ELITechGroup
EMPOWERING IVD

ELITech Group S.p.A.
C.so Svizzera, 185
10149 Torino ITALY
Offices: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76 11
E. mail: emd.support@elitechgroup.com
WEB site: www.elitechgroup.com

NOTICE of CHANGE dated 01/08/2025

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«HCV ELITe MGB® Kit»
Ref. RTK601ING

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

- *Replacement of 2mL tube 953-217 and white cap 953-223 with 2mL tube 953-065 related to PCR Mix component tubes.*

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

PLEASE NOTE

The product batches identified by the following LOT numbers are still placed on the market as per IVDD till to their expiration dates, according to Article 110 of IVDR. If you have those product batches, please contact ELITechGroup staff to request the related previous revision of IFUs.

PRODUCT REF.	Lot Number	Expiry date
RTK601ING	C0125-009	31/07/2026

ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185
10149 Turín (Italia)
Sede: Tel.: +39-011 976 191 - Fax: +39-011 936 76 11
Correo electrónico:
emd.support@elitechgroup.com

HCV ELITe MGB® Kit

Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTK601ING

UDI 08033891487072

CE 0123 IVD

−20 °

ÍNDICE

USO PREVISTO página 1
PRINCIPIO DEL ENSAYO página 2
DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO página 2
MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO página 3
MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO página 3
OTROS PRODUCTOS NECESARIOS página 4
ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES página 4
MUESTRAS Y CONTROLES página 5
PROCEDIMIENTO CON EL ELITe InGenius página 7
PROCEDIMIENTO CON EL ELITe BeGenius página 13
CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO página 17
BIBLIOGRAFÍA página 28
LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO página 29
PROBLEMAS Y SOLUCIONES página 30
SÍMBOLOS página 32
NOTA PARA LOS USUARIOS página 32
AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA página 33
ANEXO: GUÍA RÁPIDA página A

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®** y **ELITe BeGenius®**, que son sistemas automatizados e integrados para la extracción, la retrotranscriptasa, la PCR en tiempo real y la interpretación de los 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.

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** y el **ELITe BeGenius** 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.

Las sondas ELITe MGB y los fluoróforos se inactivan en el estado de espiral aleatoria («random-coiled») y monocatenario de la sonda. Los fluoróforos están activos en el dúplex de sonda/amplicón, pues el inhibidor se encuentra separado espacialmente del fluoróforo. Cabe reseñar además que el fluoróforo no se escinde durante la PCR y puede utilizarse para el análisis de la disociación y para calcular la temperatura de fusión.

DESCRIPCIÓN DEL 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 de PCR optimizada y estabilizada que contiene los siguientes componentes:
    - 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 el colorante FAM.
    - 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 el colorante AquaPhluor® AP525.
    - solución tampón, cloruro de magnesio, nucleótidos trifosfatos y la enzima ADN polimerasa con activación térmica («hot-start»). Cada vial contiene **600 µL** de solución, suficiente para **24 análisis** (procesando al menos 5 muestras por sesión).
  - **RT EnzymeMix**, una mezcla optimizada y estabilizada de enzimas para retrotranscriptasa. Cada vial contiene **20 µL** de solución, suficiente para **48 análisis** (procesando al menos 5 muestras por sesión).

El producto **HCV ELITe MGB Mix** contiene suficientes reactivos para realizar **96 análisis** en el **ELITe InGenius** y el **ELITe BeGenius** 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** y **ELITe BeGenius** con el fin de calcular la curva de calibración del sistema (lote de producto e instrumento) para la cuantificación de VHC.

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 el **ELITe InGenius** y el **ELITe BeGenius** 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 la mezcla **HCV ELITe MGB Mix** en el **ELITe InGenius** y el **ELITe BeGenius** para generar los gráficos de control («Control Charts») que permiten realizar la verificación del sistema (lote del producto e instrumento).

El componente **HCV Positive Control** contiene suficientes reactivos para realizar **8 sesiones** en el **ELITe InGenius** y el **ELITe BeGenius (4 sesiones con cada probeta)** cuando se utilizan 20 µL en cada reacción.

- **Internal Control de VHC**

Este componente incluye el subcomponente **HCV CPE** (Internal Control exógeno), una solución estabilizada de ARN genómico del bacteriófago MS2. El **HCV CPE** se añade a los reactivos de extracción para validar los resultados de las muestras negativas para VHC.

El componente **HCV Internal Control** contiene suficientes reactivos para realizar **96 análisis** en el **ELITe InGenius** y el **ELITe BeGenius (12 análisis con cada probeta)** cuando se utilizan 10 µL en cada reacción.

El producto **HCV ELITe MGB Kit** también puede utilizarse con instrumentos equivalentes.

MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

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 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 CPE ref. CPE601ING	Solución de ADN plasmídicos y ARN genómico del MS2 en probeta con tapón **NATURAL**	**8 × 160 µL**	-

Nota: las concentraciones de los cuatro 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).

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 3000 rpm).
- Microcentrifugadora de sobremesa (aproximadamente 13.000 rpm).
- Micropipetas y puntas estériles con filtro para aerosoles o puntas estériles de desplazamiento positivo (0,5–10 µL, 2–20 µL, 5–50 µL, 50–200 µL, 200–1000 µL).
- Probetas estériles de 2,0 mL con tapón roscado (Sarstedt, Alemania, ref. 72.694.005).
- Agua para biología molecular.

OTROS PRODUCTOS NECESARIOS

Este kit **no** incluye los reactivos para la extracción de ARN de las muestras ni los consumibles. Para la extracción automática 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:

Instrumentos y productos de software	Productos y reactivos
ELITe InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA ref. INT030) **ELITe InGenius Software**, versión 1.3.0.17 (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) 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) **ELITe InGenius SP 200 Consumable Set** (EG SpA, ref. INT032CS) **ELITe InGenius PCR Cassette** (EG SpA, ref. INT035PCR), **300 µL Filter Tips Axygen** (Corning Life Sciences Inc., ref. TF-350-L-R-S), solo con el ELITe InGenius **1000 µL Filter Tips Tecan** (Tecan, Switzerland, ref. 30180118), solo con el ELITe BeGenius Bolsa para residuos **ELITe InGenius® Waste Box** (EG SpA, ref. F2102-000)
ELITe BeGenius (EG SpA, ref. INT040) **ELITe BeGenius Software** versión 2.1.0. (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) 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	

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

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

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 producto y los recomendados por el fabricante.
No utilizar reactivos procedentes de lotes diferentes.
No utilizar reactivos de otros fabricantes.

Advertencias y precauciones para los procedimientos de biología molecular

Con el fin de evitar el riesgo de resultados incorrectos, sobre todo debido a la degradación de los ácidos nucleicos de las muestras o a la contaminación de estas con productos de 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.

Con el fin de evitar el riesgo de contaminación, los productos de extracción deben manipularse de manera que se reduzca al mínimo la dispersión hacia el entorno.

Con el fin de evitar la dispersión del producto de PCR hacia el entorno, así como la contaminación de muestras y reactivos, los cartuchos PCR Cassette deben manipularse con cuidado y no deben abrirse nunca.

Advertencias y precauciones específicas para los componentes:

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)
HCV ELITe MGB Mix (HCV PCR Mix)	−20 °C o menos (protegido de la luz)	60 días	máximo cinco	No aplicable
HCV ELITe MGB Mix (RT EnzymeMix)	−20 °C o menos	60 días	máximo diez veces, durante un máximo de diez minutos a una temperatura comprendida entre +2 °C y +8 °C	No aplicable
HCV ELITe Standard (HCV Q-PCR Standard)	−20 °C o menos	60 días	máximo dos	hasta 2 sesiones independientes de 2 horas cada una
HCV ELITe – Positive Control (HCV Positive Control)	−20 °C o menos	60 días	Cuatro como máximo	hasta 4 sesiones independientes de 3 horas cada una
HCV ELITe Internal Control (HCV CPE)	−20 °C o menos	60 días	hasta seis	hasta 6 sesiones independientes de 3 horas cada una

MUESTRAS Y CONTROLES

Muestras

Este producto está concebido para utilizarlo en los instrumentos **ELITe InGenius** y **ELITe BeGenius** con las siguientes muestras clínicas, identificadas y manipuladas conforme a las directrices para laboratorios y obtenidas, transportadas y conservadas en las condiciones que se indican a continuación.

Muestra	Requisitos de obtención	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
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 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 IVD se han validado específicamente con los productos ELITe MGB Kit y los instrumentos **ELITe InGenius** o **ELITe BeGenius** con las matrices indicadas.

Protocolo de ensayo para el producto HCV ELITe MGB Kit				
Muestra	**Instrumento**	**Nombre del Assay Protocol (protocolo de ensayo)**	**Informe**	**Características**
Plasma	**ELITe InGenius**	**HCV ELITe_PL_600_50**	Positivo / copias/mL / IU/mL / Negativo	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 la PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL
	ELITe BeGenius	**HCV ELITe_Be_PL_600_50**	Positivo / UI/mL / copias/mL / Negativo	Volumen inicial de extracción: 600 µL Volumen de elución de extracción: 50 µL Internal Control: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL
Suero	**ELITe InGenius**	**HCV ELITe_Se_600_50**	Positivo / copias/mL / IU/mL / Negativo	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 la PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL
	ELITe BeGenius	**HCV ELITe_Be_Se_600_50**	Positivo / UI/mL / copias/mL / Negativo	Volumen inicial de extracción: 600 µL Volumen de elución de extracción: 50 µL Internal Control: 10 µL Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL

Para todos los protocolos, es preciso verter 600 µL de muestra en el «Extraction Tube» (tubo de extracción), en el caso del ELITe InGenius, o en una probeta Sarstedt de 2 mL, en el caso del ELITe BeGenius.

Nota: el pipeteado de las muestras en el **Extraction Tube** (tubo de extracción) o en la **probeta Sarstedt de 2 mL** puede **desarrollar contaminación**. Así pues, utilizar pipetas apropiadas y seguir todas las recomendaciones indicadas en el apartado «Advertencias y precauciones».

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

Consultar «Sustancias potencialmente interferentes» en la sección «Características de rendimiento» para comprobar los datos relativos a tales sustancias.

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

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

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 producto **HCV ELITe Standard** (incluido con este kit) con los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **HCV ELITe_STD** o **HCV ELITe_Be_STD**.

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 producto **HCV - ELITe Positive Control** incluido con este kit con los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **HCV ELITe_PC** o **HCV ELITe_Be_PC**.
- Para el Negative Control, utilizar agua para biología molecular (no incluida en este kit), junto con los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **HCV ELITe_NC** o **HCV ELITe_Be_NC**.

Nota: El **ELITe InGenius** y el **ELITe BeGenius** 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 servicio o mantenimiento en el **ELITe InGenius** o el **ELITe BeGenius**.

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.

PROCEDIMIENTO CON EL ELITe InGenius

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

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	A) Validación de la curva de calibración
		B) Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
		C) Validación de los resultados de las muestras
		D) Elaboración de los informes de resultados de las muestras

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 (**HCV 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 **HCV 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 (**HCV Positive Control** y **HCV Negative Control**) estén aprobados y sean válidos («Status») para

el lote de mezcla **HCV PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de controles de PCR válidos para el lote de **HCV Q-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 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.

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; 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 Assay Protocol (protocolo de ensayo) disponible en el instrumento y se cargan automáticamente al seleccionar el Assay Protocol (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** 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, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservar en hielo o en el bloque refrigerado.

Nota: conservar la **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 −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 **HCV 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.

Número de muestras (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

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 2 sesiones de 3 horas cada una durante el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión). La mezcla completa de reacción **no puede** conservarse para su reutilización.

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:

	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 de CPE** necesarias 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** el **«Elution Tube»** (tubo de elución) que contiene 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).
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» (Solo PCR) 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 de la columna «Sample Position» (Position 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» (lista de carga) 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 de PCR, 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.

	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)
13	**Cargar** el PCR Cassette, 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 el «Elution Tube» (tubo 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).

	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)
1	**Descongelar** las probetas necesarias de calibrador **Q-PCR Standard** (Cal1: Q-PCR Standard 10^2, Cal2: Q-PCR Standard 10^3, Cal3: Q-PCR Standard 10^4, Cal4: Q-PCR Standard 10^5) 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. **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	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 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 de la columna «Sample Position» (Position de la muestra) sea «Elution Tube (bottom row)» (Tubo de elución [fila inferior])
7	**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 de PCR, 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 de PCR, 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) 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.
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 el **«Elution Tube»** (tubo de elución) debe extraerse del instrumento, taparse, identificarse y conservarse a −20 °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 2 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 su reutilización.

Nota: al finalizar la sesión, 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: 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. Evitar derramar el Positive Control. La parte que queda del Negative Control debe eliminarse.

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

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.

Al finalizar la sesión, aparece automáticamente la pantalla «Results Display» (Presentación de resultados). 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:

A. Validación de la curva de calibración
B. Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
C. Validación de los resultados de las muestras
D. Elaboración de los informes de resultados de las muestras

A. 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) **HCV 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.

B. 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) **HCV ELITe_PC** y **HCV 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»). Para configurar el gráfico de control inicial, se utilizan cuatro resultados aprobados del Positive Control y del Negative Control. Para los controles siguientes, 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 «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.

C. 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.

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.

Resultado de la sesión de la muestra	Interpretación
HCV:RNA Detected, quantity equal to XXX copies/mL or IU/mL (VHC: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 (VHC: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 (VHC: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 (VHC: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 notificadas como «Invalid: Retest Sample» (No válido-Volver a probar muestra) indican que el ARN del Internal Control no ha podido detectarse correctamente, probablemente debido a problemas en los pasos de recogida, extracción, retrotranscriptasa o PCR de la muestra (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 queda un volumen de eluido suficiente, dicho eluido puede volver a analizarse (tal cual o diluido) en 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 la extracción de una nueva muestra utilizando el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR). (consultar la sección «Problemas y soluciones»)

Las muestras que se notifican como «HCV:RNA Not Detected or below “LoD” copies/mL or IU/mL» (VHC: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 dicho ARN esté presente a una concentración inferior al límite de detección del ensayo (consultar la sección «Características de rendimiento»).

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 (VHC:ARN detectado, cantidad por debajo de“LLoQ” copias/mL o UI/mL)»; consultar la sección «Características de rendimiento».

Las muestras positivas para ARN de VHC dentro del rango de medición lineal (consultar «Características de rendimiento») se detectan y notifican como «HCV:RNA Detected, quantity equal to “XXX” copies/mL or IU/mL (VHC: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» (VHC: 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 ventana «Results Display») 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».

D. 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».

PROCEDIMIENTO CON EL ELITe BeGenius

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

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	A) Validación de la curva de calibración
		B) Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
		C) Validación de los resultados de las muestras
		D) Elaboración de los informes de resultados de las muestras

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 (**HCV Q - PCR Standard**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de **HCV PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de calibradores válidos para el lote de mezcla **HCV 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 (**HCV Positive Control** y **HCV Negative Control**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de mezcla **HCV PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de controles de PCR válidos para el lote de **HCV 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 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.

PASO 2. Configuración de la sesión

El producto **HCV ELITe MGB Kit** puede utilizarse con el **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; 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 Assay Protocol (protocolo de ensayo) disponible en el instrumento y se cargan automáticamente al seleccionar el Assay Protocol (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.

<u>Antes de configurar una sesión:</u>

1. Descongelar las probetas necesarias de **HCV 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 la **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 −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 **HCV 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.

Número de muestras (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

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 2 sesiones de 3 horas cada una durante el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión). La mezcla completa de reacción **no puede** conservarse para su reutilización.

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:

	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 preciso verter 600 µL de muestra en una probeta Sarstedt de 2 ML previamente etiquetada (no incluida). Cualquier volumen sobrante se dejará en la probeta Sarstedt de 2 mL utilizando el instrumento ELITe BeGenius. **Descongelar** las **probetas de CPE** necesarias 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.	En caso necesario, **descongelar los «Elution Tube»** (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).
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.
4	Seleccionar el «Run Mode»: «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	Seleccionar el «Run Mode»: «PCR Only» (Solo PCR).
5	Cargar las muestras en el «Sample Rack» (rack de muestras). **Nota:** si se cargan probetas secundarias «2 mL Tube», utilizar los adaptadores azules para el «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). Introducir el ID de la muestra para cada posición utilizada. Si se cargan probetas secundarias, marcar la probeta de 2 mL como «2 mL Tube». 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). 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 eluido)
7	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.

	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)
8	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 600 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 600 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 50 µL.
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.	si se procesan más de 12 muestras, repetir el procedimiento a partir del punto 6.
12	Cargar los **«Elution Tube» (tubos de elución)** en la «Elution Rack» (rejilla de elución); los 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.
15	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	No aplicable.
16	**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).
17	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). 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).	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). 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).
18	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
19	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.
20	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
21	Cargar la **«PCR Rack»** con el **PCR Cassette** en la «Inventory Area» (área del inventario).	Cargar la **«PCR Rack»** con el **PCR Cassette** en la «Inventory Area» (área del inventario).
22	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
23	Cargar la **«Extraction Rack» (rejilla de extracción)** con los cartuchos de extracción ELITe InGenius SP 1000 y los consumibles de extracción necesarios.	No aplicable.
24	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.
25	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).

	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)
1	**Descongelar** las probetas necesarias de calibrador **Q-PCR Standard** (Cal1: Q-PCR Standard 10^2, Cal2: Q-PCR Standard 10^3, Cal3: Q-PCR Standard 10^4, Cal4: Q-PCR Standard 10^5) durante 30 minutos a temperatura ambiente. 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. **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	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 600 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 600 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 50 µL.
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	**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).
12	Insertar la **«Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución)** en el «Lane» 2 (L2) de la «Cooler Unit». 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». 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).
13	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
14	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.
15	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
16	Cargar la «**PCR Rack**» con el **PCR Cassette** en la «Inventory Area» (área del inventario).	Cargar la «**PCR Rack**» con el **PCR Cassette** en la «Inventory Area» (área del inventario).
17	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
18	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.
19	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 el **«Elution Tube»** (tubo de elución) debe extraerse del instrumento, taparse, identificarse y conservarse a −20 °C±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 2 sesiones de 3 horas cada una y durante el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión). Mezclar suavemente y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos antes de iniciar la siguiente sesión. La mezcla completa de reacción **no puede** conservarse para su reutilización.

Nota: Al finalizar la sesión, 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: 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. Evitar derramar el Positive Control. La parte que queda del Negative Control debe eliminarse.

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

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.

Al finalizar la sesión, aparece automáticamente la pantalla «Results Display» (Presentación de resultados). 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:

A. Validación de la curva de calibración
B. Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
C. Validación de los resultados de las muestras
D. Elaboración de los informes de resultados de las muestras

Nota: consultar el mismo apartado del **procedimiento con el ELITe InGenius** para obtener más información.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Límite de detección (LoD)

El límite de detección (LoD) del ensayo se determinó en el instrumento ELITe InGenius, analizando un panel de muestras de plasma recogido en ACD negativas para VHC, que se enriquecieron con material de referencia certificado de VHC (6º Estándar Internacional de la OMS, NIBSC). Se realizó un análisis de regresión Probit en los resultados y el LoD se calculó como la concentración correspondiente al 95 % de probabilidad de un resultado positivo.

Los resultados se muestran en las tablas siguientes.

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 para las muestras de plasma recogido en ACD se calculó aplicando el factor de conversión específico (2,4 UI/copia). La sensibilidad analítica expresada en copias/mL se indica a continuación.

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.

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

La equivalencia de matriz del producto **HCV ELITe MGB Kit** se verificó analizando muestras emparejadas (del mismo donante) de plasma recogido en ACD, plasma recogido en EDTA y 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.

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	

Muestra	N	Positivas	Negativas	NPA	%CV del Ct del VHC	%CV total del Ct del HCV
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 (6º 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.

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

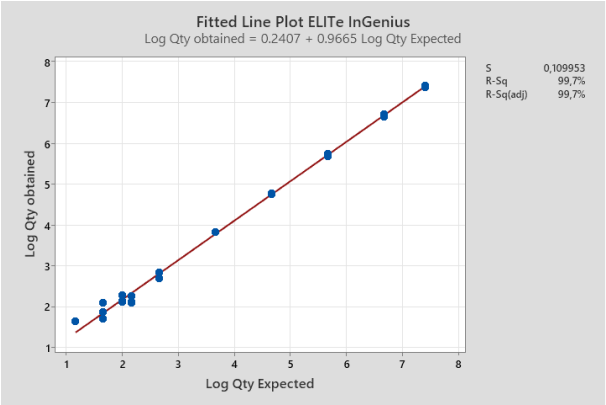
Muestra	N	Positivas	Negativas	PPA	%CV del Ct del VHC	%CV total del Ct del HCV
Plasma recogido en EDTA	30	30	0	100 %	1,84	1,81
Suero	30	30	0		1,77	

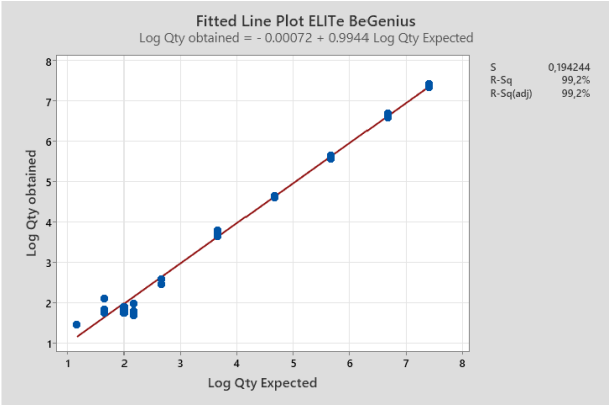
En estos análisis, tanto las 30 muestras emparejadas de plasma recogido en EDTA y plasma recogido en ACD como las 30 muestras emparejadas de plasma recogido en EDTA y de suero presentaron un rendimiento equivalente cuando se analizaron con el producto **HCV ELITe MGB® Kit** utilizando el ELITe InGenius.

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

Rango de medición lineal

El rango de medición lineal del ensayo se determinó analizando muestras de plasma en e 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.





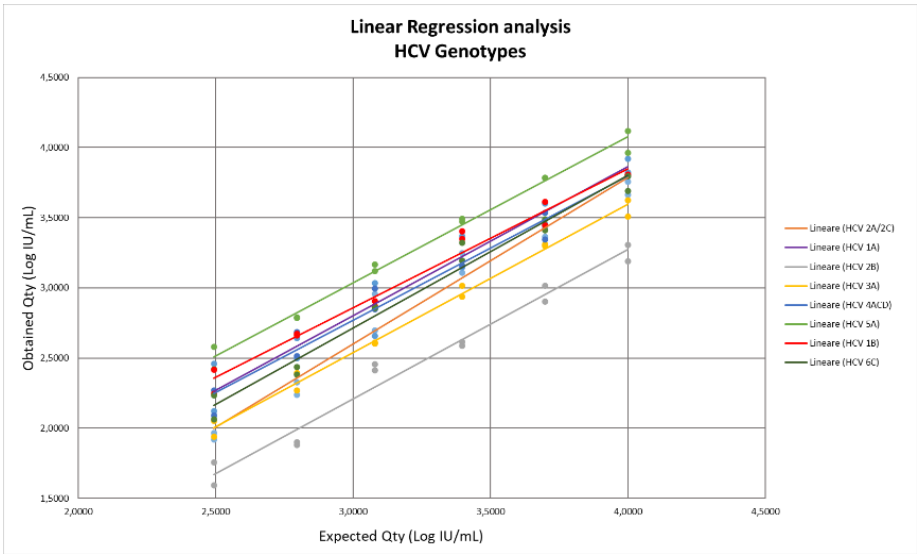
El rango de medición lineal expresado en copias/mL para plasma recogido en EDTA se calculó aplicando el factor de conversión específico que se indica en el apartado siguiente.

Los resultados finales se resumen en la tabla siguiente.

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).

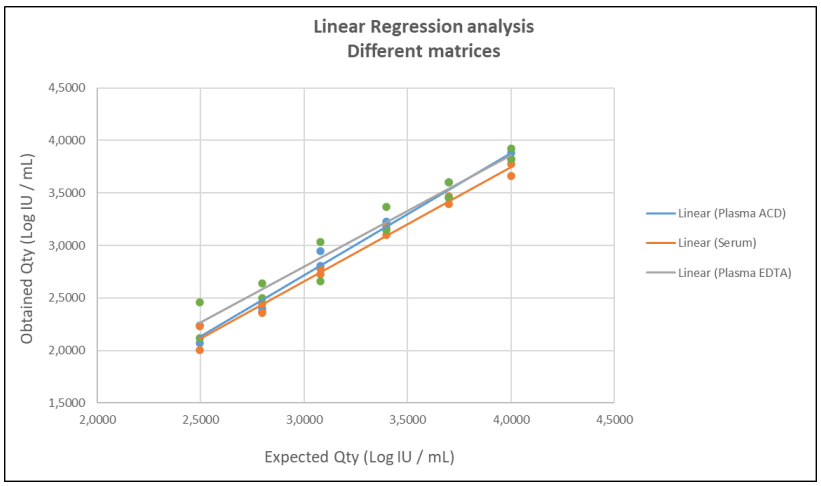
Los resultados se muestran en la siguiente figura.



La linealidad del ensayo se confirmó para los principales genotipos del 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 ±0,5 log UI/mL, con la excepción del genotipo 2B del 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 (6ª norma internacional de la OMS, NIBSC).

Los resultados se muestran en la siguiente figura.



La linealidad del ensayo se verificó para 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 ±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.

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.

Niveles de la curva de calibración	Teóricos	DE	Incertidumbre combinada ampliada
	Log copias/reacción		
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	

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 demostró la conservación de la secuencia y la ausencia de mutaciones significativas. Así, se espera 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, AccuTrack, Qnostics) a una concentración de 3 veces el LoD.

Los resultados se muestran en las tablas siguientes.

AccuTrak HCV RNA Genotype Performance Panel (SeraCare)		
ID de la muestra	**Pos./Dup.**	**Resultado**
VHC 1a	3/3	HCV detectada
VHC 1b	3/3	HCV detectada
VHC 2a/2c	3/3	HCV detectada
VHC 2b	3/3	HCV detectada
VHC 3a	3/3	HCV detectada
DHCV 4acd	3/3	HCV detectada
VHC 5a	3/3	HCV detectada
VHC 6c	3/3	HCV detectada
HCV Genotype Evaluation Panel (Qnostics)		
ID de la muestra	**Pos./Dup.**	**Resultado**
VHC 1a	3/3	HCV detectada
VHC 1b	3/3	HCV detectada
VHC 2b	3/3	HCV detectada
VHC 3a	3/3	HCV detectada
VHC 4a	3/3	HCV detectada
VHC 5a	3/3	HCV detectada
VHC 6a	3/3	HCV detectada
Material de referencia no de la OMS, 4º panel de genotipos de ARN de VHC (NIBSC)		
ID de la muestra	**Pos./Dup.**	**Resultado**
VHC 1a	3/3	HCV detectada
VHC 1b	3/3	HCV detectada
VHC 2i	3/3	HCV detectada
VHC 3a	3/3	HCV detectada
VHC 4r	3/3	HCV detectada
VHC 5a	3/3	HCV detectada
VHC 6l	3/3	HCV detectada

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

Marcadores potencialmente interferentes: reactividad cruzada

La reactividad cruzada potencial de los microorganismos imprevistos que pueden encontrarse en muestras clínicas se evaluó para el ensayo mediante un análisis informático. El análisis no presentó ninguna homología reseñable con otros microorganismos imprevistos (virus, bacterias, protozoos y hongos) y, por lo tanto, no cabe esperar reactividad cruzada.

La ausencia de reactividad cruzada con otros microorganismos también se verificó analizando un panel de microorganismos imprevistos (ATCC, NIBSC y ZeptoMetrix) a un título alto.
Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

ID de la muestra	Pos./Dup.	Resultado
HIV1	0/3	Sin reactividad cruzada
HIV2	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
VHH6	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

ID de la muestra	Pos./Dup.	Resultado
WNV	0/12	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
Candida albicans	0/3	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**.

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.

ID de la muestra	Pos./Dup. de VHC	Resultado
HIV1	3/3	Sin interferencia
HIV2	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
VHH6	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
Staphylococcus aureus	3/3	Sin interferencia
Candida albicans	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**.

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.

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

Muestra	Pos./Dup. de VHC	Resultado
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.

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 «falso negativo» en la mayoría de los casos.

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 (Zeptometrix) a un título alto.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Muestras	N	Positivas	Negativas
Plasma recogido en ACD enriquecido a 1×10^6 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.

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 (6º 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.

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 %

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 %.

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, inclusive una muestra negativa y dos muestras enriquecidas con material de referencia certificado de VHC (6º Estándar Internacional de la OMS, NIBSC).

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

Repetibilidad dentro de las sesiones en el ELITe InGenius (día 1)								
Muestra	N	VHC				Internal Control		
		Ct medio	Ct medio	Ct medio	% de concordancia	Ct medio	DE	%CV
Negativas	8	-	-	-	100 %	27,43	0,21	0,78
3×LoD	8	37,28	0,34	0,92	100 %			
10×LoD	8	35,37	0,43	1,23	100 %			

Repetibilidad dentro de las sesiones en el ELITe BeGenius (día 1)								
Muestra	N	VHC				Internal Control		
		Ct medio	Ct medio	Ct medio	% de concordancia	Ct medio	DE	%CV
Negativas	8	-	-	-	100 %	27,87	0,30	1,08
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).

Repetibilidad entre sesiones en el ELITe InGenius (día 1 + día 2)								
Muestra	N	VHC				Internal Control		
		Ct medio	Ct medio	Ct medio	% de concordancia	Ct medio	DE	%CV
Negativas	16	-	-	-	100 %	27,41	0,18	0,66
3×LoD	16	37,37	0,67	1,78	100 %			
10×LoD	16	35,40	0,43	1,22	100 %			

Repetibilidad entre sesiones en el ELITe BeGenius (día 1 + día 2)								
Muestra	N	VHC				Internal Control		
		Ct medio	Ct medio	Ct medio	% de concordancia	Ct medio	DE	%CV
Negativas	16	-	-	-	100 %	27,89	0,31	1,10
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 correctamente la diana y presentó una variación máxima de los valores de Ct de la diana como un %CV del 3,05 %.

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 (6º Estándar Internacional de la OMS, NIBSC).

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

Reproducibilidad entre centros en el ELITe InGenius								
Muestra	VHC					Internal Control		
	N	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia	Media de Ct del IC	DE de Ct del IC	%CV de Ct del IC
Negativas	24	Sin determinar	-	-	100 %	28,15	0,58	2,06
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 (6º Estándar Internacional de la OMS, NIBSC).

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

Reproducibilidad entre instrumentos en el ELITe InGenius								
Muestra	VHC					Internal Control		
	N	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia	Ct medio	DE	%CV
Negativas	24	Sin determinar	-	-	100 %	27,69	0,34	1,24
3×LoD	24	37,03	0,53	1,44	100 %			
10×LoD	24	33,97	0,38	1,11	100 %			

Reproducibilidad entre instrumentos en el ELITe BeGenius								
Muestra	VHC					Internal Control		
	N	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia	Ct medio	DE	%CV
Negativas	24	Sin determinar	-	-	100 %	28,52	0,61	2,13
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).

Reproducibilidad entre lotes en el ELITe InGenius								
Muestra	VHC					Internal Control		
	N	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia	Ct medio	DE	%CV
Negativas	48	Sin determinar	-	-	100 %	27,70	0,33	1,20
3×LoD	48	37,32	0,64	1,72	100 %			
10×LoD	48	35,44	0,38	1,07	100 %			

Reproducibilidad entre lotes en el ELITe BeGenius								
Muestra	VHC					Internal Control		
	N	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia	Ct medio	DE	%CV
Negativas	48	Sin determinar	-	-	100 %	28,20	0,40	1,41
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 correctamente todas las muestras tal como se esperaba y presentó una variación máxima de los valores de Ct de la diana como un %CV del 1,88 %.

Factor de conversión a unidades internacionales

El factor de conversión utilizado para notificar los resultados cuantitativos en unidades/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 se conversión se determinó en 2,4 UI/copia.

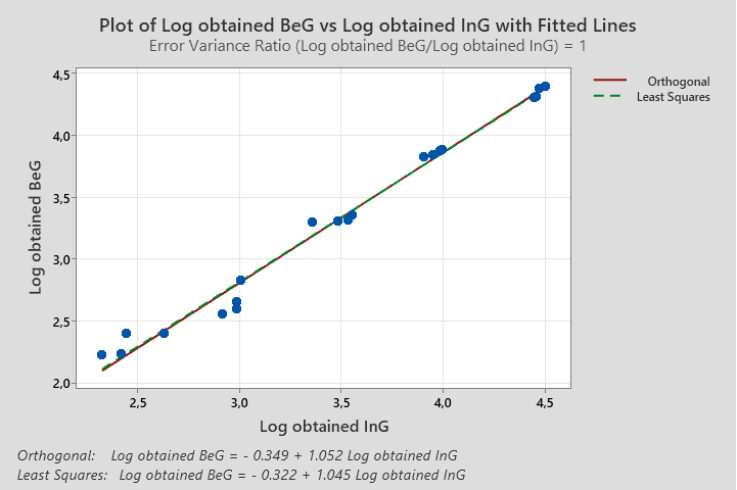
En la tabla siguiente se muestra un resumen de los resultados.

Factor de conversión a unidades internacionales, Fc = 2,4 UI/copia						
Muestra			Resultado			Diferencia logarítmica (referencia - prueba)
UI/mL	log UI/mL	N	Media de copias/mL	Media de UI/mL	Media de log UI/mL	
31.623	4,5000	27	13.233	31.254	4,4807	+0,0193
10000	4,0000	27	4.482	10.595	4,0133	+0,0133
3162	3,5000	27	1414	3.342	3,5091	-0,0091
1000	3,0000	27	439	1036	2,9969	+0,0031

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 para notificar los resultados cuantitativos en unidades internacionales/mL a partir de copias/mL se verificó en los instrumentos **ELITe BeGenius** y el **ELITe InGenius** utilizando material de referencia calibrado y certificado (6º Estándar Internacional de la OMS, NIBSC).

Los resultados obtenidos se analizaron mediante un análisis de regresión ortogonal y lineal con el fin de calcular la relación entre los métodos.

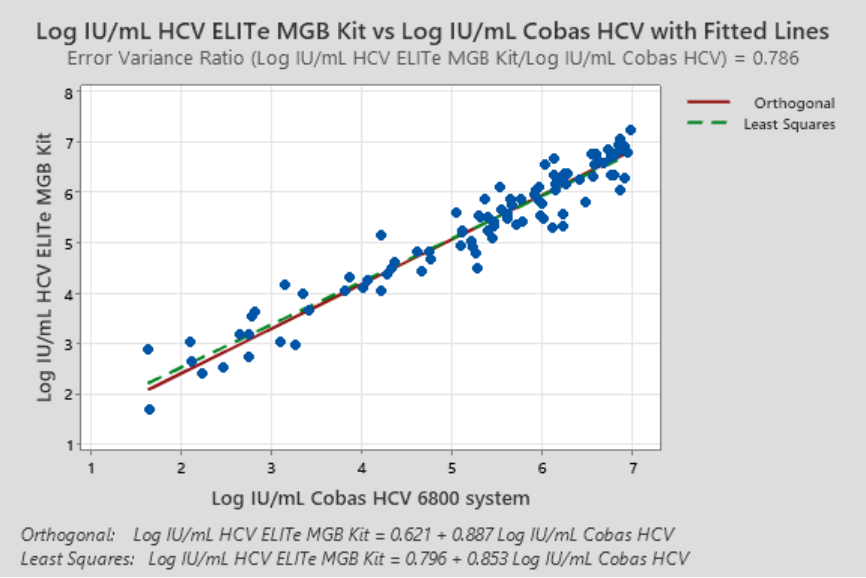


El análisis de regresión ortogonal generó una intersección de −0,3494 (IC del 95 %: −0,5546; −0,1442) y una pendiente de 1,0523 (IC del 95 %: 0,9943; 1,1103). El análisis de regresión lineal generó un valor de R^2 de 0,985.

Sensibilidad diagnóstica: correlación de 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 MBG 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 MBG 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.

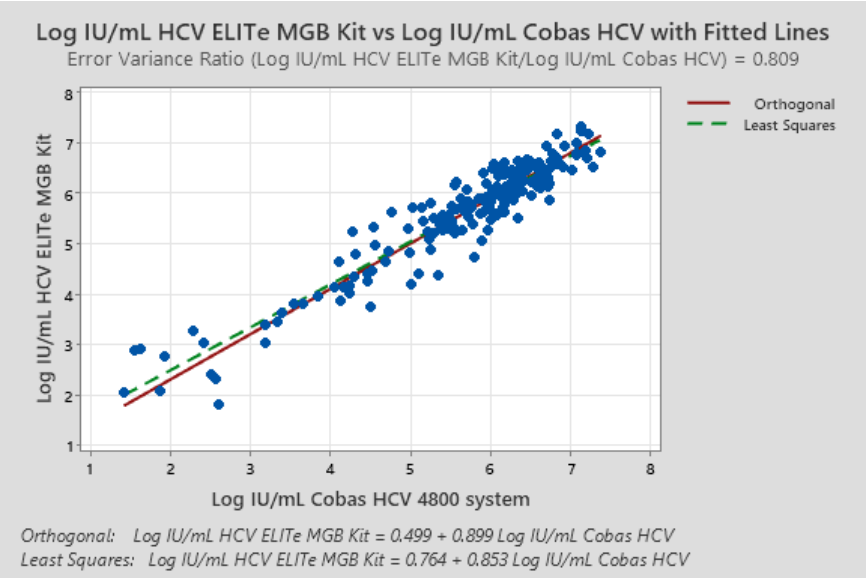


En esta prueba, el análisis de regresión de Deming generó una pendiente de 0,887 (IC del 95 %: 0,836; 0,938) y una intersección de 0,621 (IC 95 %: 0,345; 0,896). El análisis de regresión lineal generó un valor de R^2 de 0,926.

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.

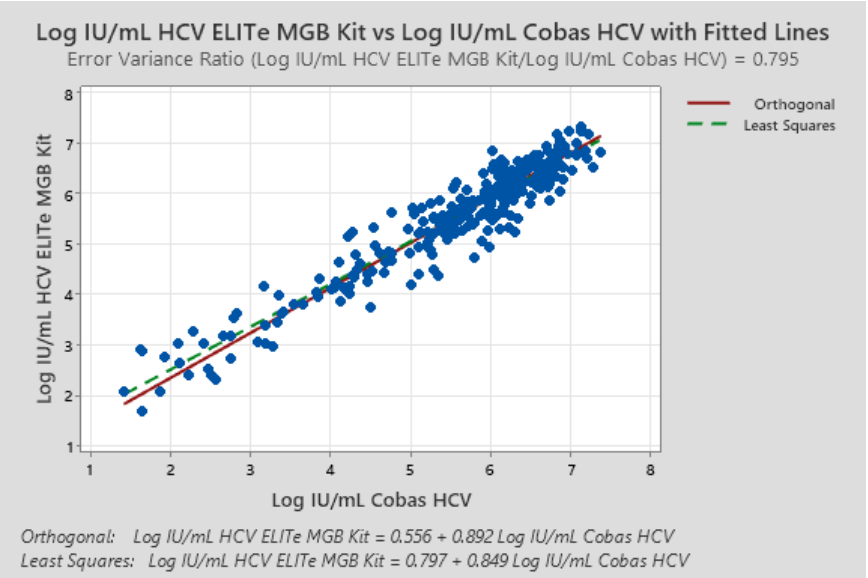
Los resultados se resumen en la figura siguiente.



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 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-1 for use on the 4800 System» y «cobas HCV for use on the 6800 System», de Roche Diagnostics) tienen rendimientos equivalentes, el estudio de relación se realizó también en los resultados combinados de los tres centros distintos.

Los resultados se resumen en la figura siguiente.



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 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**.

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.

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 rendimientos equivalentes.

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 %

Cinco muestras dieron resultados positivos diferentes del resto a títulos bajos (4 de 5 muestras con títulos por debajo del LoD del producto **HCV ELITe MBG Kit** y de los métodos de referencia), que pueden generar resultados positivos de manera aleatoria.

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**.

Nota: los datos y resultados completos de las pruebas realizadas para evaluar las características de rendimiento del producto con las matrices y los instrumentos se incluyen en la documentación técnica del producto **HCV ELITe MGB® Kit**, FTP601ING.

BIBLIOGRAFÍA

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

K. Linnet *et al.* (2004) *Clin. Chem.* 50: 732-740.

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 análisis 3000572).

https://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.

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.

El producto tampoco está concebido como prueba de diagnóstico para confirmar la presencia de una infección por el VHC.

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 controles positivos y los propios 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 de la sesión de trabajo 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 el ARN de la diana no se ha detectado en el ARN extraído de la muestra, si bien no puede descartarse que el ARN de la diana presente un título inferior al límite de detección del producto (consultar la sección «Características de rendimiento»). En este caso, el resultado puede ser un falso negativo.

En ocasiones, los resultados obtenidos con este producto pueden ser no válidos debido a un error del Internal Control. En este caso, la muestra debe volver a analizarse, comenzando por la extracción, lo

que puede implicar retrasos en la obtención de los resultados finales.

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.

PROBLEMAS Y SOLUCIONES

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.

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.

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.

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.

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 importante en el gráfico de la PCR, 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 («Track») 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).

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. Volver a preparar la mezcla completa de reacción o utilizar una nueva alícuota de CPE.

SÍMBOLOS

REF	Número de catálogo.
	Límite superior de temperatura.
LOT	Código de lote.
	Fecha de caducidad (último día del mes).
IVD	Producto sanitario para diagnóstico *in vitro.*
CE 0123	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.
UDI	Identificador único del producto
Σ	Contenido suficiente para «N» análisis.
	Consultar las instrucciones de uso
CONT	Contenido.
	Manténgase fuera de la luz del sol
	Fabricante.

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. En el momento de la revisión actual de las instrucciones de uso, no se había producido ningún incidente grave ni ninguna retirada relacionada con el rendimiento del producto o la seguridad del dispositivo.

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.

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 ThermoFisher Scientific. Correo electrónico: outlicensing@thermofisher.com.

Los reactivos de detección ELITe® MGB están cubiertos por una o varias patentes de EE. UU., 7319022, 7348146, 7381818, 7541454, 7671218, 7718374, 7723038, 7759126, 7767834, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529, así como por las patentes europeas 1687609, 1781675, 1789587, 2689031, 2714939, 2736916, 2997161 y por solicitudes de patentes pendientes en la actualidad.

Las tecnologías ELITe InGenius® y ELITe BeGenius® 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 licenciatarios conceden ninguna otra licencia, ni expresa ni implícita, para ningún otro propósito.

cobas® es una marca comercial registrada de Roche Diagnostics.

MGB®, Eclipse Dark Quencher®, AquaPhluor®, ELITe MGB®, el logotipo de ELITe MGB®, ELITe InGenius® y ELITe BeGenius® son marcas registradas de ELITechGroup en la Unión Europea.

HCV ELITe MGB® Kit utilizado con las plataformas de la serie Genius®

Atención: este documento es una versión simplificada de las instrucciones de uso oficiales.
Consulte el documento completo 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® y ELITe BeGenius®, 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.

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 no está concebido para su uso como prueba de cribado para detectar la presencia del VHC en la sangre o en hemoderivados, ni tampoco como prueba diagnóstica para confirmar la presencia de una infección por el VHC.

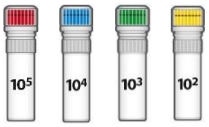
Secuencia amplificada

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

Matrices validadas

- **Plasma recogido en EDTA frente a plasma recogido en ACD**
- **Suero**

Contenido del kit

HCV ELITe MGB Mix		HCV ELITe Standard	HCV - ELITe Positive Control	Internal Control de VHC
X 4	X 2	 X 1	X 2	X 8
HCV PCR Mix 4 probetas de 600 µL 24 reacciones por probeta 96 reacciones por kit 5 ciclos de congelación/descongelación	RT EnzymeMix 2 probetas de 20 µL 48 reacciones por probeta, 96 reacciones por kit 10 ciclos de congelación/descongelación	Calibradores listos para el uso: 4 niveles 1 conjuntos de 4 probetas de 160 µL 2 reacciones por probeta 2 reacciones por kit 2 ciclos de congelación/descongelación	Positive Control listo para el uso 2 probetas de 160 µL 4 reacciones por probeta 8 reacciones por kit 4 ciclos de congelación/descongelación	Internal Control listo para el uso 8 probetas de 160 µL 12 extracciones por probeta 96 extracciones por kit 6 ciclos de congelación/descongelación

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
- PCR Cassette del ELITe InGenius: INT035PCR
- Kit de consumibles ELITe InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS
- ELITe InGenius Waste Box: F2102-000
- 300 µL Filter Tips Axigen: TF-350-L-R-S (solo ELITe InGenius)
- 1000 µL Filter Tips Tecan: 30180118 (solo ELITe BeGenius)

Protocolo para el ELITe InGenius y el ELITe BeGenius

Volumen de la muestra	600 µL
Volumen del CPE de VHC	10 µL
Volumen total de elución:	50 µL

Unidad del resultado cuantitativo	Unidad internacional: UI/mL Copias: copias/mL 2,4 UI/copia

› Volumen inicial de elución para PCR	20 µL	› Factor de conversión a UI	15 días
› Volumen de la mezcla completa «PCR Mix»	20 µL	› Frecuencia de los controles	60 días
		› Frecuencia de la calibración	

Rendimiento del ELITe InGenius y del ELITe BeGenius

Matriz	Límite de detección	Sensibilidad diagnóstica: Método para evaluar la relación	Especificidad diagnóstica
Plasma/Suero	**26 UI/mL** 11 copias/mL	**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 el instrumento **ELITe InGenius** y el **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**
Plasma recogido en EDTA	≤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 Software guía al usuario paso a paso durante la configuración de la sesión. Todos los pasos, a saber, la extracción, la retrotranscriptasa, 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 **CTRCPE**. Agitar suavemente en un vórtex. Centrifugar durante 5 segundos. Mantener la mezcla **RT EnzymeMix** en hielo o en el bloque refrigerado.

4. Preparar la mezcla de reacción completa tal como se indica a continuación.

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

5. Agitar suavemente en un vórtex. Centrifugar durante 5 segundos. Mantener la mezcla de reacción completa en hielo o en el bloque refrigerado. No exponer el producto a la luz directa.

Procedimiento 1. Serie completa: «Extract + PCR» (Extracción + PCR); p. ej., muestras

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 el PCR Cassette, el cartucho de extracción, el «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» (Solo PCR); p. ej., eluidos, calibradores, controles

1 a 4: Seguir el Procedimiento 1 que se ha descrito antes; seleccione los Assay Protocols (protocolos de ensayo). HCV ELITe_PC y HCV ELITe_NC o HCV ELITe_STD)	**5.** Seleccionar el método «PCR Only» (Solo PCR) y establecer la posición de la muestra «Elution Tube» (Tubo de elución).	**6.** Cargar la mezcla completa de reacción en el «Inventory Block» (administrador de inventarios).
7. Cargar el PCR Cassette y la gradilla de «Elution tubes» (probetas de elución) con los ácidos nucleicos extraídos, los calibradores y los controles.	**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 Software 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 **CTRCPE**. Agitar suavemente en un vórtex. Centrifugar durante 5 segundos. Mantener la mezcla **RT EnzymeMix** en hielo o en el bloque refrigerado.

4. Preparar la mezcla de reacción completa tal como se indica a continuación.

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

5. Agitar suavemente en un vórtex. Centrifugar durante 5 segundos. Mantener la mezcla de reacción completa en hielo o en el bloque refrigerado. No exponer el producto a la luz directa.

Procedimiento 1. Serie completa: **«Extract + PCR» (Extracción + PCR); p. ej., muestras**

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 el «Sample Rack» (Rack de muestras) con las muestras dotadas de códigos de barras en la «Cooling Unit». 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 **Nota:** si es necesario llevar a cabo una segunda extracción, repetir los pasos del 2 al 4.	**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 la «Cooler Unit».	**6.** Cargar la mezcla completa de reacción y el **CPE** en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) e insertarla en la «Cooler Unit».
7. Cargar el «PCR Rack» (rack de PCR) y la «Extraction Rack» (rejilla de extracción) con los cartuchos de extracción «ELITe InGenius SP 1000» y los consumibles de extracción necesarios.	**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.

(Solo PCR) Procedimiento 2. **«**PCR Only**»;** p. ej., eluidos, calibradores, controles

1. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil y, a continuación, hacer clic en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).	**2.** Cargar el ácido nucleico extraído o las probetas con códigos de barras de los controles y los calibradores en la «Elution Rack» (rejilla de elución) e insertarla en la «Cooler Unit».	**3.** Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «600 µL», «Eluate» (Eluido): «50 µL»
4. Seleccionar el «Assay Protocol» (protocolo de ensayo) deseado (HCV ELITe_Be_PC y HCV ELITe_Be_NC o HCV ELITe_Be_STD)	**5.** Cargar la mezcla completa de reacción en la «Reagent Rack» (gradilla de reactivos) e insertarla en la «Cooler Unit».	**6.** Cargar la «PCR Rack» con el «PCR Cassette».
7. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	**8.** Consultar, aprobar y almacenar los resultados.	