Instructions for use

BKV ELITe MGB® Kit

Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real

ELITechGroup
A BRUKER COMPANY

REF RTS175PLD

UDI 08033891483654

CE 0123

IVD

HISTORIAL DE CAMBIOS

Rev.	Información del cambio	Fecha (dd/mm/aaaa)
22–R	Ampliación del uso del producto cuando se utiliza el instrumento MyGenius PRO (REF INT050) con matrices de plasma. Ampliación del uso del producto cuando los instrumentos ELITe InGenius® y ELITe BeGenius® se utilizando con matrices de sangre recogida en EDTA. Actualización de los Apéndices, en los que se han incluido datos sobre el procedimiento de congelación y descongelación.	05/10/2026
21–R	Corrección de erratas. Repetibilidad entre sesiones en el ELITe BeGenius (tabla 20) y límite de detección cuando se analizan muestras de plasma con el ELITe GALAXY (tabla 38).	15/05/2026
20–R	Ampliación del uso del producto cuando se utiliza el instrumento MyGenius PRO (REF INT050) con una matriz de orina. Actualización del apartado «Nota para el comprador: Licencia limitada». Actualización al «Modelo 2, versión 4.0.2» de los Assay Protocols (protocolos de ensayo) para los instrumentos ELITe InGenius® (REF INT030) y ELITe BeGenius® (REF INT040).	26/02/2026
19–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 *in vitro*. Actualización de los rendimientos analítico y diagnóstico en la sección «CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO». Actualización del uso previsto: • Validación de los productos en los instrumentos ELITe InGenius (REF INT030) y ELITe BeGenius (REF INT040) cuando se utilizan matrices de plasma recogido en EDTA y de orina recogida sin conservantes. • Validación de los productos cuando se utiliza una matriz de plasma recogido en EDTA y los siguientes instrumentos: ELITe GALAXY y ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument. **NOTA!** La composición del producto permanece sin cambios. Nuevo diseño de los gráficos y del contenido de las instrucciones de uso	26/09/2024
18	Ampliación del uso del producto cuando se utiliza el instrumento ELITe BeGenius® Actualización de las CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO: • Cambio en el límite de detección (LoD) • Cambio en el rango de medición lineal • Adición de información sobre la repetibilidad • Adición de información sobre la reproducibilidad	22/10/2021
17	Inclusión de la referencia al nuevo producto BKV - ELITe Positive Control RF (ref. CTR175PLD-R). Ampliación del uso del producto cuando se utiliza la plataforma Roche cobas z 480 analyzer.	25/01/2021
16	Corrección del valor del %CV incluido en la tabla «Precisión con muestras de sangre y el ELITe InGenius (volumen de la muestra de 1000 µL)»	01/08/2019
15	Modificación de los valores del LoD y del LoQ en muestras de plasma y de orina con el instrumento ELITe InGenius®	11/06/2019
14	Ampliación del uso con el kit de extracción ELITe InGenius® SP 1000.	05/07/2018
13	Actualización de la sección de características de rendimiento (ULoQ).	27/04/2018

12	Actualización de la sección de características de rendimiento (LoD y linealidad).	22/12/ 2017
00–11	Desarrollo de un nuevo producto con los cambios consiguientes	-

INDICE

1 USO PREVISTO 5
2 PRINCIPIO DEL ENSAYO 5
3 DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO 5
4 MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO 6
5 MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO 6
6 OTROS PRODUCTOS NECESARIOS 6
7 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES 8
8 Muestras y controles para el ELITe InGenius, el ELITe BeGenius y el MyGenius PRO 10
9 PROCEDIMIENTO CON EL ELITe InGenius 15
10 PROCEDIMIENTO CON EL ELITe BeGenius 22
11 PROCEDIMIENTO CON EL MyGenius PRO 28
12 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ELITe InGenius, del ELITe BeGenius y del MyGenius PRO 34
13 Muestras y controles para el ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument 46
14 Procedimiento con el ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument 46
15 Características de rendimiento con el ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument 53
16 BIBLIOGRAFÍA 56
17 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO 57
18 PROBLEMAS Y SOLUCIONES 59
19 SÍMBOLOS 67
20 NOTA PARA LOS USUARIOS 68
21 AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA 68
Appendix A QUICK START GUIDE 69
Appendix B QUICK START GUIDE 74
Appendix C QUICK START GUIDE 77

1 USO PREVISTO

El producto **BKV ELITe MGB® Kit** es un producto sanitario para diagnóstico *in vitro* concebido para uso por parte de profesionales sanitarios como ensayo cuantitativo de ácidos nucleicos mediante PCR en tiempo real para la detección y la cuantificación de **ADN de poliomavirus humano (VBK)** 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 plasma recogido en EDTA, de orina recogida sin conservantes y de sangre recogida en EDTA.

El ensayo también se ha validado con el instrumento **MyGenius PRO®** (nombre registrado ELIVERSE®), que es un sistema automatizado e integrado para la extracción, la PCR en tiempo real y la interpretación de resultados utilizando muestras humanas de plasma recogido en EDTA y de orina recogida sin conservantes.

El ensayo también se ha validado con el **ELITe GALAXY**, que es un sistema automático de extracción y preparación de PCR, y con el **7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument**, que es una plataforma de PCR en tiempo real, utilizando muestras de plasma recogido en EDTA.

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

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 cuantitativo de PCR en tiempo real para la detección de ADN de VBK aislado de muestras y amplificado utilizando el reactivo de ensayo BKV Q-PCR Mix, que contiene cebadores y sondas con la tecnología ELITe MGB®.

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

El **7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument** mide y registra el aumento de la emisión de fluorescencia. El procesamiento siguiente de los datos permite la detección y la cuantificación de VBK en la muestra primaria.

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

3 DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

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

- una región del **antígeno T grande** del VBK, detectada en el canal **BKV**; la sonda se estabiliza mediante la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher® y se marca con el colorante FAM.
- el Internal Control (IC), específico para**el promotor y la región 5' UTR**del**gen de la globina beta humana**, detectado en el canal**IC**; la sonda se estabiliza mediante la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher® y se marca con el colorante AquaPhluor® 525 (AP525).

La**BKV Q-PCR Mix**contiene solución tampón, cloruro de magnesio, nucleótidos-trifosfatos, el fluoróforo AP593 (utilizado en lugar del ROX o del Cy5) como referencia pasiva para la normalización de la fluorescencia, la enzima N-uracil glucosidasa (UNG) para inactivar la contaminación provocada por el producto de amplificación y la enzima ADN polimerasa con activación térmica («hot-start»). El producto**BKV ELITe MGB Kit**contiene suficientes reactivos para**96 análisis**en el**ELITe InGenius**, el**ELITe BeGenius**y el**MyGenius PRO**cuando se utilizan**20 µL**en cada reacción.

El producto**BKV ELITe MGB Kit**contiene reactivos suficientes para**100 sesiones en otros sistemas**cuando se utilizan**20 µL**en cada reacción.

NOTA!
Se necesita un factor de conversión para expresar los resultados del análisis cuantitativo en unidades internacionales de VBK conforme al «Primer estándar internacional de la OMS para ADN de virus BK (VBK)» (código NIBSC 14/212, Reino Unido).

4 MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

Tabla 1

Componente	Descripción	Cantidad	Clasificación de peligros
BKV Q-PCR Mix ref. RTS175PLD	Mezcla de reactivos para la PCR en tiempo real en una probeta con tapón de color natural	**4 × 540 µL**	**-**

5 MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

- Campana de flujo laminar.

- Guantes sin talco desechables de nitrilo o de otro material similar.

- Agitador vórtex.

- Centrifugadora de sobremesa (aproximadamente 5000 rpm).

- Centrifugadora de sobremesa (aproximadamente 13.000 rpm).

- Micropipetas y puntas estériles con filtro para aerosoles o puntas estériles de desplazamiento positivo (rango de volumen: 0,5–1000 µL).

- Probetas estériles de 2,0 mL con tapón roscado (Sarstedt, 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, los calibradores de ADN ni los consumibles.

Para la extracción 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 1.4.0 (o posterior) **BKV ELITe_STD**, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de los calibradores **BKV ELITe_PC**, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control. **BKV ELITe_NC**, Assay Protocol (protocolo de ensayo) para el análisis del Negative Control **BKV ELITe_PL_200_100**, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de plasma **BKV ELITe_U_200_100**, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de orina **BKV ELITe_WB_200_100**, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de sangre	**BKV - ELITe Standard** (EG SpA, ref. STD175PLD) **BKV - ELITe Positive Control** (EG SpA, ref. CTR175PLD) **CPE - Internal Control** (EG SpA, ref. CTRCPE) Consumibles para el **ELITe InGenius** y el **ELITe BeGenius** (consultar 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) **BKV ELITe_Be_STD**, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de los calibradores **BKV ELITe_Be_PC**, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control. **BKV ELITe_Be_NC**, Assay Protocol (protocolo de ensayo) para el análisis del Negative Control **BKV ELITe_Be_PL_200_100**, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de plasma **BKV ELITe_Be_U_200_100**, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de orina **BKV ELITe_Be_WB_200_100**, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de sangre	

Tabla 2 (continued)

Instrumentos y software	Productos y reactivos
MyGenius PRO (EG SpA ref: ref. INT050). **MyGenius PRO Software** versión BB-04 (o posterior) **BKV ELITe_My_STD**, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de los calibradores **BKV ELITe_My_PC**, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control **BKV ELITe_My_NC**, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Negative Control **BKV ELITe_My_U_IU_200_100**, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de orina y la presentación de resultados en UI/mL **BKV ELITe_My_U_cmL_200_100**, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de orina y la presentación de resultados en copias/mL **BKV ELITe_My_PL_IU_200_100**, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de plasma y la presentación de resultados en UI/mL **BKV ELITe_My_PL_cmL_200_100**, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de plasma y la presentación de resultados en copias/mL	**BKV - ELITe Standard** (EG SpA, ref. STD175PLD) **BKV - ELITe Positive Control** (EG SpA, ref. CTR175PLD) **Negative Control** (EG SpA, ref. CTRNEG) **Internal Control Maxi** (EG SpA, ref. ICMAXI) Consumibles para el **MyGenius PRO** (consultar las instrucciones de uso del MyGenius Pro)
ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument (ThermoFisher Scientific, ref. 4406985) **ELITe GALAXY** (EG SpA, ref. INT020) con **versión 1.3.1 del software** (o posterior). Protocolo de extracción para el ELITe GALAXY, xNA Extraction (Universal)	**BKV - ELITe Standard** (EG SpA, ref. STD175PLD) **BKV - ELITe Positive Control** (EG SpA, ref. CTR175PLD) **CPE - Internal Control** (EG SpA, ref. CTRCPE) Consumibles para el **ELITe GALAXY** (consultar instrucciones de uso para el ELITe GALAXY) **MicroAmp™ Fast Optical 96-Well Reaction Plate con código de barras, 0,1 mL** (Life Technologies, ref. 4346906), que contiene microplacas con pocillos de 0,1 mL y placas de sellado adhesivas para la amplificación en tiempo real.

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 volumen de suministro del 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.

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

Cuando la sesión de amplificación debe realizarse con el 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument, es necesario disponer de áreas independientes para la extracción/preparación de las reacciones de amplificación y para la amplificación/detección de los productos de amplificación. No introducir nunca un producto de amplificación en el área asignada a la extracción/preparación de las reacciones de amplificación.

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

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

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

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

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

7.3 Advertencias y precauciones específicas para los componentes:

Tabla 3

Componente	Temperatura de almacenamiento	Uso a partir de la primera apertura	Ciclos de congelación y descongelación	Estabilidad con carga (ELITe InGenius y ELITe BeGenius)	Estabilidad con carga (MyGenius PRO)
BKV Q-PCR Mix	−20 °C o menos (protegido de la luz)	60 días	máximo cinco	Hasta cinco sesiones independientes* de tres horas cada una o hasta 7 horas consecutivas (2 sesiones de 3 horas cada una y el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión)	hasta 7 horas consecutivas o hasta 3 horas consecutivas cinco veces*

* Con congelación intermedia

8 Muestras y controles para el ELITe InGenius, el ELITe BeGenius y el MyGenius PRO

8.1 Muestras y protocolos de ensayo

Este producto está concebido para utilizarlo en uno de los instrumentos **ELITe InGenius**, **ELITe BeGenius** o **MyGenius PRO** con las siguientes muestras clínicas validadas, 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
Plasma	EDTA	≤1 d	≤3 d	≤30 d	≤30 d
Orina	sin conservantes	≤4 horas	≤1 d	≤30 d	≤30 d
Sangre	EDTA	≤1 d	≤3 d	≤30 d	≤30 d

d: días; EDTA: ácido edético

Si bien son posibles períodos de conservación más largos a −70 °C, tal como se ha documentado en numerosas publicaciones científicas, los usuarios finales de este producto deben realizar una evaluación interna específica para su aplicación.

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

Muestra	Instrumento	Nombre del protocolo de ensayo	Informe	Características
Plasma recogido en EDTA	ELITe InGenius	BKV ELITe_PL_200_100	copias/mL o UI/mL	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución de extracción: 100 µL Internal Control: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL
	ELITe BeGenius	BKV ELITe_Be_PL_200_100	copias/mL o UI/mL	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución de extracción: 100 µL Internal Control: 10 µL Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL
Orina	ELITe InGenius	BKV ELITe_U_200_100	copias/mL o UI/mL	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución de extracción: 100 µL Internal Control: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL
	ELITe BeGenius	BKV ELITe_Be_UL_200_100	copias/mL o UI/mL	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución de extracción: 100 µL Internal Control: 10 µL Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL
Sangre	ELITe InGenius	BKV ELITe_WB_200_100	copias/mL o IU/mL	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen del eluido de extracción: 100 µL Internal Control: «10 µL»; «Sonication» (Ultrasonidos): NO Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL
	ELITe BeGenius	BKV ELITe_Be_WB_200_100	copias/mL o IU/mL	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen del eluido de extracción: 100 µL Internal Control: 10 µL Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL

UI: unidades internacionales

Para analizar las muestras en el **MyGenius PRO**, 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 el instrumento **MyGenius PRO** con las matrices indicadas.

Tabla 6 Assay Protocols (Protocolos de ensayo) para el producto «BKV ELITe MGB Kit» y el MyGenius PRO

Muestra	Instrumento	Nombre del protocolo de ensayo	Informe	Características
Orina	MyGenius PRO	BKV ELITe_My_U_IU_200_100	UI/mL	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución de extracción: 100 µL Internal Control: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL
Orina	MyGenius PRO	BKV ELITe_My_U_cmL_200_100	copias/mL	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución de extracción: 100 µL Internal Control: «10 µL»; «Sonication» (Ultrasonidos): NO Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL
Plasma	MyGenius PRO	BKV ELITe_My_PL_IU_200_100	UI/mL	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen del eluido de extracción: 100 µL Internal Control: «10 µL»; «Sonication» (Ultrasonidos): NO Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL
Plasma	MyGenius PRO	BKV ELITe_My_PL_cmL_200_ 100	copias/mL	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen del eluido de extracción: 100 µL Internal Control: «10 µL»; «Sonication» (Ultrasonidos): NO Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL

NOTA!

Verificar si la probeta primaria y el volumen de la muestra son compatibles con el ELITe InGenius, el ELITe BeGenius o el MyGenius PRO conforme a las instrucciones de uso de los instrumentos.

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

Si es necesario, verter 200 µL de muestra en el «Extraction Tube» (tubo de extracción), en el caso del ELITe InGenius, o bien en una probeta Sarstedt de 2 mL, en el caso del ELITe BeGenius, y 260 µL de muestra en una probeta Sarstedt de 2 mL en el caso del MyGenius PRO.

NOTA!

El pipeteado de las muestras en el **Extraction tube** (tubo de extracción) o en la **probeta Sarstedt de 2 mL** puede **desarrollar contaminación**. Así pues, utilizar pipetas apropiadas y seguir todas las recomendaciones indicadas en la sección «7 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES page 8».

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 12 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ELITe InGenius, del ELITe BeGenius y del MyGenius PRO page 34 para comprobar los datos relativos a tales sustancias.

8.2 Calibradores y controles de PCR

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

- Para la curva de calibración, utilizar los cuatro niveles del producto **BKV ELITe Standard** (no incluido con este kit) con los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **BKV ELITe_STD**, **BKV ELITe_Be_STD** o **BKV ELITe_My_STD**

NOTA!

Las concentraciones de los calibradores Q-PCR Standard se expresan en copias/reacción (10^5 copias/reacción, 10^4 copias/reacción, 10^3 copias/reacción y 10^2 copias/reacción). Consultar «Incertidumbre de la curva de calibración» en la sección 12 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ELITe InGenius, del ELITe BeGenius y del MyGenius PRO page 34.

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 **BKV - ELITe Positive Control** (no incluido con este kit) con los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **BKV ELITe_PC**, **BKV ELITe_Be_PC** o **BKV ELITe_My_PC**.
- Para el Negative Control, utilizar agua para biología molecular (no incluida con este kit) con los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **BKV ELITe_NC** o **BKV ELITe_Be_NC**, o utilizar el **Negative Control** (no incluido con este kit) con el Assay Protocol (protocolo de ensayo) **EBV ELITe_My_NC**.

NOTA!

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

NOTA!

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

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

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

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

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 **BKV ELITe MGB Kit** con el **ELITe InGenius** comprende tres pasos:

Tabla 7

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

9.1 PASO 1. Verificación de la disponibilidad del sistema

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

- Encender el **ELITe InGenius** e iniciar sesión en el modo **«CLOSED»**.
- En el menú «Calibration» (Calibración) de la pantalla «Home» (Inicio), verificar que los calibradores (**Q - PCR Standard**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de **PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de calibradores válidos para el lote de mezcla **PCR Mix**, realizar la calibración tal como se describe en los apartados siguientes.
- En el menú «Controls» (Controles) de la página «Home» (Inicio), verificar que los controles de PCR (**Positive Control** 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 «8 Muestras y controles para el ELITe InGenius, el ELITe BeGenius y el MyGenius PRO page 10»).

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 **BKV ELITe MGB Kit** puede utilizarse con el instrumento **ELITe InGenius** para realizar las siguientes tareas:

A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)

B. Sesión con la muestra eluida; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)

C. Sesión de calibración en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)

D. Sesión para el Positive Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)

Todos los parámetros necesarios están incluidos en el protocolo de ensayo disponible en el instrumento y se cargan automáticamente al seleccionar el protocolo de ensayo.

NOTA!

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

Antes de configurar una sesión:

Descongelar las probetas necesarias de**PCR Mix**a temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para**24 análisis**. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.

NOTA!

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

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

	A. Sesión de la muestra (Extract + PCR).	**B. Sesión con la muestra eluida; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)**
1	**Identificar las muestras**y, en caso necesario, descongelar a temperatura ambiente, mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. En caso necesario, verter 200 µL de muestra en un «Extraction Tube» (Tubo de extracción) previamente etiquetada. **Descongelar**las**probetas de CPE**necesarias a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Cada probeta es suficiente para 12 extracciones.	**Descongelar**la**«Elution Tube»**(Tubo de elución) que contiene los ácidos nucleicos extraídos a temperatura ambiente. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.
2	Seleccionar**«Perform Run» (Realizar ejecución)** en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar**«Perform Run» (Realizar ejecución)** en la pantalla «Home» (Inicio).
3	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.
4	Para cada muestra, asignar un carril e introducir el «SampleID» o SID (ID de la muestra), ya sea rellenándolo directamente o escaneando su código de barras.	Para cada muestra, asignar un carril e introducir el «SampleID» o SID (ID de la muestra), ya sea rellenándolo directamente o escaneando su código de barras.
5	**Seleccionar**el**Assay Protocol (Protocolo de ensayo)** en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».	Seleccionar el**Assay Protocol (Protocolo de ensayo)** en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».
6	Asegurarse de que el protocolo que se muestra en el área «Protocol» (Protocolo) sea «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	Seleccionar «PCR Only» (Solo PCR) en la columna «Protocol» (Protocolo).
7	En la columna «Sample Position» (Posición de la muestra), seleccionar la posición de carga «Extraction Tube» (Tubo de extracción) para la muestra. Asegurarse de que la opción**«Dilution factor» (Factor de dilución)**esté configurada a**«1»**.	Asegurarse de que la posición de carga de la muestra en la columna «Sample Position» (Posición de la muestra) sea «Elution Tube (bottom row)» (Tubo de elución [fila inferior]). Asegurarse de que la opción**«Dilution factor» (Factor de dilución)**esté configurada a**«1»**.
8	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.

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

	C. Sesión de calibración; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)	D. Sesión para el Positive Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
1	**Descongelar**las probetas de calibrador**Q-PCR Standard tubes**(Cal1: Q-PCR Standard 10^2, Cal2: Q-PCR Standard 10^3, Cal3: Q-PCR Standard 10^4, Cal4: Q-PCR Standard 10^5) a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.	**Descongelar las probetas de Positive Control**a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. **Prepararel Negative Control**vertiendo al menos 50 µL de agua para biología molecular en el tubo de elución («Elution Tube») que se incluye con el ELITe InGenius SP 200 Consumable Set.
2	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).
3	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.
4	Para el calibrador Q-PCR, asignar el carril («Track»), **seleccionar**el**Assay Protocol (Protocolo de ensayo)**en la columna «Assay» (Ensayo) y, después, rellenar el número de lote y la fecha de caducidad de los reactivos.	**Seleccionar**el**Assay Protocol (Protocolo de ensayo)**en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles». Introducir el número de lote y la fecha de caducidad del Positive Control y del agua para biología molecular.
5	En la columna «Protocol» (Protocolo), asegurarse de que esté seleccionado «PCR Only» (Solo PCR).	En la columna «Protocol» (Protocolo), asegurarse de que esté seleccionado «PCR Only» (Solo PCR).
6	Asegurarse de que la posición de carga de la muestra en la columna «Sample Position» (Posición de la muestra) sea «Elution Tube (bottom row)» (Tubo de elución [fila inferior]).	Asegurarse de que la posición de carga de la muestra en la columna «Sample Position» (Posición de la muestra) sea «Elution Tube (bottom row)» (Tubo de elución [fila inferior]).
7	**Cargar**la**PCR Mix**en el «Inventory Block» (administrador de inventarios) en función de la «Load List» (Cargar lista) y, después, introducir el número de lote de la PCR Mix, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.	**Cargar** la**PCR Mix**en el «Inventory Block» (administrador de inventarios) en función de la «Load List» (Cargar lista) y, después, introducir el número de lote de la PCR Mix, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.
8	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
9	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.
10	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
11	**Cargar**el PCR Cassette y las probetas de Q-PCR Standard.	**Cargar**el PCR Cassette, el Positive Control y el Negative Control.
12	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
13	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.
14	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).

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

NOTA!

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

NOTA!

Al finalizar la sesión, la**PCR Mix**puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a −20 °C o a una temperatura inferior, o bien mantenerse en el bloque refrigerado durante un máximo de 7 horas (2 sesiones de 3 horas cada una y el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión). Mezclar con cuidado y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos antes de iniciar la siguiente sesión.

NOTA!

al finalizar la sesión, la parte que queda del calibrador**Q-PCR Standard**puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a −20 °C o a una temperatura inferior. Evitar derramar el calibrador Q - PCR Standard.

NOTA!

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

NOTA!

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

NOTA!

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

NOTA!

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

9.3 PASO 3. Evaluación y aprobación de los resultados

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

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

NOTA!

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

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

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

9.3.1 Validación de la curva de calibración

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

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

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

NOTA!

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

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

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

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

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

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

NOTA!

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

NOTA!

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

9.3.3 Validación de los resultados de la muestra

El **ELITe InGenius Software** interpreta los resultados de la PCR para la diana (canal **BKV**) y el Internal Control (canal **IC**) con los parámetros de los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **BKV ELITe_PL_200_100**, **BKV ELITe_U_200_100** o **BKV ELITe_WB_200_100**. Los valores resultantes del Ct de la diana se convierten en concentración.

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

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

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

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

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

Si queda un volumen de eluido suficiente, dicho eluido puede volver a analizarse (tal cual o diluido) con una sesión de amplificación en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR). Si se produce un segundo resultado no válido, la muestra debe volver a analizarse a partir del paso de extracción de una nueva muestra utilizando el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR); consultar la sección «18 PROBLEMAS Y SOLUCIONES page 59».

Las muestras que se notifican como «BKV:DNA Not Detected or below “LoD” copies/mL or IU/mL» (BKV:ADN no detectado o por debajo de LoD copias/mL o UI/mL) son aptas para el análisis, pero no ha sido posible detectar VBK. En este caso, puede que la muestra sea negativa para ADN de VBK, o que el ADN de VBK presente una concentración inferior al límite de detección del ensayo (ver sección).

Si se detectan muestras positivas para ADN de VBK a una concentración inferior al límite de detección (y al límite inferior de cuantificación) del ensayo, estas se notifican como «BKV:DNA Detected, quantity below LLoQ copies/mL or IU/mL»(BKV: ADN detectado, cantidad por debajo de “LLoQ” copias/mL o UI/mL); consultar la sección12 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ELITe InGenius, del ELITe BeGenius y del MyGenius PRO page 34.

La muestras positivas para ADN de VEB dentro del rango de medición lineal se detectan y notifican como «BKV: DNA Detected, quantity equal to “XXX” copies/mL or IU/mL» (BKV: ADN detectado, cantidad igual a “XXX” copias/mL o UI/mL); consultar la sección «12 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ELITe InGenius, del ELITe BeGenius y del MyGenius PRO page 34».

Las muestras positivas para ADN de VEB que superan el límite superior de cuantificación se notifican como «BKV: DNA Detected, quantity beyond ULoQ copies/mL or IU/mL» (BKV: ADN detectado, cantidad mas alta de “ULoQ” copias/mL o IU/mL) y no son aptas para la cuantificación; consultar la sección12 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ELITe InGenius, del ELITe BeGenius y del MyGenius PRO page 34. En caso necesario, es posible diluir la muestra antes de la extracción o de la PCR y volver a analizarla para obtener resultados dentro del rango de medición lineal del ensayo.

NOTA!

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

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

9.3.4 Generación del informe de los resultados de la muestra

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

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

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

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

10 PROCEDIMIENTO CON EL ELITe BeGenius

El procedimiento para utilizar el producto **BKV ELITe MGB Kit** con el **ELITe BeGenius** comprende tres pasos:

Tabla 8

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

10.1 PASO 1. Verificación de la disponibilidad del sistema

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

- Encender el **ELITe BeGenius** e iniciar sesión en el modo **«CLOSED»**.
- En el menú «Calibration» (Calibración) de la pantalla «Home» (Inicio), verificar que los calibradores (**Q - PCR Standard**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de **PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de calibradores válidos para el lote de mezcla **PCR Mix**, realizar la calibración tal como se describe en los apartados siguientes.
- En el menú «Controls» (Controles) de la página «Home» (Inicio), verificar que los controles de PCR (**Positive Control, EV Negative Control**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de mezcla **PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de controles de PCR válidos para el lote de **PCR Mix**, procesar los controles de la PCR tal como se describe en los apartados siguientes.
- Seleccionar el tipo de sesión siguiendo las instrucciones de la interfaz para configurar la sesión y utilizando los Assay Protocols (protocolos de ensayo) proporcionados por EG SpA (consultar la sección «8 Muestras y controles para el ELITe InGenius, el ELITe BeGenius y el MyGenius PRO page 10»).

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 **BKV ELITe MGB Kit** puede utilizarse con el instrumento **ELITe BeGenius** para realizar las siguientes tareas:

A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)

B. Sesión con la muestra eluida; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)

C. Sesión de calibración en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)

D. Sesión para el Positive Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)

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

NOTA!

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

Antes de configurar una sesión:

Descongelar las probetas necesarias de**PCR Mix**a temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para**24 análisis**. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.

NOTA!

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

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

	A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento«Extract + PCR» (Extracción + PCR)	B. Sesión con la muestra; eluida modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
1	**Identificar las muestras**y, en caso necesario, descongelar a temperatura ambiente, mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. En caso necesario, verter 200 µL de muestra en una probeta Sarstedt de 2 mL previamente etiquetada. **Descongelar**las**probetas de CPE**necesarias a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Cada probeta es suficiente para 12 extracciones.	**Descongelar**el**«Elution Tube»**(tubo de elución) que contiene los ácidos nucleicos extraídos a temperatura ambiente. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.
2	Seleccionar**«Perform Run» (Realizar ejecución)** en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar**«Perform Run» (Realizar ejecución)** en la pantalla «Home» (Inicio).
3	Extraer todas las gradillas de la «Cooler Unit» y colocarlas en la mesa de preparación.	Extraer las racks de los «Lanes» 1, 2 y 3 (L1, L2, L3) de la «Cooler Unit» y colocarlas en la tabla de preparación.
4	Seleccionar el «Run Mode»: «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	Seleccionar el «Run Mode»: «PCR Only» (Solo PCR).
5	Cargar las muestras en la «Sample Rack» (rack de muestras). Cuando se cargan probetas secundarias «2 mL Tube», utilizar los adaptadores azules para la «Sample Rack» (rack de muestras).	Cargar las muestras en la «Elution Rack» (rejilla de elución).
6	**Insertar la «Sample Rack»**(rack de muestras) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 5 (L5). En caso necesario, insertar el ID de la muestra para cada posición utilizada. Si se cargan probetas secundarias, marcar la probeta de 2 mL como «2 mL Tube». Si las probetas secundarias no tienen códigos de barras, introducir manualmente el ID de las muestras.	**Insertar la «Elution Rack»**(rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). En caso necesario, para cada «Position», introducir el «SID» (ID de la muestra), la «Sample matrix» (matriz de la muestra), el «Extraction kit» (kit de extracción) y el «Extracted Eluate Volume» (volumen de elución extraído).
7	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
8	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.	No aplicable.
9	Seleccionar el Assay Protocol (Protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».	Seleccionar el Assay Protocol (Protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».
10	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
11	si se procesan más de 12 muestras, repetir el procedimiento a partir del punto 6.	si se procesan más de 12 muestras, repetir el procedimiento a partir del punto 6.
12	Cargar los «Elution 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.
13	Insertar la «Elution Rack» (rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). Si se procesan más de 12 muestras, repetir el procedimiento utilizando el «Lane 2» (L2).	No aplicable.
14	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	No aplicable.

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

	C. Sesión de calibración; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)	D. Sesión para el Positive Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
1	**Descongelar**las probetas de calibrador**Q-PCR Standard tubes**(Cal1: Q-PCR Standard 10^2, Cal2: Q-PCR Standard 10^3, Cal3: Q-PCR Standard 10^4, Cal4: Q-PCR Standard 10^5) a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.	**Descongelar las probetas de Positive Control**a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. **Preparar**el**Negative Control**vertiendo al menos 50 µL de agua para biología molecular en el tubo de elución («Elution Tube») que se incluye con el ELITe InGenius SP 200 Consumable Set.
2	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).
3	Extraer las racks de los «Lanes» 1, 2 y 3 (L1, L2, L3) de la «Cooler Unit» y colocarlas en la tabla de preparación.	Extraer las racks de los «Lanes» 1, 2 y 3 (L1, L2, L3) de la «Cooler Unit» y colocarlas en la tabla de preparación.
4	Seleccionar el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).	Seleccionar el «Run Mode»: «PCR Only» (Solo PCR).
5	**Cargar las probetas de Q-PCR Standard**en la «Elution Rack» (rejilla de elución).	**Cargar**las**probetas de Positive Control y de Negative Control**en la «Elution Rack» (rejilla de elución).
6	**Insertar**la**«Elution Rack»**(rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). En caso necesario, para cada «Position» introducir el «Reagent name» (nombre del reactivo) , el «S/N» (número de serie) el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).	**Insertar**la**«Elution Rack»**(rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). En caso necesario, para cada «Position» introducir el «Reagent name» (nombre del reactivo) , el «S/N» (número de serie) el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).
7	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
8	Seleccionar el**Assay Protocol (protocolo de ensayo)**en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».	Seleccionar el**Assay Protocol (protocolo de ensayo)**en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».
9	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
10	**Cargar**la**PCR Mix**en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución).	**Cargar**la**PCR Mix**en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución).
11	**Insertar**la**«Reagent/Elution Rack»**(rejilla de reactivos/elución) en la «Cooler Unit», en el Lane 2 (L2). En caso necesario, para cada PCR Mix, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).	Insertar la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) en el «Lane» 2 (L2) de la «Cooler Unit». En caso necesario, para cada PCR Mix, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).
12	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
13	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.
14	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
15	Cargar la «**PCR Rack**» con el**PCR Cassette**en la «Inventory Area» (área del inventario).	Cargar la «**PCR Rack**» con el**PCR Cassette**en la «Inventory Area» (área del inventario).
16	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.

	C. Sesión de calibración; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)	D. Sesión para el Positive Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
17	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.
18	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).

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

NOTA!

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

NOTA!

Al finalizar la sesión, la**PCR Mix**puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a −20 °C o a una temperatura inferior, o bien mantenerse en el bloque refrigerado durante un máximo de 7 horas (2 sesiones de 3 horas cada una y el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión). Mezclar con cuidado y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos antes de iniciar la siguiente sesión.

NOTA!

al finalizar la sesión, la parte que queda del calibrador**Q-PCR Standard**puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a −20 °C o a una temperatura inferior. Evitar derramar el calibrador Q - PCR Standard.

NOTA!

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

NOTA!

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

NOTA!

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

NOTA!

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

10.3 PASO 3. Evaluación y aprobación de los resultados

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

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

NOTA!

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

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

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

NOTA!

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

11 PROCEDIMIENTO CON EL MyGenius PRO

El procedimiento para utilizar el producto **BKV ELITe MGB Kit** con el **MyGenius PRO** comprende tres pasos:

Tabla 9

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

PASO 1. Verificación de la disponibilidad del sistema

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

- Encienda el MyGenius PRO e inicie sesión; la unidad se pone en marcha en el modo «STAND-BY» (ESPERA).
- En el menú «Calibration» (Calibración) de la pantalla «Home» (Inicio), verificar que los calibradores (**Q - PCR Standard**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de**PCR Mix**que va a utilizarse. Si no se dispone de calibradores válidos para el lote de mezcla**PCR Mix**, realizar la calibración tal como se describe en los apartados siguientes.
- En el menú «Controls» (Controles) de la página «Home» (Inicio), verificar que los controles de PCR (**Positive Control, EV Negative Control**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de mezcla**PCR Mix**que va a utilizarse. Si no se dispone de controles de PCR válidos para el lote de**PCR Mix**, procesar los controles de la PCR tal como se describe en los apartados siguientes.
- Seguir las instrucciones de la interfaz para configurar la sesión, y utilizar los Assay Protocols (protocolos de ensayo) proporcionados por EG SpA (consultar la sección «Muestras y controles»).

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

PASO 2. Configuración del flujo de trabajo en el sistema

El producto **BKV ELITe MGB Kit** puede utilizarse en el **MyGenius PRO** para realizar las siguientes tareas:

A. Sesión de análisis de la muestra en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)

B. Sesión de análisis para la calibración en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)

C. Sesión de análisis para el Positive Control y el Negative Control en el 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).

Antes de configurar una sesión de análisis, proceder de la siguiente manera:

Descongelar las probetas necesarias de **PCR Mix** a temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para **24 análisis**. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.

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

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

	A. Sesión de análisis para la muestra en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)	**B. Sesión de análisis para la calibración en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)**	**C. Sesión de análisis para el Positive Control y del Negative Control en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)**
1	Identificar las muestras y, en caso necesario, descongelar a temperatura ambiente, mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Si la probeta primaria es compatible con las gradillas del MyGenius PRO, insertar la probeta con las muestras en las gradillas; si esto no es posible,**verter 260 µL de muestra en una probeta secundaria (2 mL) previamente etiquetado**. **Descongelar**las probetas de Internal Control Maxi**IC MAXI**necesarias a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos. Cada probeta es suficiente para 72 análisis.	**Descongelar**las probetas necesarias de calibrador**Q-PCR Standard**(Cal1: Q- PCR Standard 102, Cal2: Q-PCR Standard 103, Cal3: Q-PCR Standard 104, Cal4: Q-PCR Standard 105) a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.	**Descongelar las probetas de Positive Control**a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Centrifugar las**probetas de Negative Control**durante 5 segundos.
2	Si el instrumento está conectado al LIS, el MyGenius lee y detecta automáticamente los códigos de barras de las muestras cuando se colocan en el área de las muestras. Si el instrumento no está conectado al LIS; asignar manualmente las muestras utilizando las funciones**ASSIGN TEST (ASIGNAR PRUEBA)**o**ASSIGN SAMPLE (ASIGNAR MUESTRA)**en la página «Sample List» (Lista de muestras) de la interfaz antes de cargarlas en el instrumento. Estas funciones también permiten asignar el protocolo de prueba correcto a cada muestra.	Cargar las probetas de PCR Mix y de Q-PCR Standard en el carrusel refrigerado para reactivos.	Cargar las probetas de PCR Mix y de Positive Control y Negative Control en el carrusel refrigerado para reactivos.
3	En modo**STAND-BY (ESPERA)**, comprobar que haya una cantidad suficiente de consumibles para completar la prueba y que los niveles de residuos sólidos y líquidos sean adecuados para que el instrumento funcione. En caso necesario, cargar los consumibles necesarios en los cajones correspondientes y vaciar la caja de residuos y el depósito de líquidos. Para obtener más información sobre los procedimientos de carga, consultar las instrucciones de uso del instrumento.	En modo**STAND-BY (ESPERA)**, comprobar que haya una cantidad suficiente de consumibles para completar la prueba y que los niveles de residuos sólidos y líquidos sean adecuados para que el instrumento funcione. En caso necesario, cargar los consumibles necesarios en los cajones correspondientes y vaciar la caja de residuos y el depósito de líquidos. Para obtener más información sobre los procedimientos de carga, consultar las instrucciones de uso del instrumento.	En modo**STAND-BY (ESPERA)**, comprobar que haya una cantidad suficiente de consumibles para completar la prueba y que los niveles de residuos sólidos y líquidos sean adecuados para que el instrumento funcione. En caso necesario, cargar los consumibles necesarios en los cajones correspondientes y vaciar la caja de residuos y el depósito de líquidos. Para obtener más información sobre los procedimientos de carga, consultar las instrucciones de uso del instrumento.
4	Pulsar «Start» (Iniciar) en la página «Home» (Inicio) y esperar a que el instrumento pase al estado «Preparation» (Preparación) y, luego, al de «Operation» (Funcionamiento).	Pulsar «Start» (Iniciar) en la página «Home» (Inicio) y esperar a que el instrumento pase al estado «Preparation» (Preparación) y, luego, al de «Operation» (Funcionamiento).	Pulsar «Start» (Iniciar) en la página «Home» (Inicio) y esperar a que el instrumento pase al estado «Preparation» (Preparación) y, luego, al de «Operation» (Funcionamiento).
5	Cargar la PCR Mix en el carrusel refrigerado para reactivos.	Hacer clic en el botón «Calibration» (Calibración) en la pantalla «Home» (Inicio).	Hacer clic en el botón «Controls» (Controles) en la pantalla «Home» (Inicio).

	A. Sesión de análisis para la muestra en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)	B. Sesión de análisis para la calibración en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)	C. Sesión de análisis para el Positive Control y del Negative Control en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
6	Registrar la apertura de la puerta en el área del muestreador automático y cargar las muestras y el IC MAXI.	En la página «Calibration» (Calibración), seleccionar la probeta de Q-PCR Standard que se ha cargado en el paso 2 y, a continuación, pulsar «Order» (Pedido).	En la página «Control», seleccionar el Positive Control y el Negative Control que se han cargado en el paso 2 y, a continuación, pulsar «Order» (Pedido).
7	Cerrar la puerta del muestreador automático para iniciar la sesión de análisis.		

Al finalizar la sesión de análisis, la parte que queda del calibrador**Q-PCR Standard**puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a −20 °C o a una temperatura inferior. Evitar derramar el calibrador Q - PCR Standard.

NOTA!

Al finalizar la sesión de análisis, la**PCR Mix**puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a −20 °C o a una temperatura inferior, o bien mantenerse en carrusel de reactivos durante un máximo de 7 horas.

En cuanto se obtiene un resultado, el**MyGenius PRO**permite mostrar, aprobar y guardar los resultados, así como guardar el informe definitivo.

NOTA!

El**Q-PCR Standard**puede utilizarse para 4 calibraciones, dejándolo en el instrumento durante un máximo de 2 horas por cada calibración.

NOTA!

Al finalizar la sesión de análisis, 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**Positive Control**puede utilizarse para 4 calibraciones, dejándolo en el instrumento durante un máximo de 3 horas por cada calibración..

NOTA!

Si es necesario o si el instrumento así lo requiere, retirar el**PCR Cassette**del cajón del instrumento y desechar el resto de consumibles de acuerdo con las regulaciones gubernamentales y medioambientales. Evitar derramar los productos de reacción.

NOTA!

El**MyGenius PRO**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.

PASO 3. Evaluación y aprobación de los resultados

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

Una vez completado el análisis de cada muestra, los resultados se pueden ver en la pantalla «Results» (Resultados), en la que se muestran los resultados y la información sobre las muestras. Esta pantalla permite aprobar los resultados o guardar los informes correspondientes. Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

El **MyGenius PRO** genera los resultados con el producto **BKV ELITe MGB Kit** mediante el siguiente procedimiento:

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

Validación de la curva de calibración

El **MyGenius PRO Software** interpreta los resultados de la PCR para la diana de las reacciones del calibrador utilizando los parámetros del Assay Protocol (protocolo de ensayo) **BKV ELITe_My_STD**. La relación Ct a concentración resultante da lugar a la curva de calibración.

Las curvas de calibración, específicas del lote de reactivos de PCR, se registran en la base de datos («Calibrations»). El usuario puede verlas y aprobarlas seleccionando la calibración en cuestión en la sección «View chart» (Ver gráfico).

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

NOTA!

Si la curva de calibración no cumple los criterios de aceptación, en el menú «Calibrations» (Calibraciones) aparece el mensaje «Error». En este caso, los resultados no pueden aprobarse y es necesario repetir las reacciones de amplificación del calibrador. Además, si se han incluido muestras en la sesión de análisis, no se cuantifican: en este caso, tras repetir la calibración, es necesario interpretar y aprobar todos los resultados (consultar la sección dedicada a los resultados de las muestras).

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

El **MyGenius PRO Software** interpreta los resultados de la PCR para la diana del Positive Control y para la diana y el Internal Control (canal **IC**) de las reacciones del Negative Control con los parámetros de los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **BKV ELITe_My_PC** y **BKV ELITe_My_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»). El usuario puede verlos y aprobarlos seleccionando el control en cuestión en la sección «View chart» (Ver gráfico).

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

El **MyGenius PRO Software** procesa los resultados del Positive Control y del Negative Control y genera los gráficos de control («Control Charts»). El software analiza los resultados para garantizar que el rendimiento del sistema se encuentre dentro de los criterios de aceptación que se muestran en los gráficos de control («Control Charts»). Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

NOTA!

Si el resultado del Positive Control y del Negative Control no cumple los criterios de aceptación, en la pantalla «Controls» (Controles) aparece el mensaje «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 de análisis, las muestras no pueden aprobarse. En este caso, una vez realizada la repetición de los controles, es necesario interpretar y aprobar todos los resultados (consultar la sección dedicada a los resultados de las muestras).

Validación de los resultados de la muestra

El **MyGenius PRO Software** interpreta los resultados de la PCR para la diana (canal **BKV**) y el Internal Control (canal **IC**) con los parámetros de los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **BKV ELITe_My_U_IU_200_100**, **BKV ELITe_My_U_cmL_200_100**, **BKV ELITe_My_PL_IU_200_100** y **BKV ELITe_My_PL_cmL_200_100**. Los valores resultantes del Ct de la diana se convierten en concentración.

Los resultados se muestran en la pantalla «Results» (Resultados).

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

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

El **MyGenius PRO Software** interpreta automáticamente los resultados de las muestras utilizando los parámetros del Assay Protocol (protocolo de ensayo) correspondiente si se han aprobado los resultados de la calibración y de los controles asociados. Si no se dispone de calibraciones y controles válidos y aprobados cuando se obtienen los resultados de las muestras, estas no pueden interpretarse ni aprobarse; en este caso, es preciso aprobar las calibraciones y los controles y, a continuación, cada muestra debe interpretarse en la sección «Sample list» (Lista de muestras) y aprobarse en la sección «Results» (Resultados) utilizando los botones correspondientes..

En la tabla siguiente se muestran los posibles mensajes de los resultados.

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

Resultado de la sesión de la muestra	**Interpretación**
BKV:DNA DETECTED, QUANTITY EQUAL TO XXX COPIES/ML OR IU/ML (BKV:ADN DETECTADO, CANTIDAD IGUAL A “XXX” COPIAS/ML O UI/ML)	**Se ha detectado ADN de VBK** en la muestra dentro del rango de medición del ensayo y se indica su concentración.
BKV:DNA DETECTED, QUANTITY BELOW “LLOQ” COPIES/ML OR IU/ML (BKV:ADN DETECTADO, CANTIDAD POR DEBAJO DE “LLOQ” COPIAS/ML O UI/ML)	**Se ha detectado ADN de VBK** en la muestra, pero su concentración se encuentra por debajo del límite inferior de cuantificación del ensayo.
BKV:DNA DETECTED, QUANTITY BEYOND “ULOQ” COPIES/ML OR IU/ML (BKV:ADN DETECTADO, CANTIDAD MAS ALTA DE “ULOQ” COPIAS/ML O UI/ML)	**Se ha detectado ADN de VBK** en la muestra, pero su concentración se encuentra por encima del límite superior de cuantificación del ensayo.
BKV:DNA NOT DETECTED OR BELOW “LOD” COPIES/ML OR IU/ML (BKV:ADN NO DETECTADO O POR DEBAJO DE “LOD” COPIAS/ML O UI/ML)	**No se ha detectado ADN de VBK** en la muestra. La muestra es negativa para ADN de VBK, o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
Invalid-Retest Sample (No válido-Volver a probar muestra)	**Resultado no válido del ensayo** causado por un fallo en el Internal Control (p. ej., debido a una extracción incorrecta o al arrastre de inhibidores). Es necesario repetir la prueba.

Las muestras que se notifican como «INVALID: RETEST SAMPLE» (NO VÁLIDO-VOLVER A PROBAR MUESTRA) indican que el ADN del Internal Control no ha podido detectarse correctamente, probablemente debido a problemas en los pasos de recogida de la muestra, extracción o PCR (p. ej., obtención incorrecta de la muestra, degradación o pérdida de ADN durante la extracción o presencia de inhibidores en el eluido), lo que puede dar lugar a resultados incorrectos. Si esto ocurre, la muestra debe volver a analizarse a partir de la extracción de una muestra nueva.

Las muestras que se notifican como «BKV:DNA not detected or below “LoD” copies/ml or IU/mL» (BKV:ADN no detectado o por debajo de LoD copias/mL o UI/mL) son aptas para el análisis, pero no ha sido posible detectar VBK. En este caso, puede que la muestra sea negativa para ADN de VBK, o que el ADN de VBK presente una concentración inferior al límite de detección del ensayo (ver sección).

Si se detectan muestras positivas para ADN de VBK a una concentración inferior al límite de detección (y al límite inferior de cuantificación) del ensayo, estas se notifican como «BKV:DNA Detected, quantity below LLoQ copies/mL or IU/mL» (BKV: ADN detectado, cantidad por debajo de “LLoQ” copias/mL o UI/mL); consultar la sección12 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ELITe InGenius, del ELITe BeGenius y del MyGenius PRO page 34.

La muestras positivas para ADN de VBK dentro del rango de medición lineal se detectan y notifican como «BKV: DNA Detected, quantity equal to “XXX” copies/mL or IU/mL» (BKV: ADN detectado, cantidad igual a “XXX” copias/mL o UI/mL); consultar la sección «12 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ELITe InGenius, del ELITe BeGenius y del MyGenius PRO page 34».

Las muestras positivas para ADN de VBK que superan el límite superior de cuantificación se notifican como «BKV:DNA Detected, quantity beyond ULoQ copies/mL or IU/mL» (BKV:ADN detectado, cantidad mas alta de “ULoQ” copias/mL o IU/mL) y no son aptas para la cuantificación; consultar la sección12 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ELITe InGenius, del ELITe BeGenius y del MyGenius PRO page 34. En caso necesario, es posible diluir la muestra antes de la extracción o de la PCR y volver a analizarla para obtener resultados dentro del rango de medición lineal del ensayo.

NOTA!

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

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

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 «Summary Report» (Informe resumen) o como «Details Report» (Informe detallado).

El «Details Report» (Informe detallado) muestra los detalles de los resultados para cada muestra seleccionada (SID).

El «Summary Report» (Informe resumen) muestra los detalles de los resultados para todas las muestras seleccionadas (SID).

El personal autorizado puede imprimir y firmar el «Details Report» (Informe detallado) y el «Summary Report» (Informe resumen).

12 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ELITe InGenius, del ELITe BeGenius y del MyGenius PRO

12.1 Límite de detección (LoD)

El límite de detección (LoD) del ensayo con diferentes matrices de plasma recogido en EDTA, de orina y de sangre recogida en EDTA se determinó en los instrumentos ELITe InGenius o ELITe BeGenius, analizando un panel de matrices negativas para VBK y enriquecidas con material de referencia de VBK (Primer estándar internacional de la OMS para ADN de virus BK (VBK), código NIBSC 14/212, Reino Unido). 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.

En las tablas siguientes se indican los resultados de las dos matrices.

Tabla 10 Límite de detección con el ELITe InGenius (UI/mL)

Matriz	Límite de detección	Intervalo de confianza del 95 %	
		Límite inferior	Límite superior
Orina	142 UI/mL	110 UI/mL	222 UI/mL
Plasma	215 UI/mL	168 UI/mL	319 UI/mL
Sangre	538 UI/mL	337 UI/mL	1128 UI/mL

La sensibilidad analítica, expresada en copias/mL para cada una de las matrices, se calculó aplicando el factor de conversión específico indicado en el apartado 12.9 Factor de conversión a unidades internacionales page 41

La sensibilidad analítica expresada en copias/mL se indica a continuación.

Tabla 11 Límite de detección con el ELITe InGenius (copias/mL)

Matriz	Límite de detección	Intervalo de confianza del 95 %	
		Límite inferior	Límite superior
Orina	89 copias/mL	69 copias/mL	139 copias/mL
Plasma	165 copias/mL	129 copias/mL	245 copias/mL
Sangre	117 copias/mL	73 copias/mL	245 copias/mL

El valor calculado del LoD se verificó para cada matriz analizando en el Elite InGenius y en el ELITe BeGenius un panel de cada matriz que se enriqueció con material de referencia de VBK a la concentración declarada.

Los resultados obtenidos confirmaron la concentración declarada para la diana de BKV ELITe MGB Kit tanto en el ELITe InGenius como en el ELITe BeGenius para cada matriz.

Los valores calculados para el LoD en el ELITe InGenius con matrices de orina y de plasma también son válidos para el MyGenius PRO.

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

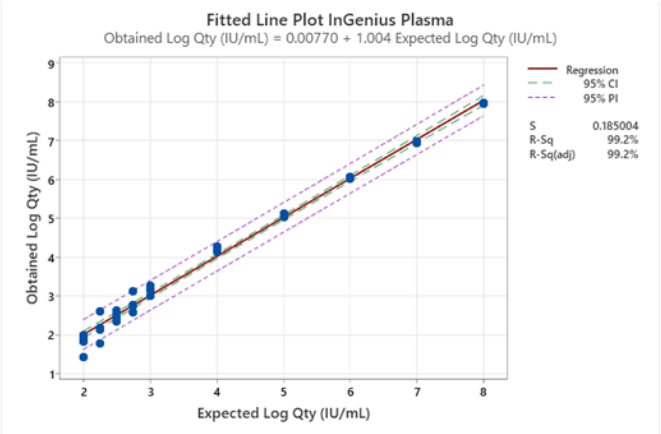
La inclusividad del ensayo, expresado como la eficacia de la detección de diferentes cepas o aislados de poliomavirus BK, se evaluó mediante un análisis informático. El análisis demostró la conservación de la secuencia y la ausencia de mutaciones significativas. Así, se espera una detección eficaz de la mayoría de cepas y aislados.

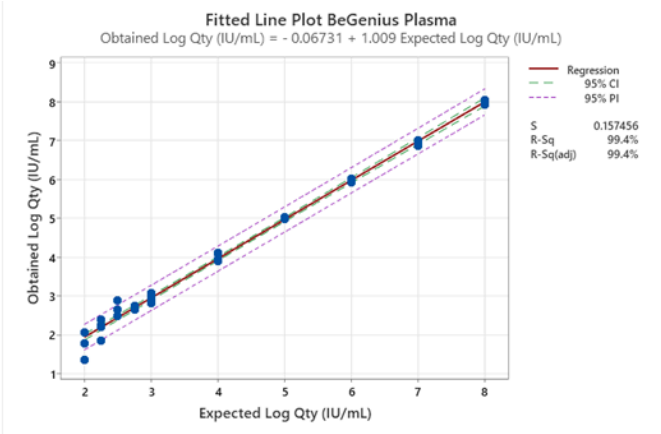
12.3 Rango de medición lineal y límites de cuantificación

El rango de medición lineal del ensayo se determinó con matrices de plasma recogido en EDTA, de orina y de sangre recogida en EDTA en el **ELITe InGenius** y el **ELITe BeGenius**, utilizando un panel de diluciones de material de referencia de VBK (líquido de cultivo de VBK, inactivado por calor, ZeptoMetrix) en una matriz negativa para ADN de VBK.

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

Plasma:





El rango de medición lineal, expresado como copias/mL para plasma recogido en EDTA, se calculó aplicando el factor de conversión específico indicado en la sección 12.9 . page 41

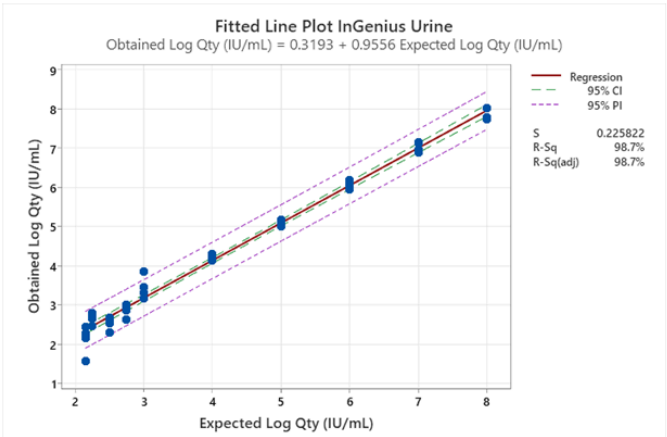
Los resultados finales se resumen en la tabla siguiente.

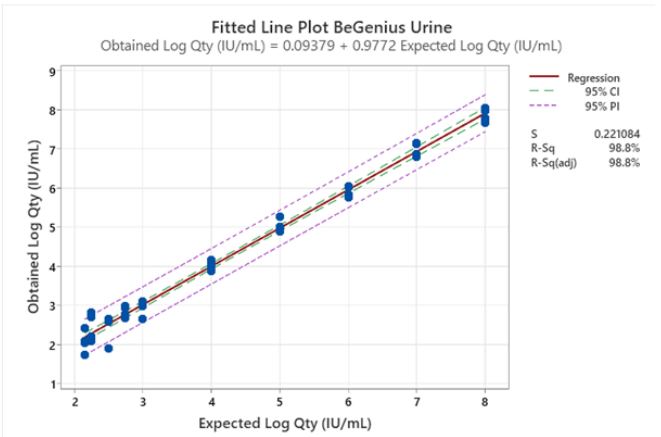
Tabla 12 Rango de medición lineal para muestras de plasma y los instrumentos ELITe InGenius y ELITe BeGenius

Unidad	Límite inferior	Límite superior
UI/mL	215	130000000
copias/mL	165	100000000

El rango de medición lineal determinado para el ELITe InGenius y el ELITe BeGenius con matrices de plasma también es válido para el MyGenius PRO.

Orina:





El rango de medición lineal para orina, expresado en copias/mL, se calculó aplicando el factor de conversión específico indicado en la sección 12.9 Factor de conversión a unidades internacionales page 41

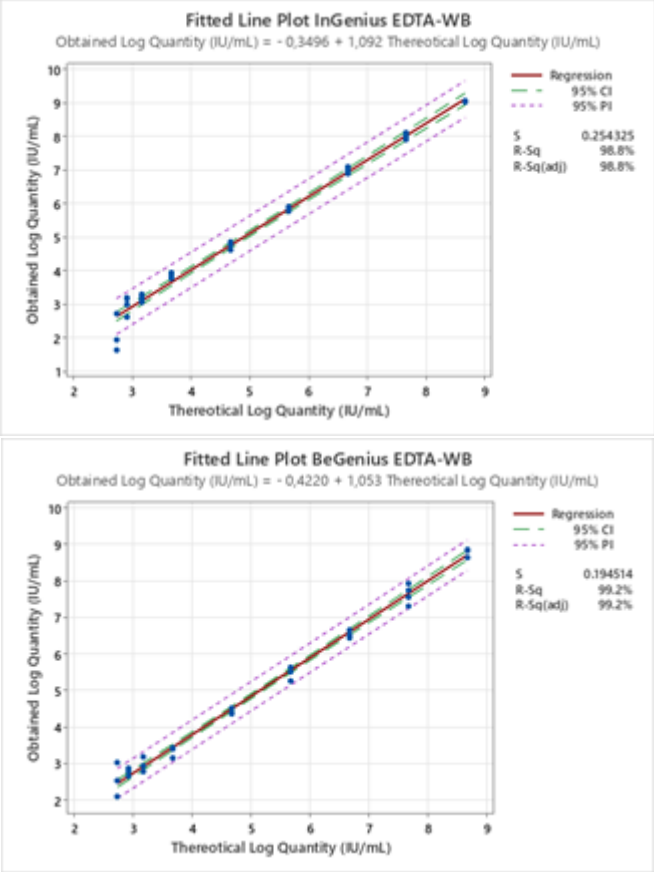
Los resultados finales se resumen en la tabla siguiente.

Tabla 13 Rango de medición lineal para muestras de orina y los instrumentos ELITe InGenius y ELITe BeGenius

Unidad	Límite inferior	Límite superior
UI/mL	142	160000000
copias/mL	89	100000000

El rango de medición lineal determinado para el ELITe InGenius y el ELITe BeGenius y la matriz de orina completa también es válido para el MyGenius PRO.

Sangre:



El rango de medición lineal, expresado como UI/mL para sangre recogida en EDTA, se calculó aplicando el factor de conversión específico indicado en la sección 12.9 Factor de conversión a unidades internacionales page 41

Los resultados finales se resumen en la tabla siguiente.

Tabla 14 Rango de medición lineal para muestras de sangre recogida en EDTA y los instrumentos ELITe InGenius y ELITe BeGenius

Unidad	Límite inferior	Límite superior
UI/mL	538	460.000.000
copias/mL	117	100.000.000

12.4 Incertidumbre de la curva de calibración

El valor de incertidumbre de la curva de calibración se calculó combinando los errores aleatorios (DE) de todas las cuantificaciones de nivel y multiplicando por el factor de cobertura k = 2 (incertidumbre combinada ampliada) y resultó ser de 0,2146 log copias/reacción.

Tabla 15

Niveles de la curva de calibración	Teóricos	Medidos	Sesgo	DE	Incertidumbre combinada ampliada
	Log copias/ reacción	Log copias/ reacción			
BKV Q - PCR Standard 10^5	5,0000	4,9845	0,0155	0,0417	0,2146
BKV Q - PCR Standard 10^4	4,0000	4,0022	-0,0022	0,0349	
BKV Q - PCR Standard 10^3	3,0000	3,0051	-0,0051	0,0500	
BKV Q - PCR Standard 10^2	2,0000	2,0471	-0,0471	0,0778	

12.5 Microorganismos potencialmente interferentes: reactividad cruzada

La reactividad cruzada potencial con otros microorganismos no deseados del producto **BKV ELITe MGB Kit** se evaluó mediante un análisis informático de las secuencias disponibles en la base de datos de nucleótidos EBI ENA. El análisis no presentó ninguna homología de secuencia reseñable con otros microorganismos imprevistos (virus, bacterias y hongos). Así pues, no cabe esperar que se produzcan interferencias o una reactividad cruzada.

12.6 Sustancias potencialmente interferentes: Inhibición

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

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

Tabla 16 Plasma

Sustancia	Pos./Dup.	Resultado
Azitromicina	5/5	Sin interferencia
Ganciclovir	5/5	Sin interferencia
Ribavirina	5/5	Sin interferencia
Abacavir	5/5	Sin interferencia
Cidofovir	5/5	Sin interferencia
Ciclosporina A	5/5	Sin interferencia
Bilirrubina	5/5	Sin interferencia
EDTA	5/5	Sin interferencia
Heparina	5/5	Sin interferencia

Las sustancias analizadas no interfirieron en la amplificación del VBK ni en la del Internal Control.

Tabla 17 Orina

Sustancia	Pos/Dup	Resultado
Azitromicina	5/5	Sin interferencia
Bilirrubina	5/5	Sin interferencia

Tabla 17 Orina (continued)

Sustancia	Pos/Dup	Resultado
Sangre	5/5	Sin interferencia
Hidrocloruro de fenazopiridina	5/5	Sin interferencia

Las sustancias analizadas no interfirieron en la amplificación del VBK ni en la del Internal Control.

Tabla 18 Sangre

Sustancia	Pos/Dup	Resultado
Sangre hemolítica alta	5/5	Sin interferencia
Sangre hemolítica media	5/5	Sin interferencia
Sangre hemolítica baja	5/5	Sin interferencia
Triglicéridos	5/5	Sin interferencia
Bilirrubina	5/5	Sin interferencia
Heparina	5/5	Sin interferencia
Ganciclovir	5/5	Sin interferencia
Cidofovir	5/5	Sin interferencia
Ribavirina	5/5	Sin interferencia
Azitromicina	5/5	Sin interferencia
Vancomicina	5/5	Sin interferencia
Amoxicilina	5/5	Sin interferencia
Fluconazol	5/5	Sin interferencia
Hidrocortisona	5/5	Sin interferencia
Ciclosporina A	5/5	Sin interferencia

Las sustancias analizadas no interfirieron en la amplificación del VBK ni en la del Internal Control.

12.7 Repetibilidad

La repetibilidad dentro de las sesiones y entre sesiones del ensayo se evaluó en el ELITe InGenius y el ELITe BeGenius analizando un panel de muestras de plasma recogido en EDTA, inclusive una muestra negativa y dos muestras enriquecidas con material de referencia certificado de VBK (Primer estándar internacional de la OMS para ADN de virus BK (VBK), código NIBSC 14/212, Reino Unido).

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

Tabla 19 Repetibilidad dentro de las sesiones con el ELITe InGenius

Muestra	VBK				
	N	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia
Negativas	8	-	-	-	100 %
3×LoD	8	36,66	0,45	0,82	100 %
10×LoD	8	34,88	0,56	1,33	100 %

Tabla 20 Repetibilidad dentro de las sesiones con el ELITe BeGenius

Muestra	VBK				
	N	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia
Negativas	8	-	-	-	100 %
3×LoD	8	37,09	0,52	1,40	100 %
10×LoD	8	35,45	0,31	0,88	100 %

En las tablas siguientes se incluye un ejemplo de repetibilidad entre sesiones.

Tabla 21 Repetibilidad entre sesiones con el ELITe InGenius

Muestra	VBK - Días 1-2				
	N	Ct medio	DE del Ct	Ct del %CV	% de concordancia
Negativas	16	-	-	-	100 %
3×LoD	16	36,36	0,52	1,43	100 %
10×LoD	16	34,40	0,68	1,96	100 %

Tabla 22 Repetibilidad entre sesiones con el ELITe BeGenius

Muestra	VBK - Días 1-2				
	N	Ct medio	DE del Ct	Ct del %CV	% de concordancia
Negativas	16	-	-	-	100 %
3×LoD	16	36,68	0,71	1,94	100 %
10×LoD	16	34,98	0,55	1,57	100 %

En el ensayo de repetibilidad, el producto **BKV ELITe MGB Kit** detectó todas las muestras tal como se esperaba y presentó una variabilidad máxima de los valores Ct de la diana inferior al 5 %.

12.8 Reproducibilidad

La reproducibilidad del ensayo se evaluó en el ELITe InGenius y el ELITe BeGenius analizando un panel de muestras de plasma recogido en EDTA, negativas o enriquecidas con VBK (Primer estándar internacional de la OMS para ADN de virus BK (VBK), código NIBSC 14/212, Reino Unido).

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

Tabla 23 Reproducibilidad entre instrumentos con el ELITe InGenius

Muestra	VBK				
	N	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia
Negativas	8	-	-	-	100 %
3×LoD	8	36,72	0,30	0,82	100 %
10×LoD	8	30,89	0,41	1,33	100 %

Tabla 24 Reproducibilidad entre instrumentos con el ELITe BeGenius

Muestra	VBK				
	N	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia
Negativas	8	-	-	-	100 %
3×LoD	8	36,87	0,58	1,56	100 %
10×LoD	8	34,86	0,25	0,72	100 %

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

Tabla 25 Reproducibilidad entre lotes con el ELITe InGenius

Muestra	VBK				
	N	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia
Negativas	8	-	-	-	100 %
3×LoD	8	36,94	0,36	0,82	100 %
10×LoD	8	35,07	0,28	1,33	100 %

Tabla 26 Reproducibilidad entre lotes con el ELITe BeGenius

Muestra	VBK				
	N	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia
Negativas	8	-	-	-	100 %
3×LoD	8	36,81	0,66	1,56	100 %
10×LoD	8	35,01	0,41	0,72	100 %

En el ensayo de reproducibilidad, el producto **BKV ELITe MGB Kit** detectó todas las muestras tal como se esperaba y presentó una variabilidad máxima de los valores Ct de la diana inferior al 5 %.

12.9 Factor de conversión a unidades internacionales

El factor de conversión para comunicar los resultados cuantitativos en unidades internacionales/mL a partir de copias/mL se calculó para cada matriz utilizando material de referencia calibrado certificado del «Primer estándar internacional de la OMS para ADN de virus BK (VBK)» (código NIBSC 14/212, Reino Unido).

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

Tabla 27 Factor de conversión a unidades internacionales

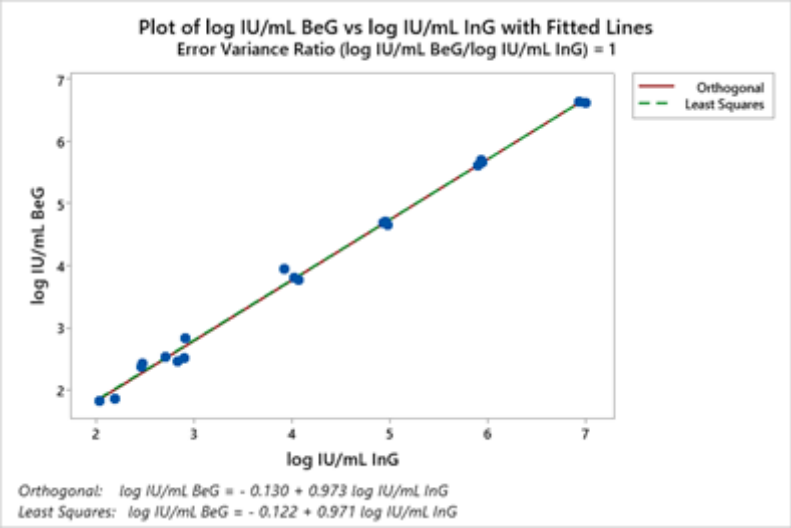
Matriz	Fc (UI copias)
Plasma	1,3
Orina	1,6
Sangre	4,6

Los factores de conversión a unidades internacionales calculados para el ELITe InGenius con matrices de orina y de plasma también son válidos para el MyGenius PRO.

El factor de conversión, que notifica los resultados cuantitativos en unidades internacionales/mL a partir de copias/mL, se verificó para cada matriz en los instrumentos **ELITe InGenius** y **ELITe BeGenius**, utilizando material de referencia calibrado y certificado (Primer estándar internacional de la OMS, NIBSC). Los resultados obtenidos se analizaron mediante un análisis de regresión ortogonal y lineal con el fin de calcular la relación entre los métodos.

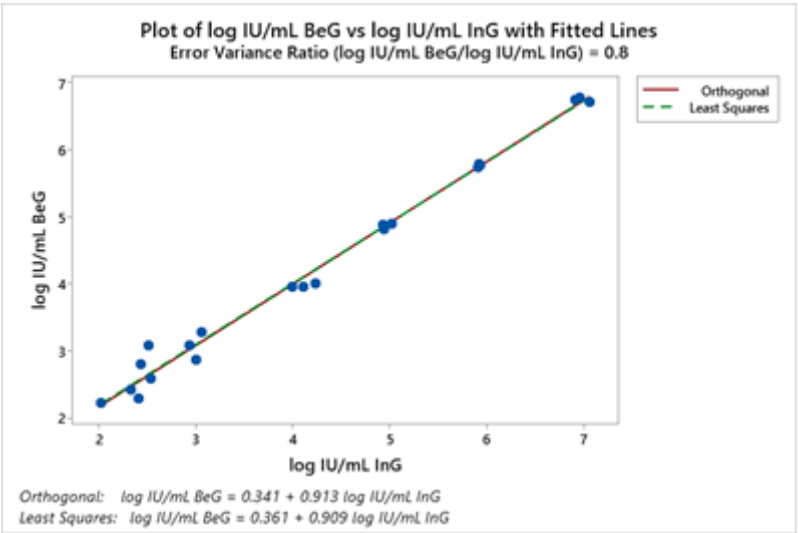
En los apartados siguientes se muestran los resultados de cada matriz.

Plasma



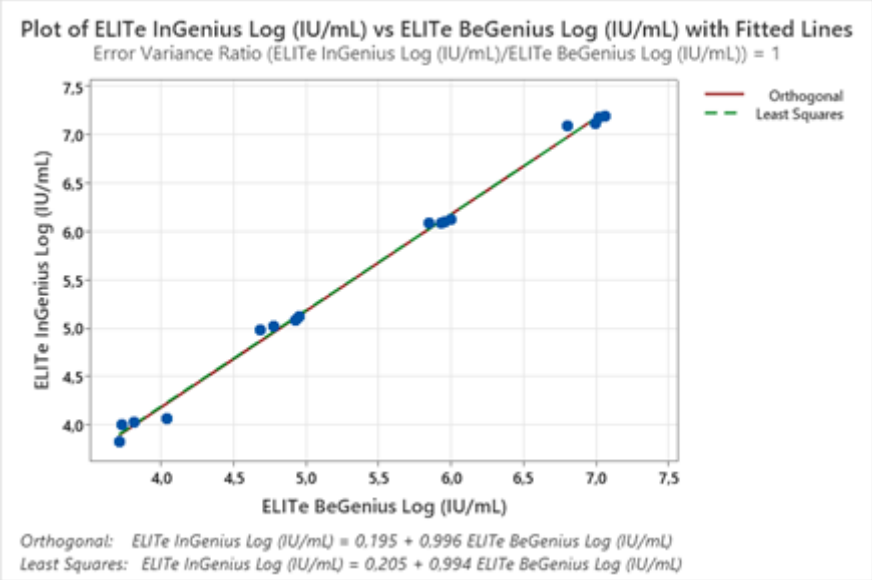
El análisis de regresión ortogonal generó una intersección de −0,130 (IC del 95 %: 0,263–0,002) y una pendiente de 0,973 (IC del 95 %: 0,944–1,001).

Orina:



El análisis de regresión ortogonal generó una intersección de 0,341 (IC del 95 %: 0,152–0,529) y una pendiente de 0,913 (IC del 95 %: 0,872–0,954).

Sangre:



El análisis de regresión ortogonal dio lugar a una intersección de 0,195 (IC del 95 %: 0,0174; 0,3733) y una pendiente de 0,996 (IC del 95 %: 0,9639; 1,0284).

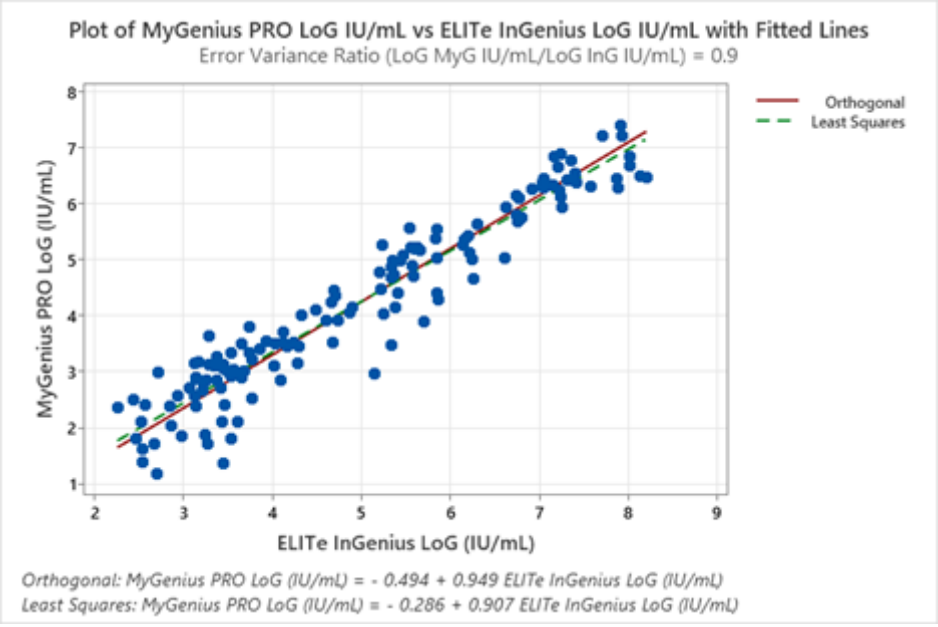
12.10 MyGenius PRO: relación entre métodos

El análisis de relación entre los diferentes métodos se evaluó en el MyGenius PRO mediante el análisis de muestras de VBK de pacientes cuya carga vírica se encontraba dentro del rango de medición del método de referencia (ELITe InGenius). Los resultados obtenidos con el MyGenius PRO y el método de referencia (ELITe InGenius) se analizaron mediante análisis de regresión de Deming y de regresión lineal.

Orina

El estudio de relación se realizó en un centro con 137 muestras clínicas positivas de orina, que se certificaron como positivas para ADN de VBK o se enriquecieron con material de referencia utilizando el ELITe InGenius como comparador.

Los resultados se resumen en la figura siguiente.

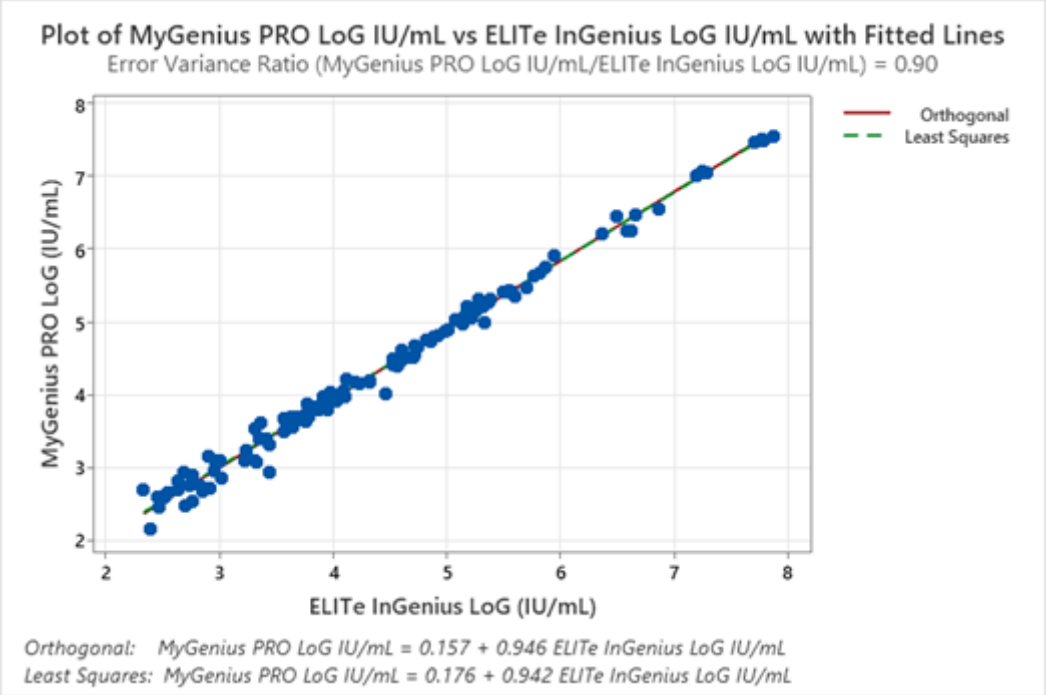


El análisis de regresión de Deming generó una intersección de −0,494 (CI del 95 %: −0,7502; −0,2371) y una pendiente de 0,949 (IC del 95 %: 0,8996; 0,9982). El análisis de regresión lineal generó un R2 de 0,913.

Plasma

El estudio de relación se realizó en un centro con 122 muestras clínicas positivas de plasma, que se certificaron como positivas para ADN de VBK o se enriquecieron con material de referencia utilizando el ELITe InGenius como comparador.

Los resultados se resumen en la figura siguiente.



El análisis de regresión de Deming dio lugar a una intersección de 0,1573 (IC del 95 %: 0,0829; 0,2316) y una pendiente de 0,9464 (IC del 95 %: 0,9304; 0,9624). El análisis de regresión lineal generó un R2 de 0,991.

12.11 Especificidad diagnóstica: confirmación de las muestras negativas

La especificidad diagnóstica del ensayo, expresada como confirmación de las muestras negativas, se evaluó en el **ELITe InGenius** o el **ELITe BeGenius**, analizando muestras clínicas que se certificaron como negativas o supuestamente negativas para ADN de VBK. Como el **ELITe BeGenius** presentó 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 y viceversa.

Como el **MyGenius PRO** presentó un rendimiento analítico equivalente al del ELITe InGenius cuando se utilizaron matrices de muestras de orina y matrices de plasma, el rendimiento diagnóstico del ensayo observado en los dos instrumentos también se considera equivalente cuando se usan muestras de orina y de plasma. Así pues, la especificidad diagnóstica del ensayo obtenida con el ELITe InGenius también es aplicable al MyGenius PRO.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente:

Tabla 28 Especificidad diagnóstica

Muestras	N	Positivas	Negativas	% de especificidad diagnóstica
Plasma recogido en EDTA negativo para ADN de VBK	79	3	76	**96,2 %**
Orina recogida sin conservantes y negativa para ADN de VBK	68	0	68	**100 %**
Sangre recogida en EDTA negativa para ADN de VBK	80	0	80	100 %

El valor de corte para el Ct del IC se estableció a 35 para muestras de plasma recogido en EDTA y de orina recogida sin conservantes cuando se analizaron con el ELITe InGenius, el ELITe BeGenius y el MyGenius PRO.

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

12.12 Sensibilidad diagnóstica: confirmación de las muestras positivas

La sensibilidad diagnóstica del ensayo, expresada como confirmación de las muestras clínicas positivas, se evaluó en el **ELITe InGenius** o el **ELITe BeGenius** analizando muestras clínicas que se certificaron como positivas para ADN de VBK o se enriquecieron con material de referencia. Como el **ELITe BeGenius** presentó un rendimiento analítico equivalente al del **ELITe InGenius**, el rendimiento diagnóstico del ensayo observado en los dos instrumentos también se considera equivalente. Así pues, la sensibilidad diagnóstica del ensayo obtenida con el ELITe InGenius también es aplicable al ELITe BeGenius y viceversa.

Como el **MyGenius PRO** presentó un rendimiento analítico equivalente al del ELITe InGenius cuando se utilizaron matrices de muestras de orina y matrices de plasma, el rendimiento diagnóstico del ensayo observado en los dos instrumentos también se considera equivalente cuando se usan muestras de orina y de plasma. Por lo tanto, la sensibilidad diagnóstica del ensayo obtenida con el ELITe InGenius también es aplicable al MyGenius PRO.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente:

Tabla 29 Sensibilidad diagnóstica

Muestras	N	Positivas	Negativas	% de sensibilidad diagnóstica
Plasma recogido en EDTA y positivo para ADN de VBK	34	34	0	100 %
Plasma recogido EDTA y enriquecido con VBK	24	24	0	
Total	58	58	0	
Orina recogida sin conservantes y positiva para ADN de VBK	67	67	0	100 %
Sangre recogida en EDTA y positiva para ADN de VBK	52	52	0	100 %
Sangre recogida en EDTA y enriquecida con VBK	28	28	0	

NOTA!

Los datos y resultados completos de las pruebas realizadas para evaluar las características de rendimiento del producto con las matrices y los instrumentos indicados se incluyen en la documentación técnica del producto **BKV ELITe MGB® Kit**, FTP FTP175PLD.

13 Muestras y controles para el ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument

13.1 Muestras

Las muestras y los métodos de extracción de ácidos nucleicos siguientes se han validado para el uso con el producto **BKV ELITe MGB Kit** utilizando el ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument.

Tabla 30

Tipo de muestra	Kit/Método	Protocolo	Volumen inicial (µL)	Volumen de elución (µL)	Volumen mínimo de la probeta primaria (µL)	Instrucciones especiales
Plasma	ELITe GALAXY	xNA Extraction (universal)	300	200	400-650	Añadir 10 µL/ muestra de CPE a la solución de IC + transportadora

13.2 Sustancias interferentes

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

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

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

No utilizar muestras recogidas en heparina, ya que se sabe que es un inhibidor de la retrotranscriptasa y de la PCR.

13.3 Controles de amplificación

Cada sesión de amplificación debe validarse con una reacción del Negative Control y una del Positive Control.

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

Para el Positive Control, utilizar el producto **BKV - ELITePositive Control** o el producto **BKV - ELITe Standard**.

13.4 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.

14 Procedimiento con el ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument

14.1 Configuración de la sesión de amplificación en tiempo real

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

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

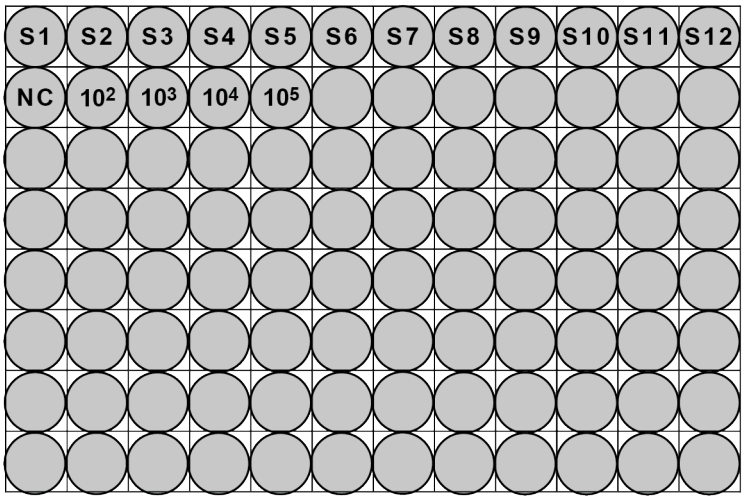
Antes de iniciar la sesión, es necesario realizar las siguientes tareas siguiendo las indicaciones de la documentación del instrumento:

- Encender el termociclador en tiempo real, encender el ordenador, ejecutar el software específico y abrir una sesión de cuantificación absoluta («absolute quantification»).
- Configurar (administrador del detector) el «detector» para la sonda de VBK con el «reporter» = «FAM» y el «quencher» = «none» (no fluorescente) y asignarle el nombre «VBK».
- - Configurar («Detector Manager») el «detector» para la sonda de Internal Control con el marcador («reporter») = «VIC» (AP525 es análogo a VIC) y el inhibidor («quencher») = «none» (no fluorescente) y asignarle el nombre «IC».
- - Para cada pocillo utilizado en la microplaca, configurar (en «Well Inspector») el «detector» (tipo de fluorescencia que se debe medir), la referencia pasiva («passive reference») o «ROX» (AP593 se utiliza en lugar de ROX, normalización de la fluorescencia medida) y el tipo de reacción (muestra, Negative Control de amplificación, Positive Control de amplificación o calibrador en una cantidad conocida). Añadir esta información a la **hoja de trabajo** que se adjunta al final de estas instrucciones de uso o imprimir la configuración de la microplaca. La **hoja de trabajo** debe seguirse estrictamente durante la transferencia de la mezcla de reacción y de las muestras a los pocillos.

NOTA!

Para determinar el título del ADN en la muestra inicial, configurar una serie de reacciones con los calibradores **Q-PCR Standard** (10^5 copias, 10^4 copias, 10^3 copias, 10^2 copias) a fin de obtener la **curva de calibración**.

A continuación, se incluye un ejemplo de cómo configurar y preparar el análisis cuantitativo de 12 muestras.



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

10 ²: 10^2 copias de calibrador;**10³**: 10^3 copias de calibrador;**10⁴**: 10^4 copias de calibrador;**10⁵**: copias de calibrador 10^5.

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

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

NOTA!

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

- - Modificar el tiempo tal como se indica en la tabla**«Ciclo térmico»**.
- Configurar el número de ciclos en**45**.
- - Configurar el volumen para la emulación del software de la transferencia térmica a la reacción («Sample volume») en**30 µL**.

Tabla 31 Ciclo térmico 7300

Fase	Temperaturas	Tiempo
Descontaminación	50 °C	2 min
Desnaturalización inicial	94 °C	2 min
Amplificación y detección (45 ciclos)	94 °C	10 s
	60 °C (adquisición de fluorescencia)	30 s
	72 °C	20 s
Disociación (opcional)	95 °C	15 s
	40 °C	30 s
	80 °C	15 s

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

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

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

NOTA!

Para determinar el título del ADN en la muestra inicial, configurar una serie de reacciones con los calibradores Q-PCR Standard (10^5copias, 10^4copias, 10^3copias, 10^2copias) a fin de obtener la**curva de calibración**.

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

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

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

NOTA!

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

- - Modificar el tiempo tal como se indica en la tabla**«Ciclo térmico»**.
- Configurar el número de ciclos en**45**.
- - Configurar el volumen para la emulación del software de la transferencia térmica a la reacción («Sample volume») en**30 µL**.

- - Opcional: añadir la fase de disociación («Add Dissociation Stage») y configurar la temperatura de**40 °C**a**80 °C**.

.

Tabla 32 Ciclo térmico 7500

Fase	Temperaturas	Tiempo
Descontaminación	50 °C	2 min
Desnaturalización inicial	94 °C	2 min
Amplificación y detección (45 ciclos)	94 °C	10 s
	60 °C (adquisición de fluorescencia)	30 s
	72 °C	20 s
Disociación (opcional)	95 °C	15 s
	40 °C	1 min
	80 °C	15 s
	60 °C	15 s

14.2 Configuración de la sesión de PCR en tiempo real

(realizado con el instrumento **ELITe GALAXY**)

Para configurar la sesión de PCR, proceder del modo siguiente:

- Descongelar las probetas de **Q-PCR Mix** necesarias para la sesión (cada una de ellas es suficiente para **25 reacciones**).
- Descongelar las probetas de **Positive Control** (análisis cualitativo: detección del ADN extraído) o de **Q - PCR Standard** (análisis cuantitativo: cuantificación del ADN extraído).
- Mezclar suavemente los reactivos y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos.
- Preparar el **Negative Control** (no incluido) según las instrucciones de uso del instrumento.
- Preparar una **microplaca Q-PCR**, manipulándola con cuidado con guantes sin talco y teniendo cuidado de no dañar los pocillos.

NOTA!

Para preparar la PCR en el **ELITe GALAXY**, cargar la microplaca de elución que contiene las muestras de DN extraídas, los reactivos y la microplaca **Q-PCR Microplate**, tal como se indica en las instrucciones de uso del instrumento y seguir los pasos indicados en la interfaz.

El instrumento realiza automáticamente la preparación de la PCR distribuyendo en cada pocillo de la microplaca **Q-PCR Microplate**:

- **20 µL** de **Q-PCR Mix**
- **20 µL** de **ADN extraído/Q-PCR Standard/controles**

NOTA!

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

Después de realizar la preparación de la PCR con el instrumento:

- Sellar la microplaca **Q-PCRMicroplate** con un sello óptico.

- Verter el contenido de la microplaca **Q-PCR Microplate** en el **7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument** e iniciar la PCR. Guardar el archivo de la sesión con un nombre único y reconocible (p. ej., «año-mes-día-TARGET-EGSpA»).

NOTA!

Al finalizar la PCR, la microplaca **Q-PCR Microplate** debe desecharse conforme a los reglamentos estatales y medioambientales vigentes. Con el fin de evitar un derrame de los productos de PCR, el **sello óptico no debe retirarse de la microplaca Q-PCR Microplate**.

14.3 Configuración general para analizar los resultados

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

- Ajustar manualmente el rango de cálculo para el **punto de referencia** (nivel de fondo de fluorescencia) desde el ciclo 6 hasta el ciclo 15: «Results (Resultados) > Amplification plot (Gráfico de amplificación) > delta Rn vs Cycle» (Diferencias Rn vs ciclo).

NOTA!

La fluorescencia FAM de la sonda de VBK en una muestra con una alta concentración de ADN de VBK puede empezar a aumentar antes del ciclo 15. En este caso, reducir el rango de cálculo del**punto de referencia**al ciclo en el que la fluorescencia FAM de la muestra empieza a aumentar: «Results» (Resultados) > «Component» (Componente).

- Configurar manualmente los umbrales para los detectores.

Configurar el**umbral**«BKV» para el detector FAM a**0,2**.

Configurar el**umbral**«IC» para el detector VIC a**0,1**.

El ciclo de PCR en el que el nivel de fluorescencia de una muestra alcanza el valor de**umbral**determina el**ciclo umbral (Ct)**de dicha muestra.

El software del instrumento analiza automáticamente los niveles de fluorescencia de los controles, de los calibradores y de las reacciones de la muestra y, después, calcula los valores de Ct.

14.4 Análisis cualitativo de los resultados

El valor del **Ct** de VBK del **Positive Control** se utiliza para validar la PCR. El procesamiento de la PCR es válido cuando los resultados son como los que describen en la tabla siguiente.

Tabla 33

Reacción del Positive Control detector FAM «BKV»	Resultado del ensayo	Amplificación/Detección
Ct ≤25	POSITIVO	CORRECTA

Si el resultado del **Positive Control** es **Ct > 25** o**Ct Undetermined**para el detector FAM «BKV», la sesión no es válida y debe repetirse a partir del paso de PCR. Esto puede indicar que existe contaminación, lo que puede dar lugar a resultados incorrectos o a falsos positivos.

NOTA!

Cuando este producto se utiliza para la cuantificación de ADN de VBK, es necesario configurar las reacciones del calibrador**Q-PCR Standard**en lugar de la reacción del**Positive Control**. En este caso, es necesario validar la amplificación y la detección conforme a la reacción de amplificación del calibrador**Q - PCR Standard 10^5**(**Ct ≤ 25**).

El valor de Ct de VBK del**Negative Control**se utiliza para validar la PCR. El procesamiento de la PCR es válido cuando los resultados son como los que describen en la tabla siguiente.

Tabla 34

Reacción del Negative Control detector FAM «BKV»	Resultado del ensayo	Amplificación/Detección
Ct Undetermined	**NEGATIVO**	**CORRECTA**

Si el resultado de la reacción de amplificación del**Negative Control**es diferente de**Ct Undetermined**para el detector FAM «BKV», la sesión no es válida y debe repetirse a partir del paso de PCR. Esto puede indicar que se han producido problemas durante el paso de amplificación (contaminación), lo que puede dar lugar a resultados incorrectos y falsos positivos.

El valor de**Ct**de VBK en cada muestra se utiliza para detectar el ADN diana, mientras que el valor de**Ct**del Internal Control se utiliza para validar la extracción, la PCR y la detección.

NOTA!

utilizar el gráfico de amplificación («Results > Amplification plot > delta Rn vs Cycle») para verificar que el valor de**Ct**de cada muestra se haya determinado mediante un aumento rápido y uniforme de la fluorescencia y no mediante picos, o bien mediante un aumento en la señal de fondo (fondo irregular o alto).

Los posibles resultados de la muestra, que aparecen e «Results» (Resultados) > «Report» (Informe), se describen en la tabla siguiente:

Tabla 35

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

Un resultado de la muestra de**CtUndetermined**para VBK y de**Ct >35**o**CtUndetermined**para el Internal Control no es válido e indica la existencia de un problema durante la extracción de ácidos nucleicos o durante la PCR (p. ej., degradación del ADN de la muestra, reducción del título de ADN durante la extracción, presencia de inhibidores en el ADN, amplificación incorrecta o ausencia de amplificación), lo que puede dar lugar a resultados incorrectos. La muestra no es apta para el análisis y el ensayo debe repetirse con una nueva muestra a partir del paso de extracción de ácidos nucleicos.

Un resultado de la muestra de**Ct Undetermined**para VBK y de**Ct ≤35**para el Internal Control es un resultado válido e indica que no se ha detectado ADN de VBK en la muestra. Puede que la muestra no contenga ADN de VBK, o que solo contenga ADN de VBK a una concentración inferior al límite de detección del producto (consultar sección15 «Características de rendimiento» page 53). Un resultado de la muestra de**Ct Determined (Ct ≤45)** para VBK y de**Ct35**, **Ct Undetermined**, o**Ct ≤35**para el IC es un resultado válido e indica que se ha detectado ADN de VBK en la muestra.

NOTA!

Si se obtiene un resultado de**Ct Determined**para VBK y Ct >35 o**Ct Undetermined**para el IC, significa que la eficacia de la PCR del IC puede haberse visto afectada por la competencia con la alta eficacia de la PCR del ADN de VBK. En este caso, la muestra es apta y el resultado positivo es válido.

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.

14.5 Análisis cuantitativo de los resultados

Después del análisis cualitativo de los resultados, es posible realizar un análisis cuantitativo de las muestras positivas.

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

Tabla 36

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

Si el**coeficientede correlación(R2)**no se encuentra dentro de los límites, la sesión no es válida y debe repetirse a partir del paso de PCR. Esto indica que es posible que se haya producido un problema durante el paso de PCR o de detección (p. ej., distribución incorrecta o degradación de la mezcla Q-PCR Mix o de los calibradores, colocación incorrecta de los calibradores, configuración incorrecta del ciclo térmico o contaminación cruzada), lo que puede dar lugar a resultados incorrectos.

Tabla 37

Resultado de la muestra para eldetector FAM «BKV»	Copias de VBK por reacción
Cantidad > 1×10^6	MÁS DE 1×10^6
$1 \times 10^1 \leq$ cantidad $\leq 1 \times 10^6$	= cantidad
Cantidad < 1×10^1	MENOS DE 10

Los resultados (**cantidad**) de cada muestra, en «Results» (Resultados) > «Report» (Informe), se utilizan para calcular las copias de VBK presentes en la muestra utilizada en la extracción (**Nc**) según la siguiente fórmula:

Tabla 38

$$Nc = \frac{Ve \times cantidad}{(Vc \times Va \times Ep)}$$

donde:

Vees el volumen total**en µL**de la muestra de ADN extraída (volumen de elución).

Cantidades el valor cde**copias/reacción**de la muestra calculado por el software del instrumento (resultado de la PCR).

Vces el volumen de la muestra utilizada para la extracción de ácidos nucleicos (volumen inicial) expresado en la unidad de medida requerida

Vaes el volumen en**µL**de la muestra de ADN extraída (eluido) que se ha utilizado en el proceso de PCR.

Epes la eficiencia del procedimiento (extracción y PCR),**expresada como un número decimal**.

Para convertir la cantidad de muestra de copias/mL a UI/mL, multiplicar el valor de copias/mL por el**factor de conversión (Fc)**. El Fc se calculó utilizando un material de referencia certificado y calibrado («Primer estándar internacional de la OMS para técnicas de amplificación de ácidos nucleicos de virus BK (VBK)», NIBSC); consultar la sección15 «Características de rendimiento» page 53.

Para mayor comodidad, a continuación se incluyen fórmulas simplificadas en las que se han calculado Ve/(Vc × Va × Ep) y su conversión a UI/mL.

Tabla 39

Matriz	Método de extracción de ácidos nucleicos	Ve/ (Vc × Va × Ep)	Fórmula para cuantificar Nc (copias/mL)	Fc (UI/copia)	Fórmula para cuantificar Nc (UI/mL)
Plasma	ELITe GALAXY	35	35 × cantidad	4,1	143,5 × cantidad

15 Características de rendimiento con el ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument

15.1 Sensibilidad analítica: Límite de detección (LoD)

El límite de detección (LoD) del ensayo cuando se utilizaron muestras de plasma recogido en EDTA se verificó en el ELITe GALAXY y en el ABI 7500 Instrument, analizando un panel de matrices negativas para VBK enriquecidas con material de referencia de VBK (Primer estándar internacional de la OMS para ADN de virus BK (VBK), código NIBSC 14/212, Reino Unido). 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.

El resultado se muestra en la tabla siguiente.

Tabla 40 Límite de detección para muestras de plasma y el ELITe GALAXY

% de positividad	Límite de detección	Intervalo de confianza del 95 %	
		Límite inferior	Límite superior
95 %	**189 copias/mL**	119 copias/mL	462 copias/mL
95 %	**779 UI/mL**	490 UI/mL	1903 UI/mL

El LoD expresado en copias/mL para cada matriz se calculó aplicando el factor de conversión específico indicado en la sección 15.7 Conversión a unidades internacionales page 56

15.2 Rango de medición lineal

El rango de medición lineal del ensayo se determinó en el **ABI 7500 Fast Dx** utilizando un panel de diluciones de un ADN plasmídico que contenía el producto de amplificación.

El rango de medición lineal, expresado en copias/mL, se calculó aplicando el factor de conversión específico indicado en la sección 15.7 Conversión a unidades internacionales page 56.

Los resultados finales se resumen en la tabla siguiente.

Tabla 41 Rango de medición lineal para muestras de plasma recogido en EDTA y el ABI 7500

Unidad de medida	Límite inferior	Límite superior
UI/mL	41	41000000
copias/reacción	10	1.000.000

15.3 Marcadores potencialmente interferentes: reactividad cruzada

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

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

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 42

Microorganismo	Pos/Dup	Resultado
VHS1	0/3	Sin reactividad cruzada
VHS2	0/3	Sin reactividad cruzada
CMV	0/3	Sin reactividad cruzada
EV	0/3	Sin reactividad cruzada
VVZ	0/3	Sin reactividad cruzada
ADV	0/3	Sin reactividad cruzada
VEB	0/3	Sin reactividad cruzada
VJC	0/3	Sin reactividad cruzada
VHH6	0/3	Sin reactividad cruzada

Ninguno de los marcadores potencialmente interferentes analizados mostró reactividad cruzada para la amplificación de la diana de VBK cuando se utilizó el producto BKV ELITe MGB Kit

15.4 Marcadores potencialmente interferentes: inhibición

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

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 43

Microorganismo	Pos/Dup	Resultado
VHS1	3/3	Sin interferencia
VHS2	3/3	Sin interferencia
CMV	3/3	Sin interferencia
EV	3/3	Sin interferencia
VVZ	3/3	Sin interferencia
ADV	3/3	Sin interferencia
VEB	3/3	Sin interferencia
VJC	3/3	Sin interferencia
VHH6	3/3	Sin interferencia

Ninguno de los microorganismos potencialmente interferentes analizados mostró interferencias en la detección y la cuantificación de la diana de VBK cuando se utilizó el producto BKV ELITe MGB Kit.

15.5 Repetibilidad

La repetibilidad dentro de las series, entre series y entre días del ensayo se evaluó en el ABI 7500 analizando un panel de muestras enriquecidas con ADN plasmídico que contenía el producto de amplificación de VBK y una muestra negativa.

En las tablas siguientes se incluye un ejemplo de la repetibilidad dentro de las series (en una sesión).

Tabla 44 Repetibilidad dentro de las series con el ABI 7500

Muestra copias/reacción	VBK			
	Pos/Dup	Ct medio	DE	%CV
50.000 dianas + 150,000 IC	12/12	23,89	0,15	0,64
5.000 dianas + 150,000 IC	12/12	27,07	0,10	0,37
500 dianas + 150,000 IC	12/12	30,41	0,17	0,56
10 dianas + 150,000 IC	12/12	37,97	0,92	2,43
150.000 IC	0/12	-	-	-

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

Tabla 45 Repetibilidad entre series con el ABI 7500

Muestra copias/reacción	VBK			
	Pos/Dup	Ct medio	DE	%CV
50.000 dianas + 150,000 IC	24/24	23,91	0,13	0,53
5.000 dianas + 150,000 IC	24/24	27,05	0,11	0,41
500 dianas + 150,000 IC	24/24	30,40	0,20	0,66
10 dianas + 150,000 IC	24/24	36,62	0,70	1,91
150.000 IC	0/24	-	-	-

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

15.6 Reproducibilidad

La reproducibilidad del ensayo se evaluó en el ABI 7500 analizando los resultados de 10 pruebas de control de calidad del producto **BKV ELITe MGB Kit**.

En las tablas siguientes se incluye un resultados de los resultados del análisis del valor de Ct de la diana de VBK y del Internal Control cuando se amplificaron con el producto **BKV ELITe MGB Kit**.

Tabla 46 Reproducibilidad en el ABI 7500

Muestra copias/reacción	N	Ct medio	DE	%CV	Resultado
Diana 100.000	30	22,70	0,34	1,51	Aprobado
50.000 dianas + 150,000 IC	30	23,54	0,33	1,39	Aprobado
5.000 dianas + 150,000 IC	30	26,81	0,40	1,49	Aprobado
500 dianas + 150,000 IC	30	30,18	0,47	1,54	Aprobado
10 dianas + 150,000 IC	90	36,16	0,67	1,86	Aprobado
150.000 IC	30	22,76	0,25	1,09	Aprobado
6.000 IC	90	28,11	0,32	1,15	Aprobado

15.7 Conversión a unidades internacionales

El factor de conversión a unidades internacionales del producto **BKV ELITe MGB Kit** y del componente BKV ELITe Standard del producto cuando se utilizan en el ELITe GALAXY y el ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument se calculó analizando un panel de diluciones en serie (pasos de 0,5 log) del «Primer estándar internacional de la OMS para ADN de virus BK (VBK)» (código NIBSC 14/212, Reino Unido) en plasma recogido en EDTA negativo para ADN de VBK.

El factor de conversión se calculó como el antilogaritmo de la media de diferencias (10^{Md}) entre el valor logarítmico asignado en UI/mL y el valor de copias log/mL medido, y el resultado obtenido para las muestras de plasma recogido en EDTA fue un valor de 4,12 UI/copia.

15.8 Especificidad diagnóstica: confirmación de las muestras negativas

La especificidad diagnóstica del ensayo, expresada como confirmación de las muestras clínicas negativas, se evaluó analizando en el ELITe GALAXY y el ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument muestras supuestamente negativas para ADN de VBK.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente:

Tabla 47 Especificidad diagnóstica

Muestra	N	positivas	negativas	% de especificidad diagnóstica
Plasma recogido en EDTA y negativo para ADN de VBK	52	0	52	100 %

15.9 Sensibilidad diagnóstica: confirmación de las muestras positivas

La sensibilidad diagnóstica del ensayo, expresada como confirmación de las muestras clínicas positivas, se evaluó analizando en el ELITe GALAXY y el ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument muestras certificadas como positivas para ADN de VBK y muestras enriquecidas.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente:

Tabla 48 Sensibilidad diagnóstica

Muestras	N	positivas	negativas	% de sensibilidad diagnóstica
Plasma recogido en EDTA y positivo para ADN de VBK	9	9	0	100 %
Plasma recogido en EDTA y enriquecido con VBK	42	42	0	
Total	51	51	0	

NOTA!

Los datos y resultados completos de los análisis realizados para la evaluación de las características de rendimiento del producto con las matrices y los instrumentos se incluyen en la documentación técnica del producto **BKV ELITe MGB® Kit**, ref. FTP 175PLD.

16 BIBLIOGRAFÍA

S. W. Aberle et al. (2002) *J Clin Virology* 25: S79 - S85

C. N. Kotton *et al.* (2025) Transplantation 109: 1066-1110

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

17 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Utilizar este producto únicamente con las siguientes muestras clínicas:

- Plasma recogido en EDTA (solo ELITe InGenius, ELITe BeGenius, MyGenius PRO y ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument).
- Orina (solo ELITe InGenius, ELITe BeGenius y MyGenius PRO).
- Sangre recogida en EDTA (solo ELITe InGenius y ELITe BeGenius).

En la actualidad, no se dispone de datos del rendimiento de este producto con otras muestras clínicas, como suspensiones de leucocitos o suspensiones de granulocitos.

El plasma recogido en EDTA se obtendrá de sangre almacenada a temperatura ambiente o a una temperatura comprendida entre +2 °C y +8 ° durante un período no superior a 24 horas.

No utilizar con este producto ADN extraído de muestras que contengan heparina, pues esta sustancia inhibe la reacción de amplificación de ácidos nucleicos y da lugar a resultados no válidos.

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

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

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

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

Debido a su alta sensibilidad analítica, el método de PCR en tiempo real puede desarrollar contaminación con las muestras positivas, los controles positivos y los propios productos de la PCR. Una contaminación cruzada de este tipo puede dar lugar a resultados falsos positivos. El formato del producto está diseñado para reducir al mínimo este riesgo, pero en realidad esto solo puede evitarse del todo si se siguen unas prácticas correctas de laboratorio y se observa lo dispuesto en las instrucciones de uso correspondientes.

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

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

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

Con el fin de evitar resultados incorrectos, este producto debe ser manipulado por profesionales debidamente formados y cualificados en técnicas de biología molecular, como la extracción, la PCR y la detección de ácidos nucleicos.

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

Un resultado negativo obtenido con este producto indica que no se ha detectado ADN de la diana en el ADN extraído de la muestra, si bien no puede descartarse que el ADN de la diana presente un título inferior al límite de detección del producto (consultar la sección «12 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ELITe InGenius, del ELITe BeGenius y del MyGenius PRO page 34»). En este caso, el resultado puede ser un falso negativo.

En ocasiones, los resultados obtenidos con este producto pueden ser no válidos debido a un error del Internal Control. En este caso, la muestra debe volver a analizarse, comenzando por la extracción, lo que puede implicar retrasos en la obtención de los resultados finales.

Asimismo, la existencia de posibles polimorfismos, inserciones o eliminaciones en la región del ADN a la que se dirigen los cebadores y las sondas del producto puede afectar negativamente a la detección y la cuantificación del ADN diana.

Como con cualquier otro producto sanitario para diagnóstico, los resultados obtenidos con este producto deben interpretarse en combinación con los datos clínicos y los resultados de otras pruebas analíticas del paciente.

Como en cualquier otro producto sanitario para diagnóstico, este producto presenta un riesgo residual de obtener resultados no válidos o erróneos. Este riesgo residual no se puede eliminar ni reducir aún más. En determinadas situaciones, el riesgo residual puede hacer que se tomen decisiones incorrectas, con consecuencias potencialmente graves para el paciente. No obstante, este riesgo residual asociado al uso previsto del producto se ha ponderado con los beneficios potenciales para el paciente y se ha evaluado como aceptable.

18 PROBLEMAS Y SOLUCIONES

ELITe InGenius y ELITe BeGenius

Tabla 49

Reacción no válida del calibrador Q-PCR-Standard, de la curva de calibración o del Positive Control	
Posibles causas	**Soluciones**
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la posición de la mezcla Q-PCR Mix, así como la de los calibradores Q-PCR-Standard y la del Positive Control. Comprobar el volumen de la mezcla Q-PCR Mix, así como el de los calibradores Q-PCR-Standard y el del Positive Control.
Degradación de la PCR Mix (mezcla de PCR).	No utilizar la Q-PCR Mix durante más de 5 sesiones independientes: 3 horas en el bloque refrigerado de la «Inventory Area» (área del inventario) o en la «Cooler Unit». No utilizar la Q-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». No dejar la Q-PCR Mix a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. Utilizar una nueva probeta de la mezcla Q-PCR Mix.
Degradación de los calibradores «Q-PCR-Standard» o del Positive Control.	No utilizar el Q-PCR Standard para más de 4 sesiones independientes: 2 horas cada una en el área de extracción o en la «Cooler Unit». No utilizar el Positive Control para más de 4 sesiones independientes: 3 horas cada una en el área de extracción o en la «Cooler Unit». Utilizar nuevas probetas de los calibradores Q-PCR-Standard o del Positive Control.
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Tabla 50

Reacción no válida del Negative Control	
Posibles causas	**Soluciones**
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la posición de la Q-PCR Mix y del Negative Control. Comprobar el volumen de la Q-PCR Mix y el del Negative Control.
Contaminación del Negative Control.	No utilizar el Negative Control para más de 1 sesión. Utilizar una nueva alícuota de agua para biología molecular.
Contaminación de la PCR Mix.	Utilizar una nueva probeta de la mezcla Q-PCR Mix.
Contaminación del área de extracción, de las gradillas, del «Inventory Block» (administrador de inventarios) o de la «Cooler Unit».	Limpiar las superficies con detergentes acuosos, lavar las batas y sustituir los probetas y las puntas que se hayan utilizado.
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Tabla 51

Reacción no válida de la muestra	
Posibles causas	**Soluciones**
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la posición de la Q-PCR Mix, la del Internal Control y la de la muestra. Comprobar el volumen de la Q-PCR Mix, el del Internal Control y el de la muestra.
Degradación de la PCR Mix (mezcla de PCR).	No utilizar la Q-PCR Mix durante más de 5 sesiones independientes: 3 horas en el bloque refrigerado de la «Inventory Area» (área del inventario) o en la «Cooler Unit». No utilizar la Q-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». No dejar la Q-PCR Mix a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. Utilizar una nueva probeta de la mezcla Q-PCR Mix.
Degradación de la plantilla del Internal Control.	Utilizar una probeta nueva de Internal Control.
Inhibición debida a la presencia de sustancias interferentes en la muestra.	Repetir la amplificación de la muestra eluida tal cual o con una dilución de 1:2 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 1:2 en agua para biología molecular en una sesión realizada en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR). En el caso de las muestras LBA/AB, realice o repita el licuado de la muestra primaria tal y como se indica en 8 Muestras y controles para el ELITe InGenius, el ELITe BeGenius y el MyGenius PRO page 10
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Tabla 52

Curva de disociación anómala	
Posibles causas	**Soluciones**
Ausencia de un valor máximo definido. Pico definido, pero Tm diferente de la de otras muestras y de la presentada por los calibradores y el Positive Control.	Verificar que el Ct de la diana sea inferior a 30. Una alta cantidad de producto de amplificación al final de la reacción puede interferir con el análisis de la curva de fusión. Repetir la amplificación de la muestra para confirmar la presencia de la diana con una posible mutación. La diana de la muestra debe secuenciarse para confirmar la mutación.

Tabla 53

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

Tabla 54

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 mezcla Q-PCR Mix o de Internal Control.

MyGenius PRO

Tabla 55

Reacción no válida del calibrador Q-PCR-Standard, de la curva de calibración o del Positive Control	
Posibles causas	**Soluciones**
Error de configuración del instrumento.	Comprobar el volumen de la mezcla Q-PCR Mix, así como el de los calibradores Q-PCR-Standard y el del Positive Control. Es importante que las probetas utilizadas en el MyGenius PRO no se hayan utilizado previamente en otras plataformas ni tampoco se hayan empleado para configurar sesiones en plataformas abiertas, pues el instrumento lee la etiqueta y asigna automáticamente el número máximo de duplicados que se pueden procesar si esa probeta no se ha cargado nunca en el MyGenius PRO. Por lo tanto, si se utiliza una probeta que no sea nueva, es posible que el volumen no sea suficiente.
Degradación de la PCR Mix (mezcla de PCR).	No utilizar la Q-PCR Mix durante más de 7 horas en el carrusel ni durante más de 3 horas en el carrusel cinco veces. No dejar la Q-PCR Mix a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. Utilizar una nueva probeta de la mezcla Q-PCR Mix.
Degradación de los calibradores «Q-PCR-Standard» o del Positive Control.	No utilizar el calibrador Q-PCR-Standard para más de 4 sesiones independientes (2 horas cada una en el carrusel). No utilizar el Positive Control para más de 4 sesiones independientes (3 horas cada una en el carrusel). Utilizar nuevas probetas de los calibradores Q-PCR-Standard o del Positive Control.
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Tabla 56

Reacción no válida del Negative Control	
Posibles causas	**Soluciones**
Error de configuración del instrumento.	Comprobar el volumen de la Q-PCR Mix y el del Negative Control. Es importante que las probetas utilizadas en el MyGenius PRO no se hayan utilizado previamente en otras plataformas ni tampoco se hayan empleado para configurar sesiones en plataformas abiertas, pues el instrumento lee la etiqueta y asigna automáticamente el número máximo de duplicados que se pueden procesar si esa probeta no se ha cargado nunca en el MyGenius PRO. Por lo tanto, si se utiliza una probeta que no sea nueva, es posible que el volumen no sea suficiente.
Contaminación del Negative Control.	No utilizar el Negative Control para más de una sesión ni durante más de 8 horas. Utilizar una probeta nueva de Negative Control.
Contaminación de la PCR Mix.	Utilizar una nueva probeta de la mezcla Q-PCR Mix.
Contaminación del área de extracción, de las gradillas, del «Inventory Block» (administrador de inventarios) o de la «Cooler Unit».	Limpiar las superficies con detergentes acuosos, lavar las batas y sustituir los probetas y las puntas que se hayan utilizado.
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Tabla 57

Reacción no válida de la muestra	
Posibles causas	**Soluciones**
Error de configuración del instrumento.	Comprobar el volumen de la Q-PCR Mix, el del Internal Control y el de las muestras. Es importante que las probetas utilizadas en el MyGenius PRO no se hayan utilizado previamente en otras plataformas ni tampoco se hayan empleado para configurar sesiones en plataformas abiertas, pues el instrumento lee la etiqueta y asigna automáticamente el número máximo de duplicados que se pueden procesar si esa probeta no se ha cargado nunca en el MyGenius PRO. Por lo tanto, si se utiliza una probeta que no sea nueva, es posible que el volumen no sea suficiente.
Degradación de la PCR Mix (mezcla de PCR).	No utilizar la Q-PCR Mix durante más de 7 horas en el carrusel ni durante más de 3 horas en el carrusel cinco veces. No dejar la Q-PCR Mix a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. Utilizar una nueva probeta de la mezcla Q-PCR Mix.
Degradación de la plantilla del Internal Control.	No utilizar el Internal Control durante más de 8 horas. Utilizar una probeta nueva de Internal Control.
Inhibición debida a la presencia de sustancias interferentes en la muestra.	Repetir la extracción y la PCR de la muestra. Repetir la extracción y la amplificación de la muestra con una dilución de 1:2 en agua para biología molecular.
Concentración demasiado alta de la diana en la muestra o muestra con una señal de fluorescencia anómala.	Si se necesita un valor de Ct, repetir la extracción y la amplificación de la muestra con una dilución de 1:10 en agua para biología molecular.
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Tabla 58

Curva de disociación anómala	
Posibles causas	**Soluciones**
Ausencia de un valor máximo definido. Pico definido, pero Tm diferente de la de otras muestras y de la presentada por los calibradores y el Positive Control.	Verificar que el Ct de la diana sea inferior a 30. Una alta cantidad de producto de amplificación al final de la reacción puede interferir con el análisis de la curva de fusión. Repetir la extracción y la amplificación de la muestra para confirmar la presencia de la diana con una posible mutación. La diana de la muestra debe secuenciarse para confirmar la mutación.

Tabla 59

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 aparece una amplificación reseñable en el gráfico de PCR, el resultado se considera positivo. Si no aparece ninguna amplificación en el gráfico de PCR, el resultado se considera negativo o no válido. Si se necesita un valor de Ct, repetir la extracción y la amplificación de la muestra con una dilución de 1:10 en agua para biología molecular.

Tabla 60

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 como último procedimiento del día.
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 mezcla Q-PCR Mix o de Internal Control.

Plataforma abierta

Tabla 61

Reacción no válida del calibrador Q-PCR-Standard, de la curva de calibración o del Positive Control	
Posibles causas	**Soluciones**
Distribución incorrecta en los pocillos de la microplaca.	Comprobar el volumen de la mezcla PCR Mix, así como el de los calibradores Q-PCR-Standard y el del Positive Control, que se han distribuido en la Q-PCR Microplate.
Degradación de la Q-PCR Mix (mezcla de Q-PCR).	No congelar y descongelar la PCR Mix más de 5 veces. No dejar la Q-PCR Mix a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. Utilizar una nueva probeta de la mezcla Q-PCR Mix.
Degradación de los calibradores «Q-PCR-Standard» o del Positive Control.	No congelar y descongelar el calibrador Q-PCR Standard más de 4 veces. Utilizar nuevas probetas de los calibradores Q-PCR-Standard o del Positive Control.
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la posición de la mezcla Q-PCR Mix, así como la de los calibradores Q-PCR-Standard y la del Positive Control en el instrumento. Comprobar la configuración del ciclo térmico en el instrumento.

Tabla 62

Reacción no válida del Negative Control	
Posibles causas	**Soluciones**
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la posición de la Q-PCR Mix y del Negative Control. Comprobar el volumen de la Q-PCR Mix y el del Negative Control.
Sellado incorrecto de la microplaca.	Tener cuidado al sellar la microplaca Q-PCR Microplate con el sello óptico.
Contaminación del Negative Control.	No utilizar el Negative Control para más de 1 sesión. Utilizar una nueva alícuota de agua para biología molecular.

Tabla 62 (continued)

Reacción no válida del Negative Control	
Posibles causas	**Soluciones**
Contaminación de la PCR Mix.	Utilizar una nueva probeta de la mezcla Q-PCR Mix.
Contaminación del área de preparación de los racks y de la micropipeta	Limpiar las superficies y los instrumentos con detergentes acuosos, lavar las batas de laboratorio y sustituir las probetas y las puntas utilizadas.

Tabla 63

Reacción no válida de la muestra	
Posibles causas	**Soluciones**
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la posición de la Q-PCR Mix, la del Internal Control y la de la muestra. Comprobar el volumen de la Q-PCR Mix, el del Internal Control y el de la muestra.
Degradación de la PCR Mix (mezcla de PCR).	No congelar y descongelar la PCR Mix más de cinco veces. No dejar la Q-PCR Mix a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. Utilizar una nueva probeta de la mezcla Q-PCR Mix.
Degradación de la plantilla del Internal Control.	Utilizar una probeta nueva de Internal Control.
Inhibición debida a la presencia de sustancias interferentes en la muestra.	Repetir la amplificación de la muestra eluida con una dilución de 1:2 en agua para biología molecular de la muestra. Repetir la extracción de la muestra con una dilución de 1:2 en agua para biología molecular.

Tabla 64

Fluorescencia de fondo irregular o alto en las reacciones	
Posibles causas	**Soluciones**
Distribución incorrecta de la muestra.	Comprobar los volúmenes de los reactivos y de las muestras que se han distribuido en la placa de Q-PCR.
Error de configuración del punto de referencia.	Si el rango de cálculo para la línea de referencia establecida desde el ciclo 6 hasta el ciclo 15 no es adecuado para normalizar el fondo, definir el rango de cálculo dentro de ciclos en los que la fluorescencia de fondo ya se haya estabilizado y la fluorescencia objetivo no haya empezado a aumentar; consulte «Results» (Resultados) > «Component» (Componente).

Tabla 65

Curva de disociación anómala	
Posibles causas	**Soluciones**
Ausencia de un valor máximo definido. Pico definido, pero diferente de la de otras muestras y del presentada por los calibradores y el Positive Control.	Verificar que el Ct de la diana sea inferior a 30. Una alta cantidad de producto de amplificación al final de la reacción puede interferir con el análisis de la curva de fusión. Repetir la amplificación de la muestra para confirmar la presencia de la diana con una posible mutación. La diana de la muestra debe secuenciarse para confirmar la mutación.

19 SÍMBOLOS

REF	Número de catálogo.
	Límite superior de temperatura.
LOT	Código de lote.
	Fecha de caducidad (último día del mes).
IVD	Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*.
CE 0123	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.
UDI	Identificador único del producto
	Contenido suficiente para <<N>> análisis.
	Consulte las instrucciones de uso
CONT	Contenido.
	Manténgase fuera de la luz del sol
	Fabricante.

20 NOTA PARA LOS USUARIOS

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

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

21 AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA

Este producto contiene reactivos fabricados por Promega Corporation y suministrados ELITechGroup S. p. A. para uso exclusivo como componentes de los kits para diagnóstico de la marca ELITech. Los reactivos solo pueden utilizarse dentro de este kit. No se conceden derechos ni licencias adicionales, ni expresas ni implícitas, para el uso, la modificación o la reventa de los reactivos fuera de este kit.

Los reactivos de detección ELITe MGB® y las plataformas ELITech (ELITe InGenius®, ELITe BeGenius®, MyGenius PRO®) están protegidos por patentes ya concedidas o por solicitudes de patente.

Para utilizar los reactivos o los datos asociados fuera del alcance de este kit, es imprescindible contar con la autorización previa y por escrito de ELITechGroup S.p.A.

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.

Las tecnologías del ELITe InGenius®, del ELITe BeGenius® y del MyGenius PRO® están cubiertas por patentes y solicitudes de patentes.

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

MGB®, Eclipse Dark Quencher®, AquaPhluor®, ELITe MGB®, el logotipo de ELITe MGB®, ELITe InGenius®, ELITe BeGenius® y el MyGenius PRO® (nombre registrado ELIVERSE®) son marcas registradas de ELITechGroup en la Unión Europea.
QIAsymphony® es una marca registrada de QIAGEN GmbH.
Ficoll® es una marca registrada de GE Healthcare Bio-Sciences AB.

Appendix A BKV 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.elitechgroup.com.

Uso previsto

El producto **BKV ELITe MGB® Kit** es un producto sanitario para diagnóstico *in vitro* concebido para uso por parte de profesionales sanitarios como ensayo cuantitativo de ácidos nucleicos mediante PCR en tiempo real para la detección y la cuantificación de **ADN de poliomavirus humano (VBK)** 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 plasma recogido en EDTA, de orina recogida sin conservantes y de sangre recogida en EDTA.

El ensayo también se ha validado con el instrumento **MyGenius PRO®** (nombre registrado ELIVERSE®), que es un sistema automatizado e integrado para la extracción, la PCR en tiempo real y la interpretación de resultados utilizando muestras humanas de plasma recogido en EDTA y de orina recogida sin conservantes.

El ensayo también se ha validado con el **ELITe GALAXY**, que es un sistema automático de extracción y preparación de PCR, y con el **7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument**, que es una plataforma de PCR en tiempo real, utilizando muestras de plasma recogido en EDTA.

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

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

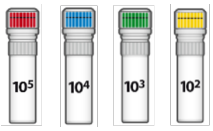
Secuencia amplificada

Secuencia	Gen	Fluoróforo	Canal
Diana	Gen del antígeno T grande	FAM	VBK
Internal Control	Beta globina	AP525	IC

Matriz validada

- **Plasma** recogido en EDTA
- **Orina** recogida sin conservantes
- **Sangre** recogida en EDTA

Contenido del kit y productos relacionados

BKV ELITe MGB Kit	BKV ELITe Standard	BKV - ELITe Positive Control
 X 4	 X 2	 X 2
PCR Mix lista para el uso 4 probetas de 540 µL 96 reacciones por kit 5 ciclos de congelación/ descongelación, utilizados de forma independiente	4 niveles listos para el uso: 10^5, 10^4, 10^3, 10^2 2 conjuntos de 4 probetas de 200 µL 8 reacciones por kit 4 ciclos de congelación/descongelación, utilizados de forma independiente	PC listo para el uso 2 probetas de 160 µL 8 reacciones por kit 4 ciclos de congelación/ descongelación, utilizados de forma independiente

Período de estabilidad máximo: **24 meses**

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

Otros productos necesarios no proporcionados con el kit

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

Protocolos ELITe InGenius y ELITe BeGenius

› Volumen de la muestra › Volumen del CPE › Volumen total de elución:	200 µL (InGenius y BeGenius) 10 µL 100 µL	› Volumen inicial de PCR del eluido › Volumen de la Q-PCR Mix › Frecuencia de los controles › Frecuencia de la calibración	20 µL 20 µL 15 días 60 días

Rendimiento del ELITe InGenius y de ELITe BeGenius

Matriz	Límite de detección		Especificidad diagnóstica	Sensibilidad diagnóstica	Linealidad (UI/mL)		Factor de conversión (UI/copias)
	UI/mL	copias/mL			UI/mL	copias/mL	
Plasma	215 UI/mL	165 copias/ mL	96,2 %	100 %	215→ 13,0 × 10^7	165→ 10,0 × 10^7	1,3
Orina	142 UI/mL	89 copias/ mL	100 %	100 %	142→ 16,0 × 10^7	89→ 10,0 × 10^7	1,6
Sangre	538 UI/mL	117 copias/ mL	100 %	100 %	538→ 46,0 x 10^7	117→ 10,0 x 10^7	4,6

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	Requisitos de obtención	Condiciones transporte/almacenamiento			
		de +16 °C a +26 °C (temperatura ambiente)	de +2 °C a +8 °C	−20 °C ±10 °C	−70 °C ±15 °C
Plasma	EDTA	≤1 d	≤3 d	≤30 d	≤30 d
Orina	Sin conservantes	≤4 horas	≤1 d	≤30 d	≤30 d
Sangre	EDTA	≤1 d	≤3 d	≤30 d	≤30 d

d: días; EDTA: ácido edético

Procedimientos con el ELITe InGenius

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

Antes del análisis

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

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

1.Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil 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 escaneado 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). BKV ELITe_PL_200_100 o BKV ELITe_U_200_100 o BKV ELITe_WB_200_100 **Nota:** Si es necesario llevar a cabo una segunda extracción, repetir los pasos del 2 al 4.	**5.** Imprimir las etiquetas para incluir el código de barras correspondiente en los «Elution Tubes» (tubos de elución) vacíos. Cargar las probetas en la «Elution Rack» (rejilla de elución) e insertarla en la «Cooler Unit».	**6.** Cargar la PCR Mix y el Internal Control en la «Reagent Rack/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) e insertarla en la «Cooler Unit»
7. Cargar la «PCR Rack» (rejilla de PCR) con el «PCR Cassette» y la «Extraction Rack» (rejilla de extracción), con los cartuchos de extracción «ELITe InGenius SP 200» y los consumibles que se necesitan para la extracción.	**8.** Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	**9.** Consultar, aprobar y almacenar los resultados.

NOTA!

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

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

1.Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil.	**2.**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): BKV ELITe_PC and BKV ELITe_NC, o BKV ELITe_STD, o BKV ELITe_PL_200_100, BKV ELITe_U_200_100 o BKV ELITe_WB_200_100	**5.** Seleccionar el método «PCR Only» (Solo PCR) y establecer la posición de la muestra «Elution Tube» (Tubo de elución).	**6.** Cargar la PCR Mix en el «Inventory Block» (administrador de inventarios).
7. Cargar: El PCR Cassette y la rejilla de la «Elution Tube» (Tubo de elución) con el ácido nucleico extraído.	**8.** Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	**9.** Consultar, aprobar y almacenar los resultados.

Procedimientos con el ELITe BeGenius

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

Antes del análisis

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

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

1.Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil y, a continuación, hacer clic en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	**2.**Insertar la «Sample Rack» (Rack de muestras) con las muestras dotadas de códigos de barras en la «Cooling Unit» (unidad de refrigeración). El escaneado 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). BKV ELITe_Be_PL_200_100 o BKV ELITe_Be_U_200_100 o BKV ELITe_WB_200_100 **Nota:** Si es necesario llevar a cabo una segunda extracción, repetir los pasos del 2 al 4.	**5.** Imprimir las etiquetas para incluir el código de barras correspondiente en los «Elution Tubes» (tubos de elución) vacíos. Cargar las probetas en la «Elution Rack» (rejilla de elución) e insertarla en la «Cooler Unit».	**6.** Cargar la PCR Mix y el Internal Control en la «Reagent Rack/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) e insertarla en la «Cooler Unit»
7. Cargar la «PCR Rack» (rejilla de PCR) con el «PCR Cassette» y la «Extraction Rack» (rejilla de extracción), con los cartuchos de extracción «ELITe InGenius SP 200» y los consumibles que se necesitan para la extracción.	**8.** Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	**9.** Consultar, aprobar y almacenar los resultados.

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

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

1.Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil.	**2.**Cargar el ácido nucleico extraído o las probetas con códigos de barras de los controles/calibradores en la «Elution Rack» (rejilla de elución) e insertar esta en la «Cooler Unit».	**3.**En el caso de los calibradores y los controles, para cada «Position» (posición), introducir el «Reagent name» (nombre del reactivo), el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (código de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones). En el caso de los eluidos, para cada «Position» (Posición), introducir el «SID» (ID de la muestra), la «Sample matrix» (matriz de la muestra), el «Extraction Kit» (kit de extracción) y el «Extracted Eluate Volume» (volumen de elución extraído).
4.Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo): BKV ELITe_PC y BKV ELITe_NC, o BKV ELITe_STD o BKV ELITe_PL_200_100 o BKV ELITe_U_200_100.	**5.**Cargar la PCR MIX en la «Reagent/ Elution Rack» (rejilla de reactivos/ elución) e introducirla en la Cooler Unit. Cargar las puntas de filtro y la «PCR Rack» (rejilla de PCR) con el «PCR Cassette».	**6.**Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.
7.Consultar, aprobar y almacenar los resultados.		

Appendix B BKV ELITe MGB Kit utilizado con el MyGenius PRO



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.elitechgroup.com.

Uso previsto

El producto **BKV ELITe MGB® Kit** es un producto sanitario para diagnóstico *in vitro* concebido para uso por parte de profesionales sanitarios como ensayo cuantitativo de ácidos nucleicos mediante PCR en tiempo real para la detección y la cuantificación de **ADN de poliomavirus humano (VBK)** 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 plasma recogido en EDTA, de orina recogida sin conservantes y de sangre recogida en EDTA.

El ensayo también se ha validado con el instrumento **MyGenius PRO®** (nombre registrado ELIVERSE®), que es un sistema automatizado e integrado para la extracción, la PCR en tiempo real y la interpretación de resultados utilizando muestras humanas de plasma recogido en EDTA y de orina recogida sin conservantes.

El ensayo también se ha validado con el **ELITe GALAXY**, que es un sistema automático de extracción y preparación de PCR, y con el **7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument**, que es una plataforma de PCR en tiempo real, utilizando muestras de plasma recogido en EDTA.

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

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

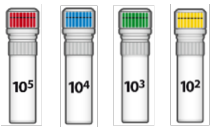
Secuencia amplificada

Secuencia	Gen	Fluoróforo	Canal
Diana	Gen del antígeno T grande	FAM	VBK
Internal Control	Beta globina	AP525	IC

Matriz validada

- **Plasma** recogido en EDTA
- **Orina** recogida sin conservantes

Contenido del kit y productos relacionados

BKV ELITe MGB Kit	BKV ELITe Standard	BKV - ELITe Positive Control
 X 4	 X 2	 X 2
PCR Mix lista para el uso 4 probetas de 540 µL 96 reacciones por kit 5 ciclos de congelación/ descongelación, utilizados de forma independiente	4 niveles listos para el uso: 10^5, 10^4, 10^3, 10^2 2 conjuntos de 4 probetas de 200 µL 8 reacciones por kit 4 ciclos de congelación/descongelación, utilizados de forma independiente	PC listo para el uso 2 probetas de 160 µL 8 reacciones por kit 4 ciclos de congelación/ descongelación, utilizados de forma independiente

Período de estabilidad máximo: **24 meses**

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

Otros productos necesarios no proporcionados con el kit

- **MyGenius PRO** (EG SpA ref: INT050)
- **MyGenius PRO Software** versión BB-04 (o posterior)
- **Extraction Cartridge** (EG SpA ref: INT052SP)
- **Negative Control** (EG SpA, ref. CTRNEG)
- **Internal Control Maxi** (EG SpA, ref. ICMAXI)
- Consumibles para el **MyGenius PRO** (consultar las instrucciones de uso del MyGenius Pro)

Protocolo del MyGenius PRO

› Volumen de la muestra › Volumen del IC › Volumen total de elución:	200 µL 10 µL 100 µL	› Volumen inicial de PCR del eluido › Volumen de la Q-PCR Mix › Frecuencia de los controles › Frecuencia de la calibración	20 µL 20 µL 15 días 60 días

Rendimiento del MyGenius PRO

Matriz	Límite de detección		Sensibilidad diagnóstica	Especificidad diagnóstica	Linealidad (UI/mL)		Factor de conversión (UI/copias)
	UI/mL	copias/mL			UI/mL	copias/mL	
Orina	142	89	100 %	100 %	142→ 16,0 × 10^7	89→ 10,0 × 10^7	1,6
Plasma	215 UI/mL	165 copias/ mL	96,2 %	100 %	215→ 13,0 x 10^7	165→ 10,0 x 10^7	1,3

Preparación de la muestra

Este producto está concebido para utilizarlo en el **MyGenius PRO** con las siguientes muestras clínicas, identificadas conforme a las directrices para laboratorios y obtenidas, transportadas y conservadas en las condiciones siguientes:

Tipo de 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
Orina	sin conservantes	≤4 horas	≤1 d	≤30 d	≤30 d
Plasma	EDTA	≤1 d	≤3 d	≤30 d	≤30 d

d: día

Procedimientos con el MyGenius PRO

La interfaz de usuario del MyGenius PRO 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); esto solo se aplica a los calibradores y a los controles.

1.Encender el**MyGenius PRO**. Iniciar sesión en el modo**STAND-BY (ESPERA)**con el nombre de usuario y la contraseña correspondientes.	**2.**Cargar todos los consumibles en los cajones y vaciar el depósito de residuos líquidos y las cajas de residuos sólidos si es necesario.. Pulsar el botón «Start» (Iniciar) para empezar el proceso de preparación. Una vez terminado este paso, el instrumento pasa al modo de funcionamiento.	**3.**Verificar los calibradores:**Q-PCRStandard** en el menú «Calibration» (Calibración). Verificar los controles**Positive Control**y**Negative Control**en menú «Controls» (Controles). Nota: todos los componentes tienen que haberse procesado y aprobado y no deben estar caducados.

4. Descongelar las probetas de**PCR Mix**y de**IC MAXI**. Agitar suavemente en un vórtex. Centrifugar durante 5 segundos.	**5.**Cargar las probetas de mezcla de PCR en el carrusel de reactivos siguiendo las instrucciones de la interfaz.	**6.**Cargar las probetas de IC MAXI en la gradilla azul prevista a tal efecto y cargar estas en el área del muestreador automático.
7a. Si el instrumento está conectado al LIS, insertar las muestras en el área del muestreador automático utilizando soportes específicos en función del diámetro de las pruebas utilizadas. La extracción comienza de forma automática. **7b**. Si el instrumento no está conectado al LIS, en la lista de muestras, pulsar «Assign test» (Asignar prueba), leer el código de barras de las muestras con el lector de códigos de barras externo, seleccionar la matriz de orina y asignar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) «BKV ELITe_My_U_IU_200_100» o «BKV ELITe_My_U_cmL_200_100». Insertar las muestras en el área del muestreador automático utilizando las gradillas previstas a tal fin en función del diámetro de las probetas utilizadas. La extracción comienza de forma automática.		

Appendix C BKV ELITe MGB Kit obtenida con el ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument



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.elitechgroup.com.

Uso previsto

El producto **BKV ELITe MGB® Kit** es un producto sanitario para diagnóstico *in vitro* concebido para uso por parte de profesionales sanitarios como ensayo cuantitativo de ácidos nucleicos mediante PCR en tiempo real para la detección y la cuantificación de **ADN de poliomavirus humano (VBK)** 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 plasma recogido en EDTA, de orina recogida sin conservantes y de sangre recogida en EDTA.

El ensayo también se ha validado con el instrumento **MyGenius PRO®** (nombre registrado ELIVERSE®), que es un sistema automatizado e integrado para la extracción, la PCR en tiempo real y la interpretación de resultados utilizando muestras humanas de plasma recogido en EDTA y de orina recogida sin conservantes.

El ensayo también se ha validado con el **ELITe GALAXY**, que es un sistema automático de extracción y preparación de PCR, y con el **7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument**, que es una plataforma de PCR en tiempo real, utilizando muestras de plasma recogido en EDTA.

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

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

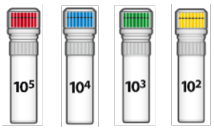
Secuencia amplificada

Secuencia	Gen	Fluoróforo	Canal
Diana	Gen del antígeno T grande	FAM	VBK
Internal Control	Beta globina	AP525	IC

Matrices validadas

- **Plasma** recogido en EDTA

Contenido del kit y productos relacionados

BKV ELITe MGB Kit	BKV ELITe Standard	BKV - ELITe Positive Control
 X 4	 X 2	 X 2
PCR Mix lista para el uso 4 probetas de 540 µL 100 reacciones por kit 5 ciclos de congelación/ descongelación por cada probeta	4 niveles listos para el uso: 10^5, 10^4, 10^3, 10^2 2 conjuntos de 4 probetas de 200 µL 16 reacciones por kit 8 ciclos de congelación/descongelación por cada probeta	PC listo para el uso 2 probetas de 160 µL 12 reacciones por kit 8 ciclos de congelación/ descongelación por cada probeta

Período de estabilidad máximo: **24 meses**

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

Otros productos necesarios no proporcionados con el kit

- **ELITe GALAXY** INT020
- **Kit de extracción ELITe GALAXY 300:** INT021EX
- **ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument**
- CPE - Internal Control: CTRCPE
- Agua para biología molecular

Rendimiento del 7500 Real-Time PCR Instrument

Matriz	Límite de detección	Especificidad diagnóstica	Sensibilidad diagnóstica	Linealidad(UI/mL),	Factor de conversión UI/mL a copias/mL	Factor de conversión copias/mL a UI/ mL
Plasma	779 UI/mL	100 %	100 %	41→ 4,1*10^7	4,1	143,5 × cantidad

Procedimientos con el 7500 Real-Time PCR Instrument

El procedimiento que se describe a continuación resume los principales pasos del análisis de muestras con el flujo de trabajo de la PCR convencional: sistemas de extracción validados, configuración de los instrumentos de PCR, configuración de la PCR e interpretación de los resultados.

Extracción - Sistemas validados

Extracción	Matriz validada	Volumen de muestra procesado	Volumen mínimo de muestra	Volumen total de eluido	Volumen del Internal Control de CPE
ELITe GALAXY	Plasma	300 µL	400 µL	200 µL	10 µL

Amplificación - Configuración del 7500 Fast Dx

1. Encender el termociclador
2. Configurar el detector «BKV» con «FAM» y el inhibidor «none»
3. Configurar el detector «Internal Control» con «VIC» y el inhibidor «none»
4. Configurar la fluorescencia pasiva como «Cy5»

5. Configurar el perfil térmico de la manera indicada. La adquisición de fluorescencia debe ajustarse durante el paso de hibridación a 60 °C

Fase	Temperatura	Tiempo
Descontaminación	50 °C	2 min
Desnaturalización	94 °C	2 min
Amplificación	94 °C	10 seg
Detección	60 °C	30 seg
45 ciclos	72 °C	20 seg

El análisis de la curva de fusión es opcional; consultar las instrucciones de uso completas.

Amplificación - Configuración de la PCR

Para configurar la sesión de PCR, proceder del modo siguiente:

1. Descongelar las probetas de Q-PCR-Mix y de Positive Control/Q-PCR Standard
2. Mezclar suavemente y, después, centrifugar.
3. Preparar el **Negative Control** (no incluido)
4. Preparar una microplaca **Q-PCR Microplate**
5. El instrumento realiza automáticamente la preparación de la PCR distribuyendo en cada pocillo de la microplaca **Q-PCR Microplate 20 µL** de **PCR Mix** y **20 µL** de **DNA extraído/Q-PCR Standard/controles**.

Después de realizar la preparación de la PCR con el instrumento:

1. Sellar la microplaca **Q-PCR Microplate** con un sello óptico.
2. Verter el contenido de la microplaca **Q-PCR Microplate** en el **7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument** e iniciar la PCR. Guardar el archivo de la sesión con un nombre único y reconocible (p. ej., «año-mes-día-TARGET-EGSpA»).

Amplificación- Umbral para el análisis cualitativo

Instrumento	FAM de VBK	VIC del Internal Control
7500 Fast Dx Real Time PCR	0,2	0,1

Interpretación

Resultados cualitativos

Valor Ct del VEB	Valor Ct del Internal Control	Interpretación
Determinado	–	Positivas
No determinado	Ct ≤35	Negativas
	Ct >35 o Undetermined	No válida

Resultados cuantitativos

El valor de Ct de VBK obtenido para cada muestra y la curva de calibración generada se utilizan para calcular la cantidad de ADN diana en la reacción.
La cuantificación de la muestra oscila entre aproximadamente 10 y 10^6 copias/reacción o entre aproximadamente 41 y 4,1 × 10^7 copias/mL.

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