

Instructions for use

CRE ELITe MGB® Kit

Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real



REF RTS200ING

UDI 08033891486



HISTORIAL DE CAMBIOS

Rev.	Información del cambio	Fecha (dd/mm/aa)
05	Ampliación del uso del producto cuando se utiliza el instrumento ELITe BeGenius® (REF INT040) Actualización del apartado «Otros productos necesarios» Actualización del apartado «Nota para el comprador: licencia limitada» Actualización del apartado «Símbolos» con el símbolo «Consultar las instrucciones de uso» Nuevo diseño de los gráficos y del contenido de las instrucciones de uso	24/11/25
04	Cambio de la sonda utilizada para la detección de los genes tipo OXA-48	14/11/18
03	Correcciones formales en la sección «Muestras y controles»	30/07/18
02	Ampliación del uso del producto con matrices de hemocultivos cuando se utiliza el instrumento ELITe InGenius.	22/12/17
00-01	Desarrollo de un nuevo producto con los cambios consiguientes	-

NOTA!

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

INDICE

1 USO PREVISTO	4
2 PRINCIPIO DEL ENSAYO.....	4
3 DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO.	4
4 MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO	5
5 MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO.....	5
6 OTROS PRODUCTOS NECESARIOS	5
7 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES	6
8 MUESTRAS Y CONTROLES	7
9 PROCEDIMIENTO CON EL ELITe InGenius	10
10 PROCEDIMIENTO CON EL ELITe BeGenius	15
11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO	20
12 BIBLIOGRAFÍA.....	29
13 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO	29
14 PROBLEMAS Y SOLUCIONES	30
15 SÍMBOLOS	32
16 AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA	33
Appendix A QUICK START GUIDE.....	34

1 USO PREVISTO

El producto **CRE ELITE MGB® Kit** es un producto sanitario para diagnóstico *in vitro* concebido para uso por parte de profesionales sanitarios como ensayo cualitativo de ácidos nucleicos mediante PCR en tiempo real para la detección de ADN de genes resistentes a los carbapenémicos* (KPC, NDM, VIM, IMP, tipo OXA-48) de enterobacterias.

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 hisopados rectales y de hemocultivos.

El producto se utiliza como ayuda en el diagnóstico y la detección de infecciones por enterobacterias positivas para los genes resistentes a los carbapenémicos, junto con los datos clínicos y los resultados de otras pruebas analíticas del paciente.

El producto también se utiliza para la caracterización de enterobacterias positivas para genes resistentes a los carbapenémicos en muestras de ADN extraídas de aislados de cultivos.

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

*Para ver la lista completa de las variantes de genes que se detectan mediante este producto, consultar la sección [11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO page 20](#)

2 PRINCIPIO DEL ENSAYO

Este es un ensayo cualitativo de PCR en tiempo real para la detección de ADN de los genes resistentes a los carbapenémicos **KPC, NDM, VIM, IMP y tipo OXA-48** en enterobacterias aisladas de muestras y amplificadas mediante el uso del reactivo de ensayo CRE PCR Mix, que contiene cebadores y sondas con la tecnología ELITE MGB Kit.

Las sondas del ELITE MGB Kit se activan cuando se hibridan con los productos de PCR relacionados. **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius** controlan el aumento de fluorescencia y calculan los ciclos umbral (Ct).

En las sondas del ELITE MGB Kit, 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.

NOTA!

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

- La familia de genes **KPC**, detectada en el canal **KPC**; la sonda se estabiliza mediante la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher® y se marca con el colorante FAM.
- La familia de genes **NDM**, detectada en el canal **NDM VIM IMP**; las sondas se estabilizan con la tecnología MGB, se inactivan con el Eclipse Dark Quencher® y se marcan con el colorante AquaPhluor 593 (AP593).
- La familia de genes **VIM**, detectada en el canal **NDM VIM IMP**; las sondas se estabilizan con la tecnología MGB, se inactivan con el Eclipse Dark Quencher® y se marcan con el colorante AquaPhluor 593 (AP593).
- La familia de genes **IMP**, detectada en el canal **NDM VIM IMP**; las sondas se estabilizan con la tecnología MGB, se inactivan con el Eclipse Dark Quencher® y se marcan con el colorante AquaPhluor 593 (AP593).
- La familia de genes **tipo OXA-48**, detectada en el canal **OXA**; las sondas se estabilizan con la tecnología MGB, se inactivan con el Eclipse Dark Quencher® y se marcan con el colorante AquaPhluor 639 (AP639).

- El Internal Control (IC), específico para la secuencia artificial IC2, detectado en el canal IC; la sonda se estabiliza con la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher y se marca con el colorante AquaPhluor 525 (AP525).

El componente **CRE PCR Mix** contiene la solución tampón, cloruro de magnesio, los nucleótidos-trifosfatos, los estabilizadores y la enzima ADN polimerasa con activación térmica («hot start»).

NOTA!

Los tres genes de la familia de las metalobetalactamasas, a saber, NDM, VIM e IMP, se detectan mediante sondas diferentes con el mismo colorante fluorescente y, después, se detectan en el mismo canal NDM VIM IMP y ya no pueden distinguirse.

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

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

4 MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

Tabla 1

Componente	Descripción	Cantidad	Clasificación de peligros
CRE PCR Mix ref. RTS200ING	Mezcla de reactivos para la PCR en tiempo real Probeta con tapón de color natural	8×280 µL	-

5 MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

- Campana de flujo laminar.
- Guantes sin talco desechables de nitrilo o de otro material similar.
- Agitador vórtex
- Centrifugadora de sobremesa (aproximadamente 5000 rpm).
- Centrifugadora de sobremesa (aproximadamente 13.000 rpm).
- Micropipetas y puntas estériles con filtro para aerosoles o puntas estériles de desplazamiento positivo (rango de volumen: 0,5–1000 µL).
- Probeta de 50 mL con tapón roscado (Sarstedt, Alemania, ref. 62.547.254).
- Probeta de 15 mL con tapón roscado (Sarstedt, Alemania, ref. 62.554.502).
- Probeta de 2,0 mL con base de apoyo y tapón roscado (Sarstedt ref. 72.694.005).
- Agua de calidad para biología molecular.

6 OTROS PRODUCTOS NECESARIOS

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

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

Tabla 2

Instrumentos y software	Productos y reactivos
ELITe InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA ref. INT030) ELITe InGenius Software versión 1.3.0.19 (o posterior) CRE ELITe_PC , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control. CRE ELITe_NC , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Negative Control. CRE ELITe_RcS_200_100 , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de hisopados nasales CRE-ESBL ELITe_BC_200_100 , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de hemocultivos	CRE – ELITe Positive Control (EG SpA, ref. CTR200ING) ELITe InGenius SP200 (EG SpA, ref. INT032SP200) Consumibles para el ELITe InGenius y el ELITe BeGenius (consulte las instrucciones de uso del ELITe InGenius y del ELITe BeGenius) CPE – Internal Control (EG SpA, ref. CTRCPE) eNAT™ kit (Copan, ref. 608CS01R), FecalSwab™ (COPAN Italia S.p.A., ref. 470CE),
ELITe BeGenius (EG SpA ref. INT040) ELITe BeGenius Software versión 2.3.0 (o posterior) CRE ELITe_Be_PC , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control. CRE ELITe_Be_NC , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Negative Control. CRE ELITe_Be_RcS_200_100 , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de hisopados nasales CRE-ESBL ELITe_Be_BC_200_100 , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de hemocultivos	

7 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

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

7.1 Advertencias y precauciones generales

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

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

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

No pipetear ninguna solución con la boca.

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

Lavarse bien las manos después de manipular muestras y reactivos.

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

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

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

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

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

No utilizar reactivos procedentes de lotes diferentes.

No utilizar reactivos de otros fabricantes.

7.2 Advertencias y precauciones para los procedimientos de biología molecular

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

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

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

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

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

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

7.3 Advertencias y precauciones específicas para los componentes:

Tabla 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)
CRE PCR Mix	-20 °C o menos (protegido de la luz)	un mes	cuatro como máximo	hasta cuatro sesiones independientes* de tres horas cada una

*Con congelación intermedia

8 MUESTRAS Y CONTROLES

8.1 Muestras y protocolos de ensayo

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

Tabla 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
Hemocultivo	—	≤24 horas	—	—	—
Hisopados rectales	recogidos en el eNAT™ kit	—	≤1 mes	≤6 meses	Períodos largos
Hisopados rectales	recogidos en el FecalSwab™ kit	—	≤3 días	—	—

Antes de realizar el análisis, diluir la muestra de hemocultivo en agua ultrapura en una proporción 1:1000 (al menos 10 µL de muestras en 10 mL de agua ultrapura), mezclarla en un vórtex y verter 0,2 mL de las muestras diluidas en un «Extraction Tube» (tubo de extracción), en el caso del instrumento ELITE InGenius, o en una probeta Sarstedt de 2 mL, en el caso del instrumento ELITE BeGenius.

Antes de realizar el análisis del hisopado rectal en FecalSwab™, es necesario transferir 0,5 mL de medio FecalSwab™ a una probeta nueva de eNAT™ con 2,0 mL de medio que, a continuación, debe mezclarse en un vórtex. Después de añadir 0,5 mL de muestra en el medio de FecalSwab™, la probeta de eNAT™ puede cargarse directamente en el sistema como probeta primaria. Las muestras diluidas en medio eNAT™ pueden guardarse en las mismas condiciones que se indican en la tabla anterior.

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.

Este producto es compatible para su uso con aislados de cultivos y el instrumento ELITE InGenius. Antes de realizar el análisis con este producto, diluir la muestra en una probeta nueva de eNAT™ con 2,0 mL de medio y, a continuación, tomar una alícuota de una colonia aislada mediante el uso de un asa, agitarla en un vórtex y verter 0,2 mL de muestra diluida en el «Extraction Tube» (tubo de extracción). Si la extracción de ácidos nucleicos a partir de aislados de cultivos se realiza con el instrumento ELITE InGenius, es necesario utilizar el protocolo de extracción **CRE ELITE_BC_200_100**.

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 en el producto ELITE MGB Kit y los instrumentos **ELITE InGenius** o **ELITE BeGenius** con las matrices indicadas.

Tabla 5 Protocolos de ensayo para CRE ELITE MGB Kit

Assay Protocols (protocolos de ensayo) para el producto CRE ELITE MGB Kit				
Muestra	Instrumento	Nombre del protocolo de ensayo	Informe	Características
Hisopados rectales	ELITE InGenius	CRE ELITE_RcS_200_100	Positivo/ Negativo	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución de extracción: 100 µL Internal Control: 10 µL Factor de dilución: 1 Volumen de PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL
	ELITE BeGenius	CRE ELITE_Be_RcS_200_100	Positivo/ Negativo	
Hemocultivo	ELITE InGenius	CRE ELITE_BC_200_100	Positivo/ Negativo	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución de extracción: 100 µL Internal Control: 10 µL Factor de dilución: 1 Volumen de PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL
	ELITE BeGenius	CRE ELITE_Be_BC_200_100	Positivo/ Negativo	

NOTA!

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

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

Consultar «Sustancias potencialmente interferentes» en la sección «[11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO page 20](#)» para comprobar los datos relativos a tales sustancias.

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

8.2 Controles de PCR

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

- Para el Positive Control, utilizar el producto **CRE - ELITE Positive Control** (no incluido en este kit) con los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **CRE ELITE_PC** o **CRE ELITE_Be_PC**.
- Para el Negative Control, utilizar agua para biología molecular (no incluida en este kit), junto con los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **CRE ELITE_NC** o **CRE ELITE_Be_NC**.

NOTA!

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

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

8.3 Controles de calidad

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

9 PROCEDIMIENTO CON EL ELITe InGenius

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

Tabla 6

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

9.1 PASO 1. Verificación de la disponibilidad del sistema

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

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

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

9.2 PASO 2. Configuración de la sesión

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

- Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)
- Sesión con la muestra eluida; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
- Sesión para el Positive Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)

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

NOTA!

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

Antes de configurar una sesión:

Descongelar las probetas necesarias de **PCR Mix** a temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para 12 análisis en condiciones óptimas de uso (es decir, realizando al menos 2 análisis por sesión). Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.

NOTA!

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

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

Tabla 7

	A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)	B. Sesión con la muestra; eluida modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)	C. Sesión del Positive Control y del Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
1	Identificar las muestras y, en caso necesario, descongelarlas a temperatura ambiente. En caso necesario, verter 200 µL de muestra en una «Extraction Tube» (Tubo de extracción) previamente etiquetada.	Descongelar las «Elution Tubes» (Tubos de elución) que contienen los ácidos nucleicos extraídos a temperatura ambiente. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.	Descongelar las probetas de Positive Control a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Cada probeta es suficiente para 4 reacciones.
2	Descongelar las probetas de CPE necesarias a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Cada probeta es suficiente para 12 extracciones.	No aplicable	Preparar el Negative Control vertiendo al menos 50 µL de agua para biología molecular en un «Elution Tube» (Tubo de elución), que se incluye en el producto ELITE InGeniusSP 200 Consumable Set.
3	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).
4	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.
5	Para cada muestra, asignar un carril e introducir el «SampleID» o SID (ID de la muestra), ya sea rellenándolo directamente o escaneando su código de barras.	Para cada muestra, asignar un carril e introducir el «SampleID» o SID (ID de la muestra), ya sea rellenándolo directamente o escaneando su código de barras.	No aplicable
6	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles». Introducir el número de lote y la fecha de caducidad del Positive Control y del agua para biología molecular.
7	Asegurarse de que el protocolo que se muestra en el área «Protocol» (Protocolo) sea «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	Seleccionar «PCR Only» en la columna «Protocol» (Protocolo).	En la columna «Protocol» (Protocolo), asegurarse de que esté seleccionado «PCR Only» (Solo PCR).

Tabla 7 (continued)

	A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)	B. Sesión con la muestra; eluida modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)	C. Sesión del Positive Control y del Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
8	En la columna «Sample Position» (Posición de la muestra), seleccionar la posición de carga «Extraction Tube» (Tubo de extracción) o «Primary Tube» (Probeta primaria) para la muestra.	Asegurarse de que la posición de carga de la muestra de la columna «Sample Position» (Position de la muestra) sea «Elution Tube (bottom row)» (Tubo de elución [fila inferior])	Asegurarse de que la posición de carga de la muestra de la columna «Sample Position» (Position de la muestra) sea «Elution Tube (bottom row)» (Tubo de elución [fila inferior])
9	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
10	Cargar el CPE y la PCR Mix en el «Inventory Block» (administrador de inventarios) en función de la «Load List» (lista de carga) y, después, introducir el número de lote de la PCR Mix, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.	Cargar la PCR Mix en el «Inventory Block» (bloque de inventario) en función de la «Load List» (lista de carga) y, después, introducir el número de lote de la PCR Mix, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.	Cargar la PCR Mix en el «Inventory Block» (bloque de inventario) en función de la «Load List» (lista de carga) y, después, introducir el número de lote de la PCR Mix, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.
11	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
12	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) del «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) del «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) del «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.
13	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
14	Cargar el PCR Cassette , los cartuchos de extracción ELITe InGenius SP 200, así como todos los consumibles necesarios y las muestras que deben extraerse.	Cargar el PCR Cassette «Elution Tube» (Tubo de elución) con las muestras extraídas.	Cargar el PCR Cassette las probetas de Positive Control y de Negative Control.
15	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
16	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.
17	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).

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

NOTA!

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

NOTA!

Al finalizar la sesión, la **PCR Mix** puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a -20 °C o a una temperatura inferior, o bien mantenerse en el bloque refrigerado durante un máximo de 4 sesiones de trabajo independientes de 3 horas cada una. Mezclar con cuidado y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos antes de iniciar la siguiente sesión.

NOTA!

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

NOTA!

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

NOTA!

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

9.3 PASO 3. Evaluación y aprobación de los resultados

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

Al finalizar la sesión, aparece automáticamente la pantalla «Results Display». En esta pantalla se muestran los resultados y la información de la sesión. Desde esta pantalla, es posible aprobar dichos resultados, así como imprimir o guardar los informes («Sample Report» o «Track Report»). Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

NOTA!

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

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

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

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

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

Los resultados del Positive Control y del Negative Control, específicos para el lote de reactivos de PCR, se guardan en la base de datos («Calibration»), por lo que el personal cualificado como administrador («Administrator») o analista («Analyst») puede verlas siguiendo las instrucciones de la interfaz.

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

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

NOTA!

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

NOTA!

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

9.5 Validación de los resultados de la muestra

El **ELITe InGenius Software** interpreta los resultados de la PCR para la diana (canales **KPC**, **NDM**, **VIM**, **IMP** y **OXA**) y el Internal Control (canal **IC**) con los parámetros de los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **CRE ELITe_RcS_200_100** y **CRE ELITe_BC_200_100**.

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

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

Tabla 8

1) Positive Control	Estado
CRE Positive Control	APROBADO
2) Negative Control	Estado
CRE- Negative Control	APROBADO

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

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

Tabla 9

Resultado de la sesión de la muestra	Interpretación
KPC:DNA detected (KPC:ADN detectado)	Se ha detectado ADN del gen KPC en la muestra.
NDM VIM IMP:DNA detected (NDM VIM IMP:ADN detectado)	Se ha detectado ADN de los genes NDM, VIM o IMP en la muestra.
OXA:DNA detected (KPC:ADN detectado)	Se ha detectado ADN del gen OXA en la muestra.
KPC:DNA Not detected or below the LoD (KPC:ADN no detectado o por debajo del límite de detección)	No se ha detectado ADN del gen KPC en la muestra. La muestra es negativa válida para este gen o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
NDM VIM IMP:DNA Not Detected or below the LoD (NDM VIM IMP:ADN no detectado o por debajo del límite de detección)	No se ha detectado ADN de los genes NDM, VIM e IM en la muestra. La muestra es negativa válida para estos genes o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
OXA:DNA Not detected or below the LoD (OXA:ADN no detectado o por debajo del límite de detección)	No se ha detectado ADN del gen OXA en la muestra. La muestra es negativa válida para este gen o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
Invalid-Retest Sample (No válido-Volver a probar muestra).	Resultado del ensayo no válido debido a un error del Internal Control (extracción incorrecta o 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 con una sesión de amplificación en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR). Si se produce un segundo resultado no válido, la muestra debe volver a analizarse a partir del paso de extracción de una nueva muestra utilizando el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR); consultar la sección «[14 PROBLEMAS Y SOLUCIONES page 30](#)».

Las muestras que se notifican como «xxx:DNA Not detected or below the LoD» (xxx:ADN no detectado o por debajo del límite de detección) son aptas para el análisis, pero no ha sido posible detectar ADN de la diana. En este caso, no se puede descartar que el ADN de la diana esté presente en una concentración inferior al límite de detección del ensayo (consultar la sección [11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO page 20](#)).

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».

9.6 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 **CRE ELITe MGB Kit** con el **ELITe BeGenius** comprende tres pasos:

Tabla 10

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

10.1 PASO 1. Verificación de la disponibilidad del sistema

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

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

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

10.2 PASO 2. Configuración de la sesión

El producto **CRE 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 del Positive Control y del Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)

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

NOTA!

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

Antes de configurar una sesión:

Descongelar las probetas necesarias de **PCR Mix** a temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para 12 análisis en condiciones óptimas de uso (es decir, realizando al menos 2 análisis por sesión). Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.

NOTA!

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

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

Tabla 11

	A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)	B. Sesión con la muestra; eluida modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)	C. Sesión del Positive Control y del Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
1	Identificar las muestras y, en caso necesario, descongelar a temperatura ambiente. En caso necesario, verter 200 µL de muestra en una probeta Sarstedt de 2 mL previamente etiquetada.	En caso necesario, descongelar los «Elution Tubes» (Tubos de elución) que contienen los ácidos nucleicos extraídos a temperatura ambiente. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.	Descongelar las probetas de Positive Control a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Cada probeta es suficiente para 4 reacciones.
2	Descongelar las probetas de CPE necesarias a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Cada probeta es suficiente para 12 extracciones.	No aplicable	Preparar el Negative Control vertiendo al menos 50 µL de agua para biología molecular en un «Elution Tube» (Tubo de elución) que se incluye con el producto ELITe InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).
4	Extraer todas las gradillas de la «Cooler Unit» y colocarlas en la mesa de preparación.	Extraer las racks de los «Lanes» 1, 2 y 3 (L1, L2, L3) de la «Cooler Unit» y colocarlas en la mesa de preparación.	Extraer las racks de los «Lanes» 1, 2 y 3 (L1, L2, L3) de la «Cooler Unit» y colocarlas en la mesa de preparación.
5	Seleccionar el «Run Mode»: «Extract + PCR» (Extracción + PCR) .	Seleccionar el «Run Mode»: «PCR Only» (Solo PCR) .	Seleccionar el «Run Mode»: «PCR Only» (Solo PCR) .
6	Cargar las muestras en la «Sample Rack» (rack de muestras). Cuando se cargan probetas secundarias «2 mL Tubes», utilizar los adaptadores azules para la «Sample Rack» (rack de muestras).	Cargar las muestras en la «Elution Rack» (rejilla de elución).	Cargar las probetas de Positive Control y de Negative Control en la «Elution Rack» (rejilla de elución).
7	Insertar la «Sample Rack» (rack de muestras) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 5 (L5). En caso necesario, insertar el «SID» (ID de la muestra) para posición utilizada (si las probetas secundarias están cargadas, marchar la probeta de 2 mL («2 mL Tube»). Si las probetas secundarias no tienen códigos de barras, introducir manualmente el ID de las muestras.	Insertar la «Elution Rack» (rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). En caso necesario, para cada «Position» (Posición), introducir el «SID» (ID de la muestra), la «Sample matrix» (matriz de la muestra), el «Extraction Kit» (kit de extracción) y el «Extracted Eluate Volume» (volumen de elución extraído).	Insertar la «Elution Rack» (rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). En caso necesario, para cada «Position» introducir el «Reagent name» (nombre del reactivo), el «S/N» (número de serie) el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).
8	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
9	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.	No aplicable	No aplicable

Tabla 11 (continued)

	A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)	B. Sesión con la muestra; eluida modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)	C. Sesión del Positive Control y del Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
10	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».
11	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
	Nota: si se procesan más de 12 muestras, repetir el procedimiento a partir del punto 6.		No aplicable
12	Cargar las «Elution Tube» (Tubos de elución) en la «Elution Rack» (rejilla de elución); las probetas de elución pueden etiquetarse con un código de barras para mejorar la rastreabilidad.	No aplicable	No aplicable
13	Insertar la «Elution Rack» (rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). Si se procesan más de 12 muestras, repetir el procedimiento utilizando el «Lane 2» (L2).	No aplicable	No aplicable
14	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	No aplicable	No aplicable
15	Cargar el CPE y la PCR Mix en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución).	Cargar la PCR Mix en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución).	Cargar la PCR Mix en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución).
16	Insertar la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) en el Lane 2 (L2) de la «Cooler Unit» o, si está disponible, en el Lane 1 (L1). En caso necesario, para cada reactivo de PCR Mix o cada CPE, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).	Insertar la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) en el Lane 2 (L2) de la «Cooler Unit» o, si está disponible, en el Lane 1 (L1). En caso necesario, para cada PCR Mix o cada CPE, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).	Insertar la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) en el Lane 2 (L2) de la «Cooler Unit» o, si está disponible, en el Lane 1 (L1). En caso necesario, para cada PCR Mix o cada CPE, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).
17	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
18	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.
19	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
20	Cargar la «PCR Rack» (gradilla de PCR) con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario).	Cargar la «PCR Rack» (gradilla de PCR) con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario).	Cargar la «PCR Rack» (gradilla de PCR) con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario).

Tabla 11 (continued)

	A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)	B. Sesión con la muestra; eluida modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)	C. Sesión del Positive Control y del Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
21	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
22	Cargar la «Extraction Rack» (gradilla de extracción) con los cartuchos de extracción «ELITe InGenius SP 200» y los consumibles de extracción necesarios.	No aplicable	No aplicable
23	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.
24	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).

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

NOTA!

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

NOTA!

Al finalizar la sesión, la **PCR Mix** puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a -20 °C o a una temperatura inferior, o bien mantenerse en el bloque refrigerado durante un máximo de 4 sesiones de trabajo independientes de 3 horas cada una. Mezclar con cuidado y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos antes de iniciar la siguiente sesión.

NOTA!

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

NOTA!

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

NOTA!

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

10.3 PASO 3. Evaluación y aprobación de los resultados

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

Al finalizar la sesión, aparece automáticamente la pantalla «Results Display». En esta pantalla se muestran los resultados y la información de la sesión. Desde esta pantalla, es posible aprobar dichos resultados, así como imprimir o guardar los informes («Sample Report» o «Track Report»). Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

NOTA!

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

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

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

NOTA!

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

11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Como se ha demostrado que el ELITE BeGenius presenta un rendimiento analítico equivalente al del ELITE InGenius, los resultados que se describen en los apartados siguientes también se consideran aplicables al ELITE BeGenius.

11.1 Sensibilidad analítica: Límite de detección

La sensibilidad analítica, expresada como el límite de detección del ensayo, se determinó analizando en el **ELITE InGenius** un panel de 6 cepas de CRE, una de cada uno de los siguientes genes: KPC, IMP, VIM, NDM, OXA-48 y OXA-181, y utilizando muestras de hisopados rectales.

El LoD para cada una de las cepas de CRE se calculó mediante el análisis de regresión Probit de los datos como la concentración correspondiente al 95 % de probabilidad de un resultado positivo.

Los resultados finales se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 12 Límite de detección (ufc/mL) para muestras de hisopados rectales y el instrumento ELITE InGenius

Diana	Aislado bacteriano	LoD (ufc/mL)	95 % de intervalo de confianza (ufc/mL)	
			Límite inferior	Límite superior
KPC	<i>C. freundii</i> , UCLA 14-13-A2	99	69	217
NDM	<i>E. coli</i> , ATCC BAA-2469	144	110	228
VIM	<i>K. pneumoniae</i> , NCTC 13439	399	338	579
IMP	<i>E. coli</i> , NCTC 13476	273	234	351
OXA-48	<i>E. coli</i> , ATCC BAA-2523	300	241	456
OXA-181	<i>K. pneumoniae</i> , JMI 18	179	139	287

El LoD calculado se verificó en muestras de hisopados rectales en el instrumento ELITE InGenius, analizando muestras de hisopados rectales enriquecidos con material de referencia de cada diana a la concentración declarada.

Los resultados obtenidos confirmaron la concentración declarada para todas las dianas cuando el producto CRE ELITE MGB Kit se utilizó con muestras de hisopados rectales en el instrumento ELITE InGenius.

11.2 Eficacia de detección (inclusividad)

La eficacia de detección en diferentes variantes de genes resistentes a los carbapenémicos se evaluó mediante un análisis informático que comparó las secuencias de las sondas y los cebadores con las secuencias disponibles en la base de datos de nucleótidos NCBI.

El análisis presentó una alta conservación de las secuencias y ausencia de mutaciones reseñables para las variantes que se indican en la tabla siguiente.

Tabla 13

diana	Variantes que se prevé detectar con el producto CRE ELITe MGB® Kit
KPC	KPC-01, KPC-02, KPC-03, KPC-04, KPC-05, KPC-06, KPC-07, KPC-08, KPC-09, KPC-10, KPC-11, KPC-12, KPC-13, KPC-14, KPC-15, KPC-16, KPC-17, KPC-18, KPC-19, KPC-21, KPC-22, KPC-25, KPC-33, KPC-47e, KPC-56a, KPC-63d, KPC-272, KPC-484, KPC-629, KPC-727, KPC-860.
NDM	NDM-01, NDM-02, NDM-03, NDM-04, NDM-05, NDM-06, NDM-07, NDM-08, NDM-09, NDM-10, NDM-12, NDM-13, NDM-15, NDM-16, NDM-17, NDM-32, NDM-40, NDM-221, NDM-255, NDM-264, NDM-265
VIM	VIM-01, VIM-02, VIM-03, VIM-04, VIM-05, VIM-06, VIM-07, VIM-08, VIM-09, VIM-10, VIM-11, VIM-12, VIM-13, VIM-14, VIM-15, VIM-16, VIM-17, VIM-18, VIM-19, VIM-20, VIM-23, VIM-24, VIM-25, VIM-26, VIM-27, VIM-28, VIM-31, VIM-33, VIM-34, VIM-35, VIM-36, VIM-37, VIM-38, VIM-39, VIM-40, VIM-42, VIM-43, VIM-44, VIM-45, VIM-46, VIM-47, VIM-49, VIM-50, VIM-51
IMP	IMP-01, IMP-02, IMP-03, IMP-04, IMP-05, IMP-06, IMP-07, IMP-08, IMP-09, IMP-10, IMP-11, IMP-13, IMP-14, IMP-15, IMP-16, IMP-18, IMP-19, IMP-20, IMP-21, IMP-22, IMP-24, IMP-25, IMP-26, IMP-28, IMP-29, IMP-32, IMP-33, IMP-34, IMP-37, IMP-38, IMP-40, IMP-41, IMP-42, IMP-45, IMP-48, IMP-49, IMP-51, IMP-54, IMP-56, IMP-58
OXA	OXA-48, OXA-162, OXA-163, OXA-181, OXA-199, OXA-204, OXA-232, OXA-244, OXA-245, OXA-370, OXA-405, OXA-416, OXA-439, OXA-484

La eficacia de detección en las diferentes variantes de genes resistentes a los carbapenémicos también se verificó para un conjunto de 18 aislados de CRE bien caracterizados. Las muestras artificiales se prepararon enriqueciendo los aislados que iban a analizarse en una matriz rectal negativa a concentraciones cercanas al LoD. Se analizaron de dos a tres aislados de cada gen KPC, NDM, VIM, IMP y tipo OXA-48.

Los resultados finales se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 14 Eficacia de detección (inclusividad) del producto CRE ELITe MGB Kit

Microorganismo	Aislado	Marcador de CRE	Concentración (ufc/mL)	Resultado
<i>K. pneumoniae</i>	CDC-ARIB-0034	IMP	798	Inclusivo
<i>P. aeruginosa</i>	CDC-ARIB-0103	IMP-1	762	Inclusivo
<i>P. aeruginosa</i>	CDC-ARIB-0092	IMP-14	762	Inclusivo
<i>K. pneumoniae</i>	NCTC 13438	KPC	297	Inclusivo
<i>K. pneumoniae</i>	BAA-1898	KPC-2	297	Inclusivo
<i>K. pneumoniae</i>	BAA-1904	KPC-3	347	Inclusivo
<i>K. pneumoniae</i>	BAA-2146	NDM1	294	Inclusivo
<i>E. coli</i>	CDC-ARIB-0150	NDM-5	294	Inclusivo
<i>E. coli</i>	CDC-ARIB-0137	NDM-6	294	Inclusivo
<i>K. pneumoniae</i>	ST-14 (alias R20)	OXA-181	537	Inclusivo
<i>K. pneumoniae</i>	CDC-ARIB-0140	OXA-181	537	Inclusivo

Tabla 14 Eficacia de detección (inclusividad) del producto CRE ELITE MGB Kit (continued)

Microorganismo	Aislado	Marcador de CRE	Concentración (ufc/mL)	Resultado
<i>K. pneumoniae</i>	CDC-ARIB-0066	OXA-232	900	Inclusivo
<i>K. pneumoniae</i>	CDC-ARIB-0075	OXA-232	900	Inclusivo
<i>K. pneumoniae</i>	BAA-2524	OXA-48	900	Inclusivo
<i>K. pneumoniae</i>	CDC-ARIB-0160	OXA-48	900	Inclusivo
<i>K. pneumoniae</i>	NCTC 13440	VIM-1	843	Inclusivo
<i>P. aeruginosa</i>	NCTC 13437	VIM-10	843	Inclusivo
<i>P. aeruginosa</i>	CDC-ARIB-0054	VIM-4	843	Inclusivo

Todos los aislados de CRE se detectaron y se clasificaron como inclusivos cuando se analizaron con el producto CRE ELITE MGB Kit a concentraciones comprendidas entre aproximadamente 300 y 900 ufc/mL.

La eficacia de detección en diferentes variantes de genes resistentes a los carbapenémicos también se verificó para un conjunto de 114 aislados caracterizados de cultivo de CRE. Cada muestra se diluyó en el eNAT™ kit y, después, se analizó con el producto CRE ELITE MGB Kit y el instrumento ELITE InGenius en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR). Los aislados de cultivos eran representativos de los diferentes géneros de enterobacterias (como *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. cloacae* o *C. koseri*).

Los resultados se resumen en la tabla siguiente.

Tabla 15 Eficacia de detección (inclusividad) del producto CRE ELITE MGB Kit

Muestras	N	Positivas	Negativas	No válida
Aislados de cultivos positivos para KPC	22	22	0	0
Aislados de cultivos positivos para el tipo OXA-48	35	35	0	0
Aislados de cultivos positivos para NDM	23	23	0	0
Aislados de cultivos positivos para IMP	11	11	0	0
Aislados de cultivos positivos para VIM, 17 17 0 0	17	17	0	0
Aislados de cultivos positivos para OXA-48 y NDM	6	6	0	0

Todos los aislados de CRE analizados se detectaron y se clasificaron como inclusivos cuando se analizaron con el producto CRE ELITE MGB Kit.

11.3 Marcadores potencialmente interferentes

La reactividad cruzada potencial del ensayo con otras dianas imprevistas se evaluó en primer lugar mediante un análisis informático de las secuencias disponibles en las bases de datos de nucleótidos NCBI.

La alineación de las secuencias de los cebadores y sondas con las secuencias disponibles en la base de datos, inclusive los microorganismos que razonablemente pueden encontrarse en muestras clínicas, como sucede con la flora rectal habitual o diferentes microorganismos oportunistas, virus, células, parásitos intestinales y microorganismos productores de betalactamasas estrechamente relacionados, no presentó homologías reseñables ni indicios de posibles interferencias.

La ausencia de reactividad cruzada con otros microorganismos estrechamente relacionados (resistencia relacionada) también se verificó analizando por triplicado muestras de los aislados que se indican en la tabla siguiente, a una concentración de 10^6 ufc/mL.

Tabla 16 Marcadores potencialmente interferentes del producto CRE ELITe MGB Kit

Microorganismo	Aislado	Marcador de resistencia a los antibióticos	Concentración (ufc/mL)	Resultado
<i>K. pneumoniae</i>	700603	SHV	10^6	Sin reactividad cruzada
<i>E. coli</i>	BAA-202	SHV	10^6	Sin reactividad cruzada
<i>E. coli</i>	BAA-201	TEM	10^6	Sin reactividad cruzada
<i>S. marcescens</i>	14-13-A11	SME	10^6	Sin reactividad cruzada
<i>S. marcescens</i>	14-13-A12	SME	10^6	Sin reactividad cruzada
<i>A. baumannii</i>	13301	OXA-23	10^6	Sin reactividad cruzada
<i>A. baumannii</i>	13302	OXA-25	10^6	Sin reactividad cruzada
<i>A. baumannii</i>	13303	OXA-26	10^6	Sin reactividad cruzada
<i>A. baumannii</i>	13304	OXA-27	10^6	Sin reactividad cruzada
<i>A. baumannii</i>	13305	OXA-58	10^6	Sin reactividad cruzada
<i>A. baumannii</i>	13420	Clon SE similar a OXA-51	10^6	Sin reactividad cruzada
<i>K. pneumoniae</i>	DICON-185	CTX-M-1	10^6	Sin reactividad cruzada
<i>E. coli</i>	DICON-003	CTX-M-1	10^6	Sin reactividad cruzada
<i>E. coli</i>	DICON-178	CTX-M-9	10^6	Sin reactividad cruzada
<i>K. pneumoniae</i>	DICON-005	CTX-M-9	10^6	Sin reactividad cruzada
<i>E. cloacae</i>	NCTC 13464	CTX-M-9	10^6	Sin reactividad cruzada
<i>E. coli</i>	13353	CTX-M-15	10^6	Sin reactividad cruzada
<i>K. pneumoniae</i>	CDC-ARIB-0044	CTX-M-15	10^6	Sin reactividad cruzada

Todos los aislados, a excepción de *K. pneumoniae* DICON185, dieron un resultado negativo en 3 de 3 duplicados cuando se analizaron con el producto CRE ELITe MGB Kit. El aislado *K. pneumoniae* DICON185 presentó una señal positiva en uno de tres duplicados. Cuando se repitió el análisis con 5 duplicados, el aislado presentó 5 resultados negativos de 5 totales y se consideró que no presentaba reactividad cruzada.

11.4 Sustancias interferentes

Se añadieron individualmente sustancias potencialmente interferentes, a sus concentraciones más altas clínicamente pertinentes, a una matriz rectal negativa que contenía aislados de CRE a una concentración de aproximadamente 3 veces el límite de detección (LoD). Las sustancias analizadas fueron: enemas (aceite de vaselina), lubricante espermicida (Nonoxinol-9), medicamentos antidiarreicos (subsalicilato de bismuto), laxantes (sennósidos), antibióticos (vancomicina), antiácidos (ácido algínico/hidróxido de aluminio/trisilicato de magnesio, carbonato cálcico, cimetidina, omeprazol) y componentes fecales (ácido palmítico, ácido esteárico, mucina, ADN genómico humano, leucocitos humanos y sangre humana). Un aislado de cada gen KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48 y OXA-181 se analizó por triplicado con el producto CRE ELITe MGB Kit y el instrumento ELITe InGenius.

Ninguna de las sustancias analizadas interfirió con el producto **CRE ELITe MGB® Kit**.

La posible interferencia surgida durante la reacción de amplificación de 2-propanol, utilizado en el proceso de extracción, se evaluó mediante el análisis de ADN extraído de una matriz rectal negativa que contenía aislados de CRE a una concentración de aproximadamente 400 ufc/mL. Un aislado de cada gen KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48 y OXA-181 se analizó por triplicado con el producto CRE ELITe MGB Kit y el instrumento ELITe InGenius.

La prueba demostró que, hasta una concentración del 10 % de 2-propanol, el producto CRE ELITe MGB Kit no da lugar a resultados falsos negativos.

11.5 Ausencia de contaminación cruzada

La ausencia de contaminación cruzada de muestras positivas a negativas, así como de arrastre entre series de análisis, se verificó procesando 3 series integradas (extracción de ADN a partir de la probeta primaria seguida de PCR), con 6 muestras altamente positivas para KPC a una concentración de 10^6 ufc/mL en medio eNAT, que se alternaron con 6 muestras negativas de medio eNAT.

No se constató contaminación cruzada entre carriles ni arrastre entre carriles tras analizar 18 muestras positivas y 18 muestras negativas en una configuración de tablero de ajedrez con el instrumento ELITe InGenius™.

11.6 Fallo total del sistema

La tasa total de fallos del sistema que pueden dar lugar a resultados falsos negativos se verificó mediante el análisis de 50 muestras enriquecidas con IMP, que se prepararon a partir de aislados en una matriz rectal negativa, y el resultado fue del 0 %.

Las 50 muestras de la matriz rectal negativa se enriquecieron con un aislado de IMP a una concentración final de aproximadamente 400 ufc/mL. Cada muestra del panel se analizó realizando el procedimiento entero de análisis en el instrumento ELITe InGenius™ y comenzando con la probeta primaria.

Todas las muestras analizadas dieron un resultado positivo cuando se utilizó el producto CRE ELITe MGB Kit.

11.7 Repetibilidad

La repetibilidad del ensayo se verificó en el ELITe InGenius analizando un panel de muestras de hisopados rectales, que contenía una muestra negativa y tres muestras positivas (cepas KPC + NDM + OXA, VIM e IMP de CRE) a concentraciones bajas y moderadas.

A continuación se incluye un resumen de los resultados de repetibilidad obtenidos con el ELITe InGenius.

Tabla 17 Repetibilidad con el ELITe InGenius

Diana	Tipo de muestra	Ct medio	DE	%CV
KPC	Positiva baja	34,82	0,48	1,4 %
	Positiva moderada	33,84	0,49	1,4 %
NDM	Positiva baja	36,87	0,51	1,4 %
	Positiva moderada	35,21	0,24	0,7 %

Tabla 17 Repetibilidad con el ELITE InGenius (continued)

Diana	Tipo de muestra	Ct medio	DE	%CV
OXA	Positiva baja	34,80	0,32	0,9 %
	Positiva moderada	33,17	0,32	1,0 %
VIM	Positiva baja	35,26	0,19	0,5 %
	Positiva moderada	33,47	0,20	0,6 %
IMP	Positiva baja	35,72	0,73	2,0 %
	Positiva moderada	33,90	0,43	1,3 %
IC	N/A	29,56	0,43	1,5 %
	N/A	29,81	0,61	2,0 %

La repetibilidad del ensayo se verificó en el **ELITE BeGenius** analizando un panel de muestras de hisopados rectales, que contenían una muestra negativa y cuatro muestras positivas enriquecidas con materiales de referencia de cada cepa a una concentración baja.

En la tabla siguiente se incluye un ejemplo de los resultados de repetibilidad obtenidos en el ELITE BeGenius.

Tabla 18 Repetibilidad dentro de las sesiones con el ELITE BeGenius

Muestra	N	NDM VIM IMP			KPC			OXA			% de concordancia
		Ct medio	DE del Ct	%CV	Ct medio	DE del Ct	%CV	Ct medio	DE del Ct	%CV	
Negativas	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100 %
NDM + OXA-48	6	33,85	0,15	0,44	-	-	-	33,33	0,45	1,35	100 %
VIM + KPC	6	30,91	0,21	0,67	30,02	0,31	1,03	-	-	-	100 %
IMP + OXA-181	6	32,38	0,23	0,72	-	-	-	34,45	0,24	0,70	100 %

Tabla 19 Repetibilidad entre sesiones con el ELITE BeGenius

Muestra	N	NDM VIM IMP			KPC			OXA			% de concordancia
		Ct medio	DE del Ct	%CV	Ct medio	DE del Ct	%CV	Ct medio	DE del Ct	%CV	
Negativas	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100 %
NDM + OXA-48	12	34,01	0,31	0,92	-	-	-	33,33	0,38	1,13	100 %
VIM + KPC	12	31,06	0,48	1,53	30,52	0,60	1,96	-	-	-	100 %
IMP + OXA-181	12	32,94	0,68	2,05	-	-	-	34,52	0,44	1,28	100 %

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

11.8 Reproducibilidad

La reproducibilidad del ensayo se verificó en el ELITE InGenius analizando un panel de muestras de hisopados rectales, que contenía una muestra negativa y tres muestras positivas (cepas KPC + NDM + OXA, VIM e IMP de CRE) a concentraciones bajas y moderadas.

A continuación se incluye un resumen de los resultados de reproducibilidad obtenidos con el ELITE InGenius.

Tabla 20 Reproducibilidad con el ELITE InGenius

Diana	Tipo de muestra	Ct medio	Instrumento a instrumento		Lote a lote	
			DE	%CV	DE	%CV
KPC	Positiva baja	35,00	0,289	0,83 %	0,214	0,61 %
	Positiva moderada	34,53	0,428	1,24 %	0,312	0,90 %
NDM	Positiva baja	36,44	0,223	0,61 %	0,000	0,00 %
	Positiva moderada	35,32	0,317	0,90 %	0,000	0,00 %
OXA	Positiva baja	33,65	0,140	0,42 %	0,089	0,26 %
	Positiva moderada	33,16	0,169	0,51 %	0,207	0,62 %
VIM	Positiva baja	36,02	0,444	1,23 %	0,489	1,36 %
	Positiva moderada	34,50	0,289	0,84 %	0,412	1,19 %
IMP	Positiva baja	37,18	0,291	0,78 %	0,549	1,48 %
	Positiva moderada	35,21	0,575	1,63 %	0,783	2,22 %
IC	N/A	29,17	0,397	1,36 %	0,911	3,12 %

La reproducibilidad del ensayo se verificó en el **ELITE BeGenius** analizando un panel de muestras de hisopados rectales, que contenían una muestra negativa y cuatro muestras positivas enriquecidas con materiales de referencia de cada cepa a una concentración baja

En la tabla siguiente se incluye un ejemplo de los resultados de reproducibilidad obtenidos en el ELITE BeGenius.

Tabla 21 Reproducibilidad entre lotes con el ELITE BeGenius

Muestra	N	NDM VIM IMP			KPC			OXA			% de concordancia
		Ct medio	DE del Ct	%CV	Ct medio	DE del Ct	%CV	Ct medio	DE del Ct	%CV	
Negativas	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100 %
NDM + OXA-48	12	34,10	0,30	0,89	-	-	-	33,34	0,40	1,20	100 %
VIM + KPC	12	31,14	0,31	1,00	30,10	0,24	0,80	-	-	-	100 %
IMP + OXA-181	12	32,69	0,43	1,31	-	-	-	34,35	0,25	0,74	100 %

Tabla 22 Reproducibilidad entre instrumentos con el ELITe BeGenius

Muestra	N	NDM VIM IMP			KPC			OXA			% de concordancia
		Ct medio	DE del Ct	%CV	Ct medio	DE del Ct	%CV	Ct medio	DE del Ct	%CV	
Negativas	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100 %
NDM + OXA-48	12	34,23	0,31	0,91	-	-	-	33,49	0,48	1,43	100 %
VIM + KPC	12	31,24	0,21	0,68	30,13	0,25	0,83	-	-	-	100 %
IMP + OXA-181	12	34,12	1,28	3,74	-	-	-	34,89	1,18	3,37	100 %

En la prueba de reproducibilidad, el producto CRE 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 %.

11.9 Especificidad diagnóstica: confirmación de las muestras negativas

La especificidad diagnóstica del ensayo, expresada como confirmación de las muestras clínicas negativas, se evaluó analizando algunas muestras clínicas de hisopados rectales y de hemocultivos negativos para CRE.

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

Los resultados se resumen en la tabla siguiente.

Tabla 23 Especificidad diagnóstica

Muestras	N	positivas	negativas	% de especificidad diagnóstica
Hisopados rectales negativos para CRE	52	0	52	100 %
Hemocultivos negativos para BLEA	45	2	43	95,5 %

El valor de corte para el Ct del IC se estableció a 34, tanto para las muestras de hisopados rectales como para las de hemocultivos, cuando se analizaron con el ELITe InGenius y el ELITe BeGenius.

11.10 Sensibilidad diagnóstica: confirmación de las muestras positivas

La sensibilidad diagnóstica del ensayo, expresada como confirmación de las muestras clínicas positivas, se evaluó analizando muestras de hisopados rectales y de hemocultivos, positivas para CRE o enriquecidas con aislados de CRE.

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

Los resultados se resumen en la tabla siguiente.

Tabla 24 Sensibilidad diagnóstica

Muestras	N	positivas	negativas	% de sensibilidad diagnóstica
Hisopado rectal negativo para KPC	25	25	0	100 %
Hisopado rectal negativo para VIM	4	4	0	
Hisopado rectal positivo para OXA-48	1	1	0	
Hisopado rectal enriquecido con KPC (aislado de 207-1 KPC-3)	12	12	0	
Hisopado rectal enriquecido con KPC (aislado de B1 KPC-2)	12	11	1	
Hisopado rectal enriquecido con NDM (aislado de NDM-1)	12	12	0	
Hisopado rectal enriquecido con NDM (aislado de NDM-5)	12	12	0	
Hisopado rectal enriquecido con VIM (aislado de VIM-1)	12	12	0	
Hisopado rectal enriquecido con VIM (aislado de VIM-4)	12	12	0	
Hisopado rectal enriquecido con IMP (aislado de <i>K. pneumoniae</i> AR-Bank 0034)	12	12	0	
Hisopado rectal enriquecido con IMP (aislado de <i>E. coli</i> NCTC 13476)	12	12	0	
Hisopado rectal enriquecido con tipo OXA-48 (aislado de OXA-48)	12	12	0	
Hisopado rectal enriquecido con OXA-48 (aislado de OXA-232)	12	12	0	
Hemocultivo positivo para KPC	16	16	0	
Hemocultivo positivo para OXA-48	5	5	0	
Hemocultivo positivo para NDM	4	4	0	
Hemocultivo positivo para IMP	2	2	0	
Hemocultivo positivo para VIM	2	2	0	
Hemocultivo enriquecido con OXA-48	5	5	0	
Hemocultivo enriquecido con NDM	5	5	0	
Hemocultivo enriquecido con VIM	5	5	0	
Hemocultivo enriquecido con IMP	5	5	0	

NOTA!

Los datos y resultados completos de las pruebas realizadas para evaluar de las características de rendimiento del producto con las matrices y el instrumento se incluyen en la sección 7 de la documentación técnica del producto **CRE ELITE MGB® Kit**, FTP RTS200ING.

12 BIBLIOGRAFÍA

L. S. Tzouvelekis *et al.* (2012) *Clin. Microbiol. Rev.* 25(4): 682 - 707.

13 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Utilizar este producto únicamente con las siguientes muestras clínicas: hisopados rectales y hemocultivos

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

No utilizar muestras con un exceso de matriz fecal con este producto, pues las muestras con un alto nivel de turbidez inhiben la reacción de amplificación de ácidos nucleicos y pueden generar resultados no válidos.

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

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

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

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

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

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

Con el fin de evitar resultados falsos positivos, 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.

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 significa que el ADN de la diana no se ha detectado en el ADN extraído de la muestra, si bien no puede descartarse que el ADN de la diana presente un título inferior al límite de detección del producto (consultar la sección «Características de rendimiento» en la página 15). En este caso, el resultado puede ser un falso negativo.

Un resultado negativo después de un resultado previamente positivo puede o puede no indicar el éxito de la erradicación.

En ocasiones, los resultados obtenidos con este producto pueden resultar «no válidos» debido a un error en el Internal Control, por lo que pueden necesitar un nuevo análisis y dar lugar a retrasos en la obtención de los resultados finales.

Si bien son raros, los posibles polimorfismos en la región del genoma bacteriano cubierto por los cebadores y las sondas del producto pueden afectar negativamente a la detección.

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

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

14 PROBLEMAS Y SOLUCIONES

Tabla 25

Reacción no válida del Positive Control	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Revisar la posición de la PCR Mix y del Positive Control. Comprobar los volúmenes de la PCR Mix y del Positive Control.
Degradación de la PCR Mix.	No utilizar la PCR Mix durante más de 4 sesiones independientes: 3 horas en el bloque refrigerado de la «Inventory Area» (área del inventario) o en la «Cooler Unit». No dejar la PCR Mix a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. Utilizar una nueva alícuota de la PCR Mix.
Degradación de la Positive Control.	No utilizar el Positive Control para más de 4 sesiones independientes: 3 horas cada una en el área de extracción o en la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración). Utilizar una nueva alícuota de la Positive Control.
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Tabla 26

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

Tabla 27

Reacción no válida de la muestra	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la posición de la PCR Mix, la del Internal Control y la de la muestra. Comprobar el volumen de la PCR Mix, el del Internal Control y el de la muestra.
Degradación de la PCR Mix.	No utilizar la PCR Mix para más de 4 sesiones independientes: 3 horas cada una en la «Inventory Area» (área del inventario) o en la «Cooler Unit». No dejar la PCR Mix a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. Utilizar una nueva alícuota de la PCR Mix.
Degradación de la plantilla del Internal Control.	Utilizar una nueva alícuota del Internal Control.
Inhibición debida a la presencia de sustancias interferentes en la muestra.	Repetir la amplificación «tal cual» o con una dilución de 1:2 en agua para biología molecular de la muestra eluida en una sesión realizada en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR). Repetir la extracción con una dilución de 1:2 en agua para biología molecular de la muestra en una sesión realizada en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Tabla 28

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

Tabla 29

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

15 SÍMBOLOS



Número de catálogo.



Límite superior de temperatura.



Código de lote.



Fecha de caducidad (último día del mes).

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

Identificador único del producto



Contenido suficiente para <<N>> análisis.



Consulte las instrucciones de uso



Contenido.



Manténgase fuera de la luz del sol



Fabricante.

16 AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA

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

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

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

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

MGB®, Eclipse Dark Quencher®, AquaPhluor®, ELITe MGB®, el logotipo de ELITe MGB® logo, ELITe InGenius® y ELITe BeGenius® son marcas registradas de ELITechGroup en la Unión Europea.
eSwab® es una marca registrada de COPAN Italia S.p.A.

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



ATENCIÓN

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

USO PREVISTO

El producto **CRE ELITe MGB® Kit** es un producto sanitario para diagnóstico *in vitro* concebido para uso por parte de profesionales sanitarios como ensayo cualitativo de ácidos nucleicos mediante PCR en tiempo real para la detección de ADN de genes resistentes a los carbapenémicos* (KPC, NDM, VIM, IMP, tipo OXA-48) de enterobacterias.

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 hisopados rectales y de hemocultivos.

El producto se utiliza como ayuda en el diagnóstico y la detección de infecciones por enterobacterias positivas para los genes resistentes a los carbapenémicos, junto con los datos clínicos y los resultados de otras pruebas analíticas del paciente.

El producto también se utiliza para la caracterización de enterobacterias positivas para genes resistentes a los carbapenémicos en muestras de ADN extraídas de aislados de cultivos.

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

*Para ver la lista completa de las variantes de genes que se detectan mediante este producto, consultar la sección **11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO** page 20

Secuencia amplificada

Secuencia	Gen	Fluoróforo	Canal
Diana 1	Familia de genes KPC	FAM	KPC
Diana 2	Familia de genes NDM, VIM, IMP	AP593	NDM VIM IMP
Diana 3	Familia de genes tipo OXA-48	AP639	OXA
Internal Control	Secuencia artificial (IC2)	AP525	IC

Matriz validada

› Hisopado rectal
› Hemocultivo

Contenido del kit y productos relacionados

CRE ELITe MGB Kit (RTS200ING)		CRE- ELITe Positive Control (CTR200ING)	
 X 8		 X 3	
CRE PCR Mix 8 probetas de 280 µL 12 reacciones por probeta 96 reacciones por kit 4 ciclos de congelación/descongelación por cada probeta		CRE Positive Control 3 probetas de 160 µL 4 reacciones por probeta 12 reacciones por kit 4 ciclos de congelación/descongelación	
Período de estabilidad máximo:	24 meses	Período de estabilidad máximo	24 meses
Temperatura de almacenamiento	≤-20 °C	Temperatura de almacenamiento	≤-20 °C

Otros productos necesarios no proporcionados con el kit

› Instrumento ELITe InGenius: INT030. › Instrumento ELITe BeGenius: INT040. › ELITe InGenius SP 200: INT032SP200. Consumibles para el ELITe InGenius y el ELITe BeGenius (consulte las instrucciones de uso del ELITe InGenius y del ELITe BeGenius)	› CPE - Internal Control: CTRCPE › eNAT™ kit (Copan, ref.606CS01R), › FecalSwab™ (COPAN,, ref. 470CE)
--	---

Protocolo del ELITe InGenius y del ELITe BeGenius

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

Rendimiento del ELITE InGenius y de ELITE BeGenius

Matriz	Diana	Límite de detección	Sensibilidad	Especificidad
Hisopados rectales	KPC	99 ufc/mL	100 %	100 %
	NDM	144 ufc/mL		
	VIM	399 ufc/mL		
	IMP	273 ufc/mL		
	OXA-48	300 ufc/mL		
	OXA-181	179 ufc/mL		
Hemocultivo	KPC	N/A	100 %	95,5 %
	NDM	N/A		
	VIM	N/A		
	IMP	N/A		
	OXA-48	N/A		
	OXA-181	N/A		

N/A = no aplicable

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
Hemocultivo	-	≤24 horas	-	-	-
Hisopados rectales	recogidos en el eNAT™ kit	-	≤1 mes	≤6 meses	Períodos largos
Hisopados rectales	recogidos en el FecalSwab™ kit	-	≤3 días	-	-

Antes de realizar el análisis, diluir la muestra de hemocultivo en agua ultrapura en una proporción 1:1000 (al menos 10 µL de muestras en 10 mL de agua ultrapura), mezclarla en un vórtex y verter 0,2 mL de las muestras diluidas en un «Extraction Tube» (tubo de extracción), en el caso del instrumento ELITE InGenius, o en una probeta Sarstedt de 2 mL, en el caso del instrumento ELITE BeGenius.

Antes de realizar análisis del hisopado rectal, es necesario transferir 0,5 mL de medio FecalSwab™ a una probeta nueva de eNAT™ con 2,0 mL de medio que, a continuación, debe mezclarse en un vórtex. Después de añadir 0,5 ml de muestra en el medio de FecalSwab™, la probeta de eNAT™ puede cargarse directamente en el sistema como probeta primaria. Las muestras diluidas en medio eNAT™ pueden guardarse en las mismas condiciones que se indican en la tabla anterior.

Procedimientos con el ELiTe InGenius

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

Antes del análisis

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

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

1. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil.	2. Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL»; «Elution» (Elución): «100 µL»	3. Escanear los códigos de barras de las muestras con el lector de códigos de barras manual, o bien introducir directamente el ID de la muestra.
4. Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo): CRE ELiTe RcS_200_100 o CRE ELiTe BC_200_100	5. Seleccionar el método «Extract + PCR» (Extracción + PCR) y la posición de la muestra: «Extraction Tube» (Tubo de extracción)	6. Cargar la PCR Mix y el Internal Control en el «Inventory Block» (administrador de inventarios).
7. Cargar el PCR Cassette, los cartuchos de extracción ELiTe InGenius SP 200, así como todos los consumibles necesarios y las muestras que deben extraerse.	8. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	9. Consultar, aprobar y almacenar los resultados.

NOTA!

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

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

1. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil.	2. Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL»; «Elution» (Elución): «100 µL»	3. Escanear los códigos de barras de las muestras con el lector de códigos de barras manual, o bien introducir directamente el ID de la muestra.
4. Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo): CRE ELiTe RcS_200_100 o CREn ELiTe BC_200_100 o CRE ELiTe_PC o CRE ELiTe_NC	5. Seleccionar el método «PCR Only» (Solo PCR) y establecer la posición de la muestra «Elution Tube» (Tubo de elución).	6. Cargar la PCR Mix en el «Inventory Block» (administrador de inventarios).
7. Cargar el PCR Cassette, el cartucho de extracción, la «Elution Tube» (Tubo de elución), el cartucho de puntas y las gradillas de «Extraction Tube» (Tubo de extracción).	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 controles: Positive Control y Negative Control en el menú «Controls» (Controles). Nota: los dos tienen que haberse procesado y aprobado y no deben estar caducados.	3. Descongelar las probetas de PCR Mix y de CTRCPE . Agitar suavemente en un vórtex. Centrifugar durante 5 segundos.
---	--	---

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

1. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil y, a continuación, hacer clic en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	2. Insertar la «Sample Rack» (Rack de muestras) con las muestras dotadas de códigos de barras en la «Cooling Unit» (unidad de refrigeración). El escaneo de códigos de barras ya está activo.	3. Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL», «Eluate» (Eluido): «100 µL»
4. Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo): CRE ELITe_Be_RcS_200_100 o CRE ELITe_Be_BC_200_100 Nota: Si es necesario llevar a cabo una segunda extracción, repetir los pasos del 2 al 4.	5. Imprimir las etiquetas para incluir el código de barras correspondiente en los «Elution Tubes» (tubos de elución) vacíos. Cargar las probetas en la «Elution Rack» (rejilla de elución) e insertarla en la «Cooler Unit».	6. Cargar el PCR Mix y el Internal Control en la «Reagent Rack/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) e insertarla en la «Cooler Unit»
7. Cargar la «PCR Rack» (gradilla de PCR) 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, controles

1. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil y, a continuación, hacer clic en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).	2. Cargar el ácido nucleico extraído o las probetas con códigos de barras de los controles en la «Elution Rack» (rejilla de elución) e insertarla en la «Cooler Unit».	3. En el caso de los <u>controles</u>: para cada «Position» (Posición), introducir el «Reagent name» (nombre del reactivo), el «S/N» (número de serie) el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones). En el caso de los <u>eluidos</u>, 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): CRE ELITe_Be_RcS_200_100 o CRE ELITe_Be_BC_200_100 o CRE ELITe_Be_PC o CRE ELITe_Be_NC	5. Cargar la mezcla PCR Mix en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) e insertarla en la «Cooler Unit».	6. Cargar la «PCR Rack» (rejilla de PCR) con el PCR Cassette.
7. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	8. Consultar, aprobar y almacenar los resultados.	

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

