o a una temperatura comprendida entre +2 °C y +8 ° durante un período no superior a 24 horas.

No utilizar con este producto plasma recogido en heparina, pues esta sustancia inhibe la reacción de amplificación de los ácidos nucleicos y da lugar a resultados no válidos.

No utilizar con este producto plasma hemolítico, pues la hemoglobina inhibe la reacción de amplificación de los ácidos nucleicos y da lugar a resultados no válidos.

En la actualidad, no se dispone de datos del rendimiento de este producto con otras muestras clínicas, como la sangre.

Este producto no está concebido para utilizarlo en análisis de cribado ni para detectar la presencia de agentes contagiosos o la exposición a ellos en sangre, hemoderivados, células, tejidos, órganos o cualquiera de sus derivados a la hora de evaluar su idoneidad para una transfusión, un trasplante o una administración de células.

Los resultados obtenidos con este producto dependen de que las muestras se identifiquen, recojan, transporten, conserven y procesen de forma apropiada. Por lo tanto, con el fin de evitar resultados incorrectos, es necesario prestar especial atención durante estos pasos y seguir estrictamente las instrucciones incluidas con los productos.

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

Para utilizar este producto y con el fin de evitar accidentes con consecuencias potencialmente graves para el usuario y otras personas, 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 un equipo de protección individual 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 un equipo de protección individual e instrumentos especiales expresamente destinados a la configuración del ensayo de que se trate.

Con el fin de evitar resultados incorrectos, este producto debe ser manipulado por profesionales debidamente formados y cualificados en técnicas de biología molecular, como la extracción, la retrotranscriptasa, la PCR y la detección de ácidos nucleicos.

Es necesario tener áreas separadas para la preparación de la mezcla de reacción completa y la extracción/amplificación/detección de los productos de amplificación.

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.

Un resultado negativo obtenido con este producto indica que no se ha detectado ARN de la diana en el ARN extraído de la muestra; no obstante, no puede descartarse que el ARN de la diana tenga un título inferior al límite de detección del producto (consultar [12 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ELITe InGenius, del ELITe BeGenius y del MyGenius PRO page 34](#)). Si esto sucede, el resultado puede ser un falso negativo.

En ocasiones, los resultados obtenidos con este producto pueden ser «no válidos» debido a un error en el Internal Control. Si esto ocurre, es necesario volver a analizar la muestra, empezando por el paso de extracción, lo que puede dar lugar a retrasos en la obtención de los resultados definitivos.

Asimismo, la existencia de posibles polimorfismos, inserciones o eliminaciones en la región del ARN a la que se dirigen los cebadores y las sondas del producto puede afectar negativamente a la detección y la cuantificación del ARN diana.

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

Como en cualquier otro producto sanitario para diagnóstico, este producto presenta un riesgo residual de obtener resultados no válidos o erróneos. Este riesgo residual no se puede eliminar ni reducir aún más. En determinadas situaciones, el riesgo residual puede hacer que se tomen decisiones incorrectas, con consecuencias potencialmente graves para el paciente. No obstante, este riesgo residual asociado al uso previsto del producto se ha ponderado con los beneficios potenciales para el paciente y se ha evaluado como aceptable.

15 PROBLEMAS Y SOLUCIONES

ELITe InGenius y ELITe BeGenius

Tabla 42

Reacción no válida del calibrador Q-PCR-Standard, de la curva de calibración o del Positive Control	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la posición de la mezcla completa de reacción, así como de los calibradores Q-PCR Standard y del Positive Control. Comprobar el volumen de la mezcla completa de reacción, así como el de los calibradores Q-PCR Standard y el del Positive Control.
Error en la preparación de la mezcla completa de reacción.	Comprobar los volúmenes de los reactivos utilizados durante la preparación de la mezcla completa de reacción.
Degradación de la mezcla completa de reacción o de sus componentes.	No utilizar la mezcla completa de reacción durante más de 3 sesiones consecutivas: 7 horas en el bloque refrigerado de la «Inventory Area» (área del inventario) o en la «Cooler Unit». No dejar la PCR Mix a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. No exponer la mezcla «RT EnzymeMix» a temperaturas superiores a -20 °C durante más de 10 minutos. Volver a preparar la mezcla completa de reacción. Utilizar una nueva alícuota de los componentes.
Degradación de los calibradores «Q-PCR-Standard» o del Positive Control.	No utilizar el Q-PCR Standard para más de 2 sesiones independientes: 2 horas cada una en el área de extracción o en la «Cooler Unit». No utilizar el Positive Control para más de 4 sesiones independientes: 3 horas cada una en el área de extracción o en la «Cooler Unit». Utilizar nuevas alícuotas de los calibradores Q-PCR-Standard o del Positive Control.
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Tabla 43

Reacción no válida del Negative Control	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la posición de la mezcla completa de reacción, así como del Negative Control. Comprobar el volumen de la mezcla completa de reacción, así como el del Negative Control.
Contaminación del Negative Control.	No utilizar el Negative Control para más de 1 sesión. Utilizar una nueva alícuota de agua para biología molecular.
Contaminación de la mezcla completa de reacción o de sus componentes.	Volver a preparar la mezcla completa de reacción. Utilizar una nueva alícuota de los componentes.
Contaminación del área de extracción, de las gradillas, del «Inventory Block» (administrador de inventarios) o de la «Cooler Unit».	Limpiar las superficies con detergentes acuosos, lavar las batas y sustituir los probetas y las puntas que se hayan utilizado.
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Tabla 44

Reacción no válida de la muestra	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la posición de la mezcla completa de reacción, así como del Internal Control y la de la muestra. Comprobar los volúmenes de la mezcla completa de reacción, así como la del Internal Control y la de la muestra.
Error en la preparación de la mezcla completa de reacción.	Comprobar los volúmenes de los reactivos utilizados durante la preparación de la mezcla completa de reacción.
Degradación de la mezcla completa de reacción o de sus componentes.	No utilizar la mezcla completa de reacción durante más de 3 sesiones consecutivas: 7 horas en el bloque refrigerado de la «Inventory Area» (área del inventario) o en la «Cooler Unit». No dejar la PCR Mix a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. No exponer la mezcla «RT EnzymeMix» a temperaturas superiores a -20 °C durante más de 10 minutos. Volver a preparar la mezcla completa de reacción. Utilizar una nueva alícuota de los componentes.
Degradación de la plantilla del Internal Control.	Utilizar una nueva alícuota del Internal Control.
Inhibición debida a la presencia de sustancias interferentes en la muestra.	Repetir la amplificación con una dilución de 1:2 en agua para biología molecular de la muestra eluida en una sesión en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR). Repetir la extracción con una dilución de 1:2 en agua para biología molecular de la muestra en una sesión realizada en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Tabla 45

Curva de disociación anómala	
Posibles causas	Soluciones
Ausencia de un valor máximo definido. Pico definido, pero Tm diferente de la de otras muestras y de la presentada por los calibradores y el Positive Control.	Verificar que el Ct de la diana sea inferior a 30. Una alta cantidad de producto de amplificación al final de la reacción puede interferir con el análisis de la curva de fusión. Repetir la amplificación de la muestra para confirmar la presencia de la diana con una posible mutación. La diana de la muestra debe secuenciarse para confirmar la mutación.

Tabla 46

Error en el cálculo del Ct	
Posibles causas	Soluciones
Concentración demasiado alta de la diana en la muestra o muestra con una señal de fluorescencia anómala.	Si se observa una amplificación notable en el gráfico de PCR, proceder de la manera siguiente: - Seleccionar el carril relativo a la muestra y aprobar manualmente el resultado como positivo. - Si no se observa ninguna amplificación en el gráfico de la PCR, seleccionar el carril relativo a la muestra y aprobar manualmente el resultado como negativo, o bien dejarlo como no válido. - Si se requiere un valor Ct: - Repetir la amplificación de la muestra eluida con una dilución de 1:10 en agua para biología molecular de la muestra en una sesión realizada en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR). - Repetir la extracción de la muestra con una dilución de 1:10 en agua para biología molecular en una sesión realizada en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).

Tabla 47

Tasa anormalmente alta de resultados positivos dentro de la misma sesión (reacciones con valores de Ct tardíos similares)	
Posibles causas	Soluciones
Contaminación entre muestras durante los pasos preanalíticos.	Limpiar la micropipeta con una solución reciente de hipoclorito de sodio (lejía) al 3 % o un limpiador de ADN/ARN después de pipetear cada muestra. No utilizar pipetas de Pasteur. Las pipetas deben ser del tipo de desplazamiento positivo o utilizarse con puntas con filtro para aerosoles. Introducir las muestras en las últimas posiciones de los instrumentos, tal como se indica en la interfaz. Seguir la secuencia de carga indicada por el software.
Contaminación medioambiental en el laboratorio	Limpiar todas las superficies que están en contacto con el operador y las muestras (inclusive las pipetas) con solución de hipoclorito de sodio (lejía) al 3 % reciente o limpiador de ADN/ARN. Realizar un ciclo de descontaminación con radiación UV. Utilizar una nueva probeta de mezcla Q-PCR Mix o de Internal Control.

MyGenius PRO

Tabla 48

Reacción no válida del calibrador Q-PCR-Standard, de la curva de calibración o del Positive Control	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Comprobar el volumen de la mezcla completa de reacción, así como el de los calibradores Q-PCR Standard y el del Positive Control. Es importante que las probetas utilizadas en el MyGenius PRO no se hayan utilizado previamente en otras plataformas ni tampoco se hayan empleado para configurar sesiones en plataformas abiertas, pues el instrumento lee la etiqueta y asigna automáticamente el número máximo de duplicados que se pueden procesar si esa probeta no se ha cargado nunca en el MyGenius PRO. Por lo tanto, si se utiliza una probeta que no sea nueva, es posible que el volumen no sea suficiente.
Error en la preparación de la mezcla completa de reacción.	Comprobar los volúmenes de los reactivos utilizados durante la preparación de la mezcla completa de reacción.
Degradación de la mezcla completa de reacción o de sus componentes.	No utilizar la mezcla completa de reacción durante más de 3 sesiones consecutivas (7 horas en el carrusel). No dejar la PCR Mix a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. No exponer la mezcla RT EnzymeMix a temperaturas superiores a -20 °C durante más de 10 minutos. Volver a preparar la mezcla completa de reacción. Utilizar una nueva alícuota de los componentes.
Degradación de los calibradores «Q-PCR-Standard» o del Positive Control.	No utilizar el calibrador Q-PCR-Standard para más de 2 sesiones independientes (2 horas cada una en el carrusel). No utilizar el Positive Control para más de 4 sesiones independientes (3 horas cada una en el carrusel). Utilizar nuevas probetas de los calibradores Q-PCR-Standard o del Positive Control.
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Tabla 49

Reacción no válida del Negative Control	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Comprobar el volumen de la mezcla completa de reacción, así como el del Negative Control. Es importante que las probetas utilizadas en el MyGenius PRO no se hayan utilizado previamente en otras plataformas ni tampoco se hayan empleado para configurar sesiones en plataformas abiertas, pues el instrumento lee la etiqueta y asigna automáticamente el número máximo de duplicados que se pueden procesar si esa probeta no se ha cargado nunca en el MyGenius PRO. Por lo tanto, si se utiliza una probeta que no sea nueva, es posible que el volumen no sea suficiente.
Contaminación del Negative Control.	No utilizar el Negative Control para más de una sesión ni durante más de 8 horas. Utilizar una probeta nueva de Negative Control.
Contaminación de la mezcla completa de reacción.	Volver a preparar la mezcla completa de reacción. Utilizar una nueva alícuota de los componentes.

Tabla 49 (continued)

Reacción no válida del Negative Control	
Posibles causas	Soluciones
Contaminación del área de extracción, de las gradillas, del «Inventory Block» (administrador de inventarios) o de la «Cooler Unit».	Limpiar las superficies con detergentes acuosos, lavar las batas y sustituir los probetas y las puntas que se hayan utilizado.
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Tabla 50

Reacción no válida de la muestra	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Comprobar el volumen de la mezcla completa de reacción, así como el del Internal Control y el de las muestras. Es importante que las probetas utilizadas en el MyGenius PRO no se hayan utilizado previamente en otras plataformas ni tampoco se hayan empleado para configurar sesiones en plataformas abiertas, pues el instrumento lee la etiqueta y asigna automáticamente el número máximo de duplicados que se pueden procesar si esa probeta no se ha cargado nunca en el MyGenius PRO. Por lo tanto, si se utiliza una probeta que no sea nueva, es posible que el volumen no sea suficiente.
Degradación de la mezcla completa de reacción o de sus componentes.	No utilizar la mezcla completa de reacción durante más de 3 sesiones consecutivas (7 horas en el carrusel). No dejar la PCR Mix a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. No exponer la mezcla RT EnzymeMix a temperaturas superiores a -20 °C durante más de 10 minutos. Volver a preparar la mezcla completa de reacción. Utilizar una nueva alícuota de los componentes.
Degradación de la plantilla del Internal Control.	No utilizar el Internal Control durante más de 8 horas. Utilizar una probeta nueva de Internal Control.
Inhibición debida a la presencia de sustancias interferentes en la muestra.	Repetir la extracción y la PCR de la muestra. Repetir la extracción y la amplificación de la muestra con una dilución de 1:2 en agua para biología molecular.
Concentración demasiado alta de la diana en la muestra o muestra con una señal de fluorescencia anómala.	Si se necesita un valor de Ct, repetir la extracción y la amplificación de la muestra con una dilución de 1:10 en agua para biología molecular.
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Tabla 51

Curva de disociación anómala	
Posibles causas	Soluciones
Ausencia de un valor máximo definido. Pico definido, pero Tm diferente de la de otras muestras y de la presentada por los calibradores y el Positive Control.	Verificar que el Ct de la diana sea inferior a 30. Una alta cantidad de producto de amplificación al final de la reacción puede interferir con el análisis de la curva de fusión. Repetir la extracción y la amplificación de la muestra para confirmar la presencia de la diana con una posible mutación. La diana de la muestra debe secuenciarse para confirmar la mutación.

Tabla 52

Error en el cálculo del Ct	
Posibles causas	Soluciones
Concentración demasiado alta de la diana en la muestra o muestra con una señal de fluorescencia anómala.	Si aparece una amplificación reseñable en el gráfico de PCR, el resultado se considera positivo. Si no aparece ninguna amplificación en el gráfico de PCR, el resultado se considera negativo o no válido. Si se necesita un valor de Ct, repetir la extracción y la amplificación de la muestra con una dilución de 1:10 en agua para biología molecular.

Tabla 53

Tasa anormalmente alta de resultados positivos dentro de la misma sesión (reacciones con valores de Ct tardíos similares)	
Posibles causas	Soluciones
Contaminación entre muestras durante los pasos preanalíticos.	Limpiar la micropipeta con una solución reciente de hipoclorito de sodio (lejía) al 3 % o un limpiador de ADN/ARN después de pipetear cada muestra. No utilizar pipetas de Pasteur. Las pipetas deben ser del tipo de desplazamiento positivo o utilizarse con puntas con filtro para aerosoles. Introducir las muestras como último procedimiento del día.
Contaminación medioambiental en el laboratorio	Limpiar todas las superficies que están en contacto con el operador y las muestras (inclusive las pipetas) con solución de hipoclorito de sodio (lejía) al 3 % reciente o limpiador de ADN/ARN. Realizar un ciclo de descontaminación con radiación UV. Utilizar una nueva probeta de mezcla Q-PCR Mix o de Internal Control.

16 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 del Reglamento (UE) 2017/746 del Parlamento Europeo y del Consejo sobre los productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*. Certificación emitida por la TÜV SÜD Product Service GmbH, Alemania.

Identificador único del producto



Contenido suficiente para <<N>> análisis.



Consulte las instrucciones de uso

CONT

Contenido.



Manténgase fuera de la luz del sol



Fabricante.

17 NOTA PARA LOS USUARIOS

Cualquier incidente grave que se produzca en relación con el producto deberá comunicarse al fabricante y a las autoridades competentes del Estado miembro en el que resida el usuario o el paciente. Para informar a ELITechGroup S.p.A., que es el fabricante de este producto, debe utilizarse la dirección de correo electrónico egspa.vigilance@elitechgroup.com.

No obstante, cuando este sistema informático se encuentre en funcionamiento, se proporcionará un «Resumen de seguridad y rendimiento» a través de la base de datos europea sobre productos sanitarios (Eudamed). Antes de que se publique la declaración de plena funcionalidad de Eudamed, el «Resumen de seguridad y rendimiento» se pondrá a disposición del público sin retrasos indebidos cuando se solicite escribiendo un correo electrónico a la dirección emd.support@elitechgroup.com.

18 AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA

Este producto contiene reactivos fabricados por ThermoFisher Scientific, que se venden conforme a acuerdos de licencia entre EG SpA y sus afiliadas y ThermoFisher Scientific. El precio de compra de este producto incluye derechos limitados y no transferibles para utilizar únicamente esta cantidad de producto exclusivamente para las actividades del comprador directamente relacionadas con el diagnóstico humano. Para obtener información sobre cómo adquirir una licencia para este producto con fines distintos de los indicados anteriormente, contactar con el departamento de licencias de Thermo Fisher Scientific. Correo electrónico: outlicensing@thermofisher.com.

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.

Las tecnologías del ELITe InGenius®, del ELITe BeGenius® y del MyGenius PRO® están cubiertas por patentes y solicitudes de patentes.

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

Appendix A HCV ELiTe MGB® Kit utilizado con plataformas de la serie Genius®

NOTA!

Este documento es una versión simplificada de las instrucciones de uso oficiales y solo está disponible en inglés. Consultar el documento completo en el siguiente enlace antes de utilizar el producto: www.elitechgroup.com

Uso previsto

El producto **HCV ELiTe MGB® Kit** es un producto sanitario para diagnóstico *in vitro* concebido para uso por parte de profesionales sanitarios como ensayo cuantitativo de ácidos nucleicos mediante retrotranscriptasa y PCR en tiempo real para la detección y la cuantificación de ARN de virus de la hepatitis C (VHC) extraído de muestras clínicas.

El ensayo se ha validado con los instrumentos **ELiTe InGenius®**, **ELiTe BeGenius®** y **MyGenius PRO®** (nombre registrado ELIVERSE®), que son sistemas automatizados e integrados para la extracción, la retrotranscriptasa, la PCR en tiempo real y la interpretación de resultados utilizando muestras humanas de plasma recogido en EDTA o en ACD y de suero.

El producto está concebido para utilizarlo como ayuda en el tratamiento de personas infectadas por el VHC que están recibiendo un tratamiento antivírico.

Los resultados deben interpretarse teniendo en cuenta todas las observaciones clínicas y los resultados de otras pruebas analíticas del paciente.

El producto no está concebido para utilizarlo en análisis de cribado ni para detectar la presencia de agentes contagiosos o la exposición a ellos en sangre, hemoderivados, células, tejidos, órganos o cualquiera de sus derivados a la hora de evaluar su idoneidad para una transfusión, un trasplante o una administración de células. El producto tampoco está concebido como prueba de diagnóstico para confirmar la presencia de una infección por el VHC.

Secuencia amplificada

Secuencia	Gen	Fluoróforo	Canal
Diana	Región 5' UTR de VHC	FAM	VHC
Internal Control	MS2	AP525	IC

Matriz validada

› Plasma recogido en EDTA o plasma recogido en ACD	› Suero
--	---------

Contenido del kit

HCV ELITe MGB Mix		HCV ELITe Standard		HCV - ELITe Positive Control	HCV Internal Control
 X 4	 X 2	    X 1		 X 2	 X 8
PCR Mix 4 probetas de 600 µL 96 reacciones por kit 5 ciclos de congelación/descongelación por cada probeta	RT Enzyme Mix 2 probetas de 20 µL 96 reacciones por kit 10 ciclos de congelación/descongelación por cada probeta	Calibradores listos para el uso: 10 ⁵ , 10 ⁴ , 10 ³ , 10 ² 1 conjuntos de 4 probetas de 160 µL 2 ciclos de congelación/descongelación por cada probeta		PC listo para el uso 2 probetas de 160 µL 8 reacciones por kit 4 ciclos de congelación/descongelación por cada probeta	PC listo para el uso 8 probetas de 160 µL 96 extracciones por kit 6 ciclos de congelación/descongelación por cada probeta

Período de estabilidad máximo: **18 meses**Temperatura de almacenamiento: **-20 °C**

Otros productos necesarios no proporcionados con el kit

› Instrumento ELITe InGenius: INT030
› Instrumento ELITe BeGenius: INT040

› Cartucho de extracción ELITe InGenius SP 1000: INT033SP1000
Consumibles para el **ELITe InGenius** y el **ELITe BeGenius** (consulte las instrucciones de uso del ELITe InGenius y del ELITe BeGenius)

Protocolos ELITe InGenius y ELITe BeGenius

› Volumen de la muestra	600 µL	› Unidad del resultado cuantitativo	Unidad internacional: UI/mL
› Volumen de HCV Internal Control	10 µL		Copias: copias/mL
› Volumen total de elución:	50 µL	› Frecuencia de los controles	15 días
› Volumen inicial de elución para PCR	20 µL	› Frecuencia de la calibración	60 días
› Volumen completo de la PCR Mix	20 µL		

Rendimiento del ELITE InGenius y del ELITE BeGenius

Matriz	Límite de detección	Factor de conversión a UI	Sensibilidad diagnóstica: Método para evaluar la relación	Especificidad diagnóstica
Plasma/Suero	26 UI/mL 11 copias/mL	2,4 UI/copia	$R^2 = 0,905$ 279 muestras cuantificadas	98,4 % 317 muestras confirmadas/322 muestras analizadas
			Métodos de referencia: «cobas® HCV for use on the 4800 Systems» y «cobas® HCV for use on the 6800 Systems», Roche Diagnostics.	

Preparación de la muestra

Este producto está concebido para utilizarlo en uno de los instrumentos **ELITE InGenius** o **ELITE BeGenius** con las siguientes muestras clínicas, identificadas conforme a las directrices para laboratorios y obtenidas, transportadas y conservadas en las condiciones siguientes:

Tipo de muestra	Condiciones transporte/almacenamiento			
	de +16 °C a +26 °C (temperatura ambiente)	de +2 °C a +8 °C	-20 °C ± 10 °C	-70 °C ± 15 °C
Muestras de plasma recogido en EDTA o en ACD	≤1 día	≤3 días	≤1 mes	≤6 meses
Suero	≤1 día	≤5 días	≤1 mes	≤6 meses

Con el fin de evitar la inhibición de la reacción de amplificación y la obtención de resultados no válidos con frecuencia, no utilizar plasma recogido en heparina.

No utilizar plasma hemolítico, pues la hemoglobina inhibe la reacción de la PCR

Procedimientos con el ELITE InGenius

La interfaz del ELITE InGenius guía al usuario paso a paso durante la configuración de la sesión. Todos los pasos, a saber, la extracción, la PCR en tiempo real y la interpretación de los resultados, se realizan automáticamente. Existen dos modos operativos, a saber, sesión completa «Extract + PCR» (Extracción + PCR) y «PCR only» (Solo PCR).

Antes del análisis

1. Encender el ELITE InGenius. Iniciar sesión con el nombre de usuario y la contraseña correspondientes. Seleccionar el modo «Closed».	2. Verificar los calibradores: Q-PCR Standard en el menú «Calibration» (Calibración). Verificar los controles: Positive Control y Negative Control en el menú «Controls» (Controles). Nota: todos los componentes tienen que haberse procesado y aprobado y no deben estar caducados.	3. Descongelar las probetas de PCR Mix y de CPE . Agitar suavemente en un vórtex. Centrifugar durante 5 segundos. Mantener la RT EnzymeMix en hielo.
--	--	--

4. Preparar la mezcla completa de reacción.			5. Agitar suavemente en un vórtex. Centrifugar durante 5 segundos. Mantener la mezcla de reacción completa en hielo. No exponer el producto a la luz directa.
Número de muestra (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix	
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$	
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$	
$N = 12$	290 μL	4,4 μL	

Procedimiento 1. Serie completa: «Extraction + PCR»

1. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil.	2. Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «1000 μL »; «Elution» (Elución): «50 μL »	3. Escanear los códigos de barras de las muestras con el lector de códigos de barras manual, o bien introducir directamente el ID de la muestra.
4. Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo): HCV ELiTe_PL_600_50 o HCV ELiTe_Se_600_50	5. Seleccionar el método «Extract + PCR» (Extracción + PCR) y la posición de la muestra: «Extraction Tube» (Tubo de extracción)	6. Cargar la mezcla completa de reacción y el Internal Control en el «Inventory Block» (administrador de inventarios)
7. Cargar: Cargar el PCR Cassette, el cartucho de extracción, la «Elution Tube» (Tubo de elución), el cartucho de puntas y las gradillas del «Extraction Tube» (Tubo de extracción).	8. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	9. Consultar, aprobar y almacenar los resultados.

NOTA!

si necesita utilizar el modo de procesamiento «Extract Only» (Solo extracción) consulte las instrucciones de uso del instrumento para saber cómo realizar el procedimiento.

Procedimiento 2. «PCR Only»

1 a 4: Seguir el procedimiento de procesamiento completo; seleccione los Assay Protocols (protocolos de ensayo) «HCV ELiTe_PC» y «HCV ELiTe_NC» o «HCV ELiTe_STD», o «HCV ELiTe_PL_600_50» o «HCV ELiTe_Se_600_50».	5. Seleccionar el método «PCR Only» (Solo PCR) y establecer la posición de la muestra en «Elution Tube» (Tubo de elución).	6. Cargar la mezcla completa de reacción en el bloque de inventario.
7. Cargar: El PCR Cassette y la rejilla de la «Elution Tube» (Tubo de elución) con el ácido nucleico extraído.	8. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	9. Consultar, aprobar y almacenar los resultados.

Procedimientos con el ELiTe BeGenius

La interfaz del ELiTe BeGenius guía al usuario paso a paso durante la configuración de la sesión. Todos los pasos, a saber, la extracción, la PCR en tiempo real y la interpretación de los resultados, se realizan automáticamente. Existen dos modos operativos, a saber, sesión completa «Extract + PCR» (Extracción + PCR) y «PCR Only» (Solo PCR).

Antes del análisis

1. Encender el ELiTe BeGenius. Iniciar sesión con el nombre de usuario y la contraseña correspondientes. Seleccionar el modo «Closed».	2. Verificar los calibradores: Q-PCR Standard en el menú «Calibration» (Calibración). Verificar los controles: Positive Control y Negative Control en el menú «Controls» (Controles) Nota: todos los componentes tienen que haberse procesado y aprobado y no deben estar caducados.	3. Descongelar las probetas de PCR Mix y de CPE. Agitar suavemente en un vórtex. Centrifugar durante 5 segundos. Mantener la RT EnzymeMix en hielo.
---	--	--

4. Preparar la mezcla completa de reacción.			5. Agitar suavemente en un vórtex. Centrifugar durante 5 segundos. Mantener la mezcla de reacción completa en hielo. No exponer el producto a la luz directa.
Número de muestra (N)	HCV PCR Mix	RT EnzymeMix	
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) × 20 µL	(N + 1) × 0,3 µL	
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) × 20 µL	(N + 2) × 0,3 µL	
N = 12	290 µL	4,4 µL	
13 ≤ N ≤ 18	(N + 3) × 20 µL	(N + 3) × 0,3 µL	
19 ≤ N ≤ 23	(N + 4) × 20 µL	(N + 4) × 0,3 µL	
N = 24	580 µL	8,7 µL	

Procedimiento 1. Serie completa: «Extraction + PCR»

1. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil y, a continuación, hacer clic en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	2. Insertar la «Sample Rack» (Rack de muestras) con las muestras dotadas de códigos de barras en la «Cooling Area» (área de refrigeración) El escaneado de códigos de barras ya está activo.	3. Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «600 µL», «Eluate» (Eluido): «50 µL»
4. Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo): HCV ELiTe_Be_PL_600_50 o HCV ELiTe_Be_Se_600_50	5. Imprimir las etiquetas para incluir el código de barras correspondiente en los «Elution Tubes» (tubos de elución) vacíos. Cargar las probetas en la «Elution Rack» (rejilla de elución) e insertarla en el área de refrigeración.	6. Cargar la mezcla completa de reacción y el CPE en la «Reagent Rack» (rejilla de reactivos) e insertarla en el área de refrigeración.
NOTA! Si es necesario llevar a cabo una segunda extracción, repetir los pasos del 2 al 4.		
7. Cargar: Cargar las Filter Tips, la «Extraction rack» (rejilla de extracción) y la «PCR Rack» (rejilla de PCR).	8. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	9. Consultar, aprobar y almacenar los resultados.

NOTA!

si necesita utilizar el modo de procesamiento «Extract Only» (Solo extracción) consulte las instrucciones de uso del instrumento para saber cómo realizar el procedimiento.

Procedimiento 2. «PCR Only»

1. Seleccione «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil y, a continuación, hacer clic en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).	2. Cargar las probetas con códigos de barras que contienen el ácido nucleico extraído en la «Elution Rack» (rejilla de elución) e insertarla en el área de refrigeración.	3. En el caso de los calibradores y los controles, para cada «Position» (posición), introducir el «Reagent name» (nombre del reactivo), el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (código de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones). En el caso de los <u>eluidos</u>, para cada «Position» (Posición), introducir el «SID» (ID de la muestra), la «Sample matrix» (matriz de la muestra), el «Extraction Kit» (kit de extracción) y el «Extracted Eluate Volume» (volumen de elución extraído).
3. Seleccionar el «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo) deseado (HCV ELiTe_Be_PC y HCV ELiTe_Be_NC o HCV ELiTe_Be_STD o HCV ELiTe_Be_PL_600_50 o HCV ELiTe_Be_Se_600_50)	5. Cargar la mezcla PCR Mix probetas en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) e insertarla en la «Cooler Unit». Cargar las Filter Tips y la «PCR Rack» (rejilla de PCR) con el «PCR Cassette».	6. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.
7. Consultar, aprobar y almacenar los resultados.		

Appendix B HCV ELITe MGB Kit utilizado con el MyGenius PRO



ATENCIÓN

Este documento es una versión simplificada de las instrucciones de uso oficiales. Consulte el documento completo antes de utilizar el producto visitando el enlace www.elitech-group.com.

Uso previsto

El producto **HCV ELITe MGB® Kit** es un producto sanitario para diagnóstico *in vitro* concebido para uso por parte de profesionales sanitarios como ensayo cuantitativo de ácidos nucleicos mediante retrotranscriptasa y PCR en tiempo real para la detección y la cuantificación de ARN de virus de la hepatitis C (VHC) extraído de muestras clínicas.

El ensayo se ha validado con los instrumentos **ELITe InGenius®**, **ELITe BeGenius®** y **MyGenius PRO®** (nombre registrado ELIVERSE®), que son sistemas automatizados e integrados para la extracción, la retrotranscriptasa, la PCR en tiempo real y la interpretación de resultados utilizando muestras humanas de plasma recogido en EDTA o en ACD y de suero.

El producto está concebido para utilizarlo como ayuda en el tratamiento de personas infectadas por el VHC que están recibiendo un tratamiento antivírico.

Los resultados deben interpretarse teniendo en cuenta todas las observaciones clínicas y los resultados de otras pruebas analíticas del paciente.

El producto no está concebido para utilizarlo en análisis de cribado ni para detectar la presencia de agentes contagiosos o la exposición a ellos en sangre, hemoderivados, células, tejidos, órganos o cualquiera de sus derivados a la hora de evaluar su idoneidad para una transfusión, un trasplante o una administración de células. El producto tampoco está concebido como prueba de diagnóstico para confirmar la presencia de una infección por el VHC.

Secuencia amplificada

Secuencia	Gen	Fluoróforo	Canal
Diana	Región 5' UTR de VHC	FAM	VHC
Internal Control	MS2	AP525	IC

Matrices validadas

› Plasma recogido en EDTA o plasma recogido en ACD	› Suero
--	---------

Contenido del kit

HCV ELiTe MGB Mix		HCV ELiTe Standard		HCV - ELiTe Positive Control	HCV Internal Control
 X 4	 X 2	    X 1		 X 2	 X 8
PCR Mix 4 probetas de 600 µL 96 reacciones por kit 5 ciclos de congelación/descongelación por cada probeta	RT Enzyme Mix 2 probetas de 20 µL 96 reacciones por kit 10 ciclos de congelación/descongelación por cada probeta	Calibradores listos para el uso: 10 ⁵ , 10 ⁴ , 10 ³ , 10 ² 1 conjuntos de 4 probetas de 160 µL 2 ciclos de congelación/descongelación por cada probeta		PC listo para el uso 2 probetas de 160 µL 8 reacciones por kit 4 ciclos de congelación/descongelación por cada probeta	PC listo para el uso 8 probetas de 160 µL 96 extracciones por kit 6 ciclos de congelación/descongelación por cada probeta

Período de estabilidad máximo: **18 meses**Temperatura de almacenamiento: **-20 °C**

Otros productos necesarios no proporcionados con el kit

• MyGenius PRO (EG SpA ref: INT050) • MyGenius PRO Software versión BB-04 (o posterior)	• Internal Control Maxi (EG SpA, Ref. ICMAI) • Negative Control (EG SpA, Ref. CTRNEG) • Reactivos y consumibles para el MyGenius PRO (consultar las instrucciones de uso del MyGenius Pro)
--	--

Protocolo del MyGenius PRO

› Volumen de la muestra	660 µL	› Volumen inicial de PCR del eluido	20 µL
› Volumen del IC	10 µL	› Volumen de la Q-PCR Mix	20 µL
› Volumen total de elución:	50 µL	› Frecuencia de los controles	15 días
		› Frecuencia de la calibración	60 días

Rendimiento del MyGenius PRO

Matriz	Límite de detección	Factor de conversión a UI	Sensibilidad diagnóstica: Método para evaluar la relación	Especificidad diagnóstica
Plasma/Suero	26 UI/mL 11 copias/mL	2,4 UI/copia	R² = 0,905 279 muestras cuantificadas	98,4 % 317 muestras confirmadas/322 muestras analizadas
			Métodos de referencia: «cobas® HCV for use on the 4800 Systems» y «cobas® HCV for use on the 6800 Systems», Roche Diagnostics.	

Preparación de la muestra

Este producto está concebido para utilizarlo en el **MyGenius PRO** con las siguientes muestras clínicas, identificadas conforme a las directrices para laboratorios y obtenidas, transportadas y conservadas en las condiciones siguientes:

Tabla 54

Muestra	Requisitos de obtención	Condiciones de transporte y almacenamiento			
		de +16 °C a +26 °C (temperatura ambiente)	de +2 °C a +8 °C	-20 °C ± 10 °C	-70 °C ± 15 °C
Plasma	EDTA o ACD	≤1 día	≤3 días	≤1 mes	≤6 meses
Suero	-	≤1 día	≤5 días	≤1 mes	≤6 meses

Con el fin de evitar la inhibición de la reacción de amplificación y la obtención de resultados no válidos con frecuencia, no utilizar plasma recogido en heparina.

Procedimientos con el MyGenius PRO

La interfaz de usuario del MyGenius PRO guía al usuario paso a paso durante la configuración de la sesión. Todos los pasos, a saber, la extracción, la PCR en tiempo real y la interpretación de los resultados, se realizan automáticamente. Existen dos modos operativos, a saber, sesión completa «Extract + PCR» (Extracción + PCR) y «PCR Only» (Solo PCR).

1. Encender el MyGenius PRO. Iniciar sesión en el modo STAND-BY (ESPERA) con el nombre de usuario y la contraseña correspondientes.	2. Cargar todos los consumibles en los cajones y vaciar el depósito de residuos líquidos y las cajas de residuos sólidos si es necesario.. Pulsar el botón «Start» (Iniciar) para empezar el proceso de preparación. Una vez terminado este paso, el instrumento pasa al modo de funcionamiento.	3. Verificar los calibradores: Q-PCR Standard en el menú «Calibration» (Calibración). Verificar los controles Positive Control y Negative Control en menú «Controls» (Controles). Nota: todos los componentes tienen que haberse procesado y aprobado y no deben estar caducados.
4. Descongelar las probetas de PCR Mix y de IC MAXI. Agitar suavemente en un vórtex. Centrifugar durante 5 segundos. Mantener la RT EnzymeMix en hielo.		
5. Preparar la mezcla completa de reacción.		
Número de muestra (N)	HCV PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) × 20 µL	(N + 1) × 0,3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) × 20 µL	(N + 2) × 0,3 µL
N = 12	290 µL	4,4 µL
13 ≤ N ≤ 18	(N + 3) × 20 µL	(N + 3) × 0,3 µL
19 ≤ N ≤ 23	(N + 4) × 20 µL	(N + 4) × 0,3 µL
N = 24	580 µL	8,7 µL

6. Cargar las probetas de mezcla de PCR en el carrusel de reactivos siguiendo las instrucciones de la interfaz.	7. Cargar las probetas de IC MAXI en la rejilla azul prevista a tal efecto y cargar estas en el área del muestreador automático.	8a. Si el instrumento está conectado al LIS, insertar las muestras en el área del muestreador automático utilizando soportes específicos en función del diámetro de las pruebas utilizadas. La extracción comienza de forma automática. 8b. Si el instrumento no está conectado al LIS, en la lista de muestras, pulsar «Assign test» (Asignar prueba), leer el código de barras de las muestras con el lector de códigos de barras externo, seleccionar la matriz de plasma o de suero y asignar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) «HCV ELITe_My_PL_IU_600_50» o «HCV ELITe_My_PL_cmL_600_50» o «HCV ELITe_My_Se_IU_600_50» o «HBV ELITe_My_PL_cmL_600_50». Insertar las muestras en el área del muestreador automático utilizando las rejillas previstas a tal fin en función del diámetro de las probetas utilizadas. La extracción comienza de forma automática.
---	--	--

ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185, 10149 Turín, Italia
Teléfono: +39-011 976 191
Fax: +39-011 936 76 11
Correo electrónico: emd.support@elitechgroup.com
Página web: www.elitechgroup.com

