

Instructions for use

## HHV7 ELITe MGB® Kit

---

Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real



REF RTS037PLD

UDI 08033891484590



**HISTORIAL DE CAMBIOS**

Rev.	Información del cambio	Fecha (dd/mm/aa)
07	Nuevo apartado: «11.4: Incertidumbre de la curva de calibración» Actualización de los apartados: «Otros productos necesarios», «Material necesario, pero no proporcionado», «8.1: Muestras», «Símbolos» y «Nota para el comprador» Nuevo diseño de los gráficos y del contenido de las instrucciones de uso	31/10/25
06	Actualización de las CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO: Confirmación de los valores relativos al LoD, al LLoD y al ULoD en la matriz. Cálculo de la repetibilidad y la reproducibilidad en la matriz. Valor de corte interno cambiado de 36 a 35	23/01/24
05	Actualización del apartado CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO para establecer el valor de corte del Ct de VHH-7 a 35 para toda la matriz	24/02/22
04	Ahora es necesario utilizar el 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument para establecer manualmente el umbral para el detector FAM «HHV7» en 0,2.	05/10/17
00-03	Desarrollo de un nuevo producto con los cambios consiguientes	-

**NOTA!**

La versión revisada de estas instrucciones de uso también es compatible con la versión anterior del kit.

---

## INDICE

---

<b>1 USO PREVISTO</b> .....	<b>4</b>
<b>2 PRINCIPIO DEL ENSAYO</b> .....	<b>4</b>
<b>3 DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO</b> .....	<b>4</b>
<b>4 MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO</b> .....	<b>5</b>
<b>5 MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO</b> .....	<b>5</b>
<b>6 OTROS PRODUCTOS NECESARIOS</b> .....	<b>5</b>
<b>7 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES</b> .....	<b>6</b>
<b>8 MUESTRAS Y CONTROLES PARA el ELITe InGenius y el ELITe BeGenius</b> .....	<b>8</b>
<b>9 PROCEDIMIENTO CON EL ELITe InGenius</b> .....	<b>11</b>
<b>10 PROCEDIMIENTO CON EL ELITe BeGenius</b> .....	<b>18</b>
<b>11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO CON EL ELITe InGenius y el ELITe BeGenius</b> .....	<b>24</b>
<b>12 MUESTRAS Y CONTROLES PARA OTROS SISTEMAS</b> .....	<b>31</b>
<b>13 PROCEDIMIENTO CON OTROS SISTEMAS</b> .....	<b>32</b>
<b>14 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO CON OTROS SISTEMAS</b> .....	<b>42</b>
<b>15 BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>45</b>
<b>16 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO</b> .....	<b>45</b>
<b>17 PROBLEMAS Y SOLUCIONES</b> .....	<b>46</b>
<b>18 SÍMBOLOS</b> .....	<b>50</b>
<b>19 AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA</b> .....	<b>51</b>
<b>Appendix A QUICK START GUIDE</b> .....	<b>52</b>

## 1 USO PREVISTO

El producto **HHV7 ELITE MGB® Kit** es un ensayo cualitativo y cuantitativo de amplificación de ácidos nucleicos para la **detección y la cuantificación de ADN de virus del herpes humano tipo 7 (VHH-7)** en muestras de ADN extraídas de sangre recogida en EDTA, plasma recogido en EDTA y líquido cefalorraquídeo (LCR).

El ensayo se ha validado con los instrumentos ELITE InGenius® y ELITE BeGenius®, que son sistemas automatizados e integrados para la extracción, la PCR en tiempo real y la interpretación de resultados cuando se utilizan muestras de sangre humana y plasma recogida en EDTA.

El ensayo se ha validado con el **7300 Real-Time PCR System** y el **7500 Real-Time PCR System** utilizando muestras humanas de sangre, plasma recogido en EDTA y líquido cefalorraquídeo (LCR).

El producto se utiliza para el diagnóstico y el seguimiento de infecciones por VHH-7 junto con los datos clínicos y los resultados de otras pruebas analíticas del paciente.

## 2 PRINCIPIO DEL ENSAYO

Este es un ensayo cuantitativo de PCR en tiempo real para la detección de ADN de VHH-7, aislado de muestras y amplificado utilizando el reactivo de ensayo **HHV7 Q PCR Mix**, que contiene cebadores y sondas con las tecnologías ELITE MGB y TaqMan™ MGB®.

Las sondas ELITE MGB y TaqMan MGB se activan cuando se hibridan con los productos de PCR relacionados. **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius** controlan el aumento de fluorescencia y calculan el ciclo umbral (Ct) y las temperaturas de fusión (Tm). La cantidad de ADN de VHH-7 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/amplión, 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.

## 3 DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

El producto **HHV7 ELITE MGB Kit** incluye el reactivo de ensayo **HHV7 Q - PCR Mix**, que es una mezcla de PCR optimizada y estabilizada que contiene los cebadores y las sondas específicos para:

- La región del **gen de la proteína de cápside (U57)** de VHH-7, detectada en el canal **HHV7**; la sonda se estabiliza mediante la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher® y se marca con el colorante FAM.
- El Internal Control (IC), específico para la secuencia artificial IC2 de ADN, 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® 525 (AP525).

La mezcla **HHV7 Q - PCR Mix** también contiene solución tampón, cloruro de magnesio, nucleótidos-trifosfatos, el fluoróforo AP593 (análogo a ROX o a Cy5) como referencia pasiva para la normalización de la fluorescencia, la enzima N-uracil glucosidasa (UNG) para inactivar la contaminación provocada por el producto de amplificación y la enzima ADN polimerasa con activación térmica («hot start»).

El producto **HHV7 ELITE MGB Kit** contiene suficientes reactivos para **96 análisis en el ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius**, cuando se utilizan **20 µL** en cada reacción.

El producto **HHV7 ELITE MGB Kit** contiene suficientes reactivos para realizar **100 análisis en otros sistemas**, cuando se utilizan **20 µL en cada reacción**.

El producto **HHV7 ELITE MGB Kit** también puede utilizarse con instrumentos equivalentes.

## 4 MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

Tabla 1

Componente	Descripción	Cantidad	Clasificación de peligros
HHV7 Q - PCR Mix ref. RTS037PLD	Mezcla de reactivos para la PCR en tiempo real en una probeta con <b>tapón de color natural</b>	4×540 µL	-

## 5 MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

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

## 6 OTROS PRODUCTOS NECESARIOS

Este producto **no** incluye los reactivos para la extracción del ADN de la muestra, ni tampoco el Internal Control de extracción e inhibición, el Positive Control y el Negative Control de amplificación, los calibradores de ADN ni los consumibles.

Para la extracción automática de ácidos nucleicos, la PCR en tiempo real y la interpretación de los resultados de las muestras, es necesario utilizar los siguientes productos:

Tabla 2

Instrumentos y software	Productos y reactivos
<p><b>ELITE InGenius</b> (ELITechGroup S.p.A., EG SpA ref. INT030)</p> <p><b>ELITE InGenius Software</b> versión 1.3.0.19 (o posterior)</p> <p><b>HHV7 ELITE_PC</b>, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control.</p> <p><b>HHV7 ELITE_NC</b>, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Negative Control</p> <p><b>HHV7 ELITE_STD</b>, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de los calibradores</p> <p><b>HHV7 ELITE_WB_200_100</b>, protocolo de ensayo (Assay Protocol) con parámetros para el análisis de las muestras de sangre</p> <p><b>HHV7 ELITE_PL_200_100</b>, protocolo de ensayo (Assay Protocol) con parámetros para el análisis de las muestras de plasma</p>	<p><b>HHV7 ELITE Standard</b> (EG SpA, ref. STD037PLD)</p> <p><b>HHV7 ELITE — ELITE Positive Control</b> (EG SpA, ref. CTR037PLD)</p> <p><b>CPE – Internal Control</b> (EG SpA, ref. CTCRCPE)</p> <p><b>ELITE InGenius SP200</b> (EG SpA, ref. INT032SP200)</p> <p>Consumibles para el <b>ELITE InGenius</b> y el <b>ELITE BeGenius</b> (consulte las instrucciones de uso del ELITE InGenius y del ELITE BeGenius)</p>
<p><b>ELITE BeGenius</b> (EG SpA ref. INT040)</p> <p><b>ELITE BeGenius Software</b> versión 2.3.0. (o posterior)</p> <p><b>HHV7 ELITE_Be_PC</b>, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control.</p> <p><b>HHV7 ELITE_Be_NC</b>, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Negative Control.</p> <p><b>HHV7 ELITE_Be_STD</b>, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de los calibradores</p> <p><b>HHV7 ELITE_Be_WB_200_100</b>, protocolo de ensayo (Assay Protocol) con parámetros para el análisis de las muestras de sangre</p> <p><b>HHV7 ELITE_Be_PL_200_100</b>, protocolo de ensayo (Assay Protocol) con parámetros para el análisis de las muestras de plasma</p>	
<p>7300 Real-Time PCR System (ThermoFisher Scientific, ref. 4351101)</p> <p><b>QIASymphony® SP/AS</b> (QIAGEN GmbH, Ref. 9001297, 9001301)</p> <p><b>NucliSENS® easyMAG®</b> (bioMérieux SA, Ref. 200111)</p>	<p><b>HHV7 ELITE Standard</b> (EG SpA, ref. STD037PLD)</p> <p><b>HHV7 ELITE — ELITE Positive Control</b> (EG SpA, ref. CTR037PLD)</p> <p><b>CPE – Internal Control</b> (EG SpA, ref. CTCRCPE)</p> <p><b>MicroAmp™ Optical 96-Well Reaction Plate</b> (LifeTechnologies, ref. N8010560)</p> <p><b>QIASymphony® Midi kit</b> (QIAGEN GmbH, Ref. 931236)</p> <p><b>NucliSENS® easyMAG® Reagents</b> (bioMérieux SA, Ref. 280130, 280131, 280132, 280133, 280134, 280135)</p>
<p>7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument (ThermoFisher Scientific, ref. 4406985)</p> <p><b>QIASymphony SP/AS</b> (QIAGEN GmbH, Ref. 9001297, 9001301)</p> <p><b>NucliSENS easyMAGe</b> (bioMérieux SA, Ref. 200111)</p>	<p><b>HHV7 ELITE Standard</b> (EG SpA, ref. STD037PLD)</p> <p><b>HHV7 ELITE — ELITE Positive Control</b> (EG SpA, ref. CTR037PLD)</p> <p><b>CPE – Internal Control</b> (EG SpA, ref. CTCRCPE)</p> <p><b>MicroAmp Fast Optical 96-Well Reaction Plate with Barcode, 0.1 mL</b> (Life Technologies, ref. 4346906)</p> <p><b>QIASymphony Midi kit</b> (QIAGEN GmbH, Ref. 931236)</p> <p><b>NucliSENS easyMAG Reagents</b> (bioMérieux SA, Ref. 280130, 280131, 280132, 280133, 280134, 280135)</p>

## 7 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

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

## 7.1 Advertencias y precauciones generales

Manipular y eliminar todas las muestras biológicas como si fueran infecciosas. Evitar el contacto directo con muestras biológicas. Evitar derrames y 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 todos los materiales utilizados para realizar el ensayo como si fueran infecciosos. Evitar el contacto directo con los reactivos. Evitar derrames y pulverizaciones. Manipular y eliminar los residuos de acuerdo con las normas de seguridad pertinentes. El material combustible desechable debe incinerarse. Los residuos líquidos que contienen ácidos o bases deben neutralizarse antes de eliminarlos. Evitar que los reactivos de extracción entren en contacto con hipoclorito de sodio (lejía).

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

No pipetear ninguna solución con la boca.

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

Lavarse bien las manos después de manipular muestras y reactivos.

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

Leer atentamente todas las instrucciones incluidas antes de realizar el ensayo.

Durante la realización del ensayo, seguir las instrucciones proporcionadas con el producto.

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

Utilizar únicamente los reactivos incluidos en el producto y los recomendados por el fabricante.

No utilizar reactivos procedentes de lotes diferentes.

No utilizar reactivos de otros fabricantes.

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

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

Cuando la sesión de amplificación se configura manualmente, es necesario disponer de áreas independientes para la extracción/preparación de las reacciones de amplificación y para la amplificación/detección de los productos de amplificación. No introducir nunca un producto de amplificación en el área asignada a la extracción/preparación de las reacciones de amplificación.

Cuando la sesión de amplificación se configura manualmente, es necesario disponer de batas de laboratorio, guantes y herramientas que se empleen exclusivamente para la extracción/preparación de las reacciones de amplificación y para la amplificación/detección de los productos de amplificación.

No llevar nunca batas de laboratorio, guantes ni herramientas del área asignada a la amplificación/detección de productos de amplificación al área asignada a la extracción/preparación de las reacciones de amplificación.

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

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

Los reactivos deben manipularse bajo una campana de flujo laminar. Las pipetas utilizadas para manipular los reactivos deben destinarse exclusivamente a dicho propósito. Las pipetas deben ser del tipo de desplazamiento positivo o utilizarse con puntas con filtro para aerosoles. Las puntas utilizadas deben ser estériles y no deben contener desoxirribonucleasas ni ribonucleasas, ni tampoco ADN ni ARN.

Los productos de extracción deben manipularse de forma que se evite su dispersión al medio ambiente y la contaminación de la zona de trabajo del instrumento.

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

### 7.3 Advertencias y precauciones específicas para los componentes:

Tabla 3

Componente	Temperatura de almacenamiento	Uso a partir de la primera apertura	Ciclos de congelación y descongelación	Estabilidad con carga (ELITe InGenius y ELITe BeGenius)
HHV7 Q - PCR Mix	-20 °C o menos (protegido de la luz)	un mes	máximo cinco	Hasta cinco sesiones independientes* de tres horas cada una o hasta 7 horas consecutivas (2 sesiones de 3 horas cada una y el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión)

\* Con congelación intermedia

## 8 MUESTRAS Y CONTROLES PARA el ELITe InGenius y el ELITe BeGenius

### 8.1 Muestras

Este producto está concebido para utilizarlo en los instrumentos **ELITe InGenius** y **ELITe BeGenius** con las muestras clínicas validadas asociadas, identificadas y manipuladas conforme a las directrices para laboratorios y obtenidas, transportadas y conservadas en las condiciones siguientes:

Tabla 4

Muestra	Requisitos de obtención	Condiciones transporte/almacenamiento			
		de +16 °C a +26 °C (temperatura ambiente)	de +2 °C a +8 °C	-20 °C ± 10 °C	-70 °C ± 15 °C
Sangre	EDTA	≤24 horas	≤72 horas	≤1 mes	>1 mes
Plasma	EDTA	≤24 horas	≤72 horas	≤1 mes	>1 mes

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

Tabla 5 Protocolos de ensayo para el producto HHV7 ELITE MGB Kit

Muestra	Instrumento	Nombre del Assay Protocol (protocolo de ensayo)	Informe	Características
Sangre	ELITE InGenius	HHV7 ELITE_WB_200_100	copias/mL	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución de extracción: 100 µL Internal Control: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1 Volumen de PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 10 µL
	ELITE BeGenius	HHV7 ELITE_Be_WB_200_100	copias/mL	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución de extracción: 100 µL Internal Control: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1 Volumen de PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 10 µL
Plasma	ELITE InGenius	HHV7 ELITE_PL_200_100	copias/mL	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución de extracción: 100 µL Internal Control: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1 Volumen de PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 10 µL
	ELITE BeGenius	HHV7 ELITE_Be_PL_200_100	copias/mL	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución de extracción: 100 µL Internal Control: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1 Volumen de PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 10 µL

Verificar si la probeta primaria y el volumen de la muestra son compatibles con ELITE InGenius o ELITE BeGenius, siguiendo las instrucciones de uso del kit de extracción **ELITEInGeniusSP200** (EG SpA, ref. INT032SP200).

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

En caso necesario, verter 200 µL o 1000 µL de muestra en el «Extraction Tube» (tubo de extracción), en el caso del ELITE InGenius, o bien verter 200 µL de muestra en una probeta Sarstedt de 2 mL, en el caso del ELITE BeGenius.

**NOTA!**

Cuando se utiliza la probeta primaria, el volumen de la muestra varía en función de la probeta que se haya cargado. Consultar las instrucciones de uso del kit de extracción para obtener más información sobre la configuración y realización del procedimiento de extracción.

**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 o 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.

Una alta cantidad de ADN genómico humano en el ADN extraído de la muestra puede inhibir la reacción de amplificación.

No se dispone de datos sobre la inhibición provocada por antivíricos, antibióticos, antineoplásicos o inmunodepresores.

## 8.2 Calibradores y controles de PCR

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

- Para la curva de calibración, utilizar los cuatro niveles del producto **HHV7 ELITE Standard**, no incluido con este kit, junto con los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **HHV7 ELITE\_STD** o **HHV7 ELITE\_Be\_STD**.
- Para el Positive Control, utilizar el producto **HHV7 - ELITE Positive Control** (no incluido con este kit), junto con los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **HHV7 ELITE\_PC** o **HHV7 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) **HHV7 ELITE\_NC** o **HHV7 ELITE\_Be\_NC**.

**NOTA!**

El **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius** permiten generar y guardar la curva de calibración y la validación del 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 Controls.

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 cualquiera de los instrumentos **ELITE InGenius** o **ELITE BeGenius**.

## 8.3 Controles de calidad

Se recomienda verificar los procedimientos de extracción y de PCR. Pueden utilizarse muestras archivadas o material de referencia certificado. Los controles externos deben utilizarse de acuerdo con las organizaciones de acreditación locales, estatales y federales, según proceda.

## 9 PROCEDIMIENTO CON EL ELITe InGenius

El procedimiento para utilizar el producto **HHV7 ELITe MGB Kit** con el **ELITe InGenius** comprende tres pasos:

**Tabla 6**

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

### 9.1 PASO 1. Verificación de la disponibilidad del sistema

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

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

Existen protocolos para el análisis cualitativo a petición.

### 9.2 PASO 2. Configuración de la sesión

El producto **HHV7 ELITe MGB Kit** puede utilizarse con el instrumento **ELITe InGenius** 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 en el 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 protocolo de ensayo disponible en el instrumento y se cargan automáticamente al seleccionar el protocolo de ensayo.

**NOTA!**

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

Antes de configurar una sesión:

Descongelar las probetas necesarias de **PCR Mix** a temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para 24 análisis en condiciones óptimas de uso (es decir, realizando al menos 2 análisis por sesión). Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.

**NOTA!**

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

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

	<b>A. Sesión de la muestra (Extract + PCR).</b>	<b>B. Sesión con la muestra eluida; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)</b>
<b>1</b>	<p><b>Identificar las muestras</b> y, en caso necesario, descongelar a temperatura ambiente, mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. En caso necesario, verter 200 µL de muestra en un «Extraction Tube» (Tubo de extracción) previamente etiquetada.</p> <p><b>Descongelar las probetas de CPE</b> 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. Cada probeta es suficiente para 12 extracciones.</p>	<p><b>Descongelar la «Elution Tube»</b> (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.</p>
<b>2</b>	Seleccionar « <b>Perform Run</b> » ( <b>Realizar ejecución</b> ) en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar « <b>Perform Run</b> » ( <b>Realizar ejecución</b> ) en la pantalla «Home» (Inicio).
<b>3</b>	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.
<b>4</b>	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.
<b>5</b>	<b>Seleccionar el Assay Protocol (Protocolo de ensayo)</b> en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».	Seleccionar el <b>Assay Protocol (Protocolo de ensayo)</b> en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».
<b>6</b>	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).
<b>7</b>	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 « <b>Dilution factor</b> » ( <b>Factor de dilución</b> ) esté configurada a «1».	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 « <b>Dilution factor</b> » ( <b>Factor de dilución</b> ) esté configurada a «1».
<b>8</b>	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.

	<b>A. Sesión de la muestra (Extract + PCR).</b>	<b>B. Sesión con la muestra eluida; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)</b>
<b>9</b>	<b>Cargar el CPE y la PCR Mix</b> en el «Inventory Block» (administrador de inventarios) en función de la «Load List» (Cargar lista) y, después, introducir el número de lote del CPE y de la mezcla PCR Mix, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.	<b>Cargar la PCR Mix</b> en el «Inventory Block» (administrador de inventarios) en función de la «Load List» (Cargar lista) y, después, introducir el número de lote de la PCR Mix, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.
<b>10</b>	Hacer clic en «Next» (Siguiete) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiete) para continuar.
<b>11</b>	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) del «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) del «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.
<b>12</b>	Hacer clic en «Next» (Siguiete) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiete) para continuar.
<b>13</b>	<b>Cargar</b> el PCR Cassette, los cartuchos de extracción ELITE InGenius SP 200, así como todos los consumibles necesarios y las muestras que deben extraerse.	<b>Cargar</b> el PCR Cassette y las «Elution Tube» (Tubo de elución) con las muestras extraídas.
<b>14</b>	Hacer clic en «Next» (Siguiete) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiete) para continuar.
<b>15</b>	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.
<b>16</b>	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).

	<b>C. Sesión de calibración; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)</b>	<b>D. Sesión para el Positive Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)</b>
1	<b>Descongelar</b> las probetas de calibrador <b>Q-PCR Standard tubes</b> (Cal1: Q-PCR Standard 10 <sup>2</sup> , Cal2: Q-PCR Standard 10 <sup>3</sup> , Cal3: Q-PCR Standard 10 <sup>4</sup> , Cal4: Q-PCR Standard 10 <sup>5</sup> ) 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.	<b>Descongelar las probetas de Positive Control</b> 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. <b>Preparar el Negative Control</b> vertiendo al menos 50 µL de agua para biología molecular en el tubo de elución («Elution Tube») que se incluye con el ELITe InGenius SP 200 Consumable Set.
2	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).
3	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.
4	Para el calibrador Q-PCR, asignar el carril («Track»), <b>seleccionar el Assay Protocol (Protocolo de ensayo)</b> en la columna «Assay» (Ensayo) y, después, rellenar el número de lote y la fecha de caducidad de los reactivos.	<b>Seleccionar el Assay Protocol (Protocolo de ensayo)</b> 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	<b>Cargar la PCR Mix</b> en el «Inventory Block» (administrador de inventarios) en función de la «Load List» (Cargar lista) y, después, introducir el número de lote de la PCR Mix, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.	<b>Cargar la PCR Mix</b> en el «Inventory Block» (administrador de inventarios) en función de la «Load List» (Cargar lista) y, después, introducir el número de lote de la PCR Mix, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.
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	<b>Cargar</b> el PCR Cassette y las probetas de Q-PCR Standard.	<b>Cargar</b> 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 la **«Elution Tube»** (Tubo de elución) debe extraerse del instrumento, taparse, identificarse y conservarse a  $-20 \pm 10$  °C durante un máximo de un mes. Evitar derramar la muestra extraída.

**NOTA!**

Al finalizar la sesión, la **PCR Mix** puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  o a una temperatura inferior, o bien mantenerse en el bloque refrigerado durante un máximo de 7 horas (2 sesiones de 3 horas cada una y 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.

**NOTA!**

Al finalizar la sesión, la parte que queda del calibrador **Q-PCR Standard** puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  o a una temperatura inferior. Evitar derramar el calibrador Q - PCR Standard.

**NOTA!**

El calibrador **Q-PCR-Standard** puede utilizarse para 4 sesiones independientes de 2 horas cada una.

**NOTA!**

Al finalizar la sesión, la parte que queda del **Positive Control** puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  o a una temperatura inferior. Evitar derramar el Positive Control. La parte que queda del **Negative Control** debe eliminarse.

**NOTA!**

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

**NOTA!**

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

### 9.3 PASO 3. Evaluación y aprobación de los resultados

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

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

**NOTA!**

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

El instrumento **ELITe InGenius** genera los resultados con el producto **HHV7 ELITe MGB Kit** mediante el siguiente procedimiento:

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

### 9.3.1 Validación de la curva de calibración

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

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

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

#### NOTA!

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

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

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

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

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

El **ELITE InGenius software** procesa los resultados del Positive Control y del Negative Control y genera los gráficos de control («Control Charts»). Para configurar el gráfico de control inicial, se utilizan cuatro resultados aprobados del Positive Control y del Negative Control. Para los controles siguientes, el software analiza los resultados para garantizar que el rendimiento del sistema se encuentre dentro de los criterios de aceptación que se muestran en los gráficos de control («Control Charts»). Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

#### NOTA!

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

#### NOTA!

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

### 9.3.3 Validación de los resultados de la muestra

El **ELITE InGenius Software** interpreta los resultados de la PCR para la diana (canal **HHV7**) y el Internal Control (canal **IC**) con los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **HHV7 ELITE\_WB\_200\_100** y **HHV7 ELITE\_PL\_200\_100**. Los valores resultantes del Ct de la diana se convierten en concentración.

Los resultados se muestran en la pantalla «Results Display».

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

**Tabla 7**

1) Curva de calibración	Estado
HHV7 Q-PCR Standard	APROBADO
2) Positive Control	Estado
HHV7 Positive Control	APROBADO
3) Negative Control	Estado
HHV7 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 indica una combinación de los mensajes siguientes y especifica si se ha detectado o no el ADN de los patógenos.

**Tabla 8**

Resultado de la sesión de la muestra	Interpretación
HHV7:DNA Detected, quantity equal to "XXX" copies/mL (HHV7:ADN detectado, cantidad igual a "XXX" copias/mL)	<b>Se ha detectado ADN de VHH-7</b> en la muestra dentro del rango de medición del ensayo y se indica su concentración.
HHV7:DNA Detected, quantity below "LLoQ" copies/mL (HHV7:ADN detectado, cantidad por debajo de "LLoQ" copias/mL)	<b>Se ha detectado ADN de VHH-7</b> en la muestra, pero su concentración se encuentra por debajo del límite inferior de cuantificación del ensayo.
HHV7:DNA Detected, quantity beyond "ULoQ" copies/mL (HHV7:ADN detectado, cantidad mas alta de "ULoQ" copias/mL)	<b>Se ha detectado ADN de VHH-7</b> en la muestra, pero su concentración se encuentra por encima del límite superior de cuantificación del ensayo.
HHV7:DNA Not detected or below the "LoD" copies/mL (HHV7:ADN no detectado o por debajo de "LoD" copias/mL)	<b>No se ha detectado ADN de VHH-7</b> en la muestra. La muestra es negativa para el ADN de la diana, <b>o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.</b>
Invalid-Retest Sample (No válido-Volver a probar muestra)	<b>Resultado no válido del ensayo</b> causado por un fallo en el Internal Control (p. ej., debido a una extracción incorrecta o al arrastre de inhibidores). Es necesario repetir la prueba.

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

Si queda un volumen de eluido suficiente, dicho eluido puede volver a analizarse (tal cual o diluido) con una sesión de amplificación en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR). Si se produce un segundo resultado no válido, la muestra debe volver a analizarse a partir del paso de extracción de una nueva muestra utilizando el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR); consultar la sección «[17 PROBLEMAS Y SOLUCIONES page 46](#)».

Las muestras que se notifican como «HHV7:DNA Not Detected or below LoD copies/mL» (HHV7:ADN no detectado o por debajo de "LoD" copias/mL) son aptas para el análisis, pero no ha sido posible detectar VHH-7. En este caso, puede que la muestra sea negativa para ADN de VHH-7, o que el ADN de VHH-7 presente una concentración inferior al límite de detección del ensayo (ver sección [11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO CON EL ELITE InGenius y el ELITE BeGenius page 24](#)).

Si se detectan muestras positivas para ADN de VHH-7 a una concentración inferior al límite de detección (y al límite inferior de cuantificación) del ensayo, estas se notifican como «HHV7:DNA Detected, quantity below LLoQ copies/mL» (HHV7:ADN detectado, cantidad por debajo de “LLoQ” copias/mL); consultar la sección [11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO CON EL ELITE InGenius y el ELITE BeGenius page 24](#).

Las muestras positivas para ADN de VHH-7 dentro del rango de medición lineal (consultar «[11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO CON EL ELITE InGenius y el ELITE BeGenius page 24](#)») se detectan y notifican como «HHV7:DNA Detected, quantity equal to “XXX” copies / mL» (HHV7:ADN detectado, cantidad igual a “XXX” copias/mL).

Las muestras positivas para ADN de VHH-7 que se encuentran por encima del límite superior de cuantificación se notifican como «HHV7:DNA Detected, quantity beyond “ULoQ” copies/mL» (HHV7:ADN detectado; cantidad más alta de “ULoQ” copias/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 las muestras se guardan en la base de datos y, si son válidos pueden ser aprobados en la pantalla «Results Display» (Presentación de resultados) por usuarios cualificados como administrador («Administrator») o analista («Analyst») siguiendo las instrucciones de la interfaz. En dicha pantalla también es posible imprimir o guardar los resultados de la muestra como «Sample Report» o como «Track Report».

#### 9.3.4 Generación del informe de los resultados de la muestra

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

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

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

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

## 10 PROCEDIMIENTO CON EL ELITE BeGenius

El procedimiento para utilizar el producto **HHV7 ELITE MGB Kit** con el **ELITE BeGenius** comprende tres pasos:

**Tabla 9**

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

## 10.1 PASO 1. Verificación de la disponibilidad del sistema

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

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

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

Existen protocolos para el análisis cualitativo a petición.

## 10.2 PASO 2. Configuración de la sesión

El producto **HHV7 ELITE MGB Kit** puede utilizarse con el instrumento **ELITE BeGenius** para realizar las siguientes tareas:

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

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

### NOTA!

El **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:

Descongelar las probetas necesarias de **PCR Mix** a temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para 24 análisis en condiciones óptimas de uso (es decir, realizando al menos 2 análisis por sesión). Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo 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.

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

	<b>A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)</b>	<b>B. Sesión con la muestra; eluida modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)</b>
1	<p><b>Identificar las muestras</b> y, en caso necesario, descongelar a temperatura ambiente, mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. En caso necesario, verter 200 µL de muestra en una probeta Sarstedt de 2 mL previamente etiquetada.</p> <p><b>Descongelar las probetas de CPE</b> 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. Cada probeta es suficiente para 12 extracciones.</p>	<p>Si es necesario, <b>descongelar</b> a temperatura ambiente el «<b>Elution Tube</b>» (<b>tubo de elución</b>) que contiene los ácidos nucleicos extraídos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.</p>
2	Seleccionar « <b>Perform Run</b> » ( <b>Realizar ejecución</b> ) en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar « <b>Perform Run</b> » ( <b>Realizar ejecución</b> ) 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 tabla de preparación.
4	Seleccionar el «Run Mode»: «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	Seleccionar el «Run Mode»: «PCR Only» (Solo PCR).
5	Cargar las muestras en la «Sample Rack» (rack de muestras). Cuando se cargan probetas secundarias «2 mL Tube», utilizar los adaptadores azules para la «Sample Rack» (rack de muestras).	Cargar las muestras en la «Elution Rack» (rejilla de elución).
6	<b>Insertar la «Sample Rack»</b> (rack de muestras) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 5 (L5). En caso necesario, insertar 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.	<b>Insertar la «Elution Rack»</b> (rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). En caso necesario, para cada «Position», introducir el «SID» (ID de la muestra), la «Sample matrix» (matriz de la muestra), el «Extraction kit» (kit de extracción) y el «Extracted Eluate Volume» (volumen de elución extraído).
7	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
8	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.	No aplicable
9	Seleccionar el Assay Protocol (Protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».	Seleccionar el Assay Protocol (Protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».
10	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
11	si se procesan más de 12 muestras, repetir el procedimiento a partir del punto 6.	si se procesan más de 12 muestras, repetir el procedimiento a partir del punto 6.
12	Cargar los «Elution Tubes» (Tubos de elución) en la «Elution Rack» (rejilla de elución); las probetas de elución pueden etiquetarse con un código de barras para mejorar la rastreadibilidad.	No aplicable
13	Insertar la «Elution Rack» (rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). Si se procesan más de 12 muestras, repetir el procedimiento utilizando el «Lane 2» (L2).	No aplicable
14	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	No aplicable
15	Cargar el CPE y la PCR Mix en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución).	Cargar la PCR Mix en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución).

	<b>A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)</b>	<b>B. Sesión con la muestra; eluida modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)</b>
16	Insertar la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) en el Lane 2 (L2) de la «Cooler Unit» o, si está disponible, en el Lane 1 (L1). En caso necesario, para cada PCR Mix o CPE, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).	Insertar la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) en el Lane 2 (L2) de la «Cooler Unit» o, si está disponible, en el Lane 1 (L1). En caso necesario, para cada PCR Mix, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).
17	Hacer clic en «Next» (Siguiete) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiete) para continuar.
18	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.
19	Hacer clic en «Next» (Siguiete) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiete) para continuar.
20	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).
21	Hacer clic en «Next» (Siguiete) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiete) para continuar.
22	Cargar la «Extraction Rack» (gradilla de extracción) con los cartuchos de extracción ELITe InGenius SP 200 y los consumibles de extracción necesarios.	No aplicable
23	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.
24	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).

	<b>C. Sesión de calibración; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)</b>	<b>D. Sesión para el Positive Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)</b>
1	<b>Descongelar</b> las probetas de calibrador <b>Q-PCR Standard tubes</b> (Cal1: Q-PCR Standard 10 <sup>2</sup> , Cal2: Q-PCR Standard 10 <sup>3</sup> , Cal3: Q-PCR Standard 10 <sup>4</sup> , Cal4: Q-PCR Standard 10 <sup>5</sup> ) 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.	<b>Descongelar las probetas de Positive Control</b> 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. <b>Preparar el Negative Control</b> vertiendo al menos 50 µL de agua para biología molecular en el tubo de elución («Elution Tube») que se incluye con el ELITe InGenius SP 200 Consumable Set.
2	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).
3	Extraer las racks de los «Lanes» 1, 2 y 3 (L1, L2, L3) de la «Cooler Unit» y colocarlas en la tabla de preparación.	Extraer las racks de los «Lanes» 1, 2 y 3 (L1, L2, L3) de la «Cooler Unit» y colocarlas en la tabla de preparación.
4	Seleccionar el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).	Seleccionar el «Run Mode»: «PCR Only» (Solo PCR).
5	<b>Cargar las probetas de Q-PCR Standard</b> en la «Elution Rack» (rejilla de elución).	<b>Cargar las probetas de Positive Control y de Negative Control</b> en la «Elution Rack» (rejilla de elución).
6	<b>Insertar la «Elution Rack»</b> (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).	<b>Insertar la «Elution Rack»</b> (rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). En caso necesario, para cada «Position» introducir el «Reagent name» (nombre del reactivo), el «S/N» (número de serie) el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).
7	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
8	Seleccionar el <b>Assay Protocol (protocolo de ensayo)</b> en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».	Seleccionar el <b>Assay Protocol (protocolo de ensayo)</b> en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».
9	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
10	<b>Cargar la PCR Mix</b> en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución).	<b>Cargar la PCR Mix</b> en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución).
11	<b>Insertar la «Reagent/Elution Rack»</b> (rejilla de reactivos/elución) en la «Cooler Unit», en el Lane 2 (L2). En caso necesario, para cada PCR Mix, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).	Insertar la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) en el «Lane» 2 (L2) de la «Cooler Unit». En caso necesario, para cada PCR Mix, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).
12	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
13	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.
14	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
15	Cargar la «PCR Rack» con el <b>PCR Cassette</b> en la «Inventory Area» (área del inventario).	Cargar la «PCR Rack» con el <b>PCR Cassette</b> en la «Inventory Area» (área del inventario).
16	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.

	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)
17	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.
18	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).

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

#### NOTA!

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

#### NOTA!

Al finalizar la sesión, la **PCR Mix** puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a  $-20$  °C o a una temperatura inferior, o bien mantenerse en el bloque refrigerado durante un máximo de 7 horas (2 sesiones de 3 horas cada una y 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.

#### 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!

El calibrador **Q-PCR-Standard** puede utilizarse para 4 sesiones independientes de 2 horas cada una.

#### NOTA!

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

#### NOTA!

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

#### NOTA!

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

### 10.3 PASO 3. Evaluación y aprobación de los resultados

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

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

**NOTA!**

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

El instrumento **ELITE BeGenius** genera los resultados con el producto **HHV7 ELITE MGB Kit** mediante el siguiente procedimiento:

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

**NOTA!**

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

## 11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO CON EL ELITE InGenius y el ELITE BeGenius

### 11.1 Sensibilidad analítica: Límite de blanco con sangre

Dada la alta prevalencia del VHH-7 en la población (alrededor de 80 %) que se menciona en algunas publicaciones científicas (Michael Kidd *et al.*), cabe esperar un cierto porcentaje de resultados positivos bajos sin trascendencia clínica cuando se analizan muestras de sangre. Para poder obtener la negatividad del ensayo con estas muestras, fue necesario evaluar el valor de corte del Ct de VHH-7 a 35 en el **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius**.

En la tabla siguiente se muestran los resultados obtenidos en el ELITE InGenius:

**Tabla 10**

Límite de blanco en muestras de sangre recogida en EDTA cuando se utiliza el ELITE InGenius			
Muestras	N	positivas	negativas
Sangre recogida en EDTA negativa para ADN de VHH-7	35	0	35

En la tabla siguiente se muestran los resultados obtenidos en el ELITE BeGenius:

**Tabla 11**

Límite de blanco en muestras de sangre recogida en EDTA cuando se utiliza el ELITE BeGenius			
Muestras	N	positivas	negativas
Sangre recogida en EDTA negativa para ADN de VHH-7	20	0	20

En la prueba del límite de blanco, el producto HHV7 ELITE MGB Kit detectó correctamente todas las muestras tal como se esperaba dentro del valor de corte del Ct establecido para la diana.

### 11.2 Sensibilidad analítica: Límite de detección (LoD)

El límite de detección (LoD) de la amplificación de ADN permite detectar la presencia de unas 10 copias en 20 µL de ADN añadidos a la reacción de amplificación.

El LoD de este ensayo se analizó en el ELITE InGenius utilizando ADN plasmídico que contenía el producto de amplificación y cuya concentración inicial se midió mediante un espectrofotómetro. El ADN plasmídico se diluyó hasta un título de 10 copias/10 µL en presencia de ADN plasmídico que contenía el Internal Control a una concentración de 20.000 copias/10 µL.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

**Tabla 12**

Muestras	N	positivas	negativas
10 copias de ADN plasmídico de VHH-7 + 20.000 copias de Internal Control	18	18	0

El valor teórico del LoD se verificó analizando en el ELITE InGenius y el ELITE BeGenius un conjunto de muestras de plasma recogido en EDTA y sangre recogida en EDTA que se enriquecieron con material de referencia de VHH-7 (ZeptoMetrix, ref. PINATHHV7-ST) a la concentración declarada.

Los resultados obtenidos confirmaron la concentración declarada para la diana del producto HHV7 ELITE MGB Kit tanto en el ELITE InGenius como en el ELITE BeGenius.

### 11.3 Rango de medición lineal

El rango de medición lineal del producto HHV7 ELITE MGB Kit se determinó con muestras de sangre y de plasma en el ELITE InGenius y el ELITE BeGenius.

En las muestras de sangre:

El rango de medición lineal se determinó utilizando un panel de diluciones del plásmido que contenía la secuencia de la diana de VHH-7 en muestras negativas de sangre recogida en EDTA.

Los resultados se muestran en la siguiente figura.

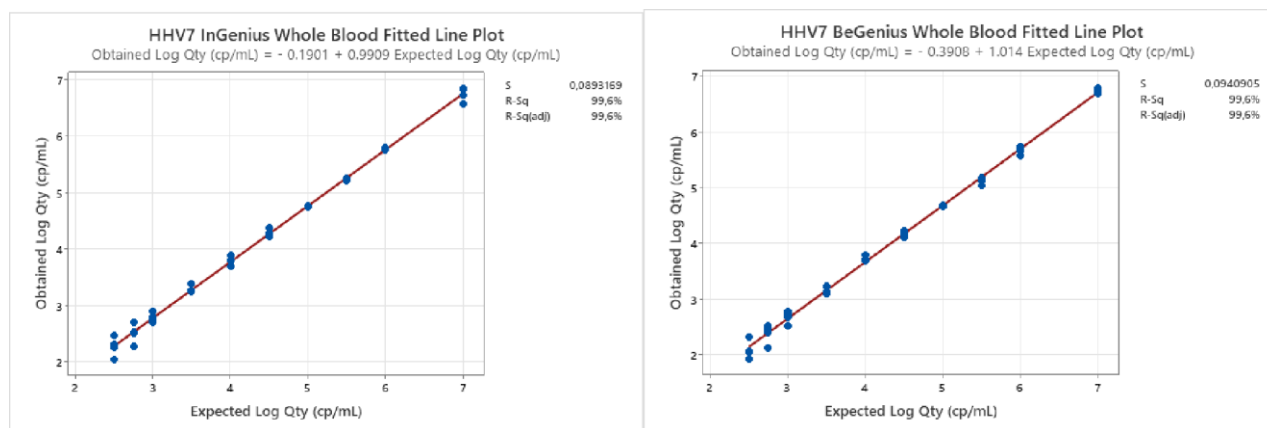


Fig. 1

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

Los resultados obtenidos con el ELITE InGenius y el ELITE BeGenius se analizaron mediante regresión ortogonal y lineal para calcular la relación entre los métodos.

Los resultados se resumen en la figura siguiente.

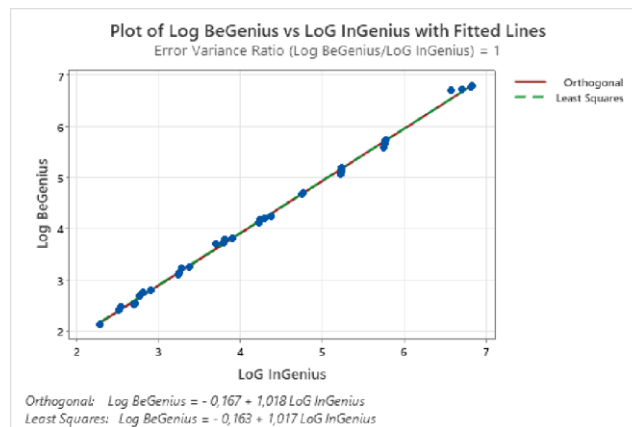


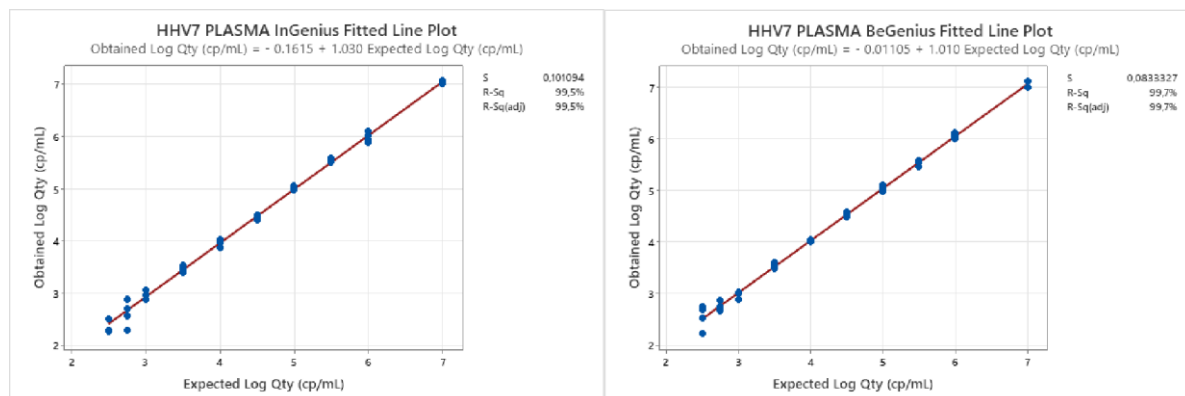
Fig. 2

El análisis de regresión ortogonal generó una intersección de -0,167 (IC del 95 %: -0,2256, -0,1075) y una pendiente de 1,018 (IC 95%: 1,0048, 1,0307). El análisis de regresión lineal generó un R2 de 0,999.

#### Plasma recogido en EDTA.

El rango de medición lineal se determinó utilizando un panel de diluciones del plásmido que contenía la secuencia de la diana de VHH-7 en muestras negativas de plasma recogido en EDTA.

Los resultados se muestran en la siguiente figura.



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

Los resultados se resumen en la figura siguiente.

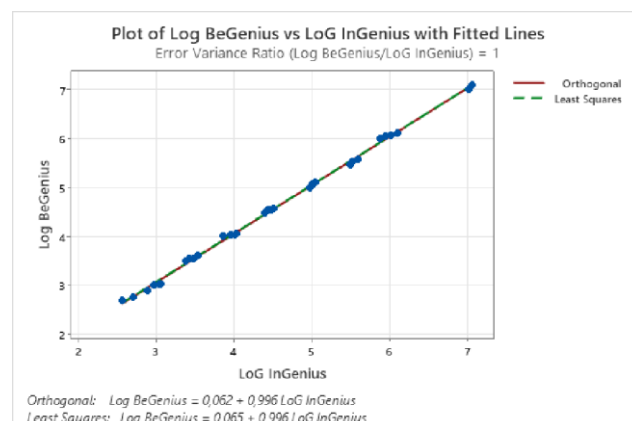


Fig. 3

El análisis de regresión ortogonal generó una intersección de 0,062 (IC del 95 %: 0,0053, 0,1194) y una pendiente de 0,996 (IC 95%: 0,9845, 1,0082). El análisis de regresión lineal generó un R2 de 0,999.

El rango de medición lineal para muestras de sangre y plasma recogidos en EDTA cubre el rango de concentración que se indica en la tabla siguiente:

**Tabla 13**

Rango de medición lineal para el producto HHV7 ELITE MGB Kit y los instrumentos ELITE InGenius y ELITE BeGenius		
Matriz	Límite inferior	Límite superior
Sangre	500 copias/mL	10.000.000 copias/mL
Plasma	500 copias/mL	10.000.000 copias/mL

#### 11.4 Incertidumbre de la curva de calibración

El valor de incertidumbre de la curva de calibración se calculó combinando los errores aleatorios (DE) de todas las cuantificaciones de nivel y multiplicando por el factor de cobertura  $k = 2$  (incertidumbre combinada ampliada) y resultó ser de 0,2181 log copias/reacción.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

**Tabla 14 Incertidumbre de la curva de calibración**

Niveles de la curva de calibración	Teóricos	DE	Incertidumbre combinada ampliada
	Log copias/reacción		
HHV7 Q - PCR Standard $10^5$	5,0000	0,0711	0,2181
HHV7 Q - PCR Standard $10^5$	4,0000	0,0372	
HHV7 Q - PCR Standard $10^5$	3,0000	0,0261	
HHV7 Q - PCR Standard $10^5$	2,0000	0,0691	

#### 11.5 Repetibilidad

La repetibilidad del ensayo se evaluó en el ELITE BeGenius y el ELITE InGenius analizando un panel de muestras de sangre recogida en EDTA, negativas o enriquecidas con VHH-7 (ZeptoMetrix, ref. PINATHHV7-ST).

En la tabla siguiente se incluye un ejemplo de los resultados de repetibilidad dentro de las sesiones (en un día) obtenidos con el ELITE InGenius.

**Tabla 15**

Repetibilidad dentro de las sesiones con el ELITE InGenius					
Muestra	HHV7				% de concordancia
	Pos./Neg.	Ct medio	DE	%CV	
Negativas	0/8	N/A	N/A	N/A	100 %
3×LoD	8/8	32,97	0,38	1,14	100 %
10×LoD	8/8	31,18	0,29	0,92	100 %

En la tabla siguiente se incluye un ejemplo de los resultados de repetibilidad dentro de las sesiones (en un día) obtenidos con el ELITE BeGenius.

**Tabla 16**

Repetibilidad dentro de las sesiones con el ELITE BeGenius					
Muestra	HHV7				% de concordancia
	Pos./Neg.	Ct medio	DE	%CV	
Negativas	0/8	N/A	N/A	N/A	100 %
3×LoD	8/8	34,52	0,30	0,88	100 %
10×LoD	8/8	32,36	0,22	0,69	100 %

En la tabla siguiente se muestran los resultados de la repetibilidad entre sesiones (en dos días) obtenidos con el ELITE InGenius.

**Tabla 17**

Repetibilidad entre sesiones con el ELITE InGenius					
Muestra	HHV7				% de concordancia
	Pos./Neg.	Ct medio	DE	%CV	
Negativas	0/16	N/A	N/A	N/A	100 %
3×LoD	16/16	33,07	0,36	1,09	100 %
10×LoD	16/16	31,17	0,24	0,77	100 %

En la tabla siguiente se muestran los resultados de la repetibilidad entre sesiones (en dos días) obtenidos con el ELITE BeGenius.

**Tabla 18**

Repetibilidad entre sesiones con el ELITE BeGenius					
Muestra	HHV7				% de concordancia
	Pos./Neg.	Ct medio	DE	%CV	
Negativas	0/16	N/A	N/A	N/A	100 %
3×LoD	16/16	34,41	0,49	1,42	100 %
10×LoD	16/16	32,34	0,30	0,92	100 %

En la prueba de repetibilidad, el producto HHV7 ELITE MGB Kit detectó todas las muestras como se esperaba y mostró una variabilidad máxima de los valores de Ct de la diana como un %CV del 1,42 %.

## 11.6 Reproducibilidad

La reproducibilidad del ensayo se evaluó en el ELITE BeGenius y el ELITE InGenius analizando muestras de sangre recogida en EDTA, negativas para ADN de VHH-7 o enriquecidas con VHH-7 (ZeptoMetrix, ref. PINATHHV7-ST).

En la tabla siguiente se muestran los resultados de reproducibilidad entre lotes (dos lotes) obtenidos con el ELITE InGenius.

**Tabla 19**

Reproducibilidad entre lotes con el ELITE InGenius					
Muestra	HHV7				% de concordancia
	Pos./Dup.	Ct medio	DE	%CV	
Negativas	0/8	-	-	-	100 %
3×LoD	8/8	33,39	0,20	0,59	100 %
10×LoD	8/8	31,39	0,18	0,57	100 %

En la tabla siguiente se muestran los resultados de reproducibilidad entre lotes (dos lotes) obtenidos con el ELITE BeGenius.

**Tabla 20**

Reproducibilidad entre lotes con el ELITE BeGenius					
Muestra	HHV7				% de concordancia
	Pos./Dup.	Ct medio	DE	%CV	
Negativas	0/8	-	-	-	100 %
3×LoD	8/8	34,58	0,14	0,42	100 %
10×LoD	8/8	32,66	0,24	0,75	100 %

En la tabla siguiente se muestran los resultados de la prueba de reproducibilidad entre instrumentos (en dos días, dos lotes y dos instrumentos) obtenidos con el ELITE InGenius.

**Tabla 21**

Reproducibilidad entre instrumentos con el ELITE InGenius					
Muestra	HHV7				% de concordancia
	Pos./Dup.	Ct medio	DE	%CV	
Negativas	0/8	-	-	-	100 %
3×LoD	8/8	34,50	0,31	0,90	100 %
10×LoD	8/8	32,61	0,23	0,69	100 %

En la tabla siguiente se muestran los resultados de la prueba de reproducibilidad entre instrumentos (en dos días, dos lotes y dos instrumentos) obtenidos con el ELITE BeGenius.

**Tabla 22**

Reproducibilidad entre instrumentos con el ELITE BeGenius					
Muestra	HHV7				% de concordancia
	Pos./Dup.	Ct medio	DE	%CV	
Negativas	0/8	-	-	-	100 %
3×LoD	8/8	33,25	0,26	0,79	100 %
10×LoD	8/8	31,26	0,21	0,66	100 %

En la prueba de reproducibilidad, el producto HHV7 ELITe MGB Kit detectó todas las muestras como se esperaba y mostró una variabilidad máxima de los valores de Ct de la diana como un %CV del 0,90 %.

### 11.7 Especificidad diagnóstica: Confirmación de las muestras negativas

La especificidad diagnóstica del ensayo, expresada como confirmación de las muestras negativas, se evaluó con el **ELITe InGenius** analizando muestras clínicas de sangre y plasma recogidos en EDTA.

Como el **ELITe BeGenius** tiene un rendimiento analítico equivalente al **ELITe InGenius**, el rendimiento diagnóstico del ensayo realizado 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**.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente:

**Tabla 23**

Muestras	N	positivas	negativas	% de especificidad diagnóstica
Muestras de sangre recogida en EDTA	38	0	38	100 %
Muestras de plasma recogido en EDTA	33	0	33	100 %

Todas las muestras de sangre y de plasma fueron válidas para el análisis realizado. El valor de corte del Ct para la diana de VHH-7 se aplicó únicamente a las muestras de sangre.

La especificidad diagnóstica del producto HHV7 ELITe MGB Kit fue del 100 % cuando se utilizaron muestras de sangre y de plasma.

El valor de corte del Ct del IC se estableció a 35 para muestras de sangre y de plasma recogidos en EDTA, tanto en el InGenius como en el BeGenius.

### 11.8 Sensibilidad diagnóstica: confirmación de muestras positivas

La sensibilidad diagnóstica del ensayo, expresada como confirmación de las muestras positivas, se evaluó con el **ELITe InGenius** analizando muestras clínicas de sangre y plasma recogidos en EDTA.

Como el **ELITe BeGenius** tiene un rendimiento analítico equivalente al **ELITe InGenius**, el rendimiento diagnóstico del ensayo realizado 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**.

La sensibilidad diagnóstica se evaluó utilizando muestras de sangre y de plasma recogidos en EDTA, negativas para VHH-7 y enriquecidas con «Human Herpes Virus Type 7 Stock (NATHHV7-ST)» (ZeptoMetrix Corporation) a una concentración de 1000 copias/mL.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente:

**Tabla 24**

Muestras	N	positivas	negativas	% de sensibilidad diagnóstica
Sangre recogida en EDTA enriquecida con ADN de VHH-7	34	34	0	100 %
Plasma recogido en EDTA enriquecido con ADN de VHH-7	33	33	0	100 %

Todas las muestras se detectaron correctamente como positivas.

La sensibilidad diagnóstica del producto HHV7 ELITe MGB Kit fue del 100 % cuando se utilizaron muestras de sangre y de plasma recogidos en EDTA.

**NOTA!**

Los datos y resultados completos de las pruebas realizadas para evaluar las características de rendimiento del producto con las matrices y el instrumento se incluyen en la documentación técnica del producto «HHV7 ELITE MGB Kit», FTP037PLD.

## 12 MUESTRAS Y CONTROLES PARA OTROS SISTEMAS

### 12.1 Muestras

Este producto debe utilizarse con **ADN extraído** de las siguientes muestras clínicas: sangre recogida en EDTA y líquido cefalorraquídeo (LCR).

### 12.2 Sangre recogida en EDTA

Las muestras de sangre para la extracción de ADN deben recogerse en EDTA e identificarse de acuerdo con las directrices para laboratorios, así como transportarse y conservarse a temperatura ambiente (entre +16 °C y +26 °C) durante un máximo de 24 horas, o bien a una temperatura comprendida entre +2 °C y +8 °C durante un máximo de tres días; en caso contrario, deben congelarse y conservarse a -20 °C durante un máximo de 30 días, o a -70 °C durante períodos más largos.

Con el fin de evitar ciclos repetidos de congelación y descongelación, se recomienda dividir las muestras en alícuotas antes de congelarlas.

**NOTA!**

Cuando la extracción de ADN a partir de muestras de sangre se realiza con el instrumento **NucliSENS® easyMAG®**, es necesario utilizar el protocolo de extracción **Generic 2.0.1** y seguir estas instrucciones: verter **100 µL** de muestra en la tira de 8 pocillos, cargar la tira en el instrumento y realizar la extracción sin incluir una incubación por lisis. Una vez que el instrumento ha añadido el componente **NucliSENS® easyMAG® Lysis Buffer**, sin retirar la tira, mezclar tres veces el contenido de dicha tira mediante la pipeta multicanal incluida y utilizando el número de programa 3. Incubar durante 10 minutos y, después, añadir **5 µL** de **CPE** para el Internal Control y el **NucliSENS® easyMAG® Magnetic Silica** al contenido de la tira mediante la pipeta multicanal y utilizando el programa número 3 y, después, proceder a la extracción. Eluir los ácidos nucleicos en **50 µL** de tampón de elución.

**NOTA!**

Cuando la extracción de ADN a partir de sangre se realiza con el instrumento **QIASymphony® SP/AS** y el producto **QIASymphony® DNA Mini kit** con la **versión de software 3.5**, utilizar el protocolo de extracción **Virus Blood\_200\_V4\_default IC** y seguir estas instrucciones: el instrumento puede utilizar una probeta primaria; el volumen de muestra necesario para la extracción es de **200 µL** y siempre se pide un volumen muerto mínimo de 100 µL. Añadir **5 µL** de **CPE** al tampón ATE para cada muestra solicitada. En la ranura del Internal Control del instrumento, cargar las probetas que contienen la solución, tal como se indica en las instrucciones de uso del kit; indicar la posición en la que se distribuirán los eluidos y especificar un volumen de elución de **60 µL**. Para obtener más información sobre el procedimiento de extracción, seguir las indicaciones de las instrucciones de uso del kit.

### 12.3 Líquido cefalorraquídeo

Las muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR) para la extracción de ácido nucleico deben obtenerse de acuerdo con las directrices para laboratorios, evitando su contaminación con sangre del paciente, así como transportarse a una temperatura comprendida entre +2 °C y +8 °C y conservarse de +2 °C a +8 °C durante un máximo de cuatro horas; en caso contrario, deben congelarse y conservarse a -20 °C durante un máximo de 30 días, o a -70 °C durante períodos más largos.

Con el fin de evitar ciclos repetidos de congelación y descongelación, se recomienda dividir las muestras en alícuotas antes de congelarlas.

## NOTA!

Cuando la extracción de ADN a partir de muestras de líquido cefalorraquídeo se realiza con el instrumento **NucliSENS® easyMAG®**, es necesario utilizar el protocolo de extracción **Generic 2.0.1** y seguir estas instrucciones: verter **500 µL** de muestra en la tira de 8 pocillos y realizar la extracción. Después de 10 minutos de incubación, añadir **5 µL** de **CPE** para el Internal Control antes de añadir el componente **NucliSENS® easyMAG® Magnetic Silica** y, después, proceder a la extracción. Eluir los ácidos nucleicos en **100 µL** de tampón de elución.

### 12.4 Sustancias interferentes

Con el fin de evitar problemas de inhibición y el riesgo de resultados no válidos con frecuencia, el ADN extraído de la muestra no debe contener heparina, hemoglobina, dextrano, Ficoll®, etanol ni 2-propanol.

Una alta cantidad de ADN genómico humano en el ADN extraído de la muestra puede inhibir la reacción de amplificación.

No se dispone de datos sobre la inhibición provocada por antivíricos, antibióticos, antineoplásicos o inmunodepresores.

### 12.5 Controles de amplificación

Es absolutamente imprescindible validar cada sesión de amplificación con una reacción del Negative Control y una reacción del Positive Control.

Para el Negative Control, utilizar agua para biología molecular (no incluida en este kit), añadida a la reacción en lugar del ADN extraído de la muestra.

Para el Positive Control, utilizar el producto **HHV7 - ELITE Positive Control** o el producto **HHV7 ELITE Standard**.

### 12.6 Controles de calidad

Se recomienda validar el procedimiento entero de análisis de cada sesión de extracción y amplificación procesando una muestra con resultado negativo y una con resultado positivo o un material de referencia calibrado.

## 13 PROCEDIMIENTO CON OTROS SISTEMAS

### 13.1 Configuración de la sesión de amplificación en tiempo real

Debe realizarse en el área de amplificación/detección de los productos de amplificación.

Cuando se utiliza el instrumento **7300 Real-Time PCR System**.

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

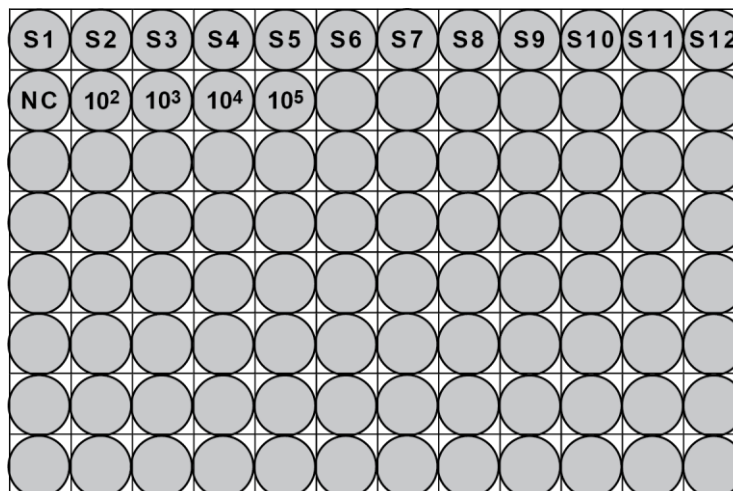
- Encender el termociclador en tiempo real, encender el ordenador, ejecutar el software específico y abrir una sesión de cuantificación absoluta («absolute quantification»).
- En el «Detector Manager» establecer el «detector» para la sonda de VHH-7 con el «reporter» = «FAM» y el «quencher» = "none" (no fluorescente) y asignarle el nombre de «HHV7».
- - Configurar («Detector Manager») el «detector» para la sonda de Internal Control con el marcador («reporter») = «VIC» (AP525 es análogo a VIC) y el inhibidor («quencher») = «none» (no fluorescente) y asignarle el nombre «IC».
- Para cada pocillo en uso de la microplaca, establecer (en el Inspector de pocillos) el «detector» (tipo de fluorescencia que se va a medir), la «referencia pasiva» = «ROX» (se utiliza AP593 en lugar de ROX, normalización de la fluorescencia medida) y el tipo de reacción (muestra, Negative Control de amplificación, Positive Control de amplificación o calibrador de cantidad conocida). Añadir esta información a la **hoja de trabajo**

adjunta al final de este manual o imprimir la configuración de la microplaca. La **hoja de trabajo** debe seguirse estrictamente a la hora de verter la mezcla de reacción y las muestras en los pocillos.

**NOTA!**

Para determinar el título de ADN en la muestra inicial, configurar una serie de reacciones con los **Q-PCR Standards** (10<sup>5</sup> copias, 10<sup>4</sup> copias, 10<sup>3</sup> copias, 10<sup>2</sup> copias) con el fin de obtener la **curva de calibración**

A continuación, se incluye un ejemplo de cómo organizar el análisis cuantitativo de 12 muestras.



**Leyenda:** **S1–S12:** Muestras que deben analizarse; **NC:** Negative Control de amplificación.

**10<sup>2</sup>:** 10<sup>2</sup> copias de calibrador; **10<sup>3</sup>:** copias de calibrador 10<sup>3</sup>; **10<sup>4</sup>:** copias de calibrador 10<sup>4</sup>; **10<sup>5</sup>:** copias de calibrador 10<sup>5</sup>.

Siguiendo las indicaciones de la documentación del instrumento, utilizar el software dedicado y elegir «Instrument (Instrumento) > Thermal Cycler Protocol (Protocolo del termociclador) > Thermal Profile (Perfil térmico)» para definir los parámetros del **ciclo térmico**:

- Añadir a la fase de amplificación el paso («Add Step») de **extensión a 72 °C**;

**NOTA!**

La adquisición de fluorescencia, que se define en «Instrument (Instrumento) > Thermal Cycler Protocol (Protocolo del termociclador) > Settings (Configuración) > Data Collection» (Recopilación de datos)» debe configurarse durante el paso de hibridación a 60 °C.

- Modificar la temporización como se indica en la tabla **«Ciclo térmico»**.

- Configurar el número de ciclos en **45**.

- Configurar el volumen para la emulación del software de la transferencia térmica a la reacción («Sample volume») en **30 µL**.

- Opcional: añadir la etapa de disociación («Add Dissociation Stage») y establecer una temperatura comprendida entre **40 °C y 80 °C**.

**Tabla 25**

Ciclo térmico		
Fase	Temperaturas	Tiempo
Descontaminación	50 °C	2 min
Desnaturalización inicial	94 °C	2 min

**Tabla 26**

Amplificación y detección (45 ciclos)	94 °C	10 s
	60 °C (adquisición de fluorescencia)	30 s
	72 °C	20 s

**Tabla 27**

Disociación (opcional)	95 °C	15 s
	40 °C	30 s
	80 °C	15 s

Cuando se utiliza un **7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument**.

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

- Encender el termociclador en tiempo real, encender el ordenador, ejecutar el software específico, abrir una sesión de cuantificación absoluta («absolute quantification») y establecer «Run mode: Fast 7500».
- En el «Detector Manager» establecer el «detector» para la sonda de VHH-7 con el «reporter» = «FAM» y el «quencher» = "none" (no fluorescente) y asignarle el nombre de «HHV7».
- En el «Detector Manager» establecer el «detector» para la sonda del Internal Control con el «reporter» = «VIC» (AP525 es similar a VIC) y el «quencher» = "none" (no fluorescente) y asignarle el nombre de «IC».
- Para cada pocillo en uso de la microplaca, establecer (en el Inspector de pocillos) el «detector» (tipo de fluorescencia que se va a medir), la «referencia pasiva» = «Cy5» (se utiliza AP593 en lugar de Cy5, normalización de la fluorescencia medida) y el tipo de reacción (muestra, Negative Control de amplificación, Positive Control de amplificación o calibrador de cantidad conocida). Añadir esta información a la **hoja de trabajo** adjunta al final de este manual o imprimir la configuración de la microplaca. La **hoja de trabajo** debe seguirse estrictamente al verter la mezcla de reacción y las muestras en los pocillos.

### NOTA!

Para determinar el título de ADN en la muestra inicial, configurar una serie de reacciones con los **Q-PCR Standards** (10<sup>5</sup> copias, 10<sup>4</sup> copias, 10<sup>3</sup> copias, 10<sup>2</sup> copias) con el fin de obtener la **curva de calibración**.

La configuración del análisis cuantitativo de 12 muestras se indica, a modo de ejemplo, en la sección anterior, donde se describe el procedimiento para el instrumento **7300 Real Time PCR System**.

Siguiendo las indicaciones de la documentación del instrumento, utilizar el software dedicado y elegir «Instrument (Instrumento) > Thermal Cycler Protocol (Protocolo del termociclador) > Thermal Profile (Perfil térmico)» para definir los parámetros del **ciclo térmico**:

- En la fase de amplificación, añadir el paso («Add Step») de **extensión a 72 °C**.
- 

### NOTA!

La adquisición de fluorescencia, en «Instrument» (Instrumento) > «Thermal Cycler Protocol» (Protocolo del termociclador) > «Settings» (Configuración) > «Data Collection» (Recopilación de datos), debe establecerse durante el paso de hibridación a 60 °C.

- Modificar el tiempo tal como se indica en la tabla **Ciclo térmico**.
- Establecer el número de ciclos a **45**.
- Establecer el volumen para la emulación por software de la transferencia térmica a la reacción a **30 µL** utilizando «Sample Volume» (Volumen de la muestra).
- Opcional: añadir la etapa de disociación («Add Dissociation Stage») y establecer una temperatura comprendida entre **40 °C y 80 °C**.

Tabla 28

Ciclo térmico		
Fase	Temperaturas	Tiempo
Descontaminación	50 °C	2 min
Desnaturalización inicial	94 °C	2 min

Tabla 29

Amplificación y detección (45 ciclos)	94 °C	10 s
	60 °C (adquisición de fluorescencia)	30 s
	72 °C	20 s

Tabla 30

Disociación (opcional)	95 °C	15 s
	40 °C	1 min
	80 °C	15 s
	60 °C	15 s

### 13.2 Configuración de la amplificación

Esta tarea debe realizarse en la extracción/preparación del área de la reacción de amplificación.

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

- Tomar y descongelar las probetas que contienen las muestras que van a analizarse. Mezclar suavemente, centrifugar el contenido durante 5 segundos y conservarlo en hielo.
  - Tomar y descongelar las probetas de **HHV7 Q - PCR Mix** que se necesitan para la sesión, teniendo en cuenta que cada probeta es suficiente para preparar **25 reacciones**. Mezclar suavemente, centrifugar el contenido durante 5 segundos y conservarlo en hielo.
  - Tomar y descongelar las probetas de **HHV7 - Positive Control** o de **HHV7 Q - PCR Standard**. Mezclar suavemente, centrifugar el contenido durante 5 segundos y conservarlo en hielo.
  - Tomar la **microplaca de amplificación** que se utilizará durante la sesión, manipulándola con guantes sin talco y teniendo cuidado de no dañar los pocillos.
  - Tomar la **hoja de sellado de amplificación** que se utilizará durante la sesión, teniendo cuidado de manipularla con guantes sin polvo y de no dañarla.
1. Pipetear de forma exacta **20 µL** de **HHV7 Q - PCR Mix** en el fondo de los pocillos de la **microplaca de amplificación**, tal como se ha establecido previamente en la **hoja de trabajo**. Evitar la formación de burbujas.

#### NOTA!

Si no se utiliza toda la mezcla de reacción, conservar el volumen que queda en un lugar protegido de la luz a -20 °C durante un máximo de un mes. Congelar y descongelar la mezcla de reacción un máximo de **5 veces**.

2. Pipetear de forma exacta, vertiendo en la mezcla de reacción **10 µL** de **extracto de ADN** de la primera muestra en el pocillo correspondiente de la **microplaca de amplificación**, tal como se ha establecido anteriormente en la **hoja de trabajo**. Mezclar bien la muestra pipeteando el **ADN extraído** tres veces en la mezcla de reacción. Evitar la formación de burbujas. Proceder de la misma forma con otras muestras del **ADN extraído**.
3. Pipetear de forma exacta, introduciendo en la mezcla de reacción 10 µL de agua para biología molecular (no incluida con este producto) en el pocillo de la microplaca de amplificación del Negative Control de

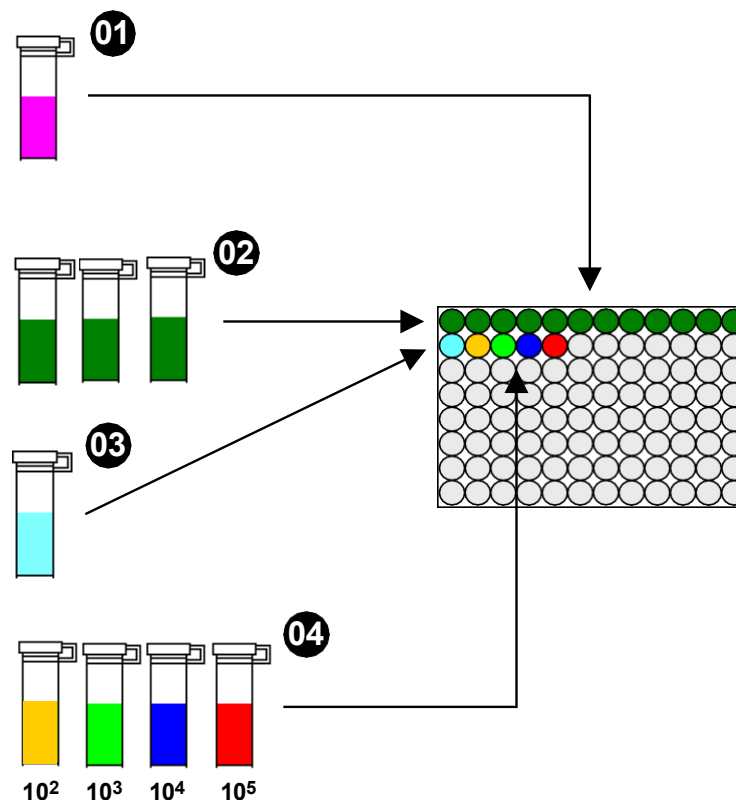
amplificación, tal como se ha establecido previamente en la hoja de trabajo. Mezclar bien el Negative Control pipeteando el agua para biología molecular tres veces en la mezcla de reacción. Evitar la formación de burbujas.

4. Según el resultado necesario (cualitativo o cuantitativo), es preciso seguir una de estas dos opciones:
  - Si se necesita un resultado **cualitativo** (detección de ADN de VHH-7), pipetear de forma exacta, introduciendo en la mezcla de reacción **10 µL de HHV7 - Positive Control** en el pocillo correspondiente de la **microplaca de amplificación**, tal como se ha establecido previamente en la **hoja de trabajo**. Mezclar bien el Positive Control pipeteando el volumen de 10 µL tres veces en la mezcla de reacción. Evitar la formación de burbujas.
  - Si se necesita un resultado **cuantitativo** (cuantificación de ADN de VHH-7), pipetear de forma exacta, introduciendo en la mezcla de reacción **10 µL de HHV7 Q - PCR Standard 102** en el pocillo correspondiente de la microplaca de amplificación, tal como se ha establecido previamente en la **hoja de trabajo**. Mezclar bien el calibrador pipeteando el volumen de 10 µL tres veces en la mezcla de reacción. Evitar la formación de burbujas. Proceder de la misma manera con los componentes **HHV7 Q - PCR Standards 10<sup>3</sup>, 10<sup>4</sup> y 10<sup>5</sup>**.
5. Sellar de forma exacta la **microplaca de amplificación** con la **placa de sellado de amplificación**.
6. Verter el contenido de la **microplaca de amplificación** en el termociclador en tiempo real (en el área de amplificación/detección de los productos de amplificación) y comenzar el ciclo térmico para la amplificación guardando la configuración de la sesión con un nombre de archivo único y reconocible (por ejemplo «año-mes-día-HHV7-ELITECHGROUP»).

#### NOTA!

Al final del ciclo térmico, la **microplaca de amplificación** con los productos de reacción debe retirarse del instrumento y eliminarse sin generar contaminación ambiental. Para evitar que se derramen los productos de la reacción, **la lámina de sellado de amplificación no debe retirarse de la microplaca de amplificación**.

La figura siguiente muestra de forma esquemática la preparación de la reacción de amplificación.



1. Añadir 20  $\mu$ L de Q-PCR Mix
2. Añadir 10  $\mu$ L de ADN extraído
3. Añadir 10  $\mu$ L de Negative Control
4. Añadir 10  $\mu$ L de Positive Control o de Q-PCR Standard

#### NOTA!

Si la preparación de la amplificación se realiza con el instrumento **QIASymphony® SP/AS**, insertar la microplaca que contiene los extractos, los reactivos y la microplaca de amplificación en las ranuras previstas a tal efecto, utilizando los adaptadores especiales; a continuación, seguir las indicaciones de las instrucciones de uso del módulo de configuración y los pasos indicados por el software.

### 13.3 Análisis cualitativo de los resultados

Los valores registrados de la fluorescencia emitida por la sonda específica HHV7 (detector FAM «HHV7») y por la sonda específica del Internal Control (detector VIC «IC») en las reacciones de amplificación deben analizarse con el software del instrumento.

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

- Utilizando «Results» (Resultados) > «Amplification plot» (Gráfico de amplificación) > «delta Rn vs Cycle» (Diferencia Rn frente a ciclo), establecer manualmente el rango de cálculo para el **valor de referencia** (nivel de fluorescencia de fondo) del ciclo al 6 al ciclo 15.

#### NOTA!

en el caso de una muestra positiva con un alto título de ADN de HHV7, la fluorescencia FAM de la sonda específica del HHV7 puede empezar a aumentar antes del ciclo 15. En este caso, el rango de cálculo para el **punto de referencia** debe adaptarse del ciclo 6 al ciclo en el que la fluorescencia FAM de la muestra empieza a aumentar, según ha detectado el software del instrumento («Results > Component»).

Cuando se usa un **sistema de PCR en tiempo real 7300**:

- Configurar manualmente el **umbral** para el detector FAM «HHV7» en **0,1**.
- Configurar manualmente el **umbral** para el «IC» del detector VIC a **0,05**.

Si se utiliza un **7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument**, tener en cuenta lo siguiente:

- Configurar manualmente el **umbral** para el detector FAM «HHV7» en **0,2**.
- Configurar manualmente el **umbral** para el «IC» del detector VIC a **0,1**.

Los valores de fluorescencia emitidos por las sondas específicas en la reacción de amplificación y el valor **umbral** de fluorescencia permiten determinar el **ciclo umbral (Ct)**, es decir, el ciclo en el que la fluorescencia ha alcanzado el valor **umbral**.

En la reacción de amplificación del **Positive Control\***, el valor del **Ct** para el VHH-7, en «Results» (Resultados) > «Report» (Informe), se utiliza para validar la amplificación y la detección tal como se describe en la tabla siguiente:

**Tabla 31**

Reacción del Positive Control; detector FAM «HHV7»	Resultado del ensayo	Amplificación/Detección
<b>Ct ≤25</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>CORRECTA</b>

Si el resultado de la amplificación del **Positive Control** es **Ct >25** o **Ct Undetermined** para VHH-7, significa que el ADN de la diana no se ha detectado correctamente. Esto significa que se han producido problemas durante el paso de amplificación o detección (distribución incorrecta de la mezcla de reacción o del Positive Control, degradación de la mezcla de reacción o del Positive Control, configuración incorrecta de la posición del Positive Control o configuración incorrecta del ciclo térmico), lo que puede dar lugar a resultados incorrectos. La sesión no es válida y debe repetirse a partir del paso de amplificación.

### NOTA!

Cuando este producto se utiliza para la cuantificación de ADN de VHH-7, se configuran las reacciones del **Q - PCR Standard** en lugar de la reacción del **Positive Control**. Si esto ocurre, validar la amplificación y la detección basándose en la reacción de amplificación del **Q - PCR Standard 10<sup>5</sup> (Ct ≤ 25)**.

En la reacción de amplificación del **Negative Control\***, el valor del **Ct** para el VHH-7, en «Results» (Resultados) > «Report» (Informe), se utiliza para validar la amplificación y la detección tal como se describe en la tabla siguiente:

**Tabla 32**

Reacción del Negative Control; detector FAM «HHV7»	Resultado del ensayo	Amplificación/Detección
<b>Ct Undetermined</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>CORRECTA</b>

Si el resultado de la reacción de amplificación para el **Negative control** es distinto del valor de **Ct Undetermined** para VHH-7, significa que se ha detectado ADN de la diana. Esto significa que se han producido problemas durante el paso de amplificación (contaminación), lo que puede dar lugar a resultados incorrectos y falsos positivos. La sesión no es válida y debe repetirse a partir del paso de amplificación.

En la reacción de amplificación de cada **muestra**, el valor del **Ct** del VHH-7 se utiliza para detectar el ADN de la diana, mientras que el valor del **Ct** del Internal Control se utiliza para validar la extracción, la amplificación y la detección.

### NOTA!

utilizar el software del instrumento («Results > Amplification plot > delta Rn vs Cycle») para verificar que el valor de **Ct** se haya determinado mediante un aumento rápido y uniforme de los valores de fluorescencia y no mediante picos o un aumento del fondo (fondo irregular o alto).

Este producto es capaz de detectar una cantidad mínima de unas 10 copias de ADN para la región de un gen de la proteína de cápside (U57) de VHH-7 en la reacción de amplificación, lo que corresponde a los equivalentes genómicos por reacción (para límite de detección del producto, consultar el apartado [11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO CON EL ELITE InGenius y el ELITE BeGenius page 24](#)).

Los resultados expresados como **Ct** de las reacciones de amplificación de cada **muestra**, en «Results» (Resultados) > «Report» (Informe) se utilizan tal como se describe en la tabla siguiente:

**Tabla 33**

Reacción de la muestra		Idoneidad de la muestra	Resultado del ensayo	ADN de VHH-7
detector FAM «HHV7»	detector VIC «IC»			
Ct Undetermined	Ct >35 o Ct Undetermined	No idónea	no válido	-
	Ct ≤35	idónea	Válido, negativo	NO DETECTADO
Ct Determined	Ct >35 o Ct Undetermined	idónea	Válido, positivo	DETECTADO
	Ct ≤35	idónea	Válido, positivo	DETECTADO

Si el resultado de la reacción de amplificación de una muestra es **Ct Undetermined** para el VHH-7 y **Ct > 35** o **Ct Undetermined** para el Internal Control, significa que ha sido imposible detectar de forma eficaz ADN para el Internal Control. En este caso, se han producido problemas durante el paso de amplificación (amplificación ineficaz o ausente) o durante el paso de extracción (degradación del ADN del Internal Control, muestra con un número demasiado bajo de células, reducción del título de ADN durante la extracción o la presencia de inhibidores en el ADN extraído), lo que puede dar lugar a resultados incorrectos y falsos negativos. La muestra no es idónea, el ensayo no es válido y debe repetirse a partir de la extracción de una nueva muestra.

Si el resultado de la reacción de amplificación de una muestra es **Ct Undetermined** para el VHH-7 y **Ct ≤ 35** para el Internal Control, significa que no se ha detectado ADN de VHH-7 en el ADN extraído de la muestra, si bien no puede descartarse que el ADN del VHH-7 esté presente a un título inferior al límite de detección del producto (consultar [11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO CON EL ELITE InGenius y el ELITE BeGenius page 24](#)). Si esto ocurre, puede obtenerse un resultado falso negativo.

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

#### NOTA!

Cuando en la reacción de amplificación de una muestra se detecta ADN de VHH-7, el Internal Control puede dar un resultado de **Ct > 35** o de **Ct Undetermined**. De hecho, la reacción de amplificación de baja eficacia para el Internal Control puede verse desplazada por la competencia con la reacción de amplificación de alta eficacia para el ADN de VHH-7. No obstante, en este caso, la muestra es adecuada y el resultado positivo del ensayo es válido.

### 13.4 Análisis cuantitativo de los resultados

Tras el procedimiento de análisis cualitativo de los resultados, se puede llevar a cabo el análisis cuantitativo de los resultados de las muestras positivas.

En las reacciones de amplificación de los cuatro calibradores **Q-PCR Standard**, los valores de **Ct** del VHH-7 se utilizan para calcular la **curva de calibración** («Results > Standard Curve») para la sesión de amplificación y para validar la amplificación y la detección tal como se describe en la tabla siguiente:

**Tabla 34**

Curva de calibración; detector FAM «HHV7»	Rango de aceptabilidad	Amplificación/Detección
Coefficiente de correlación (R2)	0,990 ≤ R2 ≤ 1,000	CORRECTA

Si el valor del **coeficiente de correlación (R2)** no se encuentra dentro de los límites, significa que se han producido problemas durante el paso de amplificación o detección (distribución incorrecta de la mezcla de reacción o de los calibradores, degradación de la mezcla de reacción o de los calibradores, ajuste incorrecto de la posición de los calibradores, ajuste incorrecto del ciclo térmico), lo que puede dar lugar a resultados incorrectos. La sesión no es válida y debe repetirse a partir del paso de amplificación.

Los valores **Ct** del HHV7 en la reacción de amplificación de cada **muestra** y la **curva estándar** de la sesión de amplificación se utilizar para calcular la **cantidad** de ADN diana presente en las reacciones de amplificación de las muestras.

Este producto puede cuantificar de 1.000.000 a 10 copias de ADN para la región de un gen de la proteína de cápside (U57) del VHH-7 en la reacción de amplificación, que corresponden a los equivalentes genómicos por reacción (rango de medición lineal, consultar la sección «Características de rendimiento»), tal como se describe en la tabla siguiente:

**Tabla 35**

Resultado de la muestra; detector FAM «HHV7»	Equivalentes genómicos del VHH-7 por reacción
Cantidad >1 × 10 <sup>6</sup>	MÁS DE 1.000.000
1 × 10 <sup>1</sup> ≤ cantidad ≤ 1 × 10 <sup>6</sup>	= cantidad
Cantidad <1 × 10 <sup>1</sup>	MENOS DE 10

Los resultados (**cantidad**) de cada **muestra** («Results > Report») se utilizan para calcular los equivalentes genómicos (**gEq**) de VHH-7 presentes en la muestra utilizada en la extracción (**Nc**) según la fórmula siguiente:

**Tabla 36**

$$Nc \text{ (gEq / mL)} = \frac{Ve \times \text{cantidad}}{(Vc \times Va \times Ep)}$$

Donde:

**Vc** es la cantidad de la muestra utilizada en la extracción con respecto a la unidad de medida necesaria.

**Ep** es la eficiencia del procedimiento, extracción y amplificación, **expresada en decimales**.

**Ve** es el volumen total del producto de extracción, **expresado en µL**;

**Va** es el volumen del producto de extracción utilizado en la reacción de amplificación, **expresado en µL**;

**Cantidad** es el resultado de la reacción de amplificación de la muestra, **expresado en gEq por reacción**.

Cuando el sistema de extracción **NucliSENS® easyMAG®** se utiliza con muestras de sangre recogida en EDTA y se necesita un resultado expresado en **gEq/mL**, se aplica la fórmula siguiente:

**Tabla 37**

Fórmula simplificada para muestras de sangre y el sistema NucliSENS® easyMAG®
$Nc \text{ (gEq / mL)} = 100 \times \text{cantidad}$

Cuando el sistema de extracción **NucliSENS® easyMAG®** se utiliza con muestras de líquido cefalorraquídeo y se necesita un resultado expresado en **gEq/mL**, se aplica la fórmula siguiente:

**Tabla 38**

Fórmula simplificada para muestras de líquido cefalorraquídeo y el sistema NucliSENS® easyMAG®
$Nc \text{ (gEq / mL)} = 20 \times \text{cantidad}$

Cuando el sistema de extracción **QIASymphony® SP/AS** se utiliza con muestras de sangre recogida en EDTA y se necesita un resultado **expresado en gEq/mL**, se aplica la fórmula siguiente:

**Tabla 39**

<b>Fórmula simplificada para muestras de sangre y el sistema QIASymphony® SP/AS</b>
$Nc \text{ (gEq / mL)} = 45 \times \text{cantidad}$

### 13.5 Cálculo de los límites del rango de medición lineal

Los límites del rango de medición lineal, expresados en gEq / mL, cuando se utiliza un método de extracción concreto, pueden calcularse a partir del rango de medición lineal de la reacción de amplificación según la fórmula siguiente:

**Tabla 40**

$\text{Límite inferior (gEq/mL)} = \frac{Ve \times 10 \text{ gEq}}{(Vc \times Va \times Ep)}$
---

**Tabla 41**

$\text{Límite superior (gEq/mL)} = \frac{Ve \times 1.000.000 \text{ gEq}}{(Vc \times Va \times Ep)}$
--

Cuando el sistema de extracción **NucliSENS® easyMAG®** se utiliza con muestras e sangre recogida en EDTA, se aplica la fórmula siguiente:

**Tabla 42**

<b>Límites del rango de medición lineal (gEq/mL) con el sistema NucliSENS® easyMAG®</b>
$\begin{aligned} \text{Límite inferior (gEq / mL)} &= 100 \times 10 \text{ gEq} \\ \text{Límite superior (gEq / mL)} &= 100 \times 1.000.000 \text{ gEq} \end{aligned}$
<b>de 1000 a 100,000,000 gEq/mL</b>

Cuando el sistema de extracción **NucliSENS® easyMAG®** se utiliza con muestras e líquido cefalorraquídeo, se aplica la fórmula siguiente:

**Tabla 43**

<b>Límites del rango de medición lineal (gEq/mL) con el sistema NucliSENS® easyMAG®</b>
$\begin{aligned} \text{Límite inferior (gEq / mL)} &= 20 \times 10 \text{ gEq} \\ \text{Límite superior (gEq / mL)} &= 20 \times 1.000.000 \text{ gEq} \end{aligned}$
<b>de 200 a 20,000,000 gEq/mL</b>

Cuando el sistema de extracción **QIASymphony® SP/AS** se utiliza con muestras e sangre recogida en EDTA, se aplica la fórmula siguiente:

Tabla 44

Límites del rango de medición lineal (gEq/mL) con el sistema QIASymphony® SP/AS
Límite inferior (gEq / mL) = $45 \times 10$ gEq Límite superior (gEq / mL) = $45 \times 1.000.000$ gEq
de 450 a 45,000,000 gEq/mL

## 14 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO CON OTROS SISTEMAS

### 14.1 Sensibilidad analítica: límite de detección

La sensibilidad analítica de este ensayo permite detectar la presencia de unas 10 moléculas de ADN diana en 10 µL de ADN añadido a la reacción de amplificación.

La sensibilidad analítica de este ensayo, definida como límite de detección, se evaluó utilizando ADN plasmídico que contenía el producto de amplificación en una concentración inicial medida con el espectrofotómetro. El ADN plasmídico se diluyó a un título de 10 copias/10 µL con ADN del IC, diluidas a un título de 20.000 copias/10 µL, en ADN genómico humano a un título de 500 ng/10 µL. Esta muestra se analizó en 50 duplicados llevando a cabo la amplificación con productos de ELITechGroup S.p.A.

Los resultados finales se resumen en la tabla siguiente.

Tabla 45

Muestras	N.º	positivas	negativas
10 copias de ADN plasmídico + 20.000 copias de ADN de IC + 500 ng de ADN genómico humano	50	50	0

### 14.2 Sensibilidad analítica: rango de medición lineal

La sensibilidad analítica de este ensayo permite efectuar la cuantificación de 1.000.000 a 10 moléculas de ADN diana en los 10 µL de ADN añadidos a la reacción de amplificación.

La sensibilidad analítica de este ensayo se determinó utilizando un panel de diluciones (pasos de dilución de 1 log10) de un ADN plasmídico que contenía el producto de amplificación y cuya concentración inicial se midió mediante un espectrofotómetro. Las diluciones de  $10^7$  moléculas por reacción a  $10^1$  moléculas por reacción se analizaron en 9 duplicados, realizando la amplificación con productos de ELITechGroup S.p.A.

El análisis de los datos obtenidos, realizado mediante regresión lineal, demostró que el ensayo presenta una respuesta lineal para todas las diluciones (coeficiente de correlación cuadrática superior a 0,99).

El límite superior del rango de medición lineal se estableció a  $10^6$  moléculas por reacción, correspondientes a los equivalentes genómicos por reacción, dentro de un logaritmo a partir de la concentración más alta ( $10^5$  moléculas/10 µL) del calibrador de amplificación «Q-PCR Standard».

El límite inferior del rango de medición lineal se estableció a 10 moléculas por reacción, correspondientes a los equivalentes genómicos por reacción, dentro de un logaritmo a partir de la concentración más baja ( $10^2$  moléculas/10 µL) del calibrador de amplificación «Q-PCR Standard».

Los resultados finales se resumen en la tabla siguiente.

Tabla 46

Rango de medición lineal (gEq/reacción)	
Límite superior	1.000.000 gEq de ADN/reacción
Límite inferior	10 gEq de ADN/reacción

Los límites del rango de medición lineal, como **gEq/ml**, que conciernen al kit de extracción empleado se calculan en la página 26.

### 14.3 Sensibilidad analítica: Precisión y exactitud

La precisión del ensayo, definida como la variabilidad de los resultados obtenidos con varios duplicados de una muestra analizada en la misma sesión, permitió obtener un coeficiente de variación porcentual (%CV) medio de un 25,9 % de las cantidades medidas, dentro del margen de  $10^6$  a  $10^1$  moléculas, en los 10  $\mu$ L de ADN añadidos a la reacción de amplificación.

La exactitud del ensayo, definida como la diferencia entre la media de los resultados obtenidos con varios duplicados de una muestra analizada en la misma sesión y la concentración teórica de la muestra, permitieron obtener una inexactitud porcentual media (% de inexactitud) de un 9,0 % de las cantidades medidas, dentro del margen de  $10^6$  a  $10^1$  moléculas, en los 10  $\mu$ L de ADN añadidos a la reacción de amplificación.

La precisión y la exactitud se calcularon utilizando los datos obtenidos para el estudio del rango de medición lineal.

### 14.4 Sensibilidad analítica: eficiencia de detección y cuantificación en distintos genotipos/subtipos

La sensibilidad analítica del ensayo, definida como la eficacia de detección y cuantificación en distintos genotipos/subtipos, se evaluó comparando secuencias con bases de datos de nucleótidos.

El análisis de las regiones elegidas para la hibridación de los cebadores y de la sonda fluorescente en la alineación de las secuencias disponibles en la base de datos para el gen **U57** del VHH-7 mostró conservación y ausencia de mutaciones reseñables.

### 14.5 Sensibilidad diagnóstica: confirmación de las muestras positivas

La sensibilidad diagnóstica del ensayo, definida como la confirmación de las muestras clínicas positivas, se evaluó analizando algunas muestras clínicas positivas para ADN de VHH-7.

La sensibilidad diagnóstica se evaluó utilizando como material de referencia 23 muestras negativas de sangre recogida en EDTA (analizadas con un producto de amplificación anidada para diagnóstico *in vitro* con marcado CE), que se enriquecieron a un título igual a tres veces el límite de detección para ADN de VHH-7 con la muestra de referencia certificada «HHV7 Culture Fluid» (ref. 0810071CF, ZeptoMetrix, EE. UU.). Cada muestra se analizó llevando a cabo el procedimiento entero de análisis, extracción y amplificación con productos ELITechGroup S.p.A.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente:

**Tabla 47**

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre entera recogida en EDTA con incremento para el ADN del HHV7	23	23	0

La sensibilidad diagnóstica del ensayo fue del 100 %.

La sensibilidad diagnóstica se evaluó utilizando como material de referencia 25 muestras de líquido cefalorraquídeo negativas para ADN de VHH-7 (analizadas con un producto de amplificación anidada para diagnóstico *in vitro* con marcado CE) que se enriquecieron a un título igual a tres veces el límite de detección para ADN de VHH-7 con la muestra de referencia certificada «HHV7 Culture Fluid» (Ref. 0810071CF, ZeptoMetrix, EE. UU.). Cada muestra se analizó llevando a cabo todo el procedimiento de análisis: extracción, con el sistema automático NucliSENS® easyMAG® y amplificación, con productos de ELITechGroup S.p.A.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente:

**Tabla 48**

Muestras	N	positivas	negativas
Líquido cefalorraquídeo enriquecido con ADN de VHH-7	25	25	0

La sensibilidad diagnóstica del ensayo fue del 100 %.

#### 14.6 Especificidad analítica: ausencia de reactividad cruzada con marcadores potencialmente interferentes

La especificidad analítica del ensayo, expresada como ausencia de reactividad cruzada con otros marcadores potencialmente interferentes, se evaluó comparando las secuencias con las bases de datos de nucleótidos.

El análisis de la alineación de las secuencias de los cebadores y de la sonda fluorescente con las secuencias disponibles en las bases de datos de microorganismos diferentes del VHH-7, inclusive los genomas completos del CMV, del VEB y del VHH-6, los virus del herpes humano que son más similares al VHH-7, mostró especificidad y ausencia de homologías reseñables.

La especificidad analítica del ensayo, expresada como ausencia de reactividad cruzada con otros marcadores potencialmente interferentes, se evaluó utilizando muestras clínicas negativas para ADN de VHH-7, pero positivas para otros patógenos.

La especificidad analítica se verificó utilizando como material de referencia 12 muestras de sangre recogida en EDTA que resultaron ser negativas para ADN de VHH-7 (analizadas con un producto de amplificación anidada para diagnóstico *in vitro* con marcado CE), pero positivas para ADN de otros patógenos (CMV, VEB y VHH-6). Cada muestra se analizó llevando a cabo todo el procedimiento de análisis: extracción y amplificación, con productos de ELITechGroup S.p.A.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente:

**Tabla 49**

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre recogida en EDTA positiva para CMV	4	0	4
Sangre recogida en EDTA positiva para EBV	6	0	6
Sangre recogida en EDTA positiva para VHH-6	1	0	1
Sangre recogida en EDTA positiva para VHH-6 y VEB	1	0	1

#### 14.7 Especificidad diagnóstica: confirmación de las muestras negativas

La especificidad diagnóstica del ensayo, definida como confirmación de las muestras negativas, se evaluó analizando algunas muestras clínicas negativas para ADN de VHH-7.

La especificidad diagnóstica se evaluó utilizando como material de referencia 23 muestras de sangre recogida en EDTA que eran negativas para ADN de VHH-7 (analizadas con un producto de amplificación anidada para diagnóstico *in vitro* con marcado CE). Cada muestra se analizó llevando a cabo todo el procedimiento de análisis: extracción y amplificación, con productos de ELITechGroup S.p.A.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente:

**Tabla 50**

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre recogida EDTA negativa para ADN de VHH-7	23	0	23

La sensibilidad diagnóstica del ensayo en este análisis fue del 100 %.

La especificidad diagnóstica se evaluó utilizando como material de referencia 26 muestras de líquido cefalorraquídeo que eran negativas para ADN de VHH-7 (analizadas con un producto de amplificación anidada para diagnóstico *in vitro* con marcado CE). Cada muestra se analizó llevando a cabo todo el procedimiento de análisis: extracción con el sistema automático NucliSENS® easyMAG® y amplificación, con productos de ELITechGroup S.p.A.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente:

**Tabla 51**

Muestras	N	positivas	negativas
Líquido cefalorraquídeo negativo para ADN de VHH-7	26	1	25

Una muestra dio un resultado positivo para ADN de VHH-7, diferente del resto, con un título inferior a 1 copia/reacción. Esta diferencia puede explicarse teniendo en cuenta que las muestras con títulos tan bajos pueden dar alternativamente y al azar resultados positivos y negativos.

La sensibilidad diagnóstica del ensayo en este análisis fue del 96,1 %.

### NOTA!

Los datos completos y los resultados de las pruebas realizadas para evaluar las características de rendimiento del producto con matrices e instrumentos se incluyen en la documentación técnica del producto «HHV7 ELITe MGB Kit®Kit», FTP RTS037PLD.

## 15 BIBLIOGRAFÍA

F. Drago *et al.* (1997) Lancet 349: 1367 - 1368 (Anexo n.º 1, 2 páginas);

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

Michael Kidd *et al.* (1996) The Journal of Infectious Diseases 174: 396-401

## 16 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Utilizar este producto únicamente con las siguientes muestras humanas: sangre, plasma recogido en EDTA y líquido cefalorraquídeo (LCR).

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

El plasma recogido en EDTA 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 ADN extraído de muestras que contengan heparina, pues esta sustancia inhibe la reacción de amplificación de ácidos nucleicos y da lugar a resultados no válidos.

No utilizar con este producto ADN extraído que esté contaminado con hemoglobina, dextrano, Ficoll®, etanol o 2-propanol, pues estas sustancias inhiben la reacción de amplificación de los ácidos nucleicos y pueden dar lugar a resultados no válidos.

No utilizar con este producto ADN extraído que contenga altas cantidades de ADN genómico humano que pueda inhibir la reacción de amplificación de ácidos nucleicos.

No se dispone de datos sobre el rendimiento del producto con ADN extraído de las siguientes muestras clínicas: suspensiones de leucocitos o de granulocitos y líquido amniótico.

No se dispone de datos sobre la inhibición provocada por antiviricos, antibióticos, antineoplásicos o inmunodepresores.

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

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

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

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

Con el fin de evitar resultados falsos positivos, este producto requiere el uso de un equipo de protección individual e instrumentos especiales expresamente destinados a la configuración 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 PCR y la detección de ácidos nucleicos.

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

Un resultado negativo obtenido con este producto indica que no se ha detectado ADN de la diana en el ADN extraído de la muestra; no obstante, no puede descartarse que el ADN de la diana tenga un título inferior al límite de detección del producto (consultar «[11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO CON EL ELITe InGenius y el ELITe BeGenius page 24](#)»). Si esto sucede, el resultado puede ser un falso negativo.

En ocasiones, los resultados obtenidos con este producto pueden ser no válidos debido a un error 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 ADN a la que se dirigen los cebadores y las sondas del producto puede afectar negativamente a la detección y la cuantificación del ADN 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.

## 17 PROBLEMAS Y SOLUCIONES

### ELITe InGenius y ELITe BeGenius

Tabla 52

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 PCR Mix, de los calibradores Q-PCR Standard y del Positive Control. Comprobar los volúmenes de la PCR Mix, de los calibradores Q-PCR Standard y del Positive Control.
Degradación de la PCR Mix.	No utilizar la PCR Mix durante más de 5 sesiones independientes: 3 horas en el bloque refrigerado de la «Inventory Area» (área del inventario) o en la «Cooler Unit». No utilizar la PCR Mix para 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. Utilizar una nueva alícuota de la PCR Mix.
Degradación de los calibradores «Q-PCR-Standard» o del Positive Control.	No utilizar el Q-PCR Standard para más de 4 sesiones independientes: 2 horas cada una en el área de extracción o en la «Cooler Unit». No utilizar el Positive Control para más de 4 sesiones independientes: 3 horas cada una en el área de extracción o en la «Cooler Unit». Utilizar nuevas alícuotas de los calibradores Q-PCR-Standard o del Positive Control.
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Tabla 53

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

Tabla 54

Reacción no válida de la muestra	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la posición de la PCR Mix, del Internal Control y de la muestra. Comprobar los volúmenes de la PCR Mix, del Internal Control y de la muestra.
Degradación de la PCR Mix.	No utilizar la PCR Mix para más de 5 sesiones independientes: 3 horas cada una en la «Inventory Area» (área del inventario) o en la «Cooler Unit». No utilizar la PCR Mix durante más de 3 sesiones consecutivas: 7 horas en el bloque refrigerado de la «Inventory Area» (área del inventario) o en la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración). No dejar la PCR Mix a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. Utilizar una nueva alícuota de la PCR Mix.
Degradación de la plantilla del Internal Control.	Utilizar una nueva alícuota de la Internal Control.
Inhibición debida a la presencia de sustancias interferentes en la muestra.	Repetir la amplificación con una dilución de 1:2 en agua para biología molecular de la muestra eluida en una sesión en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR). Repetir la extracción con una dilución de 1:2 en agua para biología molecular de la muestra en una sesión realizada en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Tabla 55

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 o el Positive Control.	Verificar que el Ct de la diana sea inferior a 30. Una alta cantidad de producto de amplificación al final de la reacción puede interferir con el análisis de la curva de fusión. Repetir la amplificación de la muestra para confirmar la presencia de la diana con una posible mutación. La diana de la muestra debe secuenciarse para confirmar la mutación.

Tabla 56

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 relativo a la muestra y aprobar manualmente el resultado como negativo, o bien dejarlo como no válido. Si se requiere un valor Ct: - Repetir la amplificación de la muestra eluida con una dilución de 1:10 en agua para biología molecular de la muestra en una sesión realizada en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR). - Repetir la extracción de la muestra con una dilución de 1:10 en agua para biología molecular en una sesión realizada en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).

Tabla 57

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

**Plataforma abierta:**

Tabla 58

<b>No se ha detectado ADN de la diana en las reacciones del Positive Control o del calibrador Q-PCR Standard, o el coeficiente de correlación de la curva de calibración no es válido</b>	
<b>Posibles causas</b>	<b>Soluciones</b>
Distribución incorrecta en los pocillos de la microplaca.	Distribuir con cuidado las reacciones en los pocillos de la microplaca y seguir las instrucciones de la hoja de trabajo. Comprobar los volúmenes de la mezcla de reacción distribuida. Revisar los volúmenes del Positive Control o del calibrador distribuido.
Degradación de la sonda.	Utilizar una nueva alícuota de la mezcla de reacción.
Degradación del Positive Control o del calibrador.	Usar una nueva alícuota de Positive Control o de calibrador.
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la configuración de la posición del Positive Control o las reacciones del calibrador en el instrumento. Comprobar la configuración del ciclo térmico en el instrumento.

Tabla 59

<b>Se ha detectado ADN de la diana en la reacción del Negative Control</b>	
<b>Posibles causas</b>	<b>Soluciones</b>
Distribución incorrecta en los pocillos de la microplaca.	Evitar derramar el contenido de la probeta de la muestra. Cambiar siempre las puntas entre una muestra y otra. Prestar atención al distribuir las muestras, los Negative Control, los Positive Control o los calibradores en los pocillos de la microplaca y seguir las instrucciones de la hoja de trabajo.
Error al configurar el instrumento	Comprobar la configuración de las posiciones de las muestras, de los Negative Control, de los Positive Control o de los calibradores en el instrumento.
Sellado incorrecto de la microplaca.	Proceder con cuidado al sellar la microplaca.
Contaminación del agua para biología molecular.	Utilizar una nueva alícuota de agua estéril.

Tabla 59 (continued)

Se ha detectado ADN de la diana en la reacción del Negative Control	
Posibles causas	Soluciones
Contaminación de la mezcla de reacción.	Utilizar una nueva alícuota de la mezcla de reacción.
Contaminación del área de extracción/preparación para las reacciones de amplificación.	Limpiar las superficies y los instrumentos con detergentes acuosos, lavar las batas de laboratorio y sustituir las probetas y las puntas utilizadas.

Tabla 60

Fluorescencia de fondo irregular o alto en las reacciones	
Posibles causas	Soluciones
Distribución incorrecta de la muestra.	Mezclar con cuidado las muestras, los Negative Control y los Positive Control o los calibradores en la mezcla de reacción, pipeteando tres veces. Evitar la formación de burbujas.
Error de configuración del punto de referencia.	Configurar el rango de cálculo de referencia entre los ciclos en los que la fluorescencia de fondo ya se ha estabilizado (comprobar los datos de «Results» o «Component») y la fluorescencia de la señal aún no ha empezado a aumentar, p. ej., del ciclo 6 al ciclo 15. Utilizar el cálculo automático del punto de referencia configurando la opción «Auto Baseline».

Tabla 61

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 o el Positive Control.	Verificar que el valor de Ct del detector FAM 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 del ADN diana con una posible mutación. El ADN diana de la muestra debe secuenciarse para confirmar la mutación.

## 18 SÍMBOLOS



Número de catálogo.



Límite superior de temperatura.



Código de lote.



Fecha de caducidad (último día del mes).



Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*.



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



Identificador único del producto



Contenido suficiente para &lt;&lt;N&gt;&gt; análisis.



Consulte las instrucciones de uso



Contenido.



Manténgase fuera de la luz del sol



Fabricante.

## 19 AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA

Este producto contiene reactivos fabricados por Thermo Fisher Scientific, que se venden conforme a acuerdos de licencia entre ELITechGroup S. p. A. y sus afiliadas y Thermo Fisher 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 del departamento de licencias de Thermo Fisher Scientific. Correo electrónico: [outlicensing@thermofisher.com](mailto:outlicensing@thermofisher.com).

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

ELITe InGenius® y las tecnologías ELITe BeGenius® están cubiertos 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.

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

Minitip Flocked Swab® es una marca comercial registrada de COPAN Italia S.p.A.; FecalSwab™ es una marca comercial de COPAN Italia S.p.A.

## Appendix A HHV7 ELITe MGB Kit utilizado junto con las plataformas de la serie Genius®



### ATENCIÓN

Este documento es una versión simplificada de las instrucciones de uso oficiales. Consulte el documento completo antes de utilizar el producto visitando el enlace [www.elitech-group.com](http://www.elitech-group.com).

### Uso previsto

El producto **HHV7 ELITe MGB® Kit** es un ensayo cualitativo y cuantitativo de amplificación de ácidos nucleicos para la **detección y la cuantificación de ADN de virus del herpes humano tipo 7 (VHH-7)** en muestras de ADN extraídas de sangre recogida en EDTA, plasma recogido en EDTA y líquido cefalorraquídeo (LCR).

El ensayo se ha validado con los instrumentos ELITe InGenius® y ELITe BeGenius®, que son sistemas automatizados e integrados para la extracción, la PCR en tiempo real y la interpretación de resultados cuando se utilizan muestras de sangre humana y plasma recogido en EDTA.

El ensayo se ha validado con el **7300 Real-Time PCR System** y el **7500 Real-Time PCR System** utilizando muestras humanas de sangre, plasma recogido en EDTA y líquido cefalorraquídeo (LCR).

El producto se utiliza para el diagnóstico y el seguimiento de infecciones por VHH-7 junto con los datos clínicos y los resultados de otras pruebas analíticas del paciente.


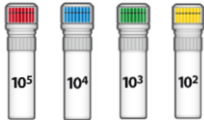

### Secuencia amplificada

Secuencia	Gen	Fluoróforo	Canal
Diana	Gen de la proteína de cápside U57	FAM	HHV7
Internal Control	IC2	AP525 (VIC)	IC

### Matriz validada

- Sangre recogida en EDTA
- Plasma recogido en EDTA

### Contenido del kit y productos relacionados

HHV7 ELITe MGB Kit	HHV7 ELITe Standard	HHV7 - ELITe Positive Control
 X 4	 X 2	 X 1
PCR Mix lista para el uso 4 probetas de 540 µL 96 reacciones por kit 5 ciclos de congelación/ descongelación	4 niveles listos para el uso: 10 <sup>5</sup> copias/reacción, 10 <sup>4</sup> copias/reacción, 10 <sup>3</sup> copias/reacción, 10 <sup>2</sup> copias/reacción. 2 conjuntos de 4 probetas de 160 µL 4 ciclos de congelación/descongelación (4 sesiones independientes integradas)	PC listo para el uso 1 probeta de 160 µL 4 reacciones por kit 4 ciclos de congelación/ descongelación (4 sesiones independientes integradas)

Período de estabilidad máximo: **24 meses**

Temperatura de almacenamiento:  
**-20 °C**

## Otros productos necesarios no proporcionados con el kit

<ul style="list-style-type: none"> <li>Instrumento ELITE InGenius: INT030.</li> <li>Instrumento ELITE BeGenius: INT040.</li> <li>ELITE InGenius SP 200: INT032SP200.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>CPE - Internal Control: CTCPE</li> <li>Consumibles para el <b>ELITE InGenius</b> y el <b>ELITE BeGenius</b> (consulte las instrucciones de uso del ELITE InGenius y del ELITE BeGenius)</li> </ul>
---	---

## Protocolos ELITE InGenius y ELITE BeGenius

**Tabla 62**

<ul style="list-style-type: none"> <li>› Volumen inicial de extracción</li> <li>› Volumen del CPE</li> <li>› Volumen de elución extraído</li> <li>› Volumen inicial de PCR de la muestra:</li> </ul>	200 µL 10 µL 100 µL 10 µL	<ul style="list-style-type: none"> <li>› Volumen de la PCR Mix</li> <li>› Frecuencia de los controles</li> <li>› Frecuencia de la calibración</li> <li>› Unidad del resultado cuantitativo</li> </ul>	20 µL 15 días 60 días copias/mL
--	------------------------------------	---	--

## Rendimiento del ELITE InGenius y de ELITE BeGenius

Matriz	Límite de detección	Sensibilidad diagnóstica	Especificidad diagnóstica
	copias/mL		
Sangre	500	100 % (34/34)*	100 % (38/38)*
Plasma	500	100 % (33/33)*	100 % (33/33)*

\*muestras confirmadas/muestras analizadas

## Preparación de la muestra

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

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
Sangre	EDTA	≤24 horas	≤72 horas	≤1 mes	>1 mes
Plasma	EDTA	≤24 horas	≤72 horas	≤1 mes	>1 mes

EDTA: ácido acético

## Procedimientos con el ELITE InGenius

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

**Antes del análisis**

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

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

<p><b>1.</b> Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil.</p>	<p><b>2.</b> Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL»; «Elution» (Elución): «100 µL»</p>	<p><b>3.</b> Escanear los códigos de barras de las muestras con el lector de códigos de barras manual, o bien introducir directamente el ID de la muestra.</p>
<p><b>4.</b> Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo): HHV7 ELITE_WB_200_100 o HHV7 ELITE_PL_200_100</p>	<p><b>5.</b> Seleccionar el método «Extract + PCR» (Extracción + PCR) y la posición de la muestra: Probeta primaria o «Extraction Tube» (Tubo de extracción)</p>	<p><b>6.</b> Cargar la PCR Mix y el Internal Control en el «Inventory Block» (administrador de inventarios).</p>
<p><b>7.</b> Cargar: Cargar el PCR Cassette, el cartucho de extracción, la «Elution Tube» (Tubo de elución), las puntas y las gradillas de muestras primarias.</p>	<p><b>8.</b> Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.</p>	<p><b>9.</b> Consultar, aprobar y almacenar los resultados.</p>

**NOTA!**

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

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

<p><b>1.</b> Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil.</p>	<p><b>2.</b> Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL»; «Elution» (Elución): «100 µL»</p>	<p><b>3.</b> Escanear los códigos de barras de las muestras con el lector de códigos de barras manual, o bien introducir directamente el ID de la muestra.</p>
<p><b>4.</b> Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo): HHV7 ELITE_PC y HHV7 ELITE_NC, o HHV7 ELITE_STD o HHV7 ELITE_WB_200_100 o HHV7 ELITE_PL_200_100</p>	<p><b>5.</b> Seleccionar el método «PCR Only» (Solo PCR) y establecer la posición de la muestra «Elution Tube» (Tubo de elución).</p>	<p><b>6.</b> Cargar la PCR Mix en el «Inventory Block» (administrador de inventarios).</p>
<p><b>7.</b> Cargar: El PCR Cassette y la rejilla de la «Elution Tube» (Tubo de elución) con el ácido nucleico extraído.</p>	<p><b>8.</b> Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.</p>	<p><b>9.</b> Consultar, aprobar y almacenar los resultados.</p>

**Procedimientos con el ELITE BeGenius**

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

**Antes del análisis**

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

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

<p><b>1.</b> Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil y, a continuación, hacer clic en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).</p>	<p><b>2.</b> Insertar la «Sample Rack» (Rack de muestras) con las muestras dotadas de códigos de barras en la «Cooling Unit» (unidad de refrigeración). El escaneo de códigos de barras ya está activo.</p>	<p><b>3.</b> Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL», «Eluate» (Eluido): «100 µL»</p>
<p><b>4.</b> Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo). HHV7 ELITe_Be_WB_200_100 o HHV7 ELITe_Be_PL_200_100r <b>Nota:</b> Si es necesario llevar a cabo una segunda extracción, repetir los pasos del 2 al 4.</p>	<p><b>5.</b> Imprimir las etiquetas para incluir el código de barras correspondiente en los «Elution Tubes» (tubos de elución) vacíos. Cargar las probetas en la «Elution Rack» (rejilla de elución) e insertarla en la «Cooler Unit».</p>	<p><b>6.</b> Cargar el PCR Mix y el Internal Control en la «Reagent Rack/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) e insertarla en la «Cooler Unit»</p>
<p><b>7.</b> Cargar la «PCR Rack» (rejilla de PCR) con el «PCR Cassette» y la «Extraction Rack» (rejilla de extracción), con los cartuchos de extracción «ELITe InGenius SP 200» y los consumibles que se necesitan para la extracción.</p>	<p><b>8.</b> Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.</p>	<p><b>9.</b> Consultar, aprobar y almacenar los resultados.</p>

**NOTA!**

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

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

<p><b>1.</b> Seleccione «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil y, a continuación, hacer clic en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).</p>	<p><b>2.</b> Cargar el ácido nucleico extraído o las probetas con códigos de barras de los controles en la «Elution Rack» (rejilla de elución) e insertarla en la «Cooler Unit».</p>	<p><b>3.</b> En el caso de los calibradores y los controles, para cada «Position» (posición), introducir el «Reagent name» (nombre del reactivo), el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (código de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones). En el caso de los eluidos, para cada «Position» (Posición), introducir el «SID» (ID de la muestra), la «Sample matrix» (matriz de la muestra), el «Extraction Kit» (kit de extracción) y el «Extracted Eluate Volume» (volumen de elución extraído).</p>
<p><b>4.</b> Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo): HHV7 ELITe_Be_PC y HHV7 ELITe_Be_NC, o HHV7 ELITe_Be_STD o HHV7 ELITe_Be_WB_200_100 o HHV7 ELITe_Be_PL_200_100</p>	<p><b>5.</b> Cargar la mezcla completa de reacción en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) e insertarla en la «Cooler Unit».</p>	<p><b>6.</b> Cargar la «PCR Rack» con el «PCR Cassette».</p>
<p><b>7.</b> Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.</p>	<p><b>8.</b> Consultar, aprobar y almacenar los resultados.</p>	

ELITechGroup S.p.A.  
C.so Svizzera, 185, 10149 Turín, Italia  
Teléfono: +39-011 976 191  
Fax: +39-011 936 76 11

Correo electrónico: [emd.support@elitechgroup.com](mailto:emd.support@elitechgroup.com)  
Página web: [www.elitechgroup.com](http://www.elitechgroup.com)

