

Instructions for use

Parvovirus B19 ELITe MGB® Kit

Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real



REF RTS070PLD

UDI 08033891483623

CE
0123

IVD

HISTORIAL DE CAMBIOS

Rev.	Información del cambio	Fecha (dd/mm/aa)
17-R	Actualización para el cumplimiento de los requisitos del Reglamento (UE) 2017/746 del Parlamento Europeo y del Consejo sobre los productos sanitarios para diagnóstico <i>in vitro</i>. Actualización de los rendimientos analítico y diagnóstico en la sección «CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO». Actualización del uso previsto: Validación de los productos en los instrumentos ELITe InGenius (REF INT030) y ELITe BeGenius (REF INT040) con matrices de sangre recogida en EDTA y de líquido amniótico. La composición del producto permanece sin cambios. Nuevo diseño de los gráficos y del contenido de las instrucciones de uso	30/01/26
16	Ampliación del uso del instrumento automático e integrado ELITe BeGenius con una matriz de líquido amniótico. Adición de información relativa a la UDI	03/06/24
15	Actualización del uso del producto cuando se utiliza el instrumento ELITe BeGenius® (REF INT040)	28/01/22
14	Actualización de los nombres AP que se utilizan con el instrumento ELITe InGenius®	30/01/20
13	Ampliación del uso con una matriz de líquido amniótico y utilizando el instrumento ELITe InGenius® .	11/10/17
00-12	Desarrollo de un nuevo producto con los cambios consiguientes	-

NOTA!

Los lotes de productos identificados mediante los códigos de lote que se indican a continuación seguirán comercializándose según la Directiva relativa a los productos sanitarios para diagnóstico *in vitro* hasta sus fechas de caducidad, tal como se establece en el artículo 110 del Reglamento (UE) sobre productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*. Si tiene alguno de estos lotes de productos, póngase en contacto con el personal de ELI-TechGroup para solicitar la versión anterior de las instrucciones de uso relacionadas con dicho producto.

REF. DEL PRODUCTO	Código de lote	Fecha de caducidad
RTS070PLD	U0624-073	30/04/26
RTS070PLD	U1124-016	30/06/26
RTS070PLD	U0625-043	30/06/27

Estos lotes de Positive Control y de calibrador (identificados mediante los códigos de lote que se indican en las instrucciones de uso correspondientes) seguirán comercializándose según la Directiva relativa a los productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*, son técnicamente compatibles con la nueva versión del kit de amplificación conforme al Reglamento (UE) sobre productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*. y pueden utilizarse hasta que se agoten con la nueva versión del kit de amplificación conforme al reglamento mencionado y de acuerdo con su uso previsto.

INDICE

1 USO PREVISTO	4
2 PRINCIPIO DEL ENSAYO.....	4
3 DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO.	4
4 MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO	5
5 MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO.....	5
6 OTROS PRODUCTOS NECESARIOS	6
7 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES	6
8 MUESTRAS Y CONTROLES	8
9 PROCEDIMIENTO CON EL ELITe InGenius	11
10 PROCEDIMIENTO CON EL ELITe BeGenius	18
11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO	24
12 BIBLIOGRAFÍA.....	33
13 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO	33
14 PROBLEMAS Y SOLUCIONES	34
15 SÍMBOLOS	37
16 NOTA PARA LOS USUARIOS.....	38
17 AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA	38
Appendix A QUICK START GUIDE.....	39

1 USO PREVISTO

El producto **Parvovirus B19 ELITE MGB® Kit** es un producto sanitario para diagnóstico *in vitro* concebido para el uso por parte de profesionales sanitarios como ensayo cuantitativo de ácidos nucleicos mediante PCR en tiempo real para la **detección y la cuantificación de ADN de parvovirus B19 (PVB19)**, extraído de muestras clínicas.

El ensayo se ha validado para el uso 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, utilizando muestras humanas de sangre recogida en EDTA y de líquido amniótico.

El producto se utiliza como ayuda en el diagnóstico de infecciones por parvovirus B19 en pacientes en los que se sospecha la presencia de alguna infección por dicho virus y en el seguimiento en pacientes que tienen que someterse al tratamiento de dicha infección.

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

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

2 PRINCIPIO DEL ENSAYO

Este es un ensayo cuantitativo de PCR en tiempo real para la detección de ADN de parvovirus, aislado de muestras y amplificado mediante el uso del reactivo de ensayo **PVB19 Q - PCR Mix**, que contiene cebadores y sondas con la tecnología ELITE MGB.

Las sondas ELITE MGB se activan cuando se hibridan con los productos de PCR relacionados. El **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius** controlan el aumento de fluorescencia y calculan los ciclos umbral (Ct) y las temperaturas de fusión (Tm). La cantidad de ADN de **PVB19** se calcula basándose en una curva de calibración almacenada.

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

NOTA!

Un factor de conversión (Fc) permite expresar los resultados del análisis cuantitativo en las unidades internacionales (UI) del PVB19 del «3.º patrón internacional de la OMS para el ADN del parvovirus B19 para el ensayo de amplificación de los ácidos nucleicos (NAT)» (NIBSC, ref. 12/208, Reino Unido).

3 DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

El producto **Parvovirus B19 ELITE MGB Kit** incluye el reactivo del ensayo **PVB19 Q PCR Mix**, que es una mezcla de PCR optimizada y estabilizada que contiene los cebadores y las sondas específicos para:

- la región **VP1** del PVB19, detectada en el canal **PVB19**; 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 el **promotor y la región 5' UTR** del gen de la **globina beta humana**, detectado en el canal **IC**; la sonda se estabiliza mediante la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher® y se marca con el colorante AquaPhluor® 525 (AP525).

La mezcla **PVB19 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 **Parvovirus B19 ELITE MGB Kit** contiene suficientes reactivos para 96 análisis (**24 análisis por cada probeta**) cuando se utilizan 20 µL en cada reacción.

4 MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

Tabla 1

Componente	Descripción	Cantidad	Clasificación de peligros
PVB19 Q - PCR Mix ref. RTS070PLD	Mezcla de reactivos para la PCR en tiempo real en una probeta con tapón de color natural	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:

Instrumentos y software	Productos y reactivos
ELITe InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA ref. INT030) ELITe InGenius Software versión 1.3.0.19 (o posterior) PVB19 ELITe_STD , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de los calibradores PVB19 ELITe_PC , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control PVB19 ELITe_NC , Assay Protocol (protocolo de ensayo) para el análisis del Negative Control PVB19 ELITe_WB_200_100 , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de las muestras de sangre PVB19 ELITe_AF_200_100 , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de las muestras de líquido amniótico	Parvovirus B19 ELITe Standard (EG SpA, ref. STD070PLD) Parvovirus B19 – ELITe Positive Control (EG SpA, ref. CTR070PLD) CPE - Internal Control (EG SpA, ref. CTRCPE) ELITe InGenius SP200 (EG SpA, ref. INT032SP200) Consumibles para el ELITe InGenius y el ELITe BeGenius (consulte las instrucciones de uso del ELITe InGenius y del ELITe BeGenius)
ELITe BeGenius (EG SpA, ref. INT040) ELITe BeGenius Software versión 2.3.0. (o posterior) PVB19 ELITe_Be_STD , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de los calibradores PVB19 ELITe_Be_PC , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control PVB19 ELITe_Be_NC , Assay Protocol (protocolo de ensayo) para el análisis del Negative Control. PVB19 ELITe_Be_WB_200_100 , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de las muestras de sangre PVB19 ELITe_Be_AF_200_100 , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de las muestras de líquido amniótico	

7 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Este producto está diseñado exclusivamente para uso in vitro.

7.1 Advertencias y precauciones generales

Manipular y eliminar todas las muestras biológicas como si fueran infecciosas. Evitar el contacto directo con las muestras biológicas. Evitar salpicaduras o pulverizaciones. Las probetas, las puntas y el resto de materiales que entran en contacto con las muestras biológicas deben tratarse con hipoclorito de sodio (lejía) al 3 % durante al menos 30 minutos, o bien procesarse en autoclave durante una hora a 121 °C antes de su eliminación.

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

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

- No pipetear ninguna solución con la boca.
- No comer, beber, fumar ni aplicarse cosméticos en el área de trabajo.
- Lavarse bien las manos después de manipular muestras y reactivos.
- Eliminar los reactivos sobrantes y los residuos conforme a las normas vigentes.
- Leer atentamente todas las instrucciones incluidas antes de realizar el ensayo.
- Durante la realización del ensayo, seguir las instrucciones proporcionadas con el producto.
- No utilizar el producto después de la fecha de caducidad indicada.
- Utilizar únicamente los reactivos incluidos en el producto y los recomendados por el fabricante.
- No utilizar reactivos procedentes de lotes diferentes.
- No utilizar reactivos de otros fabricantes.

7.2 Advertencias y precauciones para los procedimientos de biología molecular

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

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

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

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

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

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

7.3 Advertencias y precauciones específicas para los componentes:

Tabla 2

Componente	Temperatura de almacenamiento	Uso a partir de la primera apertura	Ciclos de congelación y descongelación	Estabilidad con carga (ELITe InGenius y ELITe BeGenius)
PVB19 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

8.1 Muestras y protocolos de ensayo

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

Tabla 3

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	≤3 días	≤30 días	≤30 días
Líquido amniótico	recogido sin conservantes	≤4 horas	≤4 horas	≤30 días	≤30 días

EDTA: ácido acético

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 4 Protocolos de ensayo para Parvovirus B19 ELITE MGB Kit

Muestra	Instrumento	Nombre del Assay Protocol (Protocolo de ensayo)	Informe	Características
Sangre	ELITE InGenius	PVB19 ELITE_WB_200_100	copias/mL o UI/ 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 la PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL
	ELITE BeGenius	PVB19 ELITE_Be_WB_200_100	copias/mL o UI/ 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 la PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL
Líquido amniótico	ELITE InGenius	PVB19 ELITE_AF_200_100	copias/mL o UI/ 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 la PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL
	ELITE BeGenius	PVB19 ELITE_Be_AF_200_100	copias/mL o UI/ 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 la PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL

UI: unidades internacionales

NOTA!

Verificar si la probeta primaria y el volumen de la muestra son compatibles con el ELITE InGenius o el 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.

Siempre que sea necesario, es preciso verter 200 µL de muestra en el «Extraction Tube» (tubo de extracción), en el caso del ELITE InGenius, o en una probeta Sarstedt de 2 mL, en el caso del ELITE BeGenius.

NOTA!

El pipeteado de las muestras en el **Extraction tube** (tubo de extracción) o en la **probeta Sarstedt de 2 mL** puede **desarrollar contaminación**. Así pues, utilizar pipetas apropiadas y seguir todas las recomendaciones indicadas en la sección «7 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES page 6».

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

Consultar el apartado «Sustancias potencialmente interferentes» en la sección **11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO page 24** para comprobar los datos relativos a tales sustancias.

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 **Parvovirus B19 ELiTe Standard**, no incluido con este kit, junto con los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **PVB19 ELiTe_STD** o **PVB19 ELiTe_Be_STD**.

NOTA!

Las concentraciones de los calibradores Q-PCR Standard se expresan en copias/reacción (10^5 copias/reacción, 10^4 copias/reacción, 10^3 copias/reacción y 10^2 copias/reacción). Consultar «Incertidumbre de la curva de calibración» en la sección 11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO page 24

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

- Para el Positive Control, utilizar el producto **Parvovirus B19 - ELiTe Positive Control**, no incluido con este kit, junto con los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **PVB19 ELiTe_PC** o **PVB19 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) **PVB19 ELiTe_NC** o **PVB19 ELiTe_Be_NC**.

NOTA!

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

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

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

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

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

8.3 Controles de calidad

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

9 PROCEDIMIENTO CON EL ELiTe InGenius

El procedimiento para utilizar el producto **Parvovirus B19 ELiTe MGB Kit** con el instrumento **ELiTe InGenius** comprende tres pasos:

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

9.1 PASO 1. Verificación de la disponibilidad del sistema

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

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

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

9.2 PASO 2. Configuración de la sesión

El producto **Parvovirus B19 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**. 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:

	A. Sesión de la muestra (Extract + PCR).	B. Sesión con la muestra eluida; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
1	Identificar las muestras y, en caso necesario, descongelar a temperatura ambiente, mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. En caso necesario, verter 200 µL de muestra en un «Extraction Tube» (Tubo de extracción) previamente etiquetada. Descongelar las probetas de CPE necesarias a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Cada probeta es suficiente para 12 extracciones.	Descongelar la «Elution Tube» (Tubo de elución) que contiene los ácidos nucleicos extraídos a temperatura ambiente. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.
2	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).
3	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 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 cada muestra, asignar un carril e introducir el «SampleID» o SID (ID de la muestra), ya sea rellenándolo directamente o escaneando su código de barras.	Para cada muestra, asignar un carril e introducir el «SampleID» o SID (ID de la muestra), ya sea rellenándolo directamente o escaneando su código de barras.
5	Seleccionar el Assay Protocol (Protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».	Seleccionar el Assay Protocol (Protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».
6	Asegurarse de que el protocolo que se muestra en el área «Protocol» (Protocolo) sea «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	Seleccionar «PCR Only» (Solo PCR) en la columna «Protocol» (Protocolo).
7	En la columna «Sample Position» (Posición de la muestra), seleccionar la posición de carga «Extraction Tube» (Tubo de extracción) para la muestra. Asegurarse de que la opción «Dilution factor» (Factor de dilución) esté configurada a «1».	Asegurarse de que la posición de carga de la muestra en la columna «Sample Position» (Posición de la muestra) sea «Elution Tube (bottom row)» (Tubo de elución [fila inferior]). Asegurarse de que la opción «Dilution factor» (Factor de dilución) esté configurada a «1».
8	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.

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

	C. Sesión de calibración; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)	D. Sesión para el Positive Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
1	Descongelar las probetas de calibrador Q-PCR Standard tubes (Cal1: Q-PCR Standard 10 ² , Cal2: Q-PCR Standard 10 ³ , Cal3: Q-PCR Standard 10 ⁴ , Cal4: Q-PCR Standard 10 ⁵) a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.	Descongelar las probetas de Positive Control a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Preparar el Negative Control vertiendo al menos 50 µL de agua para biología molecular en el 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»), seleccionar el Assay Protocol (Protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo) y, después, rellenar el número de lote y la fecha de caducidad de los reactivos.	Seleccionar el Assay Protocol (Protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles». Introducir el número de lote y la fecha de caducidad del Positive Control y del agua para biología molecular.
5	En la columna «Protocol» (Protocolo), asegurarse de que esté seleccionado «PCR Only» (Solo PCR).	En la columna «Protocol» (Protocolo), asegurarse de que esté seleccionado «PCR Only» (Solo PCR).
6	Asegurarse de que la posición de carga de la muestra en la columna «Sample Position» (Posición de la muestra) sea «Elution Tube (bottom row)» (Tubo de elución [fila inferior]).	Asegurarse de que la posición de carga de la muestra en la columna «Sample Position» (Posición de la muestra) sea «Elution Tube (bottom row)» (Tubo de elución [fila inferior]).
7	Cargar la PCR Mix 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.	Cargar la PCR Mix 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	Cargar el PCR Cassette y las probetas de Q-PCR Standard.	Cargar el PCR Cassette, el Positive Control y el Negative Control.
12	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
13	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.
14	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).

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

NOTA!

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

NOTA!

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.

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 **Parvovirus B19 ELITE MGB Kit** mediante el siguiente procedimiento:

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

9.3.1 Validación de la curva de calibración

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

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

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

NOTA!

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

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

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

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

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

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

NOTA!

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

NOTA!

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

9.3.3 Validación de los resultados de la muestra

El **ELITE InGenius Software** interpreta los resultados de la PCR para la diana (canal **PVB19**) y el Internal Control (canal **IC**) con los parámetros de los Assay Protocols (Protocolos de ensayo) **PVB19 ELITE_WB_200_100** y **PVB19 ELITE_AF_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.

1) Curva de calibración	Estado
PVB19 Q-PCR Standard	APROBADO
2) Positive Control	Estado
PVB19 Positive Control	APROBADO
3) Negative Control	Estado
PVB19 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.

Resultado de la sesión de la muestra	Interpretación
PVB19:DNA Detected, quantity equal to XXX copies / mL or IU / mL (PVB19:ADN detectado, cantidad igual a "XXX" copias/mL o UI/mL)	Se ha detectado ADN de PVB19 en la muestra dentro del rango de medición del ensayo y se indica su concentración.
PVB19:DNA Detected, quantity below LLoQ copies / mL or IU / mL (PVB19:ADN detectado, cantidad por debajo de "LLoQ" copias/mL o UI/mL)	Se ha detectado ADN de PVB19 en la muestra, pero su concentración se encuentra por debajo del límite inferior de cuantificación del ensayo.
PVB19:DNA Detected, quantity beyond ULoQ copies / mL or IU / mL (PVB19:ADN detectado, cantidad mas alta de "ULoQ" copias/mL o IU/mL)	Se ha detectado ADN de PVB19 en la muestra, pero su concentración se encuentra por encima del límite superior de cuantificación del ensayo.
PVB19:DNA Not detected or below LoD copies / mL or IU / mL (PVB19:ADN no detectado o por debajo de "LoD" copias/mL o IU/mL)	No se ha detectado ADN de PVB19 en la muestra. La muestra es negativa para el ADN diana, o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
Invalid-Retest Sample (No válido-Volver a probar muestra)	Resultado no válido del ensayo causado por un fallo en el Internal Control (p. ej., debido a una extracción incorrecta o al arrastre de inhibidores). Es necesario repetir la prueba.

Las muestras que se notifican como «Invalid-Retest Sample» (No válido-Volver a probar muestra) 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 «[14 PROBLEMAS Y SOLUCIONES page 34](#)».

Las muestras que se notifican como «PVB19:DNA Not Detected or below LoD copies/mL» (PVB19:ADN no detectado o por debajo de "LoD" copias/mL) son aptas para el análisis, pero no ha sido posible detectar ADN de PVB19. En este caso, puede que la muestra sea negativa para ADN de PVB19, o que el ADN de PVB19 presente una concentración inferior al límite de detección del ensayo (consultar la sección [11 «Características de rendimiento» page 24](#)).

Si se detectan muestras positivas para ADN de PVB19 a una concentración inferior al límite de detección (y al límite inferior de cuantificación) del ensayo, estas se notifican como «PVB19:DNA Detected, quantity below “LLOQ” copies/mL» (PVB19:ADN detectado, cantidad por debajo de “LLOQ” copias/mL) (consultar la sección 11 «Características de rendimiento» page 24).

Las muestras positivas para ADN de PVB19 dentro del rango de medición lineal se detectan y notifican como «PVB19:DNA Detected, quantity equal to “XXX” copies/mL» (PVB19:ADN detectado, cantidad igual a “XXX” copias/mL) (consultar la sección 11 «Características de rendimiento» page 24).

Las muestras positivas para ADN de PVB19 DNA que se encuentran por encima del límite superior de cuantificación se notifican como «PVB19:DNA Detected, quantity beyond “ULOQ” copies/mL» (PVB19:ADN detectado, cantidad mas 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 (consultar 11 «Características de rendimiento» page 24).

NOTA!

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

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

9.3.4 Generación del informe de los resultados de la muestra

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

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

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

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

10 PROCEDIMIENTO CON EL ELiTe BeGenius

El procedimiento para utilizar el producto **Parvovirus B19 ELiTe MGB Kit** con el instrumento **ELiTe BeGenius** comprende tres pasos:

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

10.1 PASO 1. Verificación de la disponibilidad del sistema

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

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

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

10.2 PASO 2. Configuración de la sesión

El producto **Parvovirus B19 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**. 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:

	A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)	B. Sesión con la muestra; eluida modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
1	Identificar las muestras y, en caso necesario, descongelar a temperatura ambiente, mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. En caso necesario, verter 200 µL de muestra en una probeta Sarstedt de 2 mL previamente etiquetada. Descongelar las probetas de CPE necesarias a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Cada probeta es suficiente para 12 extracciones.	Descongelar el «Elution Tube» (tubo de elución) que contiene los ácidos nucleicos extraídos a temperatura ambiente. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.
2	Seleccionar « Perform Run » (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar « Perform Run » (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).
3	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	Insertar la «Sample Rack» (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.	Insertar la «Elution Rack» (rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). En caso necesario, para cada «Position», introducir el «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 rastreabilidad.	No aplicable
13	Insertar la «Elution Rack» (rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). Si se procesan más de 12 muestras, repetir el procedimiento utilizando el «Lane 2» (L2).	No aplicable
14	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	No aplicable

	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)
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).
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» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) 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» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) 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» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
22	Cargar la «Extraction Rack» (gradilla de extracción) con los cartuchos de extracción ELITE InGenius SP 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).

	C. Sesión de calibración; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)	D. Sesión para el Positive Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
1	Descongelar las probetas de calibrador Q-PCR Standard tubes (Cal1: Q-PCR Standard 10 ² , Cal2: Q-PCR Standard 10 ³ , Cal3: Q-PCR Standard 10 ⁴ , Cal4: Q-PCR Standard 10 ⁵) a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.	Descongelar las probetas de Positive Control a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Preparar el Negative Control vertiendo al menos 50 µL de agua para biología molecular en el 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	Cargar las probetas de Q-PCR Standard en la «Elution Rack» (rejilla de elución).	Cargar las probetas de Positive Control y de Negative Control en la «Elution Rack» (rejilla de elución).
6	Insertar la «Elution Rack» (rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). En caso necesario, para cada «Position» introducir el «Reagent name» (nombre del reactivo), el «S/N» (número de serie) el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).	Insertar la «Elution Rack» (rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). En caso necesario, para cada «Position» introducir el «Reagent name» (nombre del reactivo), el «S/N» (número de serie) el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).
7	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
8	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».
9	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
10	Cargar 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).
11	Insertar la «Reagent/Elution Rack» (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 PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario).	Cargar la «PCR Rack» con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario).
16	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.

	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 ± 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 **Parvovirus B19 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

11.1 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.

Sangre recogida en EDTA

El valor teórico del LoD se verificó analizando en el ELITE InGenius y el ELITE BeGenius un panel de muestras de sangre recogida en EDTA, que se enriquecieron con material de referencia de Parvovirus B19 (Tercer estándar internacional de la OMS, NIBSC) a la concentración declarada (125 IU/mL).

Los resultados se muestran en las tablas siguientes.

Tabla 5 Límite de detección con el ELITE InGenius y el ELITE BeGenius y muestras de sangre

Límite de detección para muestras de sangre y el ELITE InGenius o el ELITE BeGenius	
Muestra	Límite de detección
Sangre recogida en EDTA	125 UI/mL
	250 copias/mL

Los resultados obtenidos confirmaron la concentración declarada para la diana del producto Parvovirus B19 ELITE MGB Kit tanto en el ELITE InGenius como en el ELITE BeGenius. El LoD para la diana de PVB19 cuando se utilizan muestras de sangre se confirmó a 125 UI/mL, lo que equivale a 250 copias/mL. El valor en copias/mL se calculó aplicando el factor de conversión específico (0,5 UI/copia) indicado en el apartado «[11.10 Factor de conversión a unidades internacionales page 30](#)».

Líquido amniótico

El LoD del ensayo utilizado con líquido amniótico se determinó en el instrumento ELITE InGenius, analizando un panel de muestras de líquido amniótico negativas para parvovirus B19 (PVB19) y enriquecidas con material de referencia de PVB19 (Tercer estándar internacional de la OMS, NIBSC). Se realizó un análisis de regresión Probit en los resultados y el LoD se calculó como la concentración correspondiente al 95 % de probabilidad de un resultado positivo.

Los resultados se muestran en las tablas siguientes.

Tabla 6 Límite de detección con el ELITE InGenius y el ELITE BeGenius y muestras de líquido amniótico

Límite de detección para muestras de líquido amniótico y el ELITE InGenius			
Diana	Límite de detección	Intervalo de confianza del 95 %	
		Límite inferior	Límite superior
PVB19	40 UI/mL	24 UI/mL	51 UI/mL
	40 copias/mL	24 copias/mL	51 copias/mL

El LoD expresado en copias/mL para líquido amniótico se calculó aplicando el factor de conversión específico (1 UI/copia) indicado en el apartado «[11.10 Factor de conversión a unidades internacionales page 30](#)».

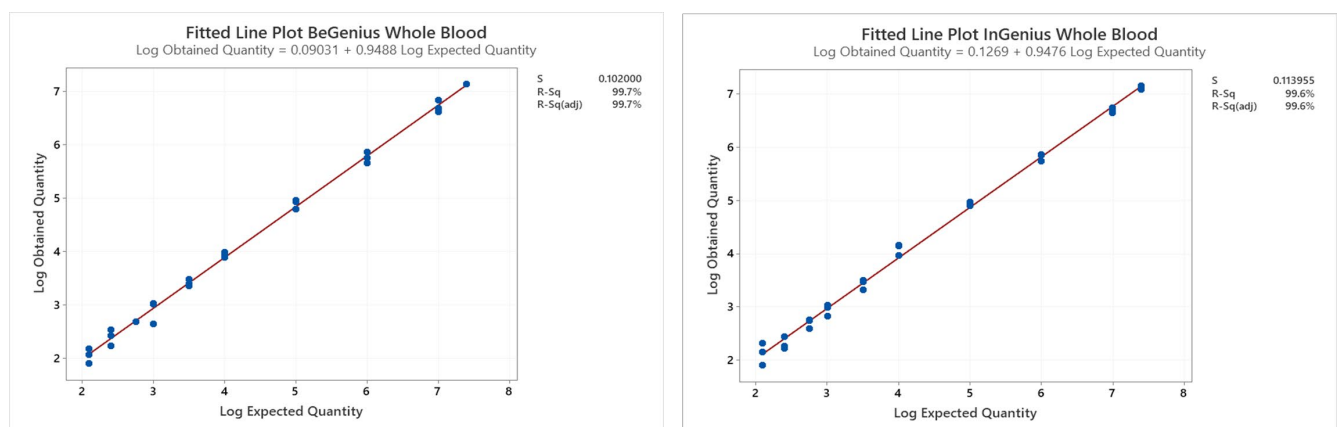
El valor calculado para el LoD se verificó analizando en el ELITE InGenius y el ELITE BeGenius un panel de muestras de líquido amniótico enriquecidas con material de referencia certificado de PVB19 (Tercer estándar internacional de la OMS, NIBSC) a la concentración declarada.

11.2 Rango de medición lineal y límites de cuantificación

El rango de medición lineal del ensayo se determinó analizando muestras de sangre recogida en EDTA y de líquido amniótico en el **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius**, utilizando un panel de materiales de referencia de PVB19, a saber, NATrol™ Human Parvovirus B19 Strain inactivated virus, ZeptoMetrix, junto con sangre recogida en EDTA, y (Human Parvovirus Strain: B19 Concentrate 1mL, ZeptoMetrix), junto con líquido amniótico, en matrices negativas para ADN de PVB19.

En los apartados siguientes se muestran los resultados de cada matriz.

Sangre recogida en EDTA

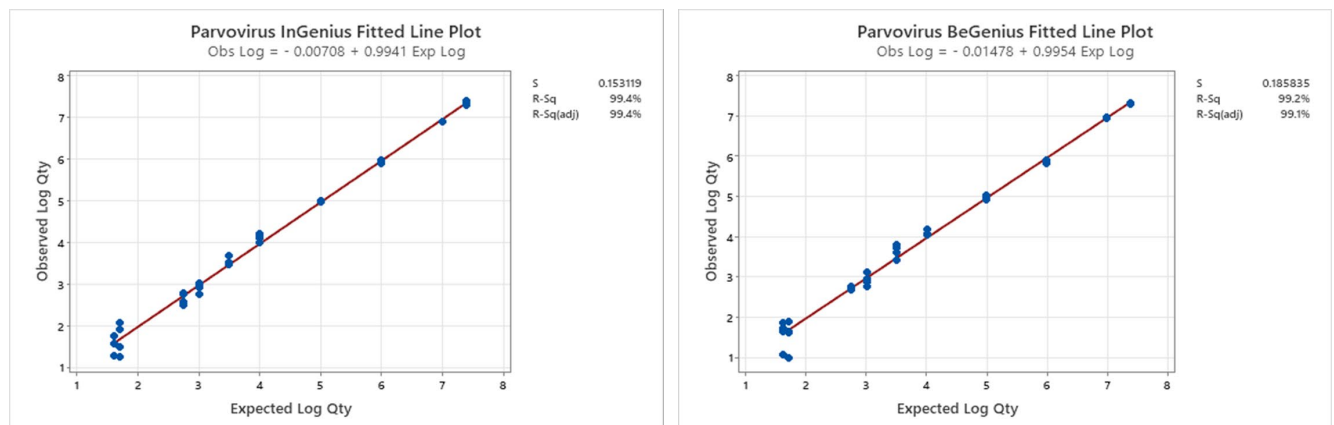
**Fig. 1**

El rango de medición lineal para sangre recogida en EDTA, expresado en copias/mL, se calculó aplicando el factor de conversión específico indicado en la sección [11.10 Factor de conversión a unidades internacionales page 30](#)

Los resultados finales se resumen en la tabla siguiente.

Tabla 7 Rango de medición lineal para muestras de sangre y los instrumentos ELITE InGenius y ELITE BeGenius

Unidad	Límite inferior	Límite superior
UI/mL	125	25000000
copias/mL	250	50000000

Líquido amniótico**Fig. 2**

El rango de medición lineal para líquido amniótico, expresado como copias/mL, se calculó aplicando el factor de conversión específico indicado en la sección [11.10 Factor de conversión a unidades internacionales page 30](#).

Los resultados finales se resumen en la tabla siguiente.

Tabla 8 Rango de medición lineal para muestras de líquido amniótico y los instrumentos ELITE InGenius y ELITE BeGenius

Unidad	Límite inferior	Límite superior
UI/mL	40	25000000
copias/mL	40	25000000

11.3 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 0,2535 log copias/reacción.

Tabla 9 Incertidumbre de la curva de calibración

Niveles de la curva de calibración	Teóricos	Medidos	DE	Incertidumbre combinada ampliada
	Log copias/reacción	Log copias/reacción		
PVB19Q - PCR Standard 10^5	5,0000	4,9961	0,0539	0,2535
PVB19Q - PCR Standard 10^4	4,0000	4,0176	0,0783	
PVB19 Q - PCR Standard 10^3	3,0000	2,9765	0,0548	
PVB19Q - PCR Standard 10^2	2,0000	2,0098	0,0635	

11.4 Inclusividad: Eficacia de detección y cuantificación en distintos genotipos

La inclusividad del ensayo, definida como la eficacia de detección de diferentes cepas de PVB19, se evaluó mediante un análisis informático de las secuencias disponibles en las bases de datos de nucleótidos. El análisis demostró la conservación de la secuencia y la ausencia de mutaciones significativas. Así, se espera una detección eficaz de las diferentes cepas y los diferentes aislados.

11.5 Microorganismos potencialmente interferentes: reactividad cruzada

La reactividad cruzada potencial de los microorganismos imprevistos que pueden encontrarse en muestras clínicas se evaluó mediante un análisis informático. El análisis no presentó ninguna homología reseñable con otros microorganismos imprevistos (virus, procariotas, invertebrados, hongos, bacteriófagos y humanos). Por lo tanto, no cabe esperar reactividad cruzada.

11.6 Microorganismos potencialmente interferentes: Inhibición

La inhibición potencial de los microorganismos imprevistos que pueden encontrarse en muestras clínicas se evaluó mediante un análisis informático. El análisis no presentó ninguna homología reseñable con otros microorganismos imprevistos (virus, procariotas, invertebrados, hongos, bacteriófagos y humanos). Por lo tanto, no cabe esperar inhibición.

11.7 Sustancias potencialmente interferentes: Inhibición

La inhibición potencial provocada por las sustancias potencialmente interferentes (endógenas y exógenas) que pueden encontrarse en las muestras clínicas se evaluó para el ensayo analizando un panel de sustancias a la concentración pertinente en muestras positivas para PVB19.

En las tablas siguientes se muestran los resultados de cada matriz.

Tabla 10 Sangre recogida en EDTA

Muestra	Pos./Dup. de PVB19	Resultado
Etanol	5/5	Sin inhibición
Azitromicina	5/5	Sin inhibición
Ampicilina	5/5	Sin inhibición
Vancomicina	5/5	Sin inhibición
Ganciclovir	5/5	Sin inhibición
Aciclovir	5/5	Sin inhibición
Fluconazol	5/5	Sin inhibición
Ciclosporina A	5/5	Sin inhibición
EDTA	5/5	Sin inhibición
Heparina	5/5	Sin inhibición

Las sustancias analizadas no interfieren en la amplificación del PVB19 ni en la del Internal Control cuando el producto **Parvovirus B19 ELITE MGB Kit** se utiliza en muestras de sangre recogida en EDTA.

Tabla 11 Líquido amniótico

Muestra	Pos./Dup. de PVB19	Resultado
Azitromicina	5/5	Sin inhibición
Aciclovir	5/5	Sin inhibición
Sangre humana	5/5	Sin inhibición

Las sustancias analizadas no interfieren en la amplificación del PVB19 ni en la del Internal Control cuando el producto **Parvovirus B19 ELITE MGB Kit** se utiliza en muestras de líquido amniótico.

11.8 Repetibilidad

La repetibilidad dentro de las sesiones y entre sesiones del ensayo se evaluó en los instrumentos ELITE InGenius y ELITE BeGenius analizando un panel de muestras de sanre recogida en EDTA, inclusive una muestra negativa y dos muestras enriquecidas con material de referencia certificado de PVB19 (Tercer estándar internacional de la OMS, NIBSC).

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

Tabla 12 Repetibilidad dentro de las sesiones con el ELITE InGenius

Muestra	PVB19				
	N.	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia
Negativas	8	N/A	N/A	N/A	100 %
3×LoD	8	35,81	0,52	1,46	100 %
10×LoD	8	34,31	0,28	0,83	100 %

Tabla 13 Repetibilidad dentro de las sesiones con el ELITE BeGenius

Muestra	PVB19				
	N.	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia
Negativas	8	N/A	N/A	N/A	100 %
3×LoD	8	36,53	0,53	1,46	100 %
10×LoD	8	34,79	0,21	0,61	100 %

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

Tabla 14 Repetibilidad entre sesiones con el ELITE InGenius

Muestra	PVB19				
	N.	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia
Negativas	16	N/A	N/A	N/A	100 %
3×LoD	16	35,87	0,44	1,23	100 %
10×LoD	16	34,19	0,28	0,83	100 %

Tabla 15 Repetibilidad entre sesiones con el ELITE BeGenius

Muestra	PVB19				
	N.	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia
Negativas	16	N/A	N/A	N/A	100 %
3×LoD	16	36,40	0,45	1,23	100 %
10×LoD	16	34,68	0,27	0,79	100 %

En la prueba de repetibilidad, el producto Parvovirus B19 ELITE MGB Kit detectó la diana y presentó una variación máxima de los valores de Ct de la diana como un %CV inferior al 5 %.

11.9 Reproducibilidad

La reproducibilidad entre instrumentos y entre lotes del ensayo se evaluó en el ELITE InGenius y el ELITE BeGenius analizando un panel de muestras de sangre recogida en EDTA, inclusive una muestra negativa y dos muestras enriquecidas con material de referencia certificado de PVB19 (Tercer estándar internacional de la OMS, NIBSC).

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

Tabla 16 Reproducibilidad entre instrumentos con el ELITE InGenius

Muestra	PVB19				
	N.	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia
Negativas	8	N/A	N/A	N/A	100 %
3×LoD	8	36,89	0,62	1,68	100 %
10×LoD	8	34,85	0,26	0,74	100 %

Tabla 17 Reproducibilidad entre instrumentos con el ELITE BeGenius

Muestra	PVB19				
	N.	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia
Negativas	8	N/A	N/A	N/A	100 %
3×LoD	8	37,00	0,37	1,00	100 %
10×LoD	8	35,14	0,51	1,46	100 %

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

Tabla 18 Reproducibilidad entre lotes con el ELITE InGenius

Muestra	PVB19				
	N.	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia
Negativas	8	N/A	N/A	N/A	100 %
3×LoD	8	36,80	0,67	1,82	100 %
10×LoD	8	35,18	0,71	2,02	100 %

Tabla 19 Reproducibilidad entre lotes con el ELITE BeGenius

Muestra	PVB19				
	N.	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia
Negativas	8	N/A	N/A	N/A	100 %
3×LoD	8	37,41	0,27	0,72	100 %
10×LoD	8	35,31	0,32	0,90	100 %

En la prueba de reproducibilidad entre instrumentos y entre lotes, el producto Parvovirus B19 ELITE MGB Kit detectó todas las muestras correctamente tal como se esperaba y presentó una variación máxima de los valores de Ct de la diana como un %CV inferior al 5 %.

11.10 Factor de conversión a unidades internacionales

El factor de conversión (Fc) para notificar los resultados cuantitativos en unidades internacionales/mL, partiendo de copias/mL, se calculó en el ELITE InGenius utilizando material de referencia calibrado y certificado de PVB19 (NIBSC).

Sangre recogida en EDTA

El factor de conversión se determinó como 0,5 UI/copia en el ELITE InGenius utilizando un panel de diluciones de material de referencia de PVB19 (Segundo estándar internacional de la OMS, NIBSC) en muestras negativas de sangre recogida en EDTA.

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

Tabla 20 Cálculo del factor de conversión a unidades internacionales con el ELITE InGenius

Muestra			Resultado			Diferencia logarítmica (referencia - prueba)
UI/mL	log UI/mL	N	Media de copias/mL	Media de UI/mL	Media de log UI/mL	
100.000	5,0000	10	214.661	107.331	5,0210	-0,0210
10.000	4,0000	10	21.433	10.716	4,0080	-0,0080
1000	3,0000	10	2136	1068	2,9850	+0,0150

El valor del factor de conversión se verificó en el **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius** utilizando material de referencia calibrado y certificado (Tercer estándar internacional de la OMS, NIBSC), y se verificó desde 5,0000 log UI/mL a 2,0970 log UI/mL. Los resultados obtenidos se analizaron mediante un análisis de regresión ortogonal y lineal con el fin de calcular la relación entre los métodos.

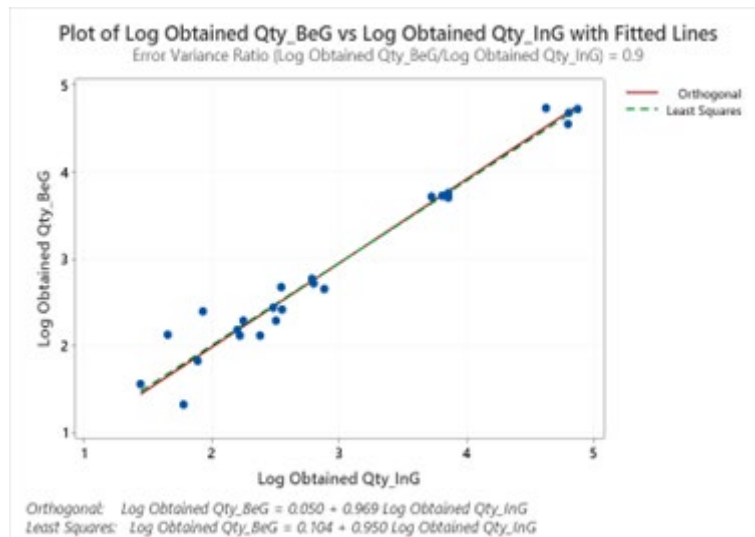


Fig. 3

El análisis de regresión ortogonal generó una intersección de 0,050 (IC del 95 %: -0,197; 0,296) y una pendiente de 0,969 (IC del 95 %: 0,889; 1,048). El análisis de regresión lineal generó un R² de 0,963.

Líquido amniótico

El factor de conversión se determinó como 1 UI/copia en el ELITE InGenius utilizando un panel de diluciones de material de referencia de PVB19 (Tercer estándar internacional de la OMS, NIBSC) en muestras negativas de líquido amniótico.

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

Tabla 21 Cálculo del factor de conversión a unidades internacionales con el ELITE InGenius

Muestra			Resultado			Diferencia logarítmica (referencia - prueba)
UI/mL	log UI/mL	N	Media de copias/mL	Media de UI/mL	Media de log UI/mL	
316.228	5,5000	16	273.604	273.604	5,4360	0,0640
100.000	5,0000	16	88.997	88.997	4,9470	0,0530
31.623	4,5000	16	34.559	34.559	4,5340	-0,0340
10.000	4,0000	16	11.089	11.089	4,0390	-0,0390
3.162	3,5000	15*	3704	3704	3,5580	-0,0580
1000	3,0000	16	932	932	2,9520	0,0480

*Se excluyó del análisis una muestra con valor atípico.

El valor del factor de conversión se verificó en el **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius** utilizando material de referencia calibrado y certificado (Tercer estándar internacional de la OMS, NIBSC), y se verificó desde 5,0000 log UI/mL a 2,0970 log UI/mL. Los resultados obtenidos se analizaron mediante un análisis de regresión ortogonal y lineal con el fin de calcular la relación entre los métodos.

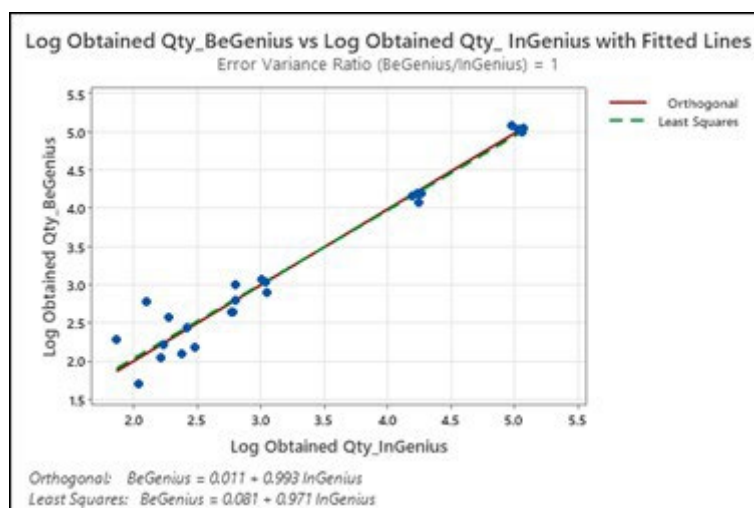


Fig. 4

El análisis de regresión ortogonal generó una intersección de 0,0112 (IC del 95 %: 0,2879; 0,3103) y una pendiente de 0,9928 (IC del 95 %: 0,9046; 1,0810). El análisis de regresión lineal generó un valor R² de 0,957.

En la tabla siguiente se resumen los resultados de cada matriz.

Tabla 22 Factor de conversión a unidades internacionales con el ELITE InGenius y el ELITE BeGenius

Matriz	Fc (UI copias)
Sangre	0,5
Líquido amniótico	1,0

11.11 Especificidad diagnóstica: confirmación de las muestras negativas

La especificidad diagnóstica del ensayo, expresada como confirmación de las muestras negativas, se evaluó utilizando el **ELITE InGenius** y analizando muestras clínicas de sangre recogida en EDTA y de líquido amniótico, que se certificaron como negativas o supuestamente negativas para la diana. Como el ELITE BeGenius presenta un rendimiento analítico equivalente al del ELITE InGenius, el rendimiento diagnóstico del ensayo observado en los dos instrumentos también se considera equivalente. Así pues, la especificidad diagnóstica del ensayo obtenida con el ELITE InGenius también es aplicable al ELITE BeGenius.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente:

Tabla 23 Especificidad diagnóstica

Muestras	N	Positivas	Negativas	% de especificidad diagnóstica
Sangre recogida en EDTA y negativa para ADN de PVB19	53	0	53	100
Líquido amniótico negativo para el ADN de PVB19	70	0	70	100

El valor de corte para el Ct del IC se estableció a 35 para las muestras de sangre recogida en EDTA y para las muestras de líquido amniótico cuando se analizaron con el ELITE InGenius y el ELITE BeGenius.

11.12 Sensibilidad diagnóstica: confirmación de las muestras positivas

La sensibilidad diagnóstica del ensayo, expresada como confirmación de las muestras positivas, se evaluó utilizando el **ELITE InGenius** y analizando muestras clínicas de sangre recogida en EDTA y muestras clínicas de líquido amniótico, que se certificaron como positivas para la diana o se enriquecieron con material de referencia. Como el ELITE BeGenius presenta un rendimiento analítico equivalente al del ELITE InGenius, el rendimiento diagnóstico del ensayo observado en los dos instrumentos también se considera equivalente. Por lo tanto, la sensibilidad diagnóstica del ensayo obtenida con el ELITE InGenius también es aplicable al ELITE BeGenius.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente:

Tabla 24 Sensibilidad diagnóstica

Muestras	N	Positivas	Negativas	% de sensibilidad diagnóstica
Sangre recogida en EDTA positiva para ADN de PVB19	51	51	0	100
Líquido amniótico enriquecido con PVB19	56	56	0	100

NOTA!

Los datos y resultados completos de las pruebas realizadas para evaluar las características de las prestaciones del producto con las matrices y los equipos se incluyen en la documentación técnica del producto **Parvovirus ELITE MGB® Kit**, FTP 070PLD.

12 BIBLIOGRAFÍA

- F. McOmish *et al.* (1993) *J. Clin. Microbiol.* **31**: 323-328.
 E. A. Lukhtanov *et al.* (2007) *Nucleic Acids Res.* **35**: e30.
 C. N. Kotton *et al.* (2025) *Transplantation* **109**: 1066-1110

13 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Utilizar este producto únicamente con las siguientes muestras clínicas: sangre recogida en EDTA y líquido amniótico.

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 contenga altas cantidades de ADN genómico humano que pueda inhibir la reacción de amplificación de ácidos nucleicos.

No se dispone de datos sobre la inhibición provocada por antivíricos, 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 controles positivos y los propios productos de la PCR. Una contaminación cruzada puede dar lugar a resultados falsos positivos. El formato del producto está diseñado para limitar la posibilidad de una contaminación cruzada. No obstante, esta solo puede evitarse procediendo conforme a las prácticas correctas de laboratorio y siguiendo estas instrucciones de uso.

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

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

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

Con el fin de evitar resultados incorrectos, este producto debe ser manipulado por profesionales debidamente formados y cualificados en técnicas de biología molecular, como la extracción, la 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 el ADN de la diana no se ha detectado en el ADN extraído de la muestra, si bien no puede descartarse que el ADN de la diana presente un título inferior al límite de detección del producto (consultar la sección «Características de rendimiento»). En este caso, el resultado puede ser un falso negativo.

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

Asimismo, la existencia de posibles polimorfismos, inserciones o eliminaciones en la región del 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.

14 PROBLEMAS Y SOLUCIONES

Tabla 25

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.

Tabla 25 (continued)

Reacción no válida del calibrador Q-PCR-Standard, de la curva de calibración o del Positive Control	
Posibles causas	Soluciones
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 26

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 27

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.

Tabla 27 (continued)

Reacción no válida de la muestra	
Posibles causas	Soluciones
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 28

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 29

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 30

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

15 SÍMBOLOS



Número de catálogo.



Límite superior de temperatura.



Código de lote.



Fecha de caducidad (último día del mes).



Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*.



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



Identificador único del producto



Contenido suficiente para <<N>> análisis.



Consulte las instrucciones de uso



Contenido.



Manténgase fuera de la luz del sol



Fabricante.

16 NOTA PARA LOS USUARIOS

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

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

17 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 el departamento de licencias de Thermo Fisher Scientific. Correo electrónico: outlicensing@thermofisher.com.

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

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 Parvovirus B19 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.

Uso previsto

El producto **Parvovirus B19 ELITE MGB®** Kites un producto sanitario para diagnóstico *in vitro* concebido para el uso por parte de profesionales sanitarios como ensayo cuantitativo de ácidos nucleicos mediante PCR en tiempo real para la **detección y la cuantificación de ADN de parvovirus B19 (PVB19)**, extraído de muestras clínicas.

El ensayo se ha validado para el uso 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, utilizando muestras humanas de sangre recogida en EDTA y de líquido amniótico.

El producto se utiliza como ayuda en el diagnóstico de infecciones por parvovirus B19 en pacientes en los que se sospecha la presencia de alguna infección por dicho virus y en el seguimiento en pacientes que tienen que someterse al tratamiento de dicha infección.

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

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

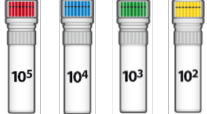
Secuencia amplificada

Secuencia	Gen	Fluoróforo	Canal
Diana	Proteína de cápside VP1	FAM	PVB19
Internal Control	Gen de la beta globina humana	AP525	IC

Matrices validadas

- Sangre recogida en EDTA
- Líquido amniótico

Contenido del kit y productos relacionados

PARVOVIRUS ELITE MGB Kit	PARVOVIRUS ELITE Standard	PARVOVIRUS- ELITE Positive Control
 X 4	 X 2	 X 2
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 ⁵ , 10 ⁴ , 10 ³ , 10 ² 1 conjuntos de 4 probetas de 200 µL 4 reacciones por kit 4 ciclos de congelación/descongelación	PC listo para el uso 2 probetas de 160 µL 8 reacciones por kit 4 ciclos de congelación/ descongelación

Período de estabilidad máximo: **24 meses**Temperatura de almacenamiento:
-20 °C

Otros productos necesarios no proporcionados con el kit

- Instrumento ELITE InGenius: INT030. - Instrumento ELITE BeGenius: INT040. - ELITE InGenius SP 200: INT032SP200.	- CPE - Internal Control: CTRCPE - Consumibles para el ELITE InGenius y el ELITE BeGenius (consulte las instrucciones de uso del ELITE InGenius y del ELITE BeGenius)
---	--

Protocolo del ELITE InGenius y del ELITE BeGenius

- Volumen de la muestra - Volumen del CPE - Volumen total de elución:	200 µL 10 µL 100 µL	- Volumen inicial de PCR del eluido - Volumen de la PCR Mix - Frecuencia de los controles	20 µL 20 µL 15 días
---	---	---	---

Rendimiento del ELITE InGenius y de ELITE BeGenius

Matriz	Límite de detección		Sensibilidad diagnóstica	Especificidad diagnóstica
	UI/mL	copias/mL		
Sangre	125	250	100 %	100 %
Líquido amniótico	40	40	100 %	100 %

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 y manipuladas conforme a las directrices para laboratorios y obtenidas, transportadas y conservadas en las condiciones siguientes:

Tabla 31

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	≤3 días	≤30 días	≤30 días
Líquido amniótico	recogido sin conservantes	≤4 horas	≤4 horas	≤30 días	≤30 días

Procedimientos con el ELITE InGenius

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

Antes del análisis

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

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

1. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil.	2. Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL»; «Elution» (Elución): «100 µL»	3. Escanear los códigos de barras de las muestras con el lector de códigos de barras manual, o bien introducir directamente el ID de la muestra.
4. Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo): PVB19 ELITE_WB_200_100 o PVB19 ELITE_AF_200_100	5. Seleccionar el método «Extract + PCR» (Extracción + PCR) y la posición de la muestra: Probeta primaria o «Extraction Tube» (Tubo de extracción)	6. Cargar la PCR Mix y el Internal Control en el «Inventory Block» (administrador de inventarios).
7. Cargar: Cargar el PCR Cassette, el cartucho de extracción, la «Elution Tube» (Tubo de elución), las puntas y las gradillas de muestras primarias.	8. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	9. Consultar, aprobar y almacenar los resultados.

NOTA!

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

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

1. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil.	2. Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL»; «Elution» (Elución): «100 µL»	3. Escanear los códigos de barras de las muestras con el lector de códigos de barras manual, o bien introducir directamente el ID de la muestra.
4. Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo): PVB19 ELITE_PC y PVB19 ELITE_NC, o PVB19 ELITE_STD o PVB19 ELITE_WB_200_100 o PVB19 ELITE_AF_200_100	5. Seleccionar el método «PCR Only» (Solo PCR) y establecer la posición de la muestra «Elution Tube» (Tubo de elución).	6. Cargar la PCR Mix en el «Inventory Block» (administrador de inventarios).
7. Cargar: El PCR Cassette y la rejilla de la «Elution Tube» (Tubo de elución) con el ácido nucleico extraído.	8. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	9. Consultar, aprobar y almacenar los resultados.

Procedimientos con el ELITE BeGenius

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

Antes del análisis

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

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

1. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil y, a continuación, hacer clic en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	2. Insertar 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.	3. Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL», «Eluate» (Eluido): «100 µL»
4. Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo). PVB19 ELITE_Be_WB_200_100 o PVB19 ELITE_Be_AF_200_100 Nota: Si es necesario llevar a cabo una segunda extracción, repetir los pasos del 2 al 4.	5. Imprimir las etiquetas para incluir el código de barras correspondiente en los «Elution Tubes» (tubos de elución) vacíos. Cargar las probetas en la «Elution Rack» (rejilla de elución) e insertarla en la «Cooler Unit».	6. Cargar el PCR Mix y el Internal Control en la «Reagent Rack/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) e insertarla en la «Cooler Unit»
7. 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.	8. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	9. Consultar, aprobar y almacenar los resultados.

NOTA!

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

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

1. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil.	2. Cargar el ácido nucleico extraído o las probetas con códigos de barras de los controles y los calibradores en la «Elution Rack» (rejilla de elución) e insertarla en la «Cooler Unit».	3. 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).
4. Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo): PVB19 ELITE_Be_PC y PVB19 ELITE_Be_NC, o PVB19 ELITE_Be_STD o PVB19 ELITE_Be_WB_200_100 o PVB19 ELITE_Be_AF_200_100	5. Cargar la mezcla completa de reacción en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) e insertarla en la «Cooler Unit».	6. Cargar la «PCR Rack» con el «PCR Cassette».
7. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	8. Consultar, aprobar y almacenar los resultados.	

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

