



NOTICE of CHANGE dated 16/06/2025

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«HIV1 ELITe MGB[®] Kit» Ref. RTK600ING

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

- *Update for compliance with the Regulation (EU) 2017/746 on in vitro diagnostic medical devices (IVDR) requirements.*
- *Updated data have been added in PERFORMANCE CHARACTERISTICS paragraph.*

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

PLEASE NOTE

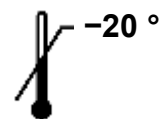
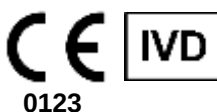
The product batches identified by the following LOT numbers are still placed on the market as per IVDD till to their expiration dates, according to Article 110 of IVDR. If you have those product batches, please contact ELITechGroup staff to request the related previous revision of IFUs.

PRODUCT REF.	Lot Number	Expiry date
RTK600ING	C0724-001	31/10/2025
RTK600ING	C0125-008	31/08/2026

HIV1 ELITe MGB® Kit

Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTK600ING



UDI 08033891487126

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 12
CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO	página 16
BIBLIOGRAFÍA	página 26
LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO	página 27
PROBLEMAS Y SOLUCIONES	página 28
SÍMBOLOS	página 31
NOTA PARA LOS USUARIOS	Página 31
AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA	página 32
ANEXO: GUÍA RÁPIDA	página A

USO PREVISTO

El producto **HIV1 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 inmunodeficiencia humana de tipo 1 (VIH-1) 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.

El producto está concebido para utilizarlo como ayuda en el tratamiento de personas infectadas por el VIH-1 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 VIH-1.

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 VIH-1 aislado de muestras, sometido a retrotranscriptasa y amplificado a continuación utilizando una mezcla completa de reacción que contiene cebadores y sondas con las tecnologías ELITE MGB® y TaqMan®.

Las sondas ELITE MGB y TaqMan 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 VIH-1 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

El producto **HIV1 ELITE MGB Kit** incluye los siguientes componentes:

- **HIV1 ELITE MGB Mix**

Este componente incluye los dos subcomponentes siguientes:

- **HIV1 PCR Mix**, una mezcla de PCR optimizada y estabilizada que contiene los siguientes componentes:
 - cebadores y sondas específicos para **VIH-1**, gen de la polimerasa (región de la integrasa), detectados en el canal **HIV1**; la sonda se estabiliza con la tecnología MGB®, se inactivan mediante el Eclipse Dark Quencher® y se marcan 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 **HIV1 ELITE MGB Mix** contiene suficientes reactivos para realizar **96 análisis** en el **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius** cuando se utilizan 20 µL de **HIV1 PCR Mix** y 0,3 µL de **RT EnzymeMix** en cada reacción.

- **HIV1 ELITE Standard**

Este componente incluye los subcomponentes **HIV1 Q-PCR Standard**, que son cuatro soluciones estabilizadas de ADN plasmídico con la región amplificada del gen de la polimerasa de VIH-1 a un **título conocido**. El componente **HIV1 ELITE Standard** debe utilizarse con el producto **HIV1 ELITE MGB Mix** en los instrumentos **ELITE InGenius** and **ELITE BeGenius** con el fin de calcular la curva de calibración del sistema (lote de producto e instrumento) para la cuantificación de VIH-1.

La concentración de ADN plasmídico se determinó en copias/mL con un espectrofotómetro UV y, después, dicha concentración se relacionó con el «4º Estándar internacional de la OMS para VIH-1» (NIBSC, Reino Unido, código 16/194), aplicando un factor de conversión que permitió realizar una cuantificación de VIH-1 en unidades internacionales/mL (UI/mL).

El producto **HIV1 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.

- **HIV1 - ELITE Positive Control**

Este componente contiene el subcomponente **HIV1 Positive Control**, una solución estabilizada de ADN plasmídico con la región amplificada del gen de la polimerasa de VIH-1 a un **título conocido**. El

HIV1 ELITE MGB® Kit

Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTK600ING

producto **HIV1 Positive Control** debe utilizarse con la mezcla **HIV1 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 **HIV1 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.

- HIV1 Internal Control**

Este componente incluye el subcomponente **HIV1 CPE** (Internal Control exógeno), una solución estabilizada de ARN genómico del bacteriófago MS2. El **HIV1 CPE** se añade a los reactivos de extracción para validar los resultados de las muestras negativas para VIH-1.

El componente **HIV1 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 **HIV1 ELITE MGB Kit** también puede utilizarse con instrumentos equivalentes.

MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

Componente	Subcomponente	Descripción	Cantidad	Clasificación de peligros
HIV1 ELITE MGB Mix ref. RTS600ING	HIV1 PCR Mix ref. RTS600ING	Mezcla de reactivos para retrotranscriptasa y PCR en tiempo real en una probeta con tapón blanco	4 × 600 µL	-
	RT EnzymeMix ref. RTS003-RT	Enzimas de retrotranscriptasa en una probeta con tapón con inserto negro	2 × 20 µL	-
HIV1 ELITE Standard ref. STD600ING	HIV1 Q-PCR Standard 10 ⁵ ref. STD600ING-5	Solución plasmídica en probeta con tapón rojo	1 × 160 µL	-
	HIV1 Q-PCR Standard 10 ⁴ ref. STD600ING-4	Solución plasmídica en probeta con tapón azul	1 × 160 µL	
	HIV1 Q-PCR Standard 10 ³ ref. STD600ING-3	Solución plasmídica en probeta con tapón verde	1 × 160 µL	
	HIV1 Q-PCR Standard 10 ² ref. STD600ING-2	Solución plasmídica en probeta con tapón amarillo	1 × 160 µL	
HIV1 - ELITE Positive Control ref. CTR600ING	HIV1 Positive Control ref. CTR600ING	Solución plasmídica en probeta con tapón negro	2 × 160 µL	-
HIV1 Internal Control ref. CPE600ING	HIV1 CPE ref. CPE600ING	Solución de ADN plasmídicos y ARN genómico del MS2 en probeta con tapón neutro	8 × 160 µL	-

Nota: las concentraciones de los cuatro calibradores **Q – PCR Standard** se expresan en copias/reacción (10⁵ copias/reacción, 10⁴ copias/reacción, 10³ copias/reacción y 10² 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.

HIV1 ELITE MGB® Kit**Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real****REF RTK600ING****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 productos que se indican a continuación.

Instrumentos y software	Productos y reactivos
ELITE InGenius (ELITechGroup S.p.A.,EG SpA, ref. INT030) ELITE InGenius Software , versión 1.3.0.17 (o posterior) HIV1 ELITE STD , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de los calibradores HIV1 ELITE PC , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control HIV1 ELITE NC , Assay Protocol (protocolo de ensayo) para el análisis del Negative Control HIV1 ELITE PL_600_50 , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de plasma	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) HIV1 ELITE Be STD , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de los calibradores HIV1 ELITE Be PC , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control. HIV1 ELITE Be NC , Assay Protocol (protocolo de ensayo) para el análisis del Negative Control HIV1 ELITE Be PL_600_50 , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de plasma	

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.

HIV1 ELITE MGB® Kit**Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real****REF** RTK600ING

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)
HIV1 ELITE MGB Mix (HIV1 PCR Mix)	-20 °C o menos (protegido de la luz)	60 días	máximo cinco	No aplicable
HIV1 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
HIV1 ELITE Standard (HIV1 Q-PCR Standard)	-20 °C o menos	60 días	máximo dos	hasta 2 sesiones independientes de 2 horas cada una
HIV1 - ELITE Positive Control (HIV1 Positive Control)	-20 °C o menos	60 días	Cuatro como máximo	hasta 4 sesiones independientes de 3 horas cada una
HIV1 Internal Control (HIV1 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.

HIV1 ELITE MGB® Kit**Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real****REF RTK600ING**

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	≤2 días	≤3 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 la matriz indicada.

Protocolos de ensayo para el producto HIV1 ELITE MGB Kit				
Muestra	Instrumento	Nombre del Assay Protocol (protocolo de ensayo)	Informe	Características
Plasma	ELITE InGenius	HIV1 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
Plasma	ELITE BeGenius	HIV1 ELITE_Be_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 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.

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 **HIV1 ELITE Standard**, incluido con este kit, junto con los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **HIV1 ELITE_STD** o **HIV1 ELITE_Be_STD**.

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

HIV1 ELITE MGB® Kit

Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTK600ING

- Para el Positive Control, utilizar el producto **HIV1 - ELITE Positive Control**, incluido con este kit, junto con los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **HIV1 ELITE_PC** o **HIV1 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) **HIV1 ELITE_NC** o **HIV1 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 **HIV1 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 página «Home» (Inicio), verificar que los calibradores (**HIV1 Q - PCR Standard**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de **HIV1 PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de calibradores válidos para el lote de mezcla **HIV1 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 (**HIV1 Positive Control** y **HIV1 Negative Control**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de **HIV1 PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de controles de PCR válidos para el lote de **HIV1 PCR Mix**, procesar los controles de 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 **HIV1 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 **HIV1 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 **HIV1 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)	HIV1 PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 12$	290 μL	4,4 μL

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:

HIV1 ELITE MGB® Kit

Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTK600ING

	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 en la columna «Sample Position» (Posición de la muestra) sea «Elution Tube (bottom row)» (Tubo de elución [fila inferior]). Asegurarse de que la opción «Dilution factor» (Factor de dilución) esté configurada a «1,7».
8	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
9	Cargar el CPE y la mezcla completa de reacción en el «Inventory Block» (administrador de inventarios) en función de la «Load List» (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.
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 en la columna «Sample Position» (Posición 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 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 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. Evite 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 **HIV1 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) **HIV1 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) **HIV1 ELITE_PC** y **HIV1 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» aparece el mensaje «Failed». 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 **HIV1**) y para el Internal Control (canal **IC**) con los parámetros del Assay Protocol (protocolo de ensayo) **HIV1 ELITE_PL_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
HIV1 Q-PCR Standard	APROBADO
2) Positive Control	Estado
HIV1 Positive Control	APROBADO
3) Negative Control	Estado
HIV1 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
HIV1:RNA Detected, quantity equal to "XXX" copies / mL or IU / mL (VIH-1:ARN detectado, cantidad igual a "XXX" copias/mL o UI/mL)	Se ha detectado ARN de VIH-1 en la muestra dentro del rango de medición del ensayo y se indica su concentración.
HIV1:RNA Detected, quantity below "LLoQ" copies / mL or IU / mL (VIH-1:ARN detectado, cantidad por debajo de "LLoQ" copias/mL o UI/mL)	Se ha detectado ARN de VIH-1 en la muestra, pero su concentración se encuentra por debajo del límite inferior de cuantificación del ensayo.
HIV1:RNA Detected, quantity beyond "ULoQ" copies / mL or IU / mL (VIH-1:ARN detectado, cantidad mas alta de "ULoQ" copias/mL)	Se ha detectado ARN de VIH-1 en la muestra, pero su concentración se encuentra por encima del límite superior de cuantificación del ensayo.
HIV1:RNA Not detected or below the "LoD" copies / mL or IU / mL (VIH-1:ARN no detectado o por debajo de "LoD" copias/mL o UI/mL)	No se ha detectado ARN de VIH-1 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 «HIV1:RNA Not Detected or below "LoD" copies/mL or IU/mL» (VIH-1:ADN no detectado o por debajo de "LoD" copias/mL o UI/mL) son aptas para el análisis, pero no ha sido posible detectar ARN de VIH-1. En este caso, puede que la muestra sea negativa para ARN de VIH-1, o que el ARN de VIH-1 presente una concentración inferior al límite de detección del ensayo (consultar la sección «Características de rendimiento»).

Si se detectan muestras positivas para ARN de VIH-1 a una concentración inferior al límite de

detección (y al límite inferior de cuantificación) del ensayo, estas se notifican como «HIV1: RNA Detected, quantity below “LLOQ” copies/mL or IU / mL» (VIH-1:ARN detectado, cantidad por debajo de “LLOQ” copias/mL o UI/mL); consultar la sección «Características de rendimiento».

Las muestras positivas para ADN de VIH-1 dentro del rango de medición lineal (consultar «Características de rendimiento») se detectan y notifican como «HIV1: RNA Detected, quantity equal to “XXX” copies / mL» (VIH-1: ARN detectado, cantidad igual a «XXX» copias/mL o UI/mL).

Las muestras positivas para ADN de VIH-1 que se encuentran por encima del límite superior de cuantificación se notifican como «HIV1: RNA Detected, quantity beyond “ULOQ” copies/mL or IU / mL» (VIH-1: ARN detectado, cantidad más alta de «ULOQ» o UI/mL) y no son aptas para la cuantificación. En caso necesario, es posible diluir la muestra antes de la extracción o de la PCR y volver a analizarla para obtener resultados dentro del rango de medición lineal del ensayo.

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

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

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 **HIV1 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 de 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 página «Home» (Inicio), verificar que los calibradores (**HIV1 Q - PCR Standard**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de **HIV1 PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de calibradores válidos para el lote de mezcla **HIV1 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 la PCR (**HIV1 - Positive Control** y **HIV1 Negative Control**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de **HIV1 PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de controles de PCR válidos para

el lote de **HIV1 PCR Mix**, procesar los controles de 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 **HIV1 ELITE MGB Kit** puede utilizarse con el **ELITE BeGenius** para realizar las siguientes tareas:

- Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)
- Sesión con la muestra eluida; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
- Sesión de calibración; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
- 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.

Antes de configurar una sesión:

1. Descongelar las probetas necesarias de **HIV 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 **HIV1 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)	HIV1 PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 12$	290 μL	4,4 μL
$13 \leq N \leq 18$	$(N + 3) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 3) \times 0,3 \mu\text{L}$
$19 \leq N \leq 23$	$(N + 4) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 4) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 24$	580 μL	8,7 μL

5. Preparar la **mezcla completa de reacción** vertiendo los volúmenes calculados de los dos componentes en la probeta de 2 mL etiquetada. Mezclar mediante vórtex a baja velocidad tres

veces durante 10 segundos, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservar en hielo o en el bloque refrigerado.

Nota: la **mezcla completa de reacción** puede utilizarse en el transcurso de 7 horas si se conserva en un bloque refrigerado (para 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.
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.

HIV1 ELITE MGB® Kit

Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTK600ING

	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)
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 mesa 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.

	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)
		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).
	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
17	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.
18	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).

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

Nota: al finalizar la sesión, la parte que queda de la muestra extraída en el «**Elution Tube**» (tubo de elución) debe extraerse del instrumento, taparse, identificarse y conservarse a $-20^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$ 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,

HIV1 ELITE MGB® Kit

Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTK600ING

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 **HIV1 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 VIH-1, que se enriquecieron con material de referencia de VIH-1 (4º 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 la 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
VIH-1	60	40	122

El LoD para las muestras de plasma recogido en ACD se calculó aplicando el factor de conversión específico (2,3 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
VIH-1	26	17	53

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 y un conjunto de muestras de plasma recogido en EDTA que se enriquecieron con material de referencia certificado de VIH-1 a la concentración declarada.

Los resultados obtenidos confirmaron la concentración declarada para la diana del producto **HIV1 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

La equivalencia de la matriz del ensayo se verificó analizando en el **ELITE InGenius** muestras emparejadas (procedentes del mismo donante) de plasma recogido en ACD y de plasma recogido en EDTA.

Para 30 muestras que habían dado un resultado negativo para VIH 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 la tablas siguientes.

HIV1 ELITE MGB® Kit

Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTK600ING

Muestra	N	Positivas	Negativas	NPA	%CV del Ct del IC	%CV total del Ct del IC
Plasma recogido en EDTA	30	1	29	96,7 %	1,80	1,81
Plasma recogido en ACD	30	0	30		1,81	

Muestra	N	Positivas	Negativas	PPA	%CV del Ct del VIH-1	%CV total del Ct del VIH-1
Plasma recogido en EDTA	30	30	0	100 %	1,81	1,53
Plasma recogido en ACD	30	0	30		1,81	

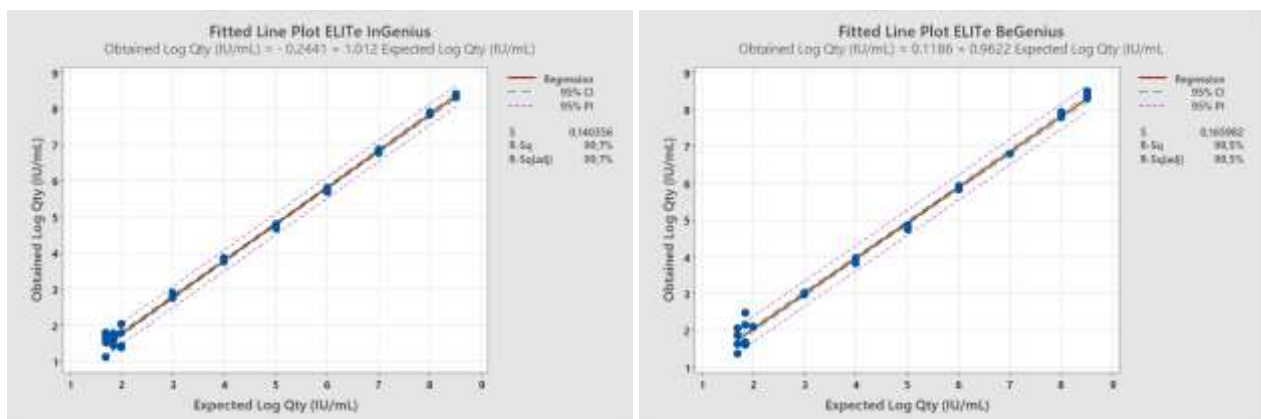
En estos análisis, tanto las 30 muestras emparejadas de plasma recogido en EDTA como las de plasma recogido en ACD mostraron rendimientos equivalentes cuando se analizaron con el producto **HIV1 ELITE MGB® Kit** utilizando el instrumento ELITE InGenius.

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 VIH-1 del grupo M subtipo B (ZeptoMetrix) en muestras negativas de plasma recogido en EDTA.

Los resultados se muestran en la siguiente figura.



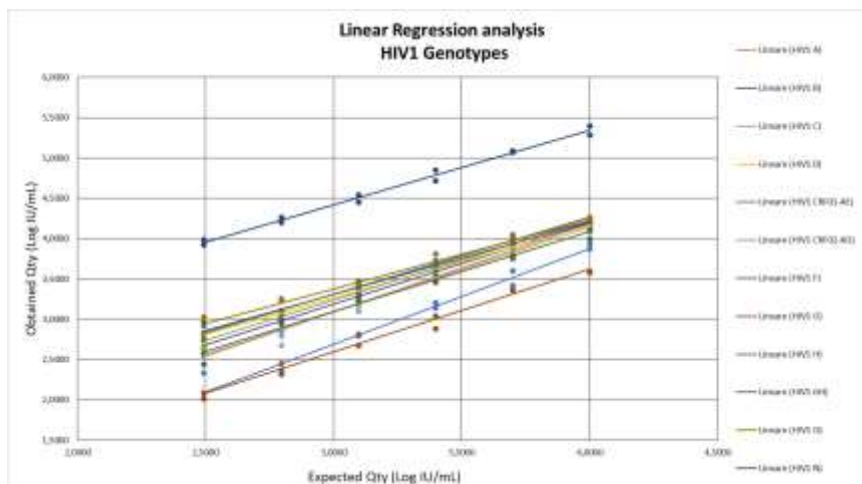
El rango de medición lineal expresado en copias/mL para plasma recogido en EDTA se calculó aplicando el factor de conversión específico que se indica en el apartado siguiente.

Los resultados finales se resumen en la tabla siguiente.

Rango de medición lineal para muestras de plasma recogido en EDTA y el ELITE InGenius	
Límite inferior	Límite superior
60 UI/mL	319300795 UI/mL
26 copias/mL	138.826.433 copias/mL

Para los principales genotipos de VIH (grupo M subtipos A, C, D, CRF01-AE, F, G, GH, H, CRF02-AG, grupo O y grupo N), se verificó el rango de medición lineal analizando muestras negativas de plasma recogido en EDTA, que se enriquecieron con material de referencia de VIH (panel de subtipos de VIH-1, Instituto de Virología, Hospital Universitario de Erlangen).

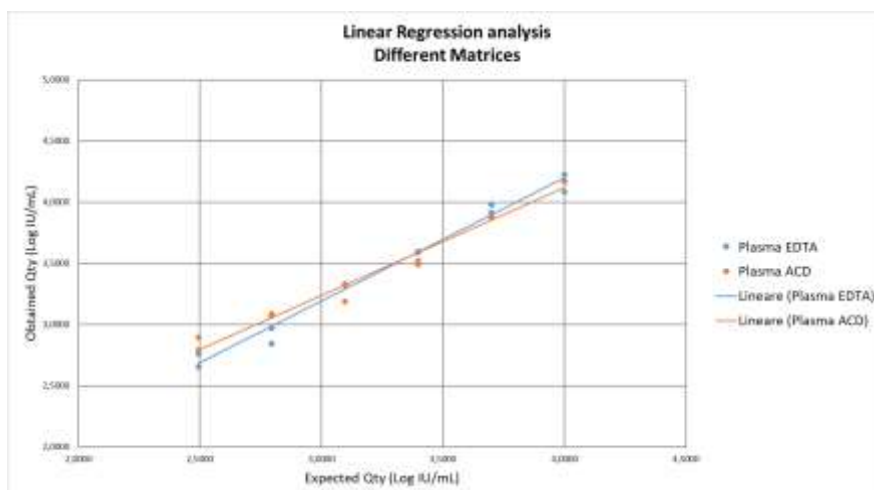
Los resultados se muestran en la siguiente figura.



La linealidad del ensayo se confirmó para los principales genotipos del VIH-1 (grupo M subtipos A, C, D, CRF01-AE, F, G, GH, H y CRF02-AG, grupo O y grupo N): el valor R^2 osciló entre 0,972 y 0,999 y los resultados cuantitativos se encontraron dentro del margen de $\pm 0,5$ log UI/mL, con la excepción del grupo N del VIH-1, que se sobrevaloró en aproximadamente 1,5 log UI/mL en comparación con el valor teórico. No obstante, esta muestra también se sobrevaloró con el producto «cobas® HIV-1 for use on the 6800 Systems» (Roche Diagnostics).

El rango de medición lineal se verificó analizando muestras de plasma negativas de plasma recogido en EDTA y muestras negativas de plasma recogido en ACD, que se enriquecieron con material de referencia de VIH-1 del grupo M, subtipo B (Zeptometrix). Los resultados correspondientes del análisis con muestras de plasma recogido en EDTA se notificaron como referencia.

Los resultados se muestran en la siguiente figura.



La linealidad del ensayo se confirmó para muestras de plasma recogido en EDTA y de plasma recogido en ACD, que dieron resultados cuantitativos en el margen de $\pm 0,5$ log UI/mL y un valor de R^2 de 0,984 para plasma recogido en EDTA y de 0,980 para plasma recogido en ACD.

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 0,1348 log copias/reacción.

HIV1 ELITE MGB® Kit

Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTK600ING

Niveles de la curva de calibración	Teóricos	DE	Incertidumbre combinada ampliada
	Log copias/reacción		
HIV1 Standard 10 ⁵	5,0000	0,0535	0,1348
HIV1 Standard 10 ⁴	4,0000	0,0602	
HIV1 Standard 10 ³	3,0000	0,0600	
HIV1 Standard 10 ²	2,0000	0,0899	

Inclusividad: Eficacia de detección y cuantificación en distintos genotipos

La inclusividad del ensayo, definida como la eficacia de detección de diferentes genotipos de VIH-1, 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 dos paneles de materiales de referencia de VIH (OMS y Erlangen) a una concentración de 3 veces el LoD.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Primer panel de referencia internacional de la OMS para CRF de VIH-1			
Subtipo/grupo	Cepa	Pos./Dup.	Resultado
Grupo O	BCF01	3/3	Se detecta VIH-1
CRF11 GJ	MP1307	3/3	Se detecta VIH-1
CRF02-AG	P1261	3/3	Se detecta VIH-1
CRF01-AE	CM244	3/3	Se detecta VIH-1
CRF01 A,G,J,U	96CM1849	3/3	Se detecta VIH-1
CRF BG 24	X2456	3/3	Se detecta VIH-1
Subtipo J	SE9173	3/3	Se detecta VIH-1
Subtipo C	X1936	3/3	Se detecta VIH-1
Subtipo G	P962	3/3	Se detecta VIH-1
CRF ADG	24203	3/3	Se detecta VIH-1

Panel de subtipos de VIH-1 de Erlangen			
ID de la muestra	Cepa	Pos./Dup.	Resultado
HIV1 A1	92UG029	3/3	Se detecta VIH-1
HIV1 A2	00KE KER2018	3/3	Se detecta VIH-1
HIV1 B1	92TH026	3/3	Se detecta VIH-1
HIV1 B2	90TH BK132	3/3	Se detecta VIH-1
HIV1 C1	92BR025	3/3	Se detecta VIH-1
HIV1 C2	99ET 14	3/3	Se detecta VIH-1
HIV1 D1	92UG021	3/3	Se detecta VIH-1
HIV1 D2	92UG035	3/3	Se detecta VIH-1
HIV1 D3	92UG024	3/3	Se detecta VIH-1
HIV1 E1	92TH022	3/3	Se detecta VIH-1
HIV1 F1	93BR029	3/3	Se detecta VIH-1
HIV1 F2	93BR020	3/3	Se detecta VIH-1
HIV1 G	RU570	3/3	Se detecta VIH-1
HIV1 H	VI525	3/3	Se detecta VIH-1
HIV1 GH	VI557	3/3	Se detecta VIH-1
HIV1 AG1	01CM.0005BBY	3/3	Se detecta VIH-1
HIV1 AG2	01CM.0008BBY	3/3	Se detecta VIH-1
HIV1 N	YBF30	3/3	Se detecta VIH-1
HIV1 O1	MVP5180	3/3	Se detecta VIH-1
HIV1 O2	CA-9	3/3	Se detecta VIH-1

Todas las muestras se detectaron correctamente como positivas y se cuantificaron en el margen de $\pm 0,5$ log utilizando el producto **HIV1 ELITE MGB® Kit**.

Marcadores potencialmente interferentes: reactividad cruzada

La reactividad cruzada potencial de los microorganismos imprevistos que pueden encontrarse en muestras clínicas se evaluó mediante un análisis informático. El análisis no presentó homologías reseñables

HIV1 ELITe MGB® Kit

Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTK600ING

con otros microorganismos imprevistos (virus, bacterias, protozoos y hongos), excepto en el caso del VIH-2, el microorganismo más relacionado con el VIH-1, que tiene una homología cercana al 80 %. Por lo tanto, no cabe esperar reactividad cruzada.

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

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

ID de la muestra	Pos./Dup. de VIH-1	Resultado
VIH-2	3/3	reactividad cruzada
VIH-1	0/6	Sin reactividad cruzada
VIH-2	0/6	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
VHC	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
WNV	0/3	Sin reactividad cruzada
DV3	0/3	Sin reactividad cruzada
EV	0/3	Sin reactividad cruzada
PVB19	0/3	Sin reactividad cruzada
<i>Staphylococcus aureus</i>	0/3	Sin reactividad cruzada
<i>Candida albicans</i>	0/3	Sin reactividad cruzada

Ninguno de los marcadores potencialmente interferentes analizados presentaron reactividad cruzada para la amplificación de la diana de VIH-1 cuando se utilizó el producto **HIV1 ELITe MGB Kit**, a excepción del VIH-2, que puede ofrecer resultados positivos con una cuantificación 2000 veces inferior al título teórico de VIH-2.

Marcadores potencialmente interferentes: Inhibición

La inhibición potencial de microorganismos imprevistos que pueden encontrarse en las muestras clínicas se evaluó para el ensayo analizando un panel de microorganismos imprevistos de diferentes proveedores (ATCC, NIBSC y ZeptoMetrix).

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

ID de la muestra	Pos./Dup. de VIH-1	Resultado
VIH-2	3/3	Sin interferencia
VIH-1	3/3	Sin interferencia
VIH-2	3/3	Sin interferencia
CMV	3/3	Sin interferencia
VEB	3/3	Sin interferencia
VHA	3/3	Sin interferencia
VHB	3/3	Sin interferencia
VHC	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

HIV1 ELITE MGB® Kit

Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTK600ING

ID de la muestra	Pos./Dup. de VIH-1	Resultado
EV	3/3	Sin interferencia
PVB19	3/3	Sin interferencia
<i>Staphylococcus aureus</i>	3/3	Sin interferencia
<i>Candida albicans</i>	3/3	Sin interferencia

Ninguno de los microorganismos potencialmente interferentes mostraron inhibición de la detección y cuantificación de la diana de VIH-1 cuando se utilizó el producto **HIV1 ELITE MGB Kit**.

Nota: incluso en el caso de que el VIH-2 no inhiba la detección de VIH-1, puede dar lugar a una sobrecuantificación de VIH-1 en muestras de personas doblemente infectadas debido a la reactividad cruzada del VIH-2.

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 VIH-1	Resultado
EDTA	3/3	Sin interferencia
Heparina	0/3	Interferencia
Sangre hemolítica alta	3/3	Sin interferencia
Plasma lipémico	3/3	Sin interferencia
Plasma icterico	3/3	Sin interferencia
Ganciclovir	3/3	Sin interferencia
Azitromicina	3/3	Sin interferencia
Abacavir	3/3	Sin interferencia
Emtricitabina	3/3	Sin interferencia
Lamivudina	3/3	Sin interferencia
Tenofovir	3/3	Sin interferencia
Doravirina	3/3	Sin interferencia
Efavirenz	3/3	Sin interferencia
Rilpivirina	3/3	Sin interferencia
Atazanavir	3/3	Sin interferencia
Darunavir	3/3	Sin interferencia
Bictegravir	3/3	Sin interferencia
Elvitegravir	3/3	Sin interferencia
Maraviroc	3/3	Sin interferencia

En la mayoría de las sustancias analizadas se observó ausencia de interferencia con la amplificación del VIH-1 y con la del Internal Control.

Se confirmó que la heparina era capaz de inhibir la amplificación del VIH-1; no obstante, dado el valor corte del Ct del Internal Control (Ct del IC inferior a 33), las muestras presentaron un resultado «no válido» en lugar de «falso negativo».

Contaminación cruzada

La posible contaminación cruzada durante el análisis se evaluó analizando 30 muestras de plasma negativas para ARN de VIH-1, que se alternaron con 30 muestras de plasma enriquecidas con material de referencia certificado de VIH-1 (Zeptomatrix) a un título alto.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Muestras	N	Negativas	Positivas
Plasma recogido en ACD y enriquecido a 1×10^6 UI/mL de VIH-1	30	0	30
Plasma recogido en ACD negativo para VIH-1	30	30	0

En este análisis con el producto **HIV1 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 (PEI) a una concentración de 3 veces el LoD (aproximadamente 180 UI/mL).

Los resultados se resumen en la tabla siguiente.

HIV1 ELITE MGB® Kit

Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTK600ING

ELITE InGenius: tasa total de fallos del sistema

Muestras	N	UI/mL teóricas	Negativas	Positivas	Tasa total de fallos del sistema
Plasma recogido en EDTA y enriquecido con VIH-1	100	180	0	100	0 %
Plasma recogido en ACD y enriquecido con VIH-1	30	180	0	30	0 %

ELITE BeGenius: tasa total de fallos del sistema

Muestras	N	UI/mL teóricas	Negativas	Positivas	Tasa total de fallos del sistema
Plasma recogido en EDTA y enriquecido con VIH-1	100	180	0	100	0 %

En el análisis con el producto **HIV1 ELITE MGB Kit**, ninguna de las muestras positivas para VIH-1 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 VIH-1 (4º 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	VIH-1					Internal Control		
	N	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia	Ct medio	DE	%CV
Negativas	8	Sin determinar	-	-	100 %	29,15	0,30	1,04
3xLoD	8	35,02	0,40	1,14	100 %			
10 veces el LoD	8	33,67	0,46	1,36	100 %			

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

Muestra	VIH-1					Internal Control		
	N	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia	Ct medio	DE	%CV
Negativas	8	Sin determinar	-	-	100 %	29,71	0,40	1,34
3xLoD	8	35,90	0,72	2,02	100 %			
10 veces el LoD	8	33,94	0,62	1,83	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	VIH-1					Internal Control		
	N	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia	Ct medio	DE	%CV
Negativas	16	Sin determinar	-	-	100 %	29,05	0,32	1,10
3xLoD	16	35,09	0,27	0,78	100 %			
10 veces el LoD	16	33,68	0,36	1,07	100 %			

Repetibilidad entre sesiones en el ELITE BeGenius (día 1 + día 2)

Muestra	VIH-1					Internal Control		
	N	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia	Ct medio	DE	%CV
Negativas	16	Sin determinar	-	-	100 %	29,78	0,32	1,06
3xLoD	16	35,99	0,59	1,64	100 %			
10 veces el LoD	16	34,11	0,51	1,49	100 %			

HIV1 ELITE MGB® Kit

Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTK600ING

En la prueba de repetibilidad, el producto **HIV1 ELITE MGB Kit** detectó la diana y presentó una variación máxima de los valores de Ct de la diana como un %CV del 1,64 %.

Reproducibilidad

La reproducibilidad entre centros del ensayo se evaluó en el ELITE InGenius analizando un panel de muestras de plasma negativas o enriquecidas con VIH-1 (4º Estándar Internacional de la OMIS, NIBSC).

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

Reproducibilidad entre centros en el ELITE InGenius								
Muestra	VIH-1					Internal Control		
	N	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia	Ct medio	DE	%CV
Negativas	24	Sin determinar	-	-	100 %	29,51	0,40	1,36
3×LoD	24	35,01	0,66	1,88	100 %			
10 veces el LoD	24	33,34	0,23	0,68	100 %			

En la prueba de reproducibilidad entre centros, el producto **HIV1 ELITE MGB Kit** detectó la diana y presentó una variación máxima de los valores de Ct de la diana como un %CV del 1,88 %.

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 VIH-1 (4º Estándar Internacional de la OMIS, 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	VIH-1					Internal Control		
	N	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia	Ct medio	DE	%CV
Negativas	24	Sin determinar	-	-	100 %	29,36	0,61	2,09
3×LoD	24	35,17	0,47	1,34	100 %			
10 veces el LoD	24	33,76	0,30	0,88	100 %			

Reproducibilidad entre instrumentos en el ELITE BeGenius								
Muestra	VIH-1					Internal Control		
	N	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia	Ct medio	DE	%CV
Negativas	24	Sin determinar	-	-	100 %	29,97	0,74	2,47
3×LoD	24	35,86	0,59	1,65	100 %			
10×LoD	24	34,12	0,41	1,19	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	VIH-1					Internal Control		
	N	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia	Ct medio	DE	%CV
Negativas	48	Sin determinar	-	-	100 %	29,17	0,68	2,34
3×LoD	48	35,14	0,63	1,81	100 %			
10 veces el LoD	48	33,64	0,41	1,22	100 %			

Reproducibilidad entre lotes en el ELITE BeGenius								
Muestra	VIH-1					Internal Control		
	N	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia	Ct medio	DE	%CV
Negativas	48	Sin determinar	-	-	100 %	29,92	0,56	1,87
3×LoD	48	35,79	0,67	1,87	100 %			
10×LoD	48	34,06	0,33	0,98	100 %			

HIV1 ELITE MGB® Kit

Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTK600ING

En la prueba de reproducibilidad entre instrumentos y entre lotes, el producto **HIV1 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 1,87 %.

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 4º Estándar Internacional de la OMS para VIH-1 (NIBSC).

El factor de conversión se determinó en 2,3 UI/copia.

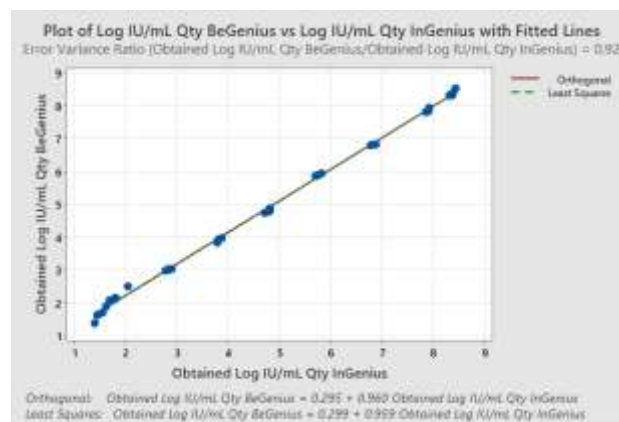
En la tabla siguiente se muestra un resumen de los resultados.

Factor de conversión a unidades internacionales, Fc = 2,3 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	
10.000	4,0000	27	4.052	9.320	3,9623	+0,0377
3.162	3,5000	26	1.379	3.172	3,4913	+0,0087
1.000	3,0000	27	500	1.149	3,0494	-0,0494
316	2,5000	27	156	359	2,5366	-0,0366

Como se demostró la equivalencia entre el plasma recogido en EDTA y el plasma recogido en ACD, el factor de conversión puede aplicarse a las dos 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 (4º 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 -0,066 (IC del 95 %: -0,194; 0,061) y una pendiente de 0,998 (IC del 95 %: 0,953; 1,042). El análisis de regresión lineal generó un valor de R² de 0,991.

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 VIH-1, que procedían de pacientes que estaban recibiendo un tratamiento antivírico y que presentaban una carga vírica dentro del rango de medición del producto **HIV1 ELITE MGB Kit** y de otros métodos de diagnóstico molecular de referencia para diagnóstico *in vitro* con marcado CE. Los resultados obtenidos con el producto **HIV1 ELITE MGB Kit** y el método de referencia se analizaron mediante regresión ortogonal y lineal.

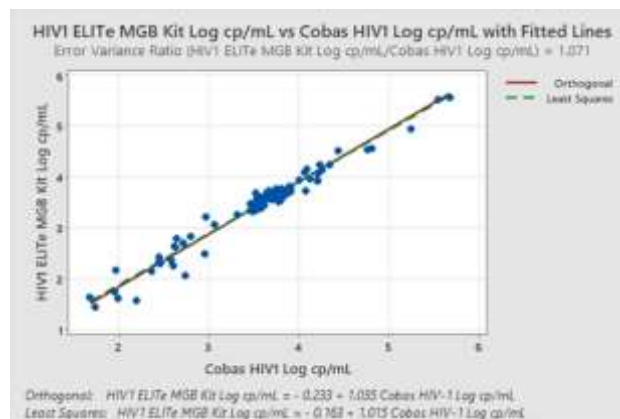
El estudio de relación se realizó en un centro con 87 muestras clínicas de plasma recogido en EDTA positivas para ARN de VIH-1, utilizando el «cobas HIV-1 for use on the 6800 System» como comparador.

Los resultados se resumen en la figura siguiente.

HIV1 ELITE MGB® Kit

Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

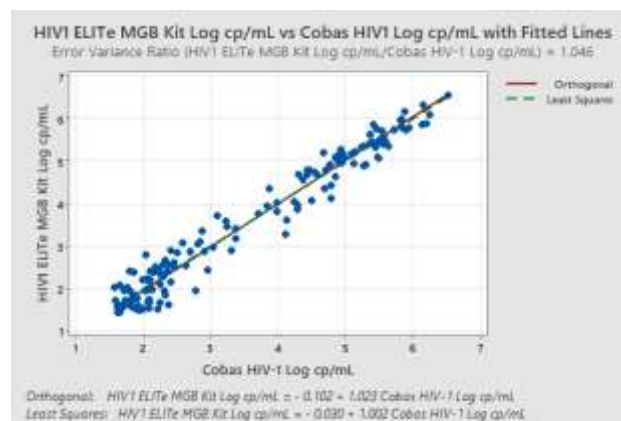
REF RTK600ING



En esta prueba, el análisis de regresión ortogonal generó una pendiente de 1,035 (95 % IC: 0,991; 1,078) y una intersección de -0,233 (95% CI: -0,390; -0,075). El análisis de regresión lineal generó un valor de R^2 de 0,962.

El estudio de relación se realizó en otros dos centros con 150 muestras clínicas de plasma recogido en EDTA positivas para ARN de VIH-1, utilizando el «cobas HIV-1 for use on the 4800 System» como comparador.

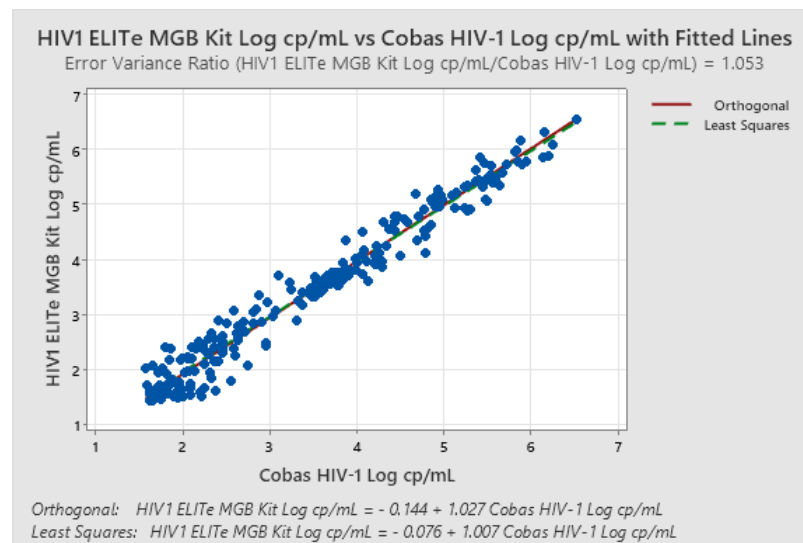
Los resultados se resumen en la figura siguiente.



En esta prueba, el análisis de regresión ortogonal generó una pendiente de 1,023 (95 % IC: 0,989; 1,056) y una intersección de -0,102 (95% CI: -0,229; 0,026). El análisis de regresión lineal generó un valor de R^2 de 0,961.

Como los dos métodos de referencia («cobas HIV-1 for use on the 4800 System» y «cobas HIV-1 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 ortogonal generó una pendiente de 1,027 (95 % IC: 1,001; 1,052) y una intersección de -0,144 (95% CI: -0,241; -0,047). El análisis de regresión lineal generó un valor de R² de 0,963.

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 VIH-1, 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® HIV-1 for use on the 4800 System» y «cobas® HIV-1 for use on the 6800 System», de Roche Diagnostics) que, después, se combinaron, pues presentaron rendimientos equivalentes.

Muestras de plasma recogido en EDTA negativas para ARN de VIH-1	N	Positivas	Negativas	Especificidad diagnóstica
Método de referencia: cobas HIV-1 for use on the 6800 System	90	0	90	100 %
Método de referencia: cobas HIV-1 for use on the 4800 System	159	3	156	98,1 %
Resultados combinados	249	3	246	98,8 %

Tres muestras dieron resultados positivos diferentes con títulos inferiores al LoD del producto **HIV1 ELITE MGB Kit** y de los métodos de referencia. Estas muestras pueden generar resultados positivos de forma 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 los análisis realizados para evaluar las características de rendimiento del producto con la matriz y el instrumento se recogen en la documentación técnica del producto **HIV1 ELITE MGB Kit**, ref. FTP 600ING.

BIBLIOGRAFÍA

- J. Müller *et al.* (2007) *J. Virol. Methods* **142**: 127-135.
K. Linnet *et al.* (2004) *Clin. Chem.* **50**: 732-740.
E. A. Lukhtanov *et al.* (2007) *Nucleic Acids Res.* **35**: e30.
DHHS Guidelines 2019: «Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents with HIV».
WHO Prequalification of In Vitro Diagnostics Public Report (WHO PQ Public Report), number PQDx 0365-118-00, 10/2020, versión 20.
<https://ltd.aruplab.com> (número de análisis 3000867).
B. Amellal *et al.* (2008) *HIV Medicine*, **9**: 790-793.
K. Sebire *et al.* (1998), *J. Clin. Microbiol.*, **36**: 493-498.
C. Ginocchio *et al.* (1997), *J. Clin. Microbiol.*, **35**: 2886-2893.
C. Baleriola *et al.* (2011), *J. Clin. Microbiol.*, **49**: 3163-3167.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

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

El plasma recogido en EDTA o en ACD se obtendrá 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.

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

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 VIH.

Este producto muestra reactividad cruzada con el VIH-2, lo que puede dar resultados positivos con una cuantificación 2000 veces inferior al título teórico de VIH-2. No obstante, dado el uso previsto del producto, la epidemiología del VIH-2 y la aplicación de algoritmos diagnósticos claros (p. ej., los de los CDC) concebidos para distinguir la infección por el VIH-1 de la infección por el VIH-2, la reactividad cruzada del VIH-2 no representa un problema real. No obstante, el producto **HIV1 ELITE MGB Kit** no es ideal como herramienta de tratamiento de individuos con infección doble por el VIH-1 y el VIH-2. En este caso, el VIH-2 no inhibe la detección de VIH-1, pero puede dar lugar a una sobrecuantificación de VIH-1 debido a la reactividad cruzada del VIH-2.

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



Número de catálogo.



Límite superior de temperatura.



Código de lote.



Fecha de caducidad (último día del mes).

Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*.

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



Identificador único del producto



Contenido suficiente para «N» análisis.



Atención: Consultar las instrucciones de uso.



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.

HIV1 ELITE MGB® Kit**Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real****REF RTK600ING****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 licenciarios conceden ninguna otra licencia, ni expresa ni implícita, para ningún otro propósito.

TaqMan™ es una marca registrada de Thermo Fisher Scientific.

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.