

Instructions for use

## **MTB EXTRA ELITe MGB® Kit**

---

Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real



**REF** RTS121ING

**UDI** 08033891487263



**HISTORIAL DE CAMBIOS**

Rev.	Información del cambio	Fecha (dd/mm/aa)
03	Análisis adicional en muestras negativas de esputo.	02/09/25
02	Ampliación del uso en el instrumento automatizado e integrado ELITe BeGenius con matrices de lavados broncoalveolares/aspirados bronquiales, orina, líquidos cavitarios, biopsias y aspirados gástricos. Nuevo diseño de los gráficos y del contenido de las instrucciones de uso	29/11/24
01	Ampliación del uso del instrumento automático e integrado ELITe BeGenius con una matriz de esputo	22/02/24
00	Desarrollo de un nuevo producto	—

**NOTA!**

La revisión de estas instrucciones de uso también es compatible con las versiones anteriores del kit.

## INDICE

---

<b>1 USO PREVISTO .....</b>	<b>4</b>
<b>2 PRINCIPIO DEL ENSAYO .....</b>	<b>4</b>
<b>3 DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO.....</b>	<b>4</b>
<b>4 MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO.....</b>	<b>4</b>
<b>5 MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO.....</b>	<b>5</b>
<b>6 OTROS PRODUCTOS NECESARIOS .....</b>	<b>5</b>
<b>7 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES.....</b>	<b>6</b>
<b>8 MUESTRAS Y CONTROLES .....</b>	<b>8</b>
<b>9 PROCEDIMIENTO CON EL ELITe InGenius.....</b>	<b>11</b>
<b>10 PROCEDIMIENTO CON EL ELITe BeGenius .....</b>	<b>17</b>
<b>11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO .....</b>	<b>21</b>
<b>12 BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>27</b>
<b>13 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO.....</b>	<b>27</b>
<b>14 PROBLEMAS Y SOLUCIONES .....</b>	<b>29</b>
<b>15 SÍMBOLOS.....</b>	<b>32</b>
<b>16 NOTA PARA LOS USUARIOS .....</b>	<b>32</b>
<b>17 AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA.....</b>	<b>33</b>
<b>Appendix A QUICK START GUIDE.....</b>	<b>34</b>

## 1 USO PREVISTO

El producto **MTB EXTRA ELITe MGB® Kit** es un producto sanitario para diagnóstico *in vitro* concebido para uso por parte de profesionales sanitarios como ensayo cualitativo de ácidos nucleicos mediante PCR en tiempo real para la detección de ADN del complejo de *Mycobacterium tuberculosis* o MTB (*M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. canetti*, *M. microti* y *M. caprae*).

El ensayo se ha validado con los instrumentos **ELITe InGenius®** y **ELITe BeGenius®**, que son sistemas automatizados e integrados para la extracción, la PCR en tiempo real y la interpretación de los resultados utilizando muestras humanas de esputo, aspirados bronquiales (AB), lavados broncoalveolares (LBA), orina, líquidos cavitarios, biopsias y aspirados gástricos, tras haberlas licuado, descontaminado e inactivado.

El producto se utiliza como ayuda en el diagnóstico de infecciones por el complejo de *Mycobacterium tuberculosis*, junto con los datos clínicos y los resultados de todas las pruebas analíticas pertinentes del paciente, sobre todo con los métodos de cultivo para *Mycobacterium*.

## 2 PRINCIPIO DEL ENSAYO

Este es un ensayo cualitativo de PCR en tiempo real para la detección del complejo de *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) a partir de muestras y amplificado mediante el uso del reactivo de ensayo **MTB EXTRA 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. **ELITe InGenius** y el **ELITe BeGenius** controlan el aumento de fluorescencia y calculan los ciclos umbral (Ct) y las temperaturas de fusión (Tm).

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.

## 3 DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

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

- la secuencia repetida del **complejo de IS6110 MTB**, que se detecta en el canal **MTB**; la sonda se estabiliza mediante la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher® y se marca con el colorante FAM.
- El Internal Control (**IC**), específico para la secuencia artificial **IC2**, detectado en el canal **IC**; la sonda se estabiliza con la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher y se marca con el colorante AquaPhluor® 680 (AP680).

La mezcla **MTB EXTRA PCR Mix** también contiene solución tampón, cloruro de magnesio, nucleótidos-trifosfato, los estabilizantes y la enzima ADN polimerasa con activación térmica («hot-start»).

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

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

## 4 MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

Tabla 1

Componente	Descripción	Cantidad	Clasificación de peligros
Mezcla de PCR de MTB EXTRA ref. RTS121ING	Mezcla de reactivos para PCR en tiempo real en una probeta con tapón rojo	8 x 280 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  $\mu$ L).
- Probetas estériles de 2,0 mL con tapón roscado (Sarstedt, Alemania, ref. 72.694.005).
- 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 ni los consumibles.

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

**Tabla 2**

Instrumentos y software	Productos y reactivos
<p><b>ELITe InGenius</b> (ELITeGroup S.p.A., EG SpA, ref. INT030).</p> <p><b>ELITe InGenius Software</b> versión 1.3.0.19 (o posterior)</p> <p><b>MTB EXTRA ELITe_PC</b>, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control.</p> <p><b>MTB EXTRA ELITe_NC</b>, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Negative Control</p> <p><b>MTB EXTRA ELITe_SP_200_100</b>, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de esputo.</p> <p><b>MTB EXTRA ELITe_BAL_200_100</b>, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de lavados broncoalveolares (LBA) y aspirados bronquiales (AB).</p> <p><b>MTB EXTRA ELITe_U_200_100</b>, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de orina.</p> <p><b>MTB EXTRA ELITe_CL_200_100</b>, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de líquidos cavitarios.</p> <p><b>MTB EXTRA ELITe_B_200_100</b>, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de biopsias.</p> <p><b>MTB EXTRA ELITe_GA_200_100</b>, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de aspirados gástricos.</p>	
<p><b>ELITe BeGenius</b> (EG SpA, ref. INT040).</p> <p><b>ELITe BeGenius Software</b> versión 2.3.0 (o posterior).</p> <p><b>MTB EXTRA ELITe_Be_PC</b>, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control.</p> <p><b>MTB EXTRA ELITe_Be_NC</b>, protocolo de ensayo (Assay Protocol) para el análisis del Negative Control.</p> <p><b>MTB EXTRA ELITe_Be_SP_200_100</b>, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de esputo.</p> <p><b>MTB EXTRA ELITe_Be_BAL_200_100</b>, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de lavados broncoalveolares (LBA) y aspirados bronquiales (AB).</p> <p><b>MTB EXTRA ELITe_Be_U_200_100</b>, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de orina.</p> <p><b>MTB EXTRA ELITe_Be_CL_200_100</b>, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de líquidos cavitarios.</p> <p><b>MTB EXTRA ELITe_Be_B_200_100</b>, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de biopsias.</p> <p><b>MTB EXTRA ELITe_Be_GA_200_100</b>, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de aspirados gástricos.</p>	<p><b>MDR/MTB - ELITe Positive Control</b> (EG SpA, ref. CTR120ING).</p> <p><b>ELITe InGenius SP200</b> (EG SpA, ref. INT032SP200).</p> <p>Consumibles para el <b>ELITe InGenius</b> y el <b>ELITe BeGenius</b> (consulte las instrucciones de uso del ELITe InGenius y del ELITe BeGenius)</p>

## 7 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

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

## 7.1 Advertencias y precauciones generales

Las muestras clínicas de los pacientes con sospecha de tuberculosis deben manipularse conforme a las reglamentaciones locales o estatales en materia de seguridad (ambiente de trabajo y formación del personal).

Las muestras clínicas de los pacientes en los que se sospecha la presencia de tuberculosis deben inactivarse antes de utilizarlas en cualquiera de los sistemas ELITe InGenius o ELITe BeGenius.

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. Es necesario tener disponibles áreas independientes para las pruebas de biología molecular y las pruebas de cultivo microbiológico. No manipular nunca cultivos líquidos o sólidos en el área designada para las reacciones de extracción/amplificación.

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

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

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

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

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

**Tabla 3**

Componente	Temperatura de almacenamiento	Uso a partir de la primera apertura	Ciclos de congelación y descongelación	Estabilidad con carga (ELITe InGenius y ELITe BeGenius)
<b>MTB EXTRA PCR Mix</b>	-20 °C o menos (protegido de la luz)	un mes	siete como máximo	Hasta siete 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

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 4**

Muestra	Requisitos de obtención	Condiciones transporte/almacenamiento			
		de +16 °C a +26 °C (temperatura ambiente)	de +2 °C a +8 °C	-20 °C ±10 °C	-70 °C ±15 °C
Esputo	Licuadas con una solución de N-acetil L-cisteína y descontaminadas con solución de hidróxido de sodio <sup>2)</sup> y, después, inactivadas a 95 °C durante 30 minutos.	≤1 hora <sup>1)</sup>	≤2 días <sup>2)</sup>	≤1 mes <sup>5)</sup>	≥1 mes
Lavado broncoalveolar (LBA) y aspirados bronquiales (AB)	Licuadas con una solución de N-acetil L-cisteína y descontaminadas con solución de hidróxido de sodio <sup>2)</sup> y, después, inactivadas a 95 °C durante 30 minutos.	≤1 hora <sup>1)</sup>	≤2 días <sup>2)</sup>	≤1 mes <sup>5)</sup>	≥1 mes
Orina	Concentradas y descontaminadas con solución de hidróxido de sodio <sup>2)</sup> y, después, inactivadas a 95 °C durante 30 minutos.	≤1 hora <sup>1)</sup>	≤2 días <sup>2)</sup>	≤1 mes <sup>5)</sup>	≥1 mes

Tabla 4 (continued)

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
Líquidos cavitarios	Concentradas y descontaminadas con solución de hidróxido de sodio <sup>2)</sup> y, después, inactivadas a 95 °C durante 30 minutos.	≤1 hora <sup>3)</sup>	≤2 días <sup>2)</sup>	≤1 mes <sup>5)</sup>	≥1 mes
Biopsias	Descompuestas y descontaminadas con solución de hidróxido de sodio <sup>2)</sup> y, después, inactivadas a 95 °C durante 30 minutos.	≤1 hora <sup>3)</sup>	≤7 días <sup>4)</sup>	≤1 mes <sup>3)</sup>	≥1 mes
Aspirados gástricos	Licuadas con una solución de N-acetyl L-cisteína y descontaminadas con solución de hidróxido de sodio <sup>2)</sup> y, después, inactivadas a 95 °C durante 30 minutos.	≤1 hora <sup>1)</sup>	≤2 días <sup>2)</sup>	≤7 días <sup>4)</sup>	≥1 mes

1) (CLSI MP48 2<sup>a</sup> edición, «*Laboratory Detection and Identification of Mycobacteria*»)

2) (*Mycobacteriology Laboratory Manual, Global Laboratory Initiative*).

3) (*KPNW Specimen Requirements*)

4) (*Mayo Clinic Laboratories*)

5) (*ARUP Laboratories*)

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

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

Tabla 5 Protocolos de ensayo para MTB EXTRA ELITe MGB Kit

Muestra	Instrumento	Nombre del protocolo de ensayo	Informe	Características
Esputo	ELITe InGenius	MTB EXTRA ELITe_SP_200_100	Positivo/ Negativo	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 de carga de PCR de la muestra: 20 µL
	ELITe BeGenius	MTB EXTRA ELITe_Be_SP_200_100		

**Tabla 5** Protocolos de ensayo para MTB EXTRA ELITe MGB Kit (continued)

Lavado broncoalveolar (LBA) y aspirados bronquiales (AB)	ELITe InGenius	MTB EXTRA ELITe_BAL_200_100	Positivo/ Negativo	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 de carga de PCR de la muestra: 20 µL
	ELITe BeGenius	MTB EXTRA ELITe_Be_BAL_200_100		
Orina	ELITe InGenius	MTB EXTRA ELITe_U_200_100	Positivo/ Negativo	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 de carga de PCR de la muestra: 20 µL
	ELITe BeGenius	MTB EXTRA ELITe_Be_U_200_100		
Líquidos cavitarios	ELITe InGenius	MTB EXTRA ELITe_CF_200_100	Positivo/ Negativo	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 de carga de PCR de la muestra: 20 µL
	ELITe BeGenius	MTB EXTRA ELITe_Be_CF_200_100		
Biopsias	ELITe InGenius	MTB EXTRA ELITe_B_200_100	Positivo/ Negativo	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 de carga de PCR de la muestra: 20 µL
	ELITe BeGenius	MTB EXTRA ELITe_Be_B_200_100		
Aspirados gástricos	ELITe InGenius	MTB EXTRA ELITe_GA_200_100	Positivo/ Negativo	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 de carga de PCR de la muestra: 20 µL
	ELITe BeGenius	MTB EXTRA ELITe_Be_GA_200_100		

Para todos los protocolos, 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 el apartado «Advertencias y precauciones».

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

Consultar el apartado «[11.4 Sustancias interferentes page 23](#)» en la sección «[11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO page 21](#)» para comprobar los datos relativos a tales sustancias.

## 8.2 Controles de PCR

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 **MDR/MTB- ELITe Positive Control** (no incluido en este kit) con los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **MTB EXTRA ELITe\_PC** o **MTB EXTRA 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) **MTB EXTRA ELITe\_NC** o **MTB EXTRA ELITe\_Be\_NC**.

### NOTA!

El **ELITe InGenius** y el **ELITe BeGenius** permiten generar y guardar la validación del control de PCR para cada lote de reactivos de PCR. Los resultados del control de la PCR caducan **a los 15 días**, transcurridos los cuales es necesario volver a procesar el Positive Control y el Negative Control. Los controles de PCR deben volver a procesarse si se produce alguna de las siguientes circunstancias:

- Se utiliza un nuevo lote de reactivos.
- Los resultados del análisis de control de calidad (consultar el apartado siguiente) están fuera de las especificaciones.
- Se realiza una operación importante de mantenimiento en uno de los instrumentos **ELITe InGenius** 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 **MTB EXTRA ELITe MGB Kit** con el **ELITe InGenius** comprende tres pasos:

**Tabla 6**

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

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

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

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

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

## 9.2 PASO 2. Configuración de la sesión

El producto **MTB EXTRA ELITe MGB Kit** puede utilizarse con el **ELITe InGenius** para realizar las siguientes tareas:

- A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)
- B. Sesión con la muestra eluida; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
- C. Sesión 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 12 análisis en condiciones óptimas de uso (es decir, realizando al menos 2 análisis por sesión). Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.

### NOTA!

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

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

Tabla 7

	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 del Positive Control y del Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
1	Identificar las muestras y, en caso necesario, descongelarlas a temperatura ambiente. Para este ensayo, es necesario verter 200 µL de muestra en un «Extraction Tube» (Tubo de extracción) previamente etiquetada.	Descongelar los «Elution Tubes» (Tubos de elución) que contienen los ácidos nucleicos extraídos a temperatura ambiente. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.	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. Cada probeta es suficiente para 4 reacciones.
2	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.	No aplicable	Preparar el Negative Control vertiendo al menos 50 µL de agua para biología molecular en un «Elution Tube» (Tubo de elución), que se incluye en el producto ELITe InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).
4	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.	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.
5	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.	No aplicable
6	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».	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.
7	Asegurarse de que el protocolo que se muestra en el área «Protocol» (Protocolo) sea «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	Seleccionar «PCR Only» en la columna «Protocol» (Protocolo).	En la columna «Protocol» (Protocolo), asegurarse de que esté seleccionado «PCR Only» (Solo PCR).
8	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 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]).
9	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.

Tabla 7 (continued)

	A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)	B. Sesión con la muestra; eluida modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)	C. Sesión del Positive Control y del Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
10	Cargar el CPE y la PCR Mix en el «Inventory Block» (administrador de inventarios) en función de la «Load List» (lista de carga) 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» (bloque de inventario) en función de la «Load List» (lista de carga) 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» (bloque de inventario) en función de la «Load List» (lista de carga) y, después, introducir el número de lote de la PCR Mix, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.
11	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
12	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.	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.
13	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
14	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 «Elution Tube» (Tubo de elución) con las muestras extraídas.	Cargar el PCR Cassette y las probetas de Positive Control y de Negative Control.
15	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
16	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.
17	Pulsar «Start» (Inicio).	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**» (probeta de elución) debe extraerse del instrumento, taparse, identificarse y conservarse a  $-20 \pm 10$  °C durante un máximo de un mes. Evitar derramar la muestra extraída.

#### NOTA!

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

Al finalizar la sesión, aparece automáticamente la pantalla «Results Display», 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 **MTB EXTRA ELITe MGB Kit** mediante el siguiente procedimiento:

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

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

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 y Tm resultantes 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 la 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** utiliza los resultados de la amplificación del Positive Control y del Negative Control para configurar los gráficos de control («Control Charts»), lo que permite controlar el rendimiento del paso de amplificación. Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

**NOTA!**

Si el resultado del Positive Control o 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 las reacciones del Positive Control o del Negative Control.

**NOTA!**

Si el resultado del Positive Control o del Negative Control no es válido y se han incluido 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.

### 9.3.2 Validación de los resultados de la muestra

El **ELITE InGenius Software** interpreta los resultados de la PCR para la diana (canal **MTB**) y el Internal Control (canal **IC**) utilizando los parámetros de los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **MTB EXTRA ELITE\_SP\_200\_100**, **MTB EXTRA ELITE\_BAL\_200\_100**, **MTB EXTRA ELITE\_U\_200\_100**, **MTB EXTRA ELITE\_CL\_200\_100**, **MTB EXTRA ELITE\_B\_200\_100** y **MTB EXTRA ELITE\_GA\_200\_100**.

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

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

**Tabla 8**

1) Positive Control	Estado
MTB EXTRA Positive Control	APROBADO
2) Negative Control	Estado
MTB EXTRA Negative Control	APROBADO

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

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

**Tabla 9**

Resultado de la sesión de la muestra	Interpretación
MTB: DNA detected MTB:DNA detected (MTB:ADN Detectado)	<b>Se ha detectado ADN del complejo MTB</b> en la muestra.
MTB: DNA not detected or below the LoD (MTB:ADN No detectado o por debajo del límite de detección).	<b>No se ha detectado ADN del complejo MTB</b> en la muestra. Se trata de una muestra <b>negativa válida</b> o la concentración de la diana se encuentra por debajo del límite de detección del ensayo.
Invalid-Retest Sample (No válido-Volver a probar muestra).	<b>Resultado no válido del ensayo</b> causado por un fallo en el Internal Control (p. ej., debido a una extracción incorrecta o al arrastre de inhibidores). Es necesario repetir el análisis.

Muestras notificadas como «Invalid-Retest Sample» (No válido-Volver a probar muestra): En este caso, 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 29](#)».

Las muestras que se notifican como «MTB: DNA not detected or below the LoD» (MTB:ADN No detectado o por debajo del límite de detección) son aptas para el análisis, pero no ha sido posible detectar ADN del complejo de MTB. En este caso, puede que la muestra sea negativa para ADN del complejo de MTB, o que haya ADN de la diana a una concentración inferior al límite de detección del ensayo (ver sección «[11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO page 21](#)»).

#### 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».

### 9.3.3 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 **MTB EXTRA ELITe MGB Kit** con el **ELITe BeGenius** comprende tres pasos:

**Tabla 10**

<b>PASO 1</b>	Verificación de la disponibilidad del sistema
<b>PASO 2</b>	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 para el Positive Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).
<b>PASO 3</b>	1) Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
	2) Validación de los resultados de las muestras
	3) Generación del informe de los resultados de la muestra

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

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

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

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

### 10.2 PASO 2. Configuración de la sesión

El producto **MTB EXTRA ELITe MGB Kit** puede utilizarse con el instrumento **ELITe BeGenius** para realizar las siguientes tareas:

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

## C. Sesión del Positive Control y del 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 12 análisis en condiciones óptimas de uso (es decir, realizando al menos 2 análisis por sesión). Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.

## NOTA!

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

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

Tabla 11

	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 del Positive Control y del Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
1	<b>Identificar las muestras</b> y, en caso necesario, descongelar a temperatura ambiente. Para este ensayo, es preciso verter <b>200 µL de muestra</b> en una probeta Sarstedt de 2 mL previamente etiquetada.	En caso necesario, <b>descongelar los «Elution Tubes»</b> (Tubos de elución) que contienen los ácidos nucleicos extraídos a temperatura ambiente. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.	<b>Descongelar las probetas de Positive Control</b> a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Cada probeta es suficiente para 4 reacciones.
2	<b>Descongelar las probetas de CPE</b> necesarias a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Cada probeta es suficiente para 12 extracciones.	No aplicable	<b>Preparar el Negative Control</b> vertiendo al menos 50 µL de agua para biología molecular en un «Elution Tube» (Tubode elución) que se incluye con el producto ELITe InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Seleccionar « <b>Perform Run</b> » ( <b>Realizar ejecución</b> ) en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar « <b>Perform Run</b> » ( <b>Realizar ejecución</b> ) en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar « <b>Perform Run</b> » ( <b>Realizar ejecución</b> ) en la pantalla «Home» (Inicio).
4	Extraer todas las gradillas de la « <b>Cooler Unit</b> » y colocarlas en la mesa de preparación.	Extraer las racks de los « <b>Lanes</b> » 1, 2 y 3 (L1, L2, L3) de la « <b>Cooler Unit</b> » y colocarlas en la mesa de preparación.	Extraer las racks de los « <b>Lanes</b> » 1, 2 y 3 (L1, L2, L3) de la « <b>Cooler Unit</b> » y colocarlas en la mesa de preparación.
5	Seleccionar el « <b>Run Mode</b> »: « <b>Extract + PCR</b> » ( <b>Extracción + PCR</b> ).	Seleccionar el « <b>Run Mode</b> »: « <b>PCR Only</b> » ( <b>Solo PCR</b> ).	Seleccionar el « <b>Run Mode</b> »: « <b>PCR Only</b> » ( <b>Solo PCR</b> ).

Tabla 11 (continued)

	A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)	B. Sesión con la muestra; eluida modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)	C. Sesión del Positive Control y del Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
6	Cargar las muestras en la «Sample Rack» (rack de muestras). Cuando se cargan probetas secundarias «2 mL Tubes», utilizar los adaptadores azules para la «Sample Rack» (rack de muestras).	Cargar las muestras en la «Elution Rack» (rejilla de elución).	Cargar las probetas de Positive Control y de Negative Control en la «Elution Rack» (rejilla de elución).
7	Insertar la «Sample Rack» (rack de muestras) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 5 (L5). En caso necesario, insertar el «SID» (ID de la muestra) para posición utilizada (si las probetas secundarias están cargadas, marchar la probeta de 2 mL («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» (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).	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).
8	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
9	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	No aplicable
10	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».	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».
11	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
	<b>Nota:</b> si se procesan más de 12 muestras, repetir el procedimiento a partir del punto 6.		No aplicable
12	Cargar las «Elution Tube» (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	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	No aplicable
14	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	No aplicable	No aplicable

Tabla 11 (continued)

	A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)	B. Sesión con la muestra; eluida modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)	C. Sesión del Positive Control y del Negative Control; 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).	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 reactivo de PCR Mix o cada CPE, llenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).	Insertar la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) en el Lane 2 (L2) de la «Cooler Unit» o, si está disponible, en el Lane 1 (L1). En caso necesario, para cada PCR Mix o cada CPE, llenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).	Insertar la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) en el Lane 2 (L2) de la «Cooler Unit» o, si está disponible, en el Lane 1 (L1). En caso necesario, para cada PCR Mix o cada CPE, llenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (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.	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.	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.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
20	Cargar la «PCR Rack» (gradilla de PCR) con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario).	Cargar la «PCR Rack» (gradilla de PCR) con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario).	Cargar la «PCR Rack» (gradilla de PCR) con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario).
21	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	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	No aplicable
23	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.
24	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).

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

### NOTA!

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

**NOTA!**

Al finalizar la sesión, la **PCR Mix** puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a  $-20^{\circ}\text{C}$  o a una temperatura inferior, o bien mantenerse en el bloque refrigerado durante un máximo de 7 horas (2 sesiones de unas 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 **Positive Control** puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a  $-20^{\circ}\text{C}$  o a una temperatura inferior. Evitar derramar el Positive Control. La parte que queda del **Negative Control** debe eliminarse.

**NOTA!**

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

**NOTA!**

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

### 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 las curvas de PCR que, después, se convierten en resultados.

Al finalizar la sesión, aparece automáticamente la pantalla «Results Display», 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 **MTB EXTRA ELITe MGB Kit** mediante el siguiente procedimiento:

1. Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control.
2. Validación de los resultados de las muestras.
3. 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

**NOTA!**

Se realizaron estudios de las características de rendimiento con el ELITe InGenius utilizando el componente **TB1 PCR Mix** del producto **MDR/MTB ELITe MGB Kit** de EG SpA (ref. RTS120ING), que tiene la misma formulación que el componente **MTB EXTRA PCR Mix** del producto **MTB EXTRA ELITe MGB Kit** de EG SpA (ref. RTS121ING). En los estudios realizados con el ELITe BeGenius, se utilizó el componente **MTB EXTRA PCR**; se utilizaron las mismas muestras y el mismo perfil térmico en los dos instrumentos.

## 11.1 Límite de detección (LoD)

El límite de detección (LoD) del ensayo se determinó con muestras de esputo en el ELITe InGenius utilizando una dilución de material de referencia de *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), cepa H37Ra (ATCC, ref. 25177).

Se realizó un análisis de regresión Probit en los resultados y el LoD se definió como la concentración correspondiente al 95 % de probabilidad de un resultado positivo.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

**Tabla 12 Límite de detección (ufc/mL) para muestras de esputo y el ELITe InGenius**

Matriz	Límite de detección (ufc/mL)	Límites del intervalo de confianza del 95 %	
		Límite inferior	Límite superior
Esputo	6	4	15

El valor calculado del LoD se verificó analizando en el ELITe InGenius y el ELITe BeGenius muestras de esputo y de LBA/AB enriquecidas con material de referencia de MTB a la concentración declarada (6 ufc/mL), analizando 20 duplicados.

El límite de detección del ensayo (LoD) cuando se utilizaron muestras de líquidos cavitarios, orina y biopsias se verificó en los instrumentos ELITe InGenius y ELITe BeGenius, analizando 20 duplicados de las muestras de las matrices que se enriquecieron con material de referencia certificado de MTB a la concentración declarada de 20 ufc/mL.

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

**Tabla 13 Límite de detección con el ELITe InGenius y el ELITe BeGenius**

Muestra	Título
Esputo	6 ufc/mL
LBA/AB	6 ufc/mL
Orina	20 ufc/mL
Líquidos cavitarios	20 ufc/mL
Biopsias	20 ufc/mL
Aspirados gástricos	20 ufc/mL

## 11.2 Inclusividad: eficacia de detección

La inclusividad del ensayo, expresada como la eficacia de detección de las especies de micobacterias incluidas en el complejo de *Mycobacterium tuberculosis* del producto, se evaluó mediante un análisis informático de las secuencias disponibles en la base de datos de nucleótidos.

El análisis demostró la conservación de la secuencia y la ausencia de mutaciones reseñables en la secuencia de MTB disponible. Así, se espera una detección eficaz de las diferentes cepas o de los diferentes aislados.

La inclusividad también se verificó mediante un análisis de ADN genómico certificado procedente de muestras clínicas (proporcionadas por un laboratorio externo) y de ADN plasmídicos.

Todas las muestras se detectaron correctamente como positivas para MTB cuando el producto se utilizó en el ELITe InGenius.

## 11.3 Potenciales marcadores interferentes

La reactividad cruzada potencial con otros microorganismos imprevistos del ensayo se evaluó mediante un análisis informático de las secuencias disponibles en la base de datos de nucleótidos EBI ENA.

Las regiones elegidas para la hibridación de los cebadores y las sondas fluorescentes se analizaron en la alineación de las secuencias de micobacterias no tuberculosas (NTM) y otros microorganismos que pueden encontrarse en muestras clínicas. Las regiones de hibridación presentaron ausencia de homologías reseñables y no indicaron ninguna posible interferencia.

La ausencia de reactividad cruzada con NTM también se verificó analizando un panel de ADN genómico certificado de *M. avium*, *M. gordonae*, *M. abscessus*, *M. intracellulare*, *M. fortuitum*, *M. kansasii*, *M. xenopi* y *M. chelonae*. Asimismo, se analizó un panel de ADN genómico certificado de otros microorganismos que pueden estar presentes en las muestras de esputo: *Chlamydophila pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*.

Todos los microorganismos con posible reactividad cruzada presentaron un resultado negativo para MTB cuando se analizaron con el producto MTB EXTRA ELITe MGB Kit.

#### 11.4 Sustancias interferentes

La reactividad cruzada provocada por las sustancias potencialmente interferentes que pueden encontrarse en las muestras se evaluó para el ensayo analizando un panel de sustancias a las concentraciones pertinentes. Las sustancias analizadas fueron antibióticos (rifampicina e isoniacida) y componentes del esputo (mucina, sangre humana).

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

**Tabla 14**

Sustancia	Concentración	Resultados corregidos
Rifampicina	25 µg/ml	3/3
Isoniazida	50 µg/ml	3/3
Mucina porcina	2 % m/v (20 mg/ml)	3/3
Sangre recogida en EDTA	5% v/v	3/3

El análisis demostró que las sustancias analizadas no inhiben la detección de las dianas cuando se utiliza el producto MTB EXTRA ELITe MGB Kit.

#### 11.5 Repetibilidad

La repetibilidad del ensayo se evaluó en el ELITe InGenius y el ELITe BeGenius analizando un panel de muestras de esputo negativas o enriquecidas con material de referencia de *Mycobacterium tuberculosis* (ATCC, ref.

25177).

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

**Tabla 15 Repetibilidad dentro de las sesiones en el ELITe InGenius**

Muestra	N	MTB			% de concordancia
		Media	DE	%CV	
Negativas	8	-	-	-	100 %
3×LoD	8	36,55	0,62	1,71	100 %
10 veces el LoD	8	35,86	0,65	1,81	100 %

**Tabla 16 Repetibilidad dentro de las sesiones en el ELITe BeGenius**

Muestra	N	MTB			% de concordancia
		Media	DE	%CV	
Negativas	8	-	-	-	100 %
3×LoD	8	37,53	0,65	1,74	100 %
10 veces el LoD	8	36,54	0,60	1,65	100 %

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

**Tabla 17 Repetibilidad entre sesiones en el ELITe InGenius**

Muestra	N	MTB			% de concordancia
		Media	DE	%CV	
Negativas	16	-	-	-	100 %
3×LoD	16	36,55	0,69	1,89	100 %
10 veces el LoD	16	35,79	0,59	1,64	100 %

**Tabla 18 Repetibilidad entre sesiones en el ELITe BeGenius**

Muestra	N	MTB			% de concordancia
		Media	DE	%CV	
Negativas	16	-	-	-	100 %
3×LoD	16	37,49	0,60	1,59	100 %
10 veces el LoD	16	36,61	0,69	1,87	100 %

En la prueba de repetibilidad, el producto MTB EXTRA ELITe MGB Kit detectó todas las muestras tal como se esperaba y presentó una variación máxima del valor de Ct de la diana como un %CV inferior al 5 %.

## 11.6 Reproducibilidad

La reproducibilidad del ensayo se evaluó en el ELITe InGenius y el ELITe BeGenius analizando un panel de muestras de esputo negativas o enriquecidas con material de referencia de *Mycobacterium tuberculosis* (ATCC, ref. 25177).

En las tablas siguientes se muestran los resultados obtenidos en la prueba de reproducibilidad entre lotes (dos lotes) obtenidos.

**Tabla 19 Reproducibilidad entre lotes en el ELITe InGenius**

Muestra	N	MTB			% de concordancia
		Media	DE	%CV	
Negativas	8	-	-	-	100 %
3×LoD	8	36,68	0,71	1,94	100 %
10 veces el LoD	8	35,70	0,79	2,21	100 %

**Tabla 20 Reproducibilidad entre lotes en el ELITe BeGenius**

Muestra	N	MTB			% de concordancia
		Media	DE	%CV	
Negativas	8	-	-	-	100 %
3×LoD	8	37,93	0,71	1,88	100 %
10 veces el LoD	8	36,56	0,55	1,50	100 %

En las tablas siguientes se muestran los resultados obtenidos en la prueba de reproducibilidad entre instrumentos (en dos días, dos lotes y dos instrumentos).

**Tabla 21 Reproducibilidad entre instrumentos en el ELITe InGenius**

Muestra	N	MTB			% de concordancia
		Media	DE	%CV	
Negativas	8	-	-	-	100 %
3×LoD	8	36,50	0,63	1,71	100 %
10 veces el LoD	8	35,91	0,57	1,58	100 %

**Tabla 22 Reproducibilidad entre instrumentos en el ELITe BeGenius**

Muestra	N	MTB			% de concordancia
		Media	DE	%CV	
Negativas	8	-	-	-	100 %
3×LoD	8	37,52	0,39	1,05	100 %
10 veces el LoD	8	36,71	0,43	1,17	100 %

En la prueba de reproducibilidad, el producto MTB EXTRA ELITe MGB Kit detectó todas las muestras tal como se esperaba y presentó una variación máxima del valor de Ct de la diana como un %CV inferior al 5 %.

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

La especificidad diagnóstica del ensayo, expresada como confirmación de las muestras clínicas negativas, se evaluó en el ELITe InGenius analizando muestras clínicas negativas para MTB analizadas mediante cultivo.

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**

Muestra	N	Positivas	Negativas	% de especificidad diagnóstica
Esputo	52	1	51	98,1 %
LBA/AB	40	1	39	97,5 %
Orina	20	0	20	100 %

**Tabla 23 Especificidad diagnóstica (continued)**

Muestra	N	Positivas	Negativas	% de especificidad diagnóstica
Líquidos cavitarios	40	0	40	100 %
Biopsias	40	0	40	100 %
Aspirados gástricos	20	0	20	100 %

Además, en el caso de las muestras de esputo, las muestras negativas para MTB también se analizaron con otro ensayo de diagnóstico molecular *in vitro* con marcado CE y mediante microscopía de frotis de AFB. Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

**Tabla 24 Especificidad diagnóstica de las muestras de esputo en comparación con otros ensayos**

Muestra	N	Positivas	Negativas	% de especificidad diagnóstica
Esputo analizado con un ensayo de diagnóstico molecular <i>in vitro</i> con marcado CE	52	1	51	98,1 %
Esputo analizado mediante microscopía de frotis de AFB	58	7	51	89,47 %

En la tabla siguiente se muestran los valores de corte del Ct del IC para cada matriz tanto con el ELITe InGenius como con el ELITe BeGenius.

**Tabla 25 Valores de corte del Ct del IC**

Muestra	Valores de corte del Ct del IC	
	ELITe InGenius	ELITe BeGenius
Esputo	34	35
LBA/AB	35	35
Orina	35	35
Líquidos cavitarios	34	34
Biopsias	34	35
Aspirados gástricos	34	34

## 11.8 Sensibilidad diagnóstica: confirmación de muestras positivas

La sensibilidad diagnóstica del ensayo, expresada como confirmación de las muestras clínicas positivas, se evaluó en el ELITe InGenius analizando muestras clínicas certificadas como positivas y analizadas mediante cultivo o enriquecidas con material de referencia de MTB.

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

Los resultados se resumen en la tabla siguiente:

**Tabla 26 Sensibilidad diagnóstica**

Muestra	N	Positivas	Negativas	% de sensibilidad diagnóstica
Esputo	50	50	0	100 %
LBA/AB	46	42	4	91,3 %
Orina	20	16	4	80 %
Líquidos cavitarios	40	39	1	97,5 %
Biopsias	42	38	4	90,5 %
Aspirados gástricos	22	18	4	81,8 %

Además, en el caso de las muestras de esputo, las muestras positivas para MTB también se analizaron con otro ensayo de diagnóstico molecular *in vitro* con marcado CE y mediante microscopía de frotis de AFB. Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

**Tabla 27 Sensibilidad diagnóstica de las muestras de esputo en comparación con otros ensayos**

Muestra	N	Positivas	Negativas	% de sensibilidad diagnóstica
Esputo analizado con un ensayo de diagnóstico molecular <i>in vitro</i> con marcado CE	50	50	0	100 %
Esputo analizado mediante microscopía de frotis de AFB	44	44	0	100 %

### NOTA!

los datos y resultados completos de los análisis realizados para la evaluación de las características de rendimiento del producto con las matrices y los instrumentos se recogen en la documentación técnica del producto **MTB EXTRA ELITe MGB Kit**, ref. FTP 121ING.

## 12 BIBLIOGRAFÍA

Thierry D. *et al.* (1990) Nucleic Acids Res. 18: 188

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

Mycobacteriology laboratory manual (Global Laboratory Initiative, First edition, April 2014).

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

## 13 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Utilice este producto solo con muestras clínicas de esputo, lavados broncoalveolares (LBA), aspirados bronquiales (AB), orina, líquidos cavitarios, biopsias y aspirados gástricos que estén fluidificadas, descontaminadas e inactivadas.

No utilizar con este producto muestras que contengan mucina a concentraciones de más del 2 %: la mucina inhibe la reacción de amplificación de los ácidos nucleicos y da lugar a resultados no válidos.

En la actualidad, no se dispone de datos relativos al rendimiento del producto con las siguientes muestras clínicas: líquido cefalorraquídeo (LCR), materiales necróticos, pus, heces y sangre.

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 cruzada 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 ropa de trabajo 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 del Internal Control. En este caso, la muestra debe volver a analizarse, comenzando por la extracción, lo que puede implicar retrasos en la obtención de los resultados finales.

Del mismo modo, los posibles polimorfismos, así como las inserciones o supresiones existentes en la región del ADN diana cubierto por los cebadores y las sondas del producto, pueden afectar negativamente a la detección 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 28**

Reacción no válida del Positive Control	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Revisar la posición de la PCR Mix y del Positive Control. Comprobar los volúmenes de la PCR Mix y del Positive Control.
Degradación de la PCR Mix.	No utilizar la PCR Mix durante más de 7 sesiones independientes: 3 horas en el bloque refrigerado de la «Inventory Area» (área del inventario) o en la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración). 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 Positive Control.	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» (unidad de refrigeración). Utilizar una nueva alícuota de la Positive Control.
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

**Tabla 29**

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» (unidad de refrigeración).	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 30**

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

**Tabla 31**

<b>Curva de disociación anómala</b>	
<b>Posibles causas</b>	<b>Soluciones</b>
Ausencia de un valor máximo definido. Pico definido, pero Tm diferente de la de otras muestras y de la presentada por 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 32**

<b>Error en el cálculo del Ct</b>	
<b>Posibles causas</b>	<b>Soluciones</b>
Concentración demasiado alta de la diana en la muestra o muestra con una señal de fluorescencia anómala.	<p>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.</p> <p>Si no se observa ninguna amplificación en el gráfico de la PCR, seleccionar el carril («Track») relativo a la muestra y aprobar manualmente el resultado como negativo, o bien dejarlo como no válido.</p> <p>Si se requiere un valor Ct:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 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).</li> <li>- 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).</li> </ul>

**Tabla 33**

<b>Tasa anormalmente alta de resultados positivos dentro de la misma sesión (reacciones con valores de Ct tardíos similares)</b>	
<b>Posibles causas</b>	<b>Soluciones</b>
Contaminación entre muestras durante los pasos preanalíticos.	<p>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.</p> <p>No utilizar pipetas de Pasteur. Las pipetas deben ser del tipo de desplazamiento positivo o utilizarse con puntas con filtro para aerosoles.</p> <p>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.</p>
Contaminación medioambiental en el laboratorio	<p>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.</p> <p>Realizar un ciclo de descontaminación con radiación UV.</p> <p>Utilizar una nueva probeta de la PCR Mix o del CPE.</p>

## 15 SÍMBOLOS

<b>REF</b>	Número de catálogo.
	Límite superior de temperatura.
<b>LOT</b>	Código de lote.
	Fecha de caducidad (último día del mes).
<b>IVD</b>	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i> .
<b>CE</b>	Cumple los requisitos de la Directiva 98/79/CE del Parlamento Europeo y del Consejo sobre productos sanitarios para diagnóstico <i>in vitro</i> .
<b>UDI</b>	Identificador único del producto
	Contenido suficiente para <>N<> análisis.
	Consulte las instrucciones de uso
<b>CONT</b>	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](mailto: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](mailto: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 ELITeGroup S.p.A. y sus afiliadas y Thermo Fisher Scientific. El precio de compra de este producto incluye derechos limitados y no transferibles para utilizar únicamente esta cantidad de producto exclusivamente para las actividades del comprador directamente relacionadas con el diagnóstico humano. Para obtener información sobre cómo adquirir una licencia para este producto con fines distintos de los indicados anteriormente, contactar con del departamento de licencias de Thermo Fisher Scientific. Correo electrónico: [outlicensing@thermofisher.com](mailto:outlicensing@thermofisher.com).

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

ELITe InGenius® y las tecnologías ELITe BeGenius® están cubiertos por patentes y solicitudes de patentes.

Esta licencia limitada permite a la persona o a la entidad a la que se ha suministrado este producto utilizar este y los datos generados con el uso del producto exclusivamente para diagnóstico humano. Ni ELITeGroup S.p.A. ni sus licenciatarios 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 ELITeGroup en la Unión Europea.

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



### ATENCIÓN

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

### Uso previsto

El producto **MTB EXTRA ELITe MGB® Kit** es un producto sanitario para diagnóstico *in vitro* concebido para uso por parte de profesionales sanitarios como ensayo cualitativo de ácidos nucleicos mediante PCR en tiempo real para la detección de ADN del complejo de *Mycobacterium tuberculosis* o MTB (*M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. canettii*, *M. microti* y *M. caprae*).

El ensayo se ha validado con los instrumentos **ELITe InGenius®** y **ELITe BeGenius®**, que son sistemas automatizados e integrados para la extracción, la PCR en tiempo real y la interpretación de los resultados utilizando muestras humanas de esputo, aspirados bronquiales (AB), lavados broncoalveolares (LBA), orina, líquidos cavitarios, biopsias y aspirados gástricos, tras haberlas licuado, descontaminado e inactivado.

El producto se utiliza como ayuda en el diagnóstico de infecciones por el complejo de *Mycobacterium tuberculosis*, junto con los datos clínicos y los resultados de todas las pruebas analíticas pertinentes del paciente, sobre todo con los métodos de cultivo para *Mycobacterium*.

### Secuencia amplificada

Diana para la amplificación cualitativa	Gen	Fluoróforo	Canal
Diana	› IS6110	› FAM	MTB
› Internal Control	› Secuencia artificial del IC2	› AP680	IC

### Matriz validada

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Esputo</li> <li>• Aspirados bronquiales (AB)/lavados broncoalveolares</li> <li>• Orina</li> <li>• Líquidos cavitarios</li> <li>• Biopsias</li> <li>• Aspirados gástricos</li> </ul>	Previamente licuados, descontaminado e inactivados
--	--

## Contenido del kit y productos relacionados

MTB EXTRA ELITe MGB Kit (RTS121ING)	MDR/MTB - ELITe Positive Control (CTR120ING)
 X 8	 X 3
<b>Mezcla de PCR de MTB EXTRA</b> 8 probetas de 280 µL 12 reacciones por probeta 96 reacciones por kit 7 ciclos de congelación/descongelación por cada probeta	<b>TB Positive Control</b> 3 probetas de 160 µL 2 reacciones por probeta 6 reacciones por kit 2 ciclos de congelación/descongelación
Período de estabilidad máximo:	<b>24 meses</b>
Temperatura de almacenamiento	<b>≤-20 °C</b>
Período de estabilidad máximo	<b>24 meses</b>
Temperatura de almacenamiento	<b>≤-20 °C</b>

## Otros productos necesarios no proporcionados con el kit

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

## Protocolos ELITe InGenius y ELITe BeGenius

<ul style="list-style-type: none"> <li>Volumen de la muestra</li> <li>Volumen del CPE</li> <li>Volumen total de elución:</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>200 µL</li> <li>10 µL</li> <li>100 µL</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Volumen inicial de PCR del eluido</li> <li>Volumen de la Q-PCR Mix</li> <li>Frecuencia de los controles</li> <li>Frecuencia de la calibración</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>20 µL</li> <li>20 µL</li> <li>15 días</li> <li>30 días</li> </ul>
---	---	---	--

## Rendimiento del ELITe InGenius y de ELITe BeGenius

Matriz	Límite de detección	Sensibilidad diagnóstica	Especificidad diagnóstica
Esputo	6 ufc/mL	100 % 50/50*	98 % 47/48*
LBA/AB	6 ufc/mL	91,3 % 42/46*	97,5 % 39/40*
Orina	20 ufc/mL	80 % 16/20*	100 % 20/20*
Líquidos cavitarios	20 ufc/mL	97,5 % 39/40*	100 % 40/40*

Matriz	Límite de detección	Sensibilidad diagnóstica	Especificidad diagnóstica
Biopsias	20 ufc/mL	90,5 % 38/42	100 % 40/40*
Aspirados gástricos	20 ufc/mL	81,8 % 18/22*	100 % 20/20*

\*muestras confirmadas/muestras analizadas

## Preparación de la muestra

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

**Tabla 34**

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
Esputo	Licuadas con una solución de N-acetil L-cisteína y descontaminadas con solución de hidróxido de sodio <sup>2)</sup> y, después, inactivadas a 95 °C durante 30 minutos.	≤1 hora <sup>1)</sup>	≤2 días <sup>2)</sup>	≤1 mes <sup>5)</sup>	≥1 mes
Lavado broncoalveolar (LBA) y aspirados bronquiales (AB)	Licuadas con una solución de N-acetil L-cisteína y descontaminadas con solución de hidróxido de sodio <sup>2)</sup> y, después, inactivadas a 95 °C durante 30 minutos.	≤1 hora <sup>1)</sup>	≤2 días <sup>2)</sup>	≤1 mes <sup>5)</sup>	≥1 mes
Orina	Concentradas y descontaminadas con solución de hidróxido de sodio <sup>2)</sup> y, después, inactivadas a 95 °C durante 30 minutos.	≤1 hora <sup>1)</sup>	≤2 días <sup>2)</sup>	≤1 mes <sup>5)</sup>	≥1 mes
Líquidos cavitarios	Concentradas y descontaminadas con solución de hidróxido de sodio <sup>2)</sup> y, después, inactivadas a 95 °C durante 30 minutos.	≤1 hora <sup>3)</sup>	≤2 días <sup>2)</sup>	≤1 mes <sup>5)</sup>	≥1 mes

Tabla 34 (continued)

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
Biopsias	Descompuestas y descontaminadas con solución de hidróxido de sodio <sup>2)</sup> y, después, inactivadas a 95 °C durante 30 minutos.	≤1 hora <sup>3)</sup>	≤7 días <sup>4)</sup>	≤1 mes <sup>3)</sup>	≥1 mes
Aspirados gástricos	Licuadas con una solución de N-acetil-L-cisteína y descontaminadas con solución de hidróxido de sodio <sup>2)</sup> y, después, inactivadas a 95 °C durante 30 minutos.	≤1 hora <sup>1)</sup>	≤2 días <sup>2)</sup>	≤7 días <sup>4)</sup>	≥1 mes

1) (CLSI MP48 2<sup>a</sup> edición, «*Laboratory Detection and Identification of Mycobacteria*»)

2) (*Mycobacteriology Laboratory Manual, Global Laboratory Initiative*).

3) (*KPNW Specimen Requirements*)

4) (*Mayo Clinic Laboratories*)

5) (*ARUP Laboratories*)

## 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 « <b>CLOSED</b> »	2. Verificar los controles: <b>Positive Control</b> y <b>Negative Control</b> en el menú «Controls» (Controles). Nota: los dos tienen que haberse procesado y aprobado y no deben estar caducados.	3. Descongelar las probetas de <b>PCR Mix</b> y de <b>CTRCPE</b> . Agitar suavemente en un vórtex. Centrifugar durante 5 segundos.
--	--	--

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

<b>1.</b> Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil.	<b>2.</b> Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL»; «Elution» (Elución): «100 µL»	<b>3.</b> Escanear los códigos de barras de las muestras con el lector de códigos de barras manual, o bien introducir directamente el ID de la muestra.
<b>4.</b> Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo): MTB EXTRA ELITe_SP_200_100 MTB EXTRA ELITe_BAL_200_100 MTB EXTRA ELITe_U_200_100 MTB EXTRA ELITe_CL_200_100 MTB EXTRA ELITe_B_200_100 MTB EXTRA ELITe_GA_200_100	<b>5.</b> Seleccionar el método «Extract + PCR» (Extracción + PCR) y la posición de la muestra: «Extraction Tube» (Tubo de extracción)	<b>6.</b> Cargar la he PCR Mix y el Internal Control en el «Inventory Block» (administrador de inventarios).
<b>7.</b> Cargar el PCR Cassette, el cartucho de extracción, el «Elution Tube» (Tubo de elución), el cartucho de puntas y las gradillas de el «Extraction Tube» (Tubo de extracción).	<b>8.</b> Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	<b>9.</b> 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, controles**

<b>1.</b> Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil.	<b>2.</b> Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL»; «Elution» (Elución): «100 µL»	<b>3.</b> Escanear los códigos de barras de las muestras con el lector de códigos de barras manual, o bien introducir directamente el ID de la muestra.
<b>4.</b> Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo): MTB EXTRA ELITe_PC o MTB EXTRA ELITe_NC or MTB EXTRA ELITe_SP_200_100 MTB EXTRA ELITe_BAL_200_100 MTB EXTRA ELITe_U_200_100 MTB EXTRA ELITe_CL_200_100 MTB EXTRA ELITe_B_200_100 MTB EXTRA ELITe_GA_200_100	<b>5.</b> Seleccionar el método «PCR Only» (Solo PCR) y establecer la posición de la muestra «Elution Tube» (Tubo de elución).	<b>6.</b> Cargar la PCR Mix en el «Inventory Block» (administrador de inventarios).
<b>7.</b> Cargar: El PCR Cassette y la rejilla de la «Elution Tube» (Tubo de elución) con el ácido nucleico extraído.	<b>8.</b> Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	<b>9.</b> 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**

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

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

<b>1.</b> Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil y, a continuación, hacer clic en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	<b>2.</b> Insertar la «Sample Rack» (Rack de muestras) con las muestras dotadas de códigos de barras en la «Cooling Unit» (unidad de refrigeración). El escaneado de códigos de barras ya está activo.	<b>3.</b> Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL», «Eluate» (Eluido): «100 µL»
<b>4.</b> Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo): MTB EXTRA ELITe_Be_SP_200_100 MTB EXTRA ELITe_Be_BAL_200_100 MTB EXTRA ELITe_Be_U_200_100 MTB EXTRA ELITe_Be_CL_200_100 MTB EXTRA ELITe_Be_B_200_100 MTB EXTRA ELITe_Be_GA_200_100 <b>Nota:</b> Si es necesario llevar a cabo una segunda extracción, repetir los pasos del 2 al 4.	<b>5.</b> Imprimir las etiquetas para incluir el código de barras correspondiente en las probetas de elución vacías. Cargar las probetas en la «Elution Rack» (rejilla de elución) e insertarla en la «Cooler Unit».	<b>6.</b> Cargar el PCR Mix y el Internal Control en la «Reagent Rack/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) e insertarla en la «Cooler Unit»
<b>7.</b> Cargar la «PCR Rack» (rejilla de PCR) con el «PCR Cassette» y la «Extraction Basket» (cesta de extracción), con los cartuchos de extracción «ELITe InGenius SP 200» y los consumibles que se necesitan para la extracción.	<b>8.</b> Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	<b>9.</b> 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, controles**

<b>1.</b> Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil y, a continuación, hacer clic en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).	<b>2.</b> Cargar el ácido nucleico extraído o las probetas con códigos de barras de los controles en la «Elution Rack» (rejilla de elución) e insertarla en la «Cooler Unit».	<b>3.</b> Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL», «Eluate» (Eluido): «100 µL»
<b>4.</b> Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo): MTB EXTRA ELITe_Be_PC o MTB EXTRA ELITe_Be_NC o: MTB EXTRA ELITe_Be_SP_200_100 MTB EXTRA ELITe_Be_BAL_200_100 MTB EXTRA ELITe_Be_U_200_100 MTB EXTRA ELITe_Be_CL_200_100 MTB EXTRA ELITe_Be_B_200_100 MTB EXTRA ELITe_Be_GA_200_100	<b>5.</b> Cargar la mezcla PCR Mix en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) e insertarla en la «Cooler Unit».	<b>6.</b> Cargar la «PCR Rack» (rejilla de PCR) con el «PCR Cassette»
<b>7.</b> Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	<b>8.</b> 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](mailto:emd.support@elitechgroup.com)  
Página web: [www.elitechgroup.com](http://www.elitechgroup.com)

