

Instructions for use

Bordetella ELITe MGB® Kit

Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real



REF RTS140ING

UDI 08033891486785

CE **IVD**
0123

HISTORIAL DE CAMBIOS

Rev.	Información del cambio	Fecha (dd/mm/aa)
06-R	Actualización del envase de la probeta de PCR Mix (apartado «Material proporcionado con el producto») Actualización del apartado «Otros productos necesarios» Actualización del apartado «Nota para los usuarios»	08/09/25
05-R	Actualización de la sección «Símbolos» con el símbolo «Consultar las instrucciones de uso» Actualización del apartado «Nota para el comprador: licencia limitada»	24/03/25
04-R	Ampliación del uso en el instrumento automático e integrado ELiTe BeGenius con matrices de aspirados nasofaríngeos. Nuevo diseño de los gráficos y del contenido de las instrucciones de uso	31/10/24
03-R	Actualización después de la revisión de la leyenda	12/06/23
02-R	Actualización para el cumplimiento de los requisitos del Reglamento (UE) 2017/746 del Parlamento Europeo y del Consejo sobre los productos sanitarios para diagnóstico <i>in vitro</i> .	19/01/23
00-02	Desarrollo de un nuevo producto con los cambios consiguientes	—

NOTA!

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

REF. DEL PRODUCTO	Código de lote	Fecha de caducidad
RTS140ING	U0224-095	28/02/26
RTS140ING	U0524-028	28/02/26
RTS140ING	U0824-001	31/07/26

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

INDICE

1 USO PREVISTO	4
2 PRINCIPIO DEL ENSAYO	4
3 DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO.....	4
4 MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO.....	5
5 MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO	5
6 OTROS PRODUCTOS NECESARIOS	5
7 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES.....	6
8 MUESTRAS Y CONTROLES	7
9 PROCEDIMIENTO CON EL ELITe InGenius.....	9
10 PROCEDIMIENTO CON EL ELITe BeGenius	15
11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO	19
12 BIBLIOGRAFÍA	28
13 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO.....	28
14 PROBLEMAS Y SOLUCIONES	29
15 SÍMBOLOS.....	31
16 NOTA PARA LOS USUARIOS	32
17 AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA.....	32
Appendix A QUICK START GUIDE.....	33

1 USO PREVISTO

El producto **Bordetella ELITE MGB® Kit** es un producto sanitario para diagnóstico *in vitro* concebido para el uso por parte de profesionales sanitarios como ensayo cualitativo múltiple de ácidos nucleicos mediante PCR en tiempo real para la detección y la identificación del ADN genómico de ***Bordetella pertussis* (BP)**, ***Bordetella parapertussis* (BPP)** y ***Bordetella holmesii* (BH)** extraído de muestras clínicas.

El ensayo se ha validado con los instrumentos **ELITE InGenius®** y **ELITE BeGenius®**, que son sistemas automatizados e integrados para la extracción, la PCR en tiempo real y la interpretación de resultados utilizando muestras humanas de aspirados nasofaríngeos.

El producto se utiliza como ayuda en el diagnóstico de infecciones por *Bordetella pertussis*, *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* y *Bordetella holmesii* en pacientes en los que se sospecha de la presencia de una infección por *Bordetella*.

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

2 PRINCIPIO DEL ENSAYO

Este es un ensayo cualitativo de PCR en tiempo real para la detección de ADN de *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* y *Bordetella holmesii* aislado de muestras y amplificado a continuación en una PCR en tiempo real utilizando el reactivo de ensayo **BORD 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).

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

3 DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

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

- la secuencia repetida **IS481** de *B. pertussis* y *B. holmesii*, detectada en el canal **IS481**; la sonda se estabiliza con la tecnología MGB, se inactiva con una porción no fluorescente y se marca con el colorante FAM,
- el promotor del gen **ptxA** de *B. pertussis*, detectado en el canal **BP**; la sonda se estabiliza con la tecnología MGB, se inactiva con una porción no fluorescente y se marca con el colorante AquaPhluor® 639 (AP639),
- el gen **recA** de *B. holmesii*, detectado en el canal **BH**; la sonda se estabiliza con la tecnología MGB, se inactiva con una porción no fluorescente y se marca con el colorante AquaPhluor 690 (AP690),
- la secuencia repetida **IS1001** de *B. parapertussis*, detectada en el canal **BPP**; detectada en el canal IS481; la sonda se estabiliza con la tecnología MGB, se inactiva con una porción no fluorescente y se marca con el colorante AquaPhluor 593 (AP593),
- 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 una porción no fluorescente y se marca con el colorante AquaPhluor 525 (AP525).

La mezcla **BORD 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 **Bordetella ELITE MGB Kit** contiene suficientes reactivos para **96 análisis** en el **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius** (**12 análisis en cada probeta**), cuando se utilizan 20 µL en cada reacción.

El producto **Bordetella 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 BORD ref. RTS140ING	Mezcla de reactivos para la PCR en tiempo real en una probeta con tapón de color natural	8×280 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 µL).
- Probetas estériles de 2,0 mL con tapón roscado (Sarstedt, ref. 72.694.005).
- Probetas estériles de 0,5 mL con tapón roscado (ref. Sarstedt 72.730.005).
- Agua 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
ELITE InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, ref. INT030). ELITE InGenius Software versión 1.3.0.19 (o posterior) BORD ELITE_PC , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control. BORD ELITE_NC , Assay Protocol (protocolo de ensayo) para el análisis del Negative Control. BORD ELITE_NPA_200_100 Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de aspirados nasofaríngeos.	Bordetella - ELITE Positive Control (EG SpA, ref. CTR140ING). CPE - Internal Control (EG SpA, ref. CTRCPE). ELITE InGenius SP200 (EG SpA, ref. INT032SP200) Consumibles para el ELITE InGenius y el ELITE BeGenius (consulte las instrucciones de uso del ELITE InGenius y del ELITE BeGenius)
ELITE BeGenius (EG SpA, ref. INT040). ELITE BeGenius Software versión 2.3.0 (o posterior). BORD ELITE_Be_PC , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control. BORD ELITE_Be_NC , Assay Protocol (protocolo de ensayo) para el análisis del Negative Control BORD ELITE_Be_NPA_200_100 Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de aspirados nasofaríngeos.	

7 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

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

7.1 Advertencias y precauciones generales

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

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

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

No pipetear ninguna solución con la boca.

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

Lavarse bien las manos después de manipular muestras y reactivos.

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

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

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

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

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

No utilizar reactivos procedentes de lotes diferentes.

No utilizar reactivos de otros fabricantes.

7.2 Advertencias y precauciones para los procedimientos de biología molecular

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

Es necesario disponer de batas, guantes e instrumentos específicos para las sesiones de trabajo. 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)
BORD PCR Mix	-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
Aspirados nasofaríngeos	-	≤2 días	≤7 días	≤1 mes	>1 mes

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

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

Tabla 5 Protocolos de ensayo para el producto Bordetella ELITE MGB® Kit

Muestra	Instrumento	Nombre del protocolo de ensayo	Informe	Características
Aspirados nasofaríngeos	ELITE InGenius	«BORD ELITE_NPA_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 inicial de PCR de la muestra: 20 µL
	ELITE BeGenius	BORD ELITE_Be_NPA_200_100		

Para todos los protocolos, es preciso verter 200 µL de muestra en la «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 la **Extraction tube** (Tubo de extracción) o en la **probeta Sarstedt de 2 mL** puede **desarrollar contaminación**. Así pues, utilizar pipetas apropiadas y seguir todas las recomendaciones indicadas en la sección «7 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES page 6».

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

Consultar el apartado «Sustancias potencialmente interferentes» en la sección **11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO page 19** 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 **Bordetella - ELITE Positive Control** (no incluido en este kit) con los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **BORD ELITE_PC** o **BORD 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) **BORD ELITE_NC** o **BORD 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 **Bordetella 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 **Bordetella ELITE MGB Kit** puede utilizarse con el **ELITE InGenius** para realizar las siguientes tareas:

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

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)
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.
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 ± 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 **Bordetella 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 del Positive Control y Negative Control de la amplificación

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

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

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

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

NOTA!

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

9.3.2 Validación de los resultados de la muestra

El **ELITE InGenius Software** interpreta los resultados de la PCR para las dianas (canales **IS481**, **BP**, **BH** y **BPP**) y el Internal Control (canal **IC**) con los parámetros del Assay Protocol (protocolo de ensayo) **BORD ELITE_NPA_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
BORD Positive Control	APROBADO
2) Negative Control	Estado
BORD 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
IS481: DNA detected MTB:DNA detected (MTB:ADN Detectado)	Se ha detectado ADN de <i>B. pertussis</i> o de <i>B. holmesii</i> (IS481) en la muestra. Nota: si se detecta ADN de IS481, también podrían tipificarse <i>B. pertussis</i> (BP) o <i>B. holmesii</i> (BH).
IS481: DNA detected other related species.	Se ha detectado ADN similar a IS481 de un microorganismo imprevisto en la muestra.
IS481: DNA not detected or below LoD.	No se ha detectado ADN de <i>B. pertussis</i> o <i>B. holmesii</i> (IS481) en la muestra. La muestra es negativa para estos patógenos, o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
BP: typing positive.	Se ha detectado ADN de <i>B. pertussis</i> en la muestra. Nota: si se detecta la diana BP, también debe detectarse la diana de IS481.
BP: typing not feasible.	Esta diana específica para <i>B. pertussis</i> no se ha detectado en la muestra. Compruebe también los resultados de la diana de IS481.
BH: typing positive.	Se ha detectado ADN de <i>B. holmesii</i> en la muestra. Nota: si se detecta la diana BH, también debe detectarse la diana de IS481.
BH: typing not feasible.	Esta diana específica para <i>B. holmesii</i> no se ha detectado en la muestra. Compruebe también los resultados de la diana de IS481.
BPP: DNA detected MTB:DNA detected (MTB:ADN Detectado)	Se ha detectado ADN de <i>B. parapertussis</i> en la muestra.

Tabla 9 (continued)

Resultado de la sesión de la muestra	Interpretación
BPP: DNA not detected or below LoD.	No se ha detectado ADN de <i>B. paraptussis</i> en la muestra. La muestra es negativa para este patógeno, o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
Invalid - Retest Sample. (No válido-Volver a probar muestra)	Resultado no válido del ensayo causado por un fallo en el Internal Control (p. ej., debido a una extracción incorrecta o al arrastre de inhibidores). Es necesario repetir la prueba.

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, pretratamiento, 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 «IS481:DNA Not Detected or below the LoD» (IS481: ADN no detectado o por debajo del LoD) o como «BPP: DNA Not Detected or below the LoD» (BPP: ADN no detectado o por debajo del LoD) son aptas para el análisis, pero no ha sido posible detectar ADN de las dianas. En este caso, puede que la muestra sea negativa para ADN de las dianas, o que haya ADN de las dianas a una concentración inferior al límite de detección del ensayo (consultar la sección «[11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO page 19](#)»).

Las muestras que se notifican como «IS481: DNA detected other related species» (IS481: ADN detectado de otras especies relacionadas) son aptas para el análisis y se ha detectado ADN similar a IS481 de un microorganismo imprevisto en la muestra. En este caso, la muestra se notifica como positiva para la diana de IS481, pero no se ha detectado en la muestra ADN de la diana específica de *B. holmesii* (BH) ni ADN de la diana específica de *B. pertussis* (BP).

Cuando se detecta ADN del gen multicopia IS481, en las muestras con un positivo leve, puede que no sea posible detectar el ADN de la diana específica *B. pertussis* (BP) o el ADN de la diana específica *B. holmesii* (BH) debido a la existencia de diferencias en el número de copia de los genes de la diana específica (p. ej., el promotor del gen *ptxA* está presente en una sola copia de BP y el promotor del gen *recA*, en una sola copia de BH). No obstante, la muestra es positiva para *B. pertussis* o para *B. holmesii*, pero la identificación no será posible.

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 **Bordetella ELITE MGB Kit** con el **ELITE BeGenius** comprende tres pasos:

Tabla 10

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 para el Positive Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).
PASO 3	Evaluación y aprobación de los resultados	1) Validación de 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 **Bordetella 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)
- 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 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 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	Identificar las muestras y, en caso necesario, descongelar a temperatura ambiente. Para este ensayo, es preciso verter 200 µL de muestra en una probeta Sarstedt de 2 mL previamente etiquetada.	En caso necesario, 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 con 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	Extraer todas las gradillas de la «Cooler Unit» y colocarlas en la mesa de preparación.	Extraer las racks de los «Lanes» 1, 2 y 3 (L1, L2, L3) de la «Cooler Unit» y colocarlas en la mesa de preparación.	Extraer las racks de los «Lanes» 1, 2 y 3 (L1, L2, L3) de la «Cooler Unit» y colocarlas en la mesa de preparación.
5	Seleccionar el «Run Mode»: «Extract + PCR» (Extracción + PCR) .	Seleccionar el «Run Mode»: «PCR Only» (Solo PCR) .	Seleccionar el «Run Mode»: «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, marcar 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.

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)
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.
	Nota: 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
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, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).	Insertar la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) en el Lane 2 (L2) de la «Cooler Unit» o, si está disponible, en el Lane 1 (L1). En caso necesario, para cada PCR Mix o cada CPE, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).	Insertar la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) en el Lane 2 (L2) de la «Cooler Unit» o, si está disponible, en el Lane 1 (L1). En caso necesario, para cada PCR Mix o cada CPE, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).
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.

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)
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 ± 10 °C durante un máximo de un mes. Evitar cualquier derrame de la muestra extraída.

NOTA!

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

11.1 Límite del blanco

El límite del blanco (LoB) del ensayo se determinó para el instrumento ELITE InGenius analizando muestras de aspirados nasofaríngeos (ANF).

El LoB se verificó analizando un panel de 60 muestras clínicas de aspirados nasofaríngeos que dieron un resultado negativo para la diana de IS481 (*B. pertussis* y *B. holmesii*) y para IS1001 (*B. parapertussis*). Debido a la alta sensibilidad analítica, el LoB se definió aplicando un valor de corte del Ct de 40 para la diana de IS481 (*B. pertussis* y *B. holmesii*) y para la diana de BPP (IS1001, *B. parapertussis*) con el fin de obtener un 95 % de resultados negativos.

Los resultados finales se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 12 Límite del blanco

<i>B. pertussis/B. holmesii</i> (diana de IS481)				
Matriz	N	Positivas	Negativas	% de negatividad
Aspirados nasofaríngeos negativos	60	3	57	95
<i>B. parapertussis</i> (diana de BPP)				
Matriz	N	Positivas	Negativas	% de negatividad
Aspirados nasofaríngeos negativos	60	1	59	98

Las muestras que obtuvieron un resultado positivo cuando se utilizó el producto **Bordetella ELITE MGB Kit** y el instrumento ELITE InGenius presentaron valores de Ct altos (entre 37 y 40) y, de este modo, se encontraron presentes a concentraciones muy bajas.

El valor de corte del Ct se confirmó con el ELITE BeGenius.

11.2 Límite de detección (LoD)

El límite de detección (LoD) del ensayo se determinó para el instrumento ELITE InGenius analizando muestras de aspirados nasofaríngeos que se enriquecieron con material de referencia de *B. pertussis*, *B. parapertussis* y *B. holmesii* (DMSZ, Alemania).

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

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 13 Límite de detección

Diana	Límite de detección (ufc/mL)	Límites del intervalo de confianza del 95 %	
		Límite inferior	Límite superior
<i>B. pertussis</i> (diana de IS481)	12	7	58
<i>B. parapertussis</i> (diana de IS1001)	11	6	19
<i>B. holmesii</i> (diana de IS481)	12	5	34

El valor calculado para el LoD se verificó analizando en el ELITE BeGenius y el ELITE InGenius muestras de aspirados nasofaríngeos enriquecidas con material de referencia de *B. pertussis*, *B. parapertussis* y *B. holmesii* a la concentración declarada.

Los resultados obtenidos confirmaron la concentración declarada para todas las dianas del producto Bordetella ELITE MGB Kit, tanto en el ELITE BeGenius como en el ELITE InGenius.

11.3 Inclusividad: Eficacia de la detección en diferentes cepas o aislados

La inclusividad del ensayo, expresado como eficacia de la detección de diferentes cepas o aislados de *B. pertussis*, *B. parapertussis* y *B. holmesii*, se evaluó mediante un análisis informático.

El análisis demostró la conservación de la secuencia y la ausencia de mutaciones significativas. Así, se espera una detección eficaz de las diferentes cepas y los diferentes aislados.

La inclusividad también se verificó analizando materiales de referencia de *B. pertussis*, *B. parapertussis* y *B. holmesii* (Vircell, DSMZ y ATCC).

Los resultados finales se indican en la siguiente tabla.

Tabla 14 Material de referencia de ADN genómico

Microorganismo	Cepa	Diana	Pos/Dup	Resultado
<i>B. pertussis</i>	Cepa F	IS481	3/3	Se detecta IS481
		BP	3/3	BP: tipificación positiva
<i>B. parapertussis</i>	CDC F5101	BPP	3/3	BPP detectada
<i>B. holmesii</i>	Colonia clínica aislada	IS481	3/3	Se detecta IS481
		BH	3/3	BH: tipificación positiva
<i>B. pertussis</i>	Tohama I	IS481	3/3	Se detecta IS481
		BP	3/3	BP: tipificación positiva
<i>B. parapertussis</i>	12822	BPP	3/3	BPP detectada

Tabla 15 Material de referencia de cultivos bacterianos

Microorganismo	Cepa	Diana	Pos/Dup	Resultado
<i>B. pertussis</i>	Colonia clínica aislada	IS481	3/3	Se detecta IS481
		BP	2/3	BP: tipificación positiva
<i>B. parapertussis</i>	Colonia clínica aislada	BPP	3/3	BPP detectada
<i>B. holmesii</i>	Colonia clínica aislada	IS481	3/3	Se detecta IS481
		BH	3/3	BH: tipificación positiva

Todas las muestras analizadas se detectaron como positivas para el patógeno correcto cuando se utilizó el producto Bordetella ELITE MGB Kit.

11.4 Microorganismos potencialmente interferentes: reactividad cruzada

La reactividad cruzada potencial de los microorganismos imprevistos que pueden encontrarse en muestras clínicas se evaluó para el ensayo mediante un análisis informático.

El análisis no presentó ninguna homología reseñable para las dianas con la mayor parte de los microorganismos imprevistos (virus, bacterias, protozoos y hongos), por lo que no cabe esperar reactividad cruzada. No obstante, se observaron homologías reseñables y posibles interferencias con algunas cepas de *B. hinzii*, *B. bronchialis* y *B. bronchiseptica* para la detección de IS481, con algunas cepas de *B. petrii* para la detección de recA y con *Achromobacter denitrificans* para la detección de IS1001.

La reactividad cruzada con los microorganismos potencialmente interferentes también se verificó analizando un panel de microorganismos imprevistos (ATCC y DSMZ).

Las muestras de ADN genómico se analizaron por triplicado para cada marcador potencialmente interferente utilizando el instrumento ELITE InGenius en el modo de procesamiento «PCR Only».

Los resultados finales se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 16 Microorganismos potencialmente interferentes: reactividad cruzada

Muestra	Positivas/Duplicados					Resultado
	IS481	BP (ptx)	BH (recA)	IS1001	IC	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Sin reactividad cruzada
<i>Candida albicans</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Sin reactividad cruzada
<i>Staphylococcus aureus</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Sin reactividad cruzada
<i>Escherichia coli</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Sin reactividad cruzada
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Sin reactividad cruzada
<i>Haemophilus influenzae</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Sin reactividad cruzada
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Sin reactividad cruzada
<i>Legionella pneumophila</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Sin reactividad cruzada
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Sin reactividad cruzada
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Sin reactividad cruzada
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Sin reactividad cruzada

Tabla 16 Microorganismos potencialmente interferentes: reactividad cruzada (continued)

Muestra	Positivas/Duplicados					Resultado
	IS481	BP (ptx)	BH (recA)	IS1001	IC	
CMV	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Sin reactividad cruzada
Enterovirus	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Sin reactividad cruzada
ADV	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Sin reactividad cruzada
FluA	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Sin reactividad cruzada
FluB	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Sin reactividad cruzada
VRS	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Sin reactividad cruzada
<i>Bordetella petrii</i> (DSM 12804)	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Sin reactividad cruzada*
<i>Bordetella petrii</i> (REF504)	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Sin reactividad cruzada**
<i>Bordetella petrii</i> (REF505)	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Sin reactividad cruzada*
<i>Bordetella petrii</i> (BORD1836)	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Sin reactividad cruzada**
<i>Bordetella petrii</i> (BUR-15-132)	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Sin reactividad cruzada**
<i>Bordetella petrii</i> (BUR-19-174)	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Sin reactividad cruzada**

Ninguno de los principales microorganismos potencialmente interferentes analizados presentó reactividad cruzada para las dianas cuando se utilizó el producto Bordetella ELITE MGB Kit.

Según el análisis secuencial, algunas cepas de *Bordetella petrii* (*) fueron positivas para la diana de BH. No obstante, debido a la diferencia en la temperatura de fusión (T_m) entre el gen recA de *B. holmesii* y el gen recA de otras especies de *Bordetella*, el Assay Protocol (protocolo de ensayo) produce el resultado «Typing not feasible» (Tipificación no viable).

Asimismo, algunas cepas de *B. petrii* (**) tienen una secuencia similar a IS481 y obtienen un resultado positivo para la diana de IS481. No obstante, debido a la diferencia en la T_m entre la IS481 de *B. pertussis* *B. holmesii* y la parte similar a IS481 de otras especies de *Bordetella*, el Assay Protocol (protocolo de ensayo) da lugar al resultado «Other related species» (Otras especies relacionadas).

11.5 Microorganismos potencialmente interferentes: inhibición

La inhibición potencial de microorganismos imprevistos que pueden encontrarse en las muestras clínicas se evaluó para el ensayo analizando un panel de microorganismos imprevistos (ATCC y DSMZ), enriquecidos con materiales de referencia de *B. pertussis* (ATCC) o *B. parapertussis* (ATCC) o *B. holmesii* (DSMZ).

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 17 Microorganismos potencialmente interferentes: inhibición

Muestra	Positivas/Duplicados					Resultado
	IS481	BP (ptx)	BH (recA)	IS1001	IC	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin inhibición
<i>Candida albicans</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin inhibición
<i>Staphylococcus aureus</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin inhibición
<i>Escherichia coli</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin inhibición

Tabla 17 Microorganismos potencialmente interferentes: inhibición (continued)

Muestra	Positivas/Duplicados					Resultado
	IS481	BP (ptx)	BH (recA)	IS1001	IC	
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin inhibición
<i>Haemophilus influenzae</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin inhibición
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin inhibición
<i>Legionella pneumophila</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin inhibición
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin inhibición
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin inhibición
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin inhibición
CMV	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin inhibición
Enterovirus	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin inhibición
ADV	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin inhibición
FluA	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin inhibición
FluB	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin inhibición
VRS	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin inhibición
<i>Bordetella petrii</i> (DSM 12804)	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin inhibición
<i>Bordetella petrii</i> (REF504)	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin inhibición
<i>Bordetella petrii</i> (REF505)	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin inhibición
<i>Bordetella petrii</i> (BORD1836)	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin inhibición
<i>Bordetella petrii</i> (BUR-15-132)	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin inhibición
<i>Bordetella petrii</i> (BUR-19-174)	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin inhibición

Ninguno de los microorganismos potencialmente interferentes analizados mostró inhibición de la amplificación de la diana cuando se utilizó el producto Bordetella ELITe MGB Kit

11.6 Interferencia entre dianas

La interferencia potencial entre las dianas del ensayo se evaluó mediante un análisis de coamplificación de materiales de referencia de *B. pertussis*, *B. parapertussis* y *B. holmesii*.

Para cada diana, la concentración más baja detectable en todos los duplicados se indica en la tabla siguiente.

Tabla 18 Interferencia entre dianas

Diana en la prueba (número reducido de copias)	Diana interferente a aproximadamente 10 ⁵ copias/reacción		
	<i>B. pertussis</i>	<i>B. parapertussis</i>	<i>B. holmesii</i>
IS481 (<i>B. pertussis</i>)	-	10 copias/reacción	-
BPP (<i>B. parapertussis</i>)	10 copias/reacción	-	100 copias/reacción
IS481 (<i>B. holmesii</i>)	-	10 copias/reacción	-

Tabla 19 Interferencia entre dianas: tipificación

Diana en la prueba (número reducido de copias)	Diana interferente a aproximadamente 10 ⁵ copias/reacción		
	<i>B. pertussis</i>	<i>B. parapertussis</i>	<i>B. holmesii</i>
ptxA (<i>B. pertussis</i>)	-	100 copias/reacción	2 × 10 ³ copias/reacción
recA (<i>B. holmesii</i>)	10 ³ copias/reacción	10 copias/reacción	-

El producto Bordetella ELITE MGB Kit no muestra interferencias reseñables entre las dianas.

11.7 Sustancias potencialmente interferentes: inhibición

La inhibición potencial de sustancias interferentes (endógenas y exógenas) que pueden encontrarse en muestras clínicas se evaluó para el ensayo analizando un panel de sustancias a la concentración pertinente en muestras de aspirados nasofaríngeos a la concentración pertinente que se enriquecieron con las dianas.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 20

Muestra	de EV				Resultado
	<i>B. pertussis</i>	<i>B. parapertussis</i>	<i>B. holmesii</i>	IC	
Mucina	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin interferencia
Sangre	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin interferencia
Azitromicina	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin interferencia
Beclometasona	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin interferencia
Ebastina	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin interferencia
Ambroxol	3/3	3/3	3/3	3/3	Sin interferencia

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

11.8 Repetibilidad

La repetibilidad del ensayo se evaluó en el ELITE InGenius y el ELITE BeGenius analizando un panel de muestras de aspirados nasofaríngeos negativas o enriquecidas con materiales de referencia de *B. pertussis* (DSMZ), *B. parapertussis* (DSMZ) o *B. holmesii* (DSMZ) a una concentración de 3 veces el LoD.

En la tabla siguiente se incluye un ejemplo de repetibilidad dentro de las sesiones (en un día).

Tabla 21 Repetibilidad dentro de las sesiones en el ELITE InGenius

Muestra	N	Diana de IS481/BPP			% de concordancia
		Media	DE	%CV	
Negativas	8	-	-	-	100 %
<i>B. pertussis</i> (IS481)	8	36,82	0,53	1,45	100 %
<i>B. parapertussis</i> (BPP)	8	36,17	0,54	1,48	100 %
<i>B. holmesii</i> (IS481)	8	35,67	0,32	0,91	100 %

Tabla 22 Repetibilidad dentro de las sesiones en el ELITE BeGenius

Muestra	N	Diana de IS481/BPP			% de concordancia
		Media	DE	%CV	
Negativas	8	-	-	-	100 %
<i>B. pertussis</i> (IS481)	8	36,51	0,40	1,11	100 %
<i>B. paraptussis</i> (BPP)	8	36,20	0,36	0,98	100 %
<i>B. holmesii</i> (IS481)	8	35,54	0,37	1,05	100 %

En la tabla siguiente se incluye un ejemplo de repetibilidad entre sesiones (en dos días).

Tabla 23 Repetibilidad entre sesiones en el ELITE InGenius (día 1 + día 2)

Muestra	N	Diana de IS481/BPP			% de concordancia
		Media	DE	%CV	
Negativas	16	-	-	-	100 %
<i>B. pertussis</i> (IS481)	16	36,69	0,52	1,42	100 %
<i>B. paraptussis</i> (BPP)	16	36,25	0,50	1,39	100 %
<i>B. holmesii</i> (IS481)	16	35,47	0,33	0,92	100 %

Tabla 24 Repetibilidad entre sesiones en el ELITE BeGenius (día 1 + día 2)

Muestra	N	Diana de IS481/BPP			% de concordancia
		Media	DE	%CV	
Negativas	16	-	-	-	100 %
<i>B. pertussis</i> (IS481)	16	36,59	0,38	1,04	100 %
<i>B. paraptussis</i> (BPP)	16	36,22	0,44	1,21	100 %
<i>B. holmesii</i> (IS481)	16	35,38	0,33	0,92	100 %

En la prueba de repetibilidad, el producto Bordetella 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 %.

11.9 Reproducibilidad

La reproducibilidad del ensayo se evaluó en el ELITE InGenius y el ELITE BeGenius analizando un panel de muestras de aspirados nasofaríngeos negativas o enriquecidas con material de referencia de *B. pertussis* (DSMZ), *B. paraptussis* (DSMZ) o *B. holmesii* (DSMZ) a una concentración de 3 veces el LoD.

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

Tabla 25 Reproducibilidad entre lotes en el ELITE InGenius

Muestra		Diana de IS481/BPP			% de concordancia
	N	Media	DE	%CV	
Negativas	8	-	-	-	100 %
<i>B. pertussis</i> (IS481)	8	36,87	0,32	0,88	100 %
<i>B. paraptussis</i> (BPP)	8	35,97	0,53	1,47	100 %
<i>B. holmesii</i> (IS481)	8	35,46	0,61	1,72	100 %

Tabla 26 Reproducibilidad entre lotes en el ELITE BeGenius

Muestra		Diana de IS481/BPP			% de concordancia
	N	Media	DE	%CV	
Negativas	8	-	-	-	100 %
<i>B. pertussis</i> (IS481)	8	37,20	0,49	1,31	100 %
<i>B. paraptussis</i> (BPP)	8	36,19	0,53	1,45	100 %
<i>B. holmesii</i> (IS481)	8	35,59	0,39	1,08	100 %

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

Tabla 27 Reproducibilidad entre instrumentos en el ELITE InGenius

Muestra		Diana de IS481/BPP			% de concordancia
	N	Media	DE	%CV	
Negativas	8	-	-	-	100 %
<i>B. pertussis</i> (IS481)	8	36,73	0,28	0,76	100 %
<i>B. paraptussis</i> (BPP)	8	35,80	0,53	1,47	100 %
<i>B. holmesii</i> (IS481)	8	35,15	0,39	1,12	100 %

Tabla 28 Reproducibilidad entre instrumentos en el ELITE BeGenius

Muestra		Diana de IS481/BPP			% de concordancia
	N	Media	DE	%CV	
Negativas	8	-	-	-	100 %
<i>B. pertussis</i> (IS481)	8	37,12	0,45	1,22	100 %
<i>B. paraptussis</i> (BPP)	8	36,10	0,62	1,71	100 %
<i>B. holmesii</i> (IS481)	8	35,40	0,45	1,26	100 %

En la prueba de reproducibilidad, el producto Bordetella 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 %.

11.10 Especificidad diagnóstica (porcentaje de concordancia negativa): 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 de aspirados nasofaríngeos certificadas negativas para *B. pertussis*, *B. parapertussis* y *B. holmesii* utilizando el método de cultivo y un ensayo comercial para diagnóstico *in vitro* con marcado CE en el laboratorio externo.

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 29 Especificidad diagnóstica

Aspirados nasofaríngeos negativos	N	Positivas	Negativas	% de especificidad diagnóstica
<i>B. pertussis</i> / <i>B. holmesii</i> (IS481)	59	0	59	100 %
<i>B. parapertussis</i>	83	1	82	98,8 %

El valor de corte para el Ct del IC se ha establecido a 30.

11.11 Sensibilidad diagnóstica (porcentaje de concordancia positiva): confirmación de las muestras positivas

La sensibilidad diagnóstica del ensayo, expresada como confirmación de las muestras clínicas positivas, se evaluó en el ELITE InGenius analizando muestras clínicas de aspirados nasofaríngeos que se certificaron como positivas para todas las dianas o se enriquecieron con material de referencia (DSMZ y BCCM).

Las muestras positivas y las muestras negativas utilizadas para el enriquecimiento se certificaron utilizando el método de cultivo o ensayos comerciales para diagnóstico *in vitro* con marcado CE. Las muestras artificiales para *B. parapertussis* y *B. holmesii* se enriquecieron a varias concentraciones para cubrir un amplio rango de Ct.

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 30 Sensibilidad diagnóstica

Aspirados nasofaríngeos positivos/enriquecidos	N	Positivas	Negativas	% de especificidad diagnóstica
Positivas para <i>B. pertussis</i>	58	57	1	98,3 %
Enriquecidas con <i>B. parapertussis</i>	58	58	0	100 %
Enriquecidas con <i>B. holmesii</i>	54	54	0	100 %
Positivas para <i>B. holmesii</i>	1	1	0	

NOTA!

Los datos y resultados completos de las pruebas realizadas para evaluar las características de rendimiento del producto con las matrices y el instrumento se encuentran registrados en el archivo de documentación técnica del producto **Bordetella ELITE MGB® Kit**, FTP 140ING.

12 BIBLIOGRAFÍA

U. Reischl et al. (2001) J Clin Microbiol. 39: 1963–1966.

N. K. Fry et al. (2009) J Med Microbiol. 58: 1023-9.

A. Van der Zee (1993) J Bacteriol. 175: 141-7.

J. J. Germer et al. (2010) J Clin Microbiol. 48: 1435-7

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

<https://www.mayocliniclabs.com/> - BPRPV

<https://www.questdiagnostics.com/healthcare-professionals/test-directory>

Manual de laboratorio para el diagnóstico de tosferina causada por *Bordetella pertussis*/

Bordetella parapertussis. Actualización de 2014 – ISBN WHO_IVB_14.03_eng

13 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Utilizar este producto únicamente con las siguientes muestras clínicas: aspirados nasofaríngeos

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

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 no se ha detectado ADN de la diana 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 «[11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO page 19](#)»). En este caso, el resultado puede ser un falso negativo.

En el caso de producirse infecciones simultáneas, la sensibilidad de una diana puede verse afectada por la amplificación de una segunda diana (consultar la sección [11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO page 19](#)).

En algunos casos, *B. bronchiseptica*, *B. hinzii* y *B. bronchialis* pueden contener la secuencia repetida de IS481, por lo que pueden generar resultados positivos para esta diana.

En algunos casos, *B. bronchiseptica* y *Achromobacter denitrificans* pueden contener las secuencias repetidas de IS1001, por lo que pueden generar resultados positivos para la diana de BPP.

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 31

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 32

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.

Tabla 32 (continued)

Reacción no válida del Negative Control	
Posibles causas	Soluciones
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 33

Reacción no válida de la muestra	
Posibles causas	Soluciones
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 para más de 7 sesiones independientes: 3 horas cada una en 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. Preparar 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 34

Error en el cálculo del Ct	
Posibles causas	Soluciones
Concentración demasiado alta de la diana en la muestra o muestra con una señal de fluorescencia anómala.	Si se observa una amplificación importante en el gráfico de la PCR, seleccionar el carril relativo a la muestra y aprobar manualmente el resultado como positivo. Si no se observa ninguna amplificación en el gráfico de la PCR, seleccionar el carril («Track») relativo a la muestra y aprobar manualmente el resultado como negativo, o bien dejarlo como no válido. Si se requiere un valor Ct: - Repetir la amplificación de la muestra eluida con una dilución de 1:10 en agua para biología molecular de la muestra en una sesión realizada en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR). - Repetir la extracción de la muestra con una dilución de 1:10 en agua para biología molecular en una sesión realizada en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).

Tabla 35

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

15 SÍMBOLOS



Número de catálogo.



Límite superior de temperatura.



Código de lote.



Fecha de caducidad (último día del mes).

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

Identificador único del producto



Contenido suficiente para <<N>> análisis.



Consulte las instrucciones de uso



Contenido.



Manténgase fuera de la luz del sol



Fabricante.

16 NOTA PARA LOS USUARIOS

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

17 AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA

Este producto contiene reactivos fabricados por Thermo Fisher Scientific, que se venden conforme a acuerdos de licencia entre ELiTechGroup S.p.A. y sus afiliadas y Thermo Fisher Scientific. El precio de compra de este producto incluye derechos limitados y no transferibles para utilizar únicamente esta cantidad de producto exclusivamente para las actividades del comprador directamente relacionadas con el diagnóstico humano. Para obtener información sobre cómo adquirir una licencia para este producto con fines distintos de los indicados anteriormente, contactar con el departamento de licencias de Thermo Fisher Scientific. Correo electrónico: outlicensing@thermofisher.com.

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

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

Esta licencia limitada permite a la persona o a la entidad a la que se ha suministrado este producto utilizar este y los datos generados con el uso del producto exclusivamente para diagnóstico humano. Ni ELiTechGroup S.p.A. ni sus licenciarios conceden ninguna otra licencia, ni expresa ni implícita, para ningún otro propósito.

Appendix A Bordetella ELITE MGB Kit utilizado junto con las plataformas de la serie Genius



ATENCIÓN

Este documento es una versión simplificada de las instrucciones de uso oficiales. Consulte el documento completo antes de utilizar el producto visitando el enlace www.elitech-group.com.

Uso previsto

El producto **Bordetella ELITE MGB® Kit** es un producto sanitario para diagnóstico *in vitro* concebido para el uso por parte de profesionales sanitarios como ensayo cualitativo múltiple de ácidos nucleicos mediante PCR en tiempo real para la detección y la identificación del ADN genómico de ***Bordetella pertussis* (BP)**, ***Bordetella parapertussis* (BPP)** y ***Bordetella holmesii* (BH)** extraído de muestras clínicas.

El ensayo se ha validado con los instrumentos **ELITE InGenius®** y **ELITE BeGenius®**, que son sistemas automatizados e integrados para la extracción, la PCR en tiempo real y la interpretación de resultados utilizando muestras humanas de aspirados nasofaríngeos.

El producto se utiliza como ayuda en el diagnóstico de infecciones por *Bordetella pertussis*, *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* y *Bordetella holmesii* en pacientes en los que se sospecha de la presencia de una infección por *Bordetella*.

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

Secuencia amplificada

Diana para la amplificación cualitativa	Gen	Fluoróforo
<i>B. pertussis</i> y <i>B. holmesii</i>	IS481	FAM (canal 1)
<i>B. pertussis</i>	promotor del gen <i>ptxA</i>	AP639 (canal 5)
<i>B. holmesii</i>	<i>recA</i>	AP690 (canal 6)
<i>B. parapertussis</i>	IS1001	AP593 (canal 4)
Internal Control	IC2	AP525 (canal 2)

Matriz validada

- Aspirados nasofaríngeos

Contenido del kit y productos relacionados

Bordetella ELITE MGB Kit (RTS140ING)		Bordetella - ELITE Positive Control (CTR140ING)	
 X 8		 X 3	
Mezcla de PCR de BORD 8 probetas de 280 µL 12 reacciones por probeta 96 reacciones por kit 7 ciclos de congelación/descongelación por cada probeta		BORD Positive Control 3 probetas de 160 µL 4 reacciones por probeta 12 reacciones por kit 4 ciclos de congelación/descongelación	
Período de estabilidad máximo:	24 meses	Período de estabilidad máximo:	24 meses
Temperatura de almacenamiento	≤ -20 °C	Temperatura de almacenamiento	≤ -20 °C

Otros productos necesarios no proporcionados con el kit

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

Protocolo del ELITE InGenius y del ELITE BeGenius

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

Rendimiento del ELITE InGenius y de ELITE BeGenius

Diana	Límite de detección	Sensibilidad	Especificidad
<i>B. pertussis</i>	12 ufc/ml	98,3 % 57/58*	100 % 59/59*
<i>B. holmesii</i>	12 ufc/ml	100 % 55/55*	100 % 59/59*
<i>B. paraptussis</i>	11 ufc/ml	100 % 58/58*	98,8 % 82/83*

*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:

Tipo de muestra	Condiciones transporte/almacenamiento			
	de +16 °C a +26 °C (temperatura ambiente)	de +2 °C a +8 °C	-20 °C ±10 °C	-70 °C ±15 °C
Aspirados nasofaríngeos	≤2 días	≤7 días	≤1 mes	>1 mes

Procedimientos con el ELiTe InGenius

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

Antes del análisis

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

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

1. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil.	2. Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL»; «Elution» (Elución): «100 µL»	3. Escanear los códigos de barras de las muestras con el lector de códigos de barras manual, o bien introducir directamente el ID de la muestra.
4. Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo): «BORD ELiTe_NPA_200_100»	5. Seleccionar el método «Extract + PCR» (Extracción + PCR) y la posición de la muestra: «Extraction Tube» (Tubo de extracción)	6. Cargar la he PCR Mix y el Internal Control en el «Inventory Block» (administrador de inventarios).
7. Cargar: Cargar el PCR Cassette, el cartucho de extracción, la «Elution Tube» (Tubo de elución), el cartucho de puntas y las gradillas del «Extraction Tube» (Tubo de extracción).	8. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	9. Consultar, aprobar y almacenar los resultados.

NOTA!

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

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

1. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil.	2. Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL»; «Elution» (Elución): «100 µL»	3. Escanear los códigos de barras de las muestras con el lector de códigos de barras manual, o bien introducir directamente el ID de la muestra.
4. Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo): BORD ELITE_NPA_200_100 o BORD ELITE_PC o BORD ELITE_NC	5. Seleccionar el método «PCR Only» (Solo PCR) y establecer la posición de la muestra «Elution Tube» (Tubo de elución).	6. Cargar la PCR Mix en el «Inventory Block» (administrador de inventarios).
7. Cargar: El PCR Cassette y la rejilla de la «Elution Tube» (Tubo de elución) con el ácido nucleico extraído.	8. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	9. Consultar, aprobar y almacenar los resultados.

Procedimientos con el ELITE BeGenius

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

Antes del análisis

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

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

1. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil y, a continuación, hacer clic en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	2. Insertar la «Sample Rack» (Rack de muestras) con las muestras dotadas de códigos de barras en la «Cooling Unit» (unidad de refrigeración). El escaneo de códigos de barras ya está activo.	3. Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL», «Eluate» (Eluido): «100 µL»
4. Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo): BORD ELITE_Be_NPA_200_100 Nota: Si es necesario llevar a cabo una segunda extracción, repetir los pasos del 2 al 4.	5. Imprimir las etiquetas para incluir el código de barras correspondiente en las probetas de elución vacías. Cargar las probetas en la «Elution Rack» (rejilla de elución) e insertarla en la «Cooler Unit».	6. Cargar el PCR Mix y el Internal Control en la «Reagent Rack/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) e insertarla en la «Cooler Unit»
7. Cargar la «PCR Rack» (rejilla de PCR) con el «PCR Cassette» y la «Extraction Basket» (cesta de extracción), con los cartuchos de extracción «ELITE InGenius SP 200» y los consumibles que se necesitan para la extracción.	8. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	9. Consultar, aprobar y almacenar los resultados.

NOTA!

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

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

1. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil y, a continuación, hacer clic en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).	2. Cargar el ácido nucleico extraído o las probetas con códigos de barras de los controles en la «Elution Rack» (rejilla de elución) e insertarla en la «Cooler Unit».	3. En el caso de los controles: para cada «Position» (Posición) 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) En el caso de los eluidos, para cada «Position» (Posición), introducir el «SID» (ID de la muestra), la «Sample matrix» (matriz de la muestra), el «Extraction Kit» (kit de extracción) y el «Extracted Eluate Volume» (volumen de elución extraído).
4. Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo): BORD ELITE_Be_NPA_200_100 o BORD ELITE_Be_PC o BORD ELITE_Be_NC	5. Cargar la mezcla PCR Mix en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) e insertarla en la «Cooler Unit».	6. Cargar la «PCR Rack» (rejilla de PCR) con el «PCR Cassette»
7. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	8. Consultar, aprobar y almacenar los resultados.	

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

