

Instructions for use

Coagulation ELITe MGB® Kit

Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real



REF RTSD00ING

UDI 08033891486204

CE
0123

IVD

HISTORIAL DE CAMBIOS

Rev.	Información del cambio	Fecha (dd/mm/aa)
09-R	Corrección de un error tipográfico en las tablas de pruebas de repetibilidad y reproducibilidad y en el texto introductorio de las pruebas: la mutación G1691A se había indicado erróneamente como asociada al FII de la coagulación en lugar de al FV, por lo que se invirtió con la mutación G20210A.	09/03/26
08-R	Modificación del producto RTSD00ING para la detección en formato singleplex en el caso de los analitos FII, FV y MTHFR y en formato duplex en el caso de los analitos FII a FV. Ampliación a 60 días de uso a partir de la primera apertura. Nuevo diseño de los gráficos y del contenido de las instrucciones de uso	27/08/25
07-R	Actualización para el cumplimiento de los requisitos del Reglamento (UE) 2017/746 del Parlamento Europeo y del Consejo sobre los productos sanitarios para diagnóstico <i>in vitro</i> . La composición y las características de rendimiento del producto no han cambiado.	20/08/24
05	Ampliación del uso con el instrumento ELITE BeGenius Descripción de valor de corte del IC ya adoptado en el Assay Protocol (protocolo de ensayo) del producto (sección «Concordancia diagnóstica: confirmación del genotipo de la muestra certificada»)	30/03/23
04	Actualización del valor de Ct del IC y del rango de Tm para el factor II y el factor V	24/05/22
03	Se han establecido condiciones más permisivas para el almacenamiento de muestras, que están en consonancia con la bibliografía disponible y no afectan a la seguridad ni al rendimiento del producto.	09/03/22
00-02	Desarrollo de un nuevo producto con los cambios consiguientes	—

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	8
9 PROCEDIMIENTO CON EL ELITe InGenius.....	10
10 PROCEDIMIENTO CON EL ELITe BeGenius	16
11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO	20
12 BIBLIOGRAFÍA	28
13 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO	29
14 PROBLEMAS Y SOLUCIONES	30
15 SÍMBOLOS.....	32
16 NOTA PARA LOS USUARIOS	33
17 AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA.....	33
Appendix A QUICK START GUIDE.....	34

1 USO PREVISTO

El producto **Coagulation ELiTe MGB® Kit** es un producto sanitario para diagnóstico *in vitro* concebido para su uso por parte de profesionales sanitarios como ensayo cualitativo de ácidos nucleicos mediante PCR en tiempo real para la determinación alélica de los tres locus siguientes:

- mutación G1691A (Leiden) del gen del factor V de la coagulación para el polimorfismo mononucleotídico (SNP),
- mutación G20210A del gen del factor II de la coagulación para el SNP,
- mutación C677T del gen de la 5,10-metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) para el SNP.

En los formatos singleplex, duplex (FII y FV) o triplex (FII, FV y MTHFR) en muestras de ADN genómico humano extraído de muestras clínicas.

El ensayo se ha validado con los instrumentos **ELiTe InGenius®** y **ELiTe BeGenius®**, que son sistemas automatizados e integrados para la extracción, la PCR en tiempo real y la interpretación de resultados utilizando muestras de sangre humana recogida en EDTA.

El producto está concebido para su uso como ayuda a la hora de evaluar el riesgo de sufrir una trombosis venosa profunda en pacientes en los que se sospecha la presencia de algún trastorno de la coagulación y de un riesgo elevado de desarrollar una trombosis venosa profunda.

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

2 PRINCIPIO DEL ENSAYO

Este es un ensayo cualitativo de PCR en tiempo real para la determinación alélica de las siguientes mutaciones: mutación G1691A (Leiden) del gen del factor V de la coagulación para el polimorfismo mononucleotídico (SNP), mutación G20210A del gen del factor II de la coagulación para el SNP y mutación C677T del gen de la 5,10-metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) para el SNP, en ADN aislado de muestras y amplificado mediante el reactivo del ensayo **52M PCR Mix**, que contiene cebadores y sondas con la tecnología ELiTe MGB.

Las sondas ELiTe MGB se activan cuando se hibridan con los productos de PCR relacionados. **ELiTe InGenius** y el **ELiTe BeGenius** controlan el aumento de fluorescencia y calculan los ciclos umbral (Ct). Al finalizar el ciclo de amplificación, el análisis de la curva de fusión permite identificar las temperaturas de fusión de las sondas, así como detectar la presencia de alelos sin mutar o mutados.

Las sondas ELiTe MGB y los fluoróforos se inactivan en el estado de espiral aleatoria («random-coiled») y monocatenario de la sonda. Los fluoróforos están activos en el dúplex de sonda/amplicón, pues el inhibidor se encuentra separado espacialmente del fluoróforo.

Cabe reseñar además que el fluoróforo no se escinde durante la PCR y puede utilizarse para el análisis de la disociación y para calcular la temperatura de fusión.

3 DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

El producto **Coagulation ELiTe MGB Kit** incluye el reactivo de ensayo **52M Q-PCR Mix**, que es una mezcla de PCR optimizada y estabilizada que contiene los cebadores y las sondas específicos para:

- La región correspondiente a la mutación G1691A (Leiden) del gen del factor V de la coagulación para el SNP, detectada en el canal **FV**; la sonda se estabiliza con la tecnología MGB®, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher® y se marca con el colorante AquaPhluor® 639 (AP639).
- La región correspondiente a la mutación G20210A del gen del factor II de la coagulación para el SNP, detectada en el canal **ChannelFII**; la sonda se estabiliza mediante la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher y se marca con el colorante FAM.
- La región correspondiente a la mutación C677T del gen MTHFR para el SNP, detectada en el canal **MTHFR**; la sonda se estabiliza mediante la técnica MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher® y se marca con el colorante AquaPhluor® 593 (AP593).

- El Internal Control (IC), basado en la secuencia del gen de **labeta globina humana**, detectado en el canal **IC**; 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 tinte AquaPhluor 525 (AP525).

La mezcla **52M PCR Mix** también contiene solución tampón, cloruro de magnesio, nucleótidos-trifosfatos y la enzima ADN polimerasa con activación térmica («hot-start»).

El producto **Coagulation 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.

4 MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

Tabla 1

Componente	Descripción	Cantidad	Clasificación de peligros
52M PCR Mix ref. RTSD00ING	Mezcla de reactivos para la PCR en tiempo real en una probeta con tapón de color natural	8×280 µL	-

5 MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

- Campana de flujo laminar.
- Guantes sin talco desechables de nitrilo o de otro material similar.
- Agitador vórtex.
- Centrifugadora de sobremesa (aproximadamente 5000 rpm).
- Centrifugadora de sobremesa (aproximadamente 13.000 rpm).
- Micropipetas y puntas estériles con filtro para aerosoles o puntas estériles de desplazamiento positivo (rango de volumen: 0,5–1000 µL).
- Probetas estériles de 2,0 mL con tapón roscado (Sarstedt, ref. 72.694.005).
- Probetas estériles de 0,5 mL con tapón roscado (ref. Sarstedt 72.730.005).
- Agua para biología molecular.

6 OTROS PRODUCTOS NECESARIOS

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

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

Tabla 2

Instrumentos y productos de software	Productos y reactivos
ELiTe InGenius (ELiTechGroup S. p. A., EG SpA, ref. INT030) ELiTe InGenius Software versión 1.3.0.19 (o posterior) 52M ELiTe_PC, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control. 52M ELiTe_NC, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Negative Control. 52M ELiTe_WB_200_200, Assay Protocol (Protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de las muestras de sangre 52M ELiTe_FII_WB_200_200, Assay Protocol (Protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de las muestras de sangre 52M ELiTe_FV_WB_200_200, Assay Protocol (Protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de las muestras de sangre 52M ELiTe_MTHFR_WB_200_200, Assay Protocol (Protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de las muestras de sangre 52M ELiTe_FVFII_WB_200_200, Assay Protocol (Protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de las muestras de sangre	Coagulation - ELiTe Positive Control (EG SpA, ref. CTRD00ING) ELiTe InGenius SP200 (EG SpA, ref. INT032SP200) ELiTe InGenius y ELiTe BeGenius Consumables (consulte las instrucciones de uso del ELiTe InGenius y del ELiTe BeGenius)
ELiTe BeGenius (EG SpA, ref. INT040) ELiTe BeGenius Software versión 2.3.0 (o posterior) 52M ELiTe_Be_PC, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control. 52M ELiTe_Be_NC, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Negative Control. 52M ELiTe_Be_WB_200_200, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de sangre 52M ELiTe_FII_Be_WB_200_200, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de sangre 52M ELiTe_FV_Be_WB_200_200, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de sangre 52M ELiTe_MTHFR_Be_WB_200_200, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de sangre 52M ELiTe_FVFII_Be_WB_200_200, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de sangre	

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)
52M PCR Mix	-20 °C o menos (protegido de la luz)	60 días	siete como máximo	Hasta siete sesiones independientes* de unas tres horas cada una o hasta 7 horas consecutivas (2 sesiones de unas 3 horas cada una y el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión)

*Con congelación intermedia

8 MUESTRAS Y CONTROLES

8.1 Muestras y protocolos de ensayo

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

Tabla 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
Sangre	EDTA	≤3 d	≤7 d	≤30 d	≤1 año

d: días; EDTA: ácido edético

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

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

Tabla 5 Protocolos de ensayo para Coagulation ELITE MGB Kit

Muestra	Instrumento	Nombre del protocolo de ensayo	Informe	Características
Sangre recogida en EDTA	ELITE InGenius	52M ELITE_WB_200_200 52M ELITE_FII_WB_200_200 52M ELITE_FV_WB_200_200 52M ELITE_MTHFR_WB_200_200 52M ELITE_FVFII_WB_200_200	Sin mutar/ heterocigó- tico/ homocigóti- co	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen del eluido de extracción 200 µL Internal Control: NO Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL
	ELITE BeGenius	52M ELITE_Be_WB_200_200 52M ELITE_FII_Be_WB_200_200 52M ELITE_FV_Be_WB_200_200 52M ELITE_MTHFR_Be_WB_200_200 52M ELITE_FVFII_Be_WB_200_200	Sin mutar/ heterocigó- tico/ homocigóti- co	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen del eluido de extracción 200 µL Internal Control: NO Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL

NOTA!

Verificar si la probeta primaria y el volumen de la muestra son compatibles con el ELITE InGenius o el ELITE BeGenius, siguiendo las instrucciones de uso del kit de extracción **ELITE InGenius SP200** (EG SpA, ref. INT032SP200).

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

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

NOTA!

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

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

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

8.2 Controles de PCR

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

- Para el Positive Control, utilizar el producto **Coagulation - ELITE Positive Control** (no incluido con este kit) con los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **52M ELITE_PC** o **52M 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) **52M ELITE_NC** o **52M 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 **Coagulation 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 **Coagulation ELITE MGB Kit** puede utilizarse con el **ELITE InGenius** para realizar las siguientes tareas:

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

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

NOTA!

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

Antes de configurar una sesión:

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

NOTA!

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

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

Tabla 7

	A. Sesión de la muestra «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	B. Sesión con la muestra eluida «PCR Only» (Solo PCR)	C. Sesión del Positive Control y del Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
1	Identificar las muestras, en caso necesario, descongelarlas a temperatura ambiente. En caso necesario, verter 200 µL de muestra en un «Extraction Tube» (tubo de extracción) previamente etiquetado.	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. Preparar el Negative Control vertiendo al menos 50 µL de agua para biología molecular en un «Elution Tube» (tubo de elución), que se incluye en el producto ELITE InGenius SP 200 Consumable Set .
2	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).
3	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 200 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 200 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 200 µL.

Tabla 7 (continued)

	A. Sesión de la muestra «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	B. Sesión con la muestra eluida «PCR Only» (Solo PCR)	C. Sesión del Positive Control y del Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
4	Para cada muestra, asignar un carril e introducir el «SampleID» o SID (ID de la muestra), ya sea rellenándolo directamente o escaneando su código de barras.	Para cada muestra, asignar un carril e introducir el «SampleID» o SID (ID de la muestra), ya sea rellenándolo directamente o escaneando su código de barras.	No aplicable
5	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».	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.
6	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).
7	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])
8	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
9	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.	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.
10	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
11	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) 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.
12	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
13	Cargar el PCR Cassette , los cartuchos de extracción ELITe InGeniusSP 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.
14	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
15	Cerrar la puerta del equipo.	Cerrar la puerta del equipo.	Cerrar la puerta del equipo.
16	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).

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

NOTA!

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

NOTA!

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

NOTA!

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

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 **Coagulation ELiTe MGB Kit** mediante el siguiente procedimiento:

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

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

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

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

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

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

NOTA!

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

NOTA!

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

9.3.2 Validación de los resultados de la muestra

El **ELITe InGenius Software** interpreta los resultados de la PCR para las dianas (canales **FV**, **FII** y **MTHFR**) y para el Internal Control (canal **IC**) con los parámetros de los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **52M ELITe_WB_200_200**, **52M ELITe_FII_WB_200_200**, **52M ELITe_FV_WB_200_200**, **52M ELITe_MTHFR_WB_200_200** o **52M ELITe_FVFI_WB_200_200**.

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
52M Positive Control	APROBADO
2) Negative Control	Estado
52M Negative Control	APROBADO

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

Para cada muestra, el sistema muestra una combinación de los mensajes siguientes, donde se especifica si se distinguen los alelos de las dianas, basándose en el Assay Protocol (protocolo de ensayo) seleccionado, es decir, singleplex, duplex o triplex.

Tabla 9

Resultado de la sesión de la muestra	Interpretación
FV:Wild-type for Factor V	La muestra tiene un genotipo sin mutar para el locus de la mutación G1691A del factor V para el SNP.
FV:Heterozygous for Factor V Leiden	La muestra presenta un genotipo heterocigótico con la mutación Leiden (G1691A) en el locus del gen del factor V para el SNP.
FV:Homozygous for Factor V Leiden	La muestra presenta un genotipo homocigótico con la mutación Leiden (G1691A) en el locus del gen del factor V para el SNP.

Tabla 9 (continued)

Resultado de la sesión de la muestra	Interpretación
FII:Wild-type for Factor II	La muestra tiene un genotipo sin mutar en el locus de la mutación G20210A del factor II para el SNP.
FII:Heterozygous for Factor II 20210A	La muestra tiene un genotipo heterocigótico mutado (20210A) en el locus de la mutación G20210A del factor II para el SNP.
FII:Homozygous for Factor II 20210A	La muestra tiene un genotipo homocigótico mutado (20210A) en el locus de la mutación G20210A del factor II para el SNP.
MTHFR:Wild-type for MTHFR	La muestra tiene un genotipo sin mutar en el locus de la mutación C677T del gen MTHFR para el SNP.
MTHFR:Heterozygous for MTHFR 677T	La muestra tiene un genotipo heterocigótico mutado (677T) en el locus de la mutación C677T del gen MTHFR para el SNP.
MTHFR:Homozygous for MTHFR 677T	La muestra tiene un genotipo homocigótico mutado (677T) en el locus de la mutación C677T del gen MTHFR para el SNP.
IC:Valid Sample	La muestra tiene un valor de Ct del IC inferior a 26,5 y es válida.
Inconclusive-Retest Sample	El resultado del ensayo no es concluyente debido a un problema con la muestra.
Invalid-Retest Sample (No válido-Volver a probar muestra)	Resultado no válido del ensayo causado por un fallo en el Internal Control (p. ej., debido a una extracción incorrecta o al arrastre de inhibidores). Es necesario repetir la prueba.

Las muestras notificadas como «Inconclusive–Retest Sample» no son aptas para la interpretación de los resultados, pues no ha sido posible detectar la temperatura de fusión (Tm) de los alelos sin mutar y mutados. En este caso, el análisis de la curva de disociación no se ha llevado a cabo correctamente debido a problemas con la muestra (arrastre de inhibidores en el eluido o presencia de otros SNP interferentes), lo que puede dar lugar a resultados incorrectos.

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

Si queda un volumen de eluido suficiente, dicho eluido puede volver a analizarse (tal cual o diluido) con una sesión de amplificación en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR). Si se produce un segundo resultado no válido, la muestra debe volver a analizarse a partir del paso de extracción de una nueva muestra utilizando el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR); consultar la sección «[14 PROBLEMAS Y SOLUCIONES page 30](#)».

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.

NOTA!

Nota: a la hora de aprobar los resultados del ensayo, verificar siempre el resultado del instrumento consultando los gráficos de la curva de fusión que se muestran en el informe de la sesión de trabajo. Las temperaturas de fusión (Tm) de los alelos sin mutar o mutados de cada gen del análisis tienen que coincidir con los picos mostrados en los gráficos de la curva de fusión.

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

9.3.3 Generación del informe de los resultados de la muestra

- Los resultados de la muestra se guardan en la base de datos y los informes pueden exportarse como «Sample Report» y como «Track Report».
- El «Sample Report» muestra los detalles de los resultados ordenados por la muestra seleccionada (SID).
- El «Track Report» muestra los detalles de los resultados ordenados por el carril seleccionado.
- El personal autorizado puede imprimir y firmar el «Sample Report» y el «Track Report».

10 PROCEDIMIENTO CON EL ELITE BeGenius

El procedimiento para utilizar el producto **Coagulation 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 **Coagulation ELITE MGB Kit** puede utilizarse con el instrumento **ELITE BeGenius** para realizar las siguientes tareas:

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

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

NOTA!

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

Antes de configurar una sesión:

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

NOTA!

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

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

Tabla 11

	A. Sesión de la muestra «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	B. Sesión con la muestra eluida «PCR Only» (Solo PCR)	C. Sesión del Positive Control y del Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
1	Identificar las muestras , en caso necesario, descongelar a temperatura ambiente. En caso necesario, verter 200 µL de muestra en una probeta Sarstedt de 2 mL previamente etiquetada.	Descongelar el «Elution Tube» (tubo de elución) que contiene los ácidos nucleicos extraídos a temperatura ambiente. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.	Descongelar las probetas de Positive Control a temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para 4 reacciones. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Preparar el Negative Control vertiendo al menos 50 µL de agua para biología molecular en el «Elution Tube» (tubo de elución) que se incluye con el producto ELiTe InGeniusSP 200 Consumable Set .
2	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).
3	Extraer todas las gradillas de la «Cooler Unit» y colocarlas en la mesa de preparación.	Extraer las racks de los «Lanes» 1, 2 y 3 (L1, L2, L3) de la «Cooler Unit» y colocarlas en la 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.
4	Seleccionar el «Run Mode»: «Extract + PCR» (Extracción + PCR) .	Seleccionar el «Run Mode»: «PCR Only» (Solo PCR) .	Seleccionar el «Run Mode»: «PCR Only» (Solo PCR) .
5	Cargar las muestras en la «Sample Rack» (rack de muestras). Cuando se cargan probetas secundarias «2 mL 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).

Tabla 11 (continued)

	A. Sesión de la muestra «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	B. Sesión con la muestra eluida «PCR Only» (Solo PCR)	C. Sesión del Positive Control y del Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
6	Insertar el «Sample Rack» (rack de muestras) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 5 (L5). En caso necesario, insertar el «SID» (ID de la muestra) para posición utilizada (si las probetas secundarias están cargadas, marcar la probeta de 2 mL («2 mL Tube»). Si las probetas secundarias no tienen códigos de barras, introducir manualmente el ID de las muestras.	Insertar la «Elution Rack» (rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). En caso necesario, para cada «Position» (Posición), introducir el «SID» (ID de la muestra), la «Sample matrix» (matriz de la muestra), el «Extraction Kit» (kit de extracción), el «Extracted Eluate Volume» (volumen de elución extraído) y el Internal Control.	Insertar la «Elution Rack» (rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). En caso necesario, para cada «Position» introducir el «Reagent name» (nombre del reactivo), el «S/N» (número de serie) el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).
7	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
8	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 200 µL.	No aplicable	No aplicable
9	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».
10	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	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
11	Cargar los «Elution Tubes» (Tubos de elución) en la «Elution Rack» (rejilla de elución); las probetas de elución pueden etiquetarse con un código de barras para mejorar la rastreabilidad.	No aplicable	No aplicable
12	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
13	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	No aplicable	No aplicable
14	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).	Cargar la PCR Mix en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución).

Tabla 11 (continued)

	A. Sesión de la muestra «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	B. Sesión con la muestra eluida «PCR Only» (Solo PCR)	C. Sesión del Positive Control y del Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
15	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 cadaPCR Mixo 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 cadaPCR Mixo 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 cadaPCR Mixo 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).
16	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
17	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.
18	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
19	Cargar la «PCR Rack» (gradilla de PCR) con elPCR Cassetteen la «Inventory Area» (área del inventario).	Cargar la «PCR Rack» (gradilla de PCR) con elPCR Cassetteen la «Inventory Area» (área del inventario).	Cargar la «PCR Rack» (gradilla de PCR) con elPCR Cassetteen la «Inventory Area» (área del inventario).
20	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
21	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
22	Cerrar la puerta del equipo.	Cerrar la puerta del equipo.	Cerrar la puerta del equipo.
23	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).

Una vez finalizada la sesión, elELITe BeGeniuspermite 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, laPCR Mixpuede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a -20 °C o a una temperatura inferior, o bien mantenerse en el bloque refrigerado durante un máximo de 7 horas (2 sesiones de 3 horas cada una y el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión). Mezclar con cuidado y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos antes de iniciar la siguiente sesión.

NOTA!

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

NOTA!

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

NOTA!

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

10.3 PASO 3. Evaluación y aprobación de los resultados

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

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

NOTA!

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

El instrumento **ELITE BeGenius** genera los resultados con el producto **Coagulation 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

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica del producto **Coagulation ELITE MGB Kit** se determinó en el **ELITE InGenius** utilizando el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR) y se verificó en el **ELITE BeGenius** utilizando el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR), mediante el análisis de tres muestras (sin mutar, heterocigótica y homocigótica), en 4 duplicados con aproximadamente 70 ng por reacción, que se enriquecieron con paneles de ADN genómico humano certificado para los factores V y II (reactivo de referencia de la OMS para la mutación Leiden del factor V, ADN genómico humano, Primer panel genético internacional, NIBSC, Reino Unido, código 04/224, y reactivo de referencia de la OMS para la mutación G20210A de la protrombina, ADN genómico humano, Primer panel genético internacional, NIBSC, Reino Unido, código 05/130).

La sensibilidad analítica permite identificar la presencia de aproximadamente 20 000 moléculas del ADN diana (correspondiente a los genomas de aproximadamente 10 000 células o aproximadamente 70 ng de ADN genómico humano) en 20 μL de ADN extraído en la reacción.

Eficacia de detección (inclusividad)

La inclusividad del ensayo, expresado como la eficacia de la detección de los genes del factor V, del factor II y de la MTHFR, se evaluó mediante un análisis informático. El análisis demostró un alto nivel de conservación de la secuencia y la ausencia de mutaciones reseñables. Así pues, cabe esperar una amplificación y una detección eficaces.

Las sondas fluorescentes permiten detectar los alelos de los genes del factor V, del factor II y de la MTHFR que se muestran en la tabla siguiente. Los límites de los intervalos de T_m relacionados para el ELiTe InGenius y el ELiTe BeGenius se calcularon analizando los datos obtenidos en los estudios de verificación y validación y los intervalos de T_m utilizados se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 12

Gen	Alelo detectado	Intervalo de T _m	
		ELiTe InGenius	ELiTe BeGenius
Factor V	Alelo 1691G (sin mutar)	53,0 °C–57,0 °C	52,5 °C–56,5 °C
	Alelo 1691A (mutación Leiden)	61,0 °C–65,0 °C	59,5 °C–63,5 °C
Factor II	Alelo 20210G (sin mutar)	56,0 °C–61,0 °C	55,0 °C–60,0 °C
	Alelo 20210A (mutado)	64,0 °C–69,0 °C	63,0 °C–68,0 °C
MTHFR	Alelo 677C de la MTHFR (sin mutar)	55,0 °C–59,0 °C	54,0 °C–58,0 °C
	Alelo 677T de la MTHFR (mutado)	64,0 °C–68,0 °C	63,0 °C–67,0 °C

Especificidad analítica

La especificidad analítica de este ensayo, expresada como la capacidad de no identificar como factor II mutado para el SNP G20210A el gen mutado para el SNP C20209T, se verificó utilizando un ADN plasmídico que contenía el amplicón del factor II con el nucleótido sin mutar (G) en la posición 20210 y el nucleótido mutado (T) en la posición 20209.

Además, la especificidad analítica se verificó para los siguientes SNP poco frecuentes que se describen en las publicaciones científicas. Se trata de SNP raros que se encuentran cerca de los SNP de interés:

Tabla 13

Gen	SNP raro analizado
Factor V	G1689A, C1690T, A1692C, A1696G
Factor II	A20207C, A20218G, T20219A, C20221T
MTHFR	C678A, G679A, C684G

La especificidad analítica se verificó utilizando ADN plasmídicos que contenían la región amplificada de los genes del factor V, del factor II y de la MTHFR con el nucleótido sin mutar en los SNP de interés y el nucleótido mutado en los SNP del análisis.

Las muestras simuladas que contenían aproximadamente 80.000 copias de ADN plasmídico se evaluaron en 6 duplicados (en 24 duplicados en el caso de SNP C20209T) utilizando el ELiTe InGenius. Todos los duplicados obtuvieron un resultado «no concluyente» o se determinaron correctamente. Ninguna muestra mutada para los SNP raros del análisis obtuvo un resultado heterocigótico ni homocigótico mutado para los SNP de interés.

Los SNP que se encuentran dentro de la región de hibridación de la muestra pueden interferir en la detección del SNP de interés y dar lugar a un «falso resultado homocigótico mutado» cuando se producen junto con la mutación del SNP de interés en el otro alelo.

Microorganismos potencialmente interferentes: reactividad cruzada

La reactividad cruzada potencial con otros microorganismos imprevistos que pueden encontrarse en muestras clínicas de sangre se evaluó mediante un análisis informático de las secuencias disponibles en las bases de datos de nucleótidos. El análisis demostró ausencia de homologías reseñables, por lo que no cabe esperar que exista una reactividad cruzada causada por microorganismos potencialmente interferentes.

Microorganismos potencialmente interferentes: inhibición

La posible inhibición causada por otros microorganismos imprevistos que pueden encontrarse en muestras clínicas de sangre se evaluó mediante un análisis informático de las secuencias disponibles en las bases de datos de nucleótidos.

El análisis demostró ausencia de homologías reseñables, por lo que no cabe esperar que exista una inhibición causada por microorganismos potencialmente interferentes.

Sustancias interferentes

El efecto de las sustancias potencialmente interferentes se evaluó analizando una muestra de sangre recogida en EDTA, con genotipo heterocigótico para los tres genes de interés, y enriquecida con las siguientes sustancias potencialmente interferentes:

Los resultados se resumen en la tabla siguiente.

Tabla 14

Muestra	Genotipo FV het/FII het/MTHFR het	Resultado
«Control»	3/3	Sin interferencia
Ciclosporina A	3/3	Sin interferencia
Ganciclovir	3/3	Sin interferencia
Heparina	3/3	Sin interferencia
EDTA	3/3	Sin interferencia
Ibuprofeno	3/3	Sin interferencia
Triglicéridos	3/3	Sin interferencia
Ampicilina	3/3	Sin interferencia
Bilirrubina	3/3	Sin interferencia

Repetibilidad

La repetibilidad dentro de las sesiones y entre sesiones de los resultados obtenidos con el producto **Coagulation ELiTe MGB Kit** y los instrumentos ELiTe InGenius y ELiTe BeGenius se evaluó mediante el análisis de un panel de sangre recogida en EDTA, que incluía una muestra con genotipo heterocigótico para cada diana, a saber, mutación G20210A del gen del factor II (FII) de la coagulación para el SNP, mutación G1691A heterocigótica (Leiden) del gen del factor V (FV) de la coagulación para el SNP y mutación C677T del gen MTHFR para el SNP.

En las tablas siguientes se incluye un ejemplo de los resultados de repetibilidad dentro de las sesiones obtenidos con el ELiTe InGenius.

Tabla 15 Repetibilidad dentro de las sesiones con el ELITE InGenius

Muestra del panel	Diana	N	Ct medio	%CV de Ct
Mutación G20210A del gen FII para el SNP, genotipo heterocigótico	IC	8	22,07	0,41
Mutación G1691A del gen FV para el SNP, genotipo heterocigótico		8	22,91	0,76
MTHFR SNP C677T, genotipo heterocigótico		8	22,02	1,22

Tabla 16 Repetibilidad dentro de las sesiones con el ELITE InGenius

Muestra del panel	Alelo	N	Tm media	%CV de Ct
Mutación G20210A del gen FII para el SNP, genotipo heterocigótico	Factor II sin mutar	8	58,19	0,207
	Factor II mutado	8	65,66	0,051
Mutación G1691A del gen FV para el SNP, genotipo heterocigótico	Factor V sin mutar	8	55,18	0,048
	Factor V mutado	8	62,31	0,120
MTHFR SNP C677T, genotipo heterocigótico	MTHFR sin mutar	8	56,73	0,183
	MTHFR mutada	8	65,90	0,169

En las tablas siguientes se incluye un ejemplo de los resultados de repetibilidad entre las sesiones obtenidos con el ELITE InGenius.

Tabla 17 Repetibilidad entre sesiones con el ELITE InGenius

Muestra del panel	Diana	N	Ct medio	%CV de Ct
Mutación G20210A del gen FII para el SNP, genotipo heterocigótico	IC	16	22,12	1,12
Mutación G1691A del gen FV para el SNP, genotipo heterocigótico		16	22,91	0,75
Mutación C677T del gen MTHFR para el SNP, genotipo heterocigótico		16	22,10	1,36

Tabla 18 Repetibilidad entre sesiones con el ELITE InGenius

Muestra del panel	Alelo	N	Tm media	%CV de Ct
Mutación G20210A del gen FII para el SNP, genotipo heterocigótico	Factor II sin mutar	16	58,18	0,182
	Factor II mutado	16	65,78	0,258
Mutación G1691A del gen FV para el SNP, genotipo heterocigótico	Factor V sin mutar	16	55,18	0,064
	Factor V mutado	16	62,31	0,116
MTHFR SNP C677T, genotipo heterocigótico	MTHFR sin mutar	16	56,73	0,211
	MTHFR mutada	16	65,96	0,257

En las tablas siguientes se incluye un ejemplo de los resultados de repetibilidad dentro de las sesiones obtenidos con el ELITE BeGenius.

Tabla 19 Repetibilidad dentro de las sesiones con el ELITE BeGenius

Muestra del panel	Diana	N	Ct medio	%CV de Ct
Mutación G20210A del gen FII para el SNP, genotipo heterocigótico	IC	8	22,35	1,90
Mutación G1691A del gen FV para el SNP, genotipo heterocigótico		8	22,95	2,20
MTHFR SNP C677T, genotipo heterocigótico		8	22,40	1,28

Tabla 20 Repetibilidad dentro de las sesiones con el ELITE BeGenius

Muestra del panel	Alelo	N	Tm media	%CV de Ct
Mutación G20210A del gen FII para el SNP, genotipo heterocigótico	Factor II sin mutar	8	57,64	0,392
	Factor II mutado	8	65,21	0,150
Mutación G1691A del gen FV para el SNP, genotipo heterocigótico	Factor V sin mutar	8	54,84	0,120
	Factor V mutado	8	61,56	0,242
MTHFR SNP C677T, genotipo heterocigótico	MTHFR sin mutar	8	56,29	0,174
	MTHFR mutada	8	65,30	0,116

En las tablas siguientes se incluye un ejemplo de los resultados de repetibilidad entre las sesiones obtenidos con el ELITE BeGenius.

Tabla 21 Repetibilidad entre sesiones con el ELITE BeGenius

Muestra del panel	Diana	N	Ct medio	%CV de Ct
Mutación G20210A del gen FII para el SNP, genotipo heterocigótico	IC	16	22,26	1,58
Mutación G1691A del gen FV para el SNP, genotipo heterocigótico		16	23,10	2,02
Mutación C677T del gen MTHFR para el SNP, genotipo heterocigótico		16	22,45	1,75

Tabla 22 Repetibilidad entre sesiones con el ELITE BeGenius

Muestra del panel	Alelo	N	Tm media	%CV de Ct
Mutación G20210A del gen FII para el SNP, genotipo heterocigótico	Factor II sin mutar	16	57,71	0,494
	Factor II mutado	16	65,24	0,119
Mutación G1691A del gen FV para el SNP, genotipo heterocigótico	Factor V sin mutar	16	54,82	0,131
	Factor V mutado	16	61,60	0,218
MTHFR SNP C677T, genotipo heterocigótico	MTHFR sin mutar	16	56,29	0,273
	MTHFR mutada	16	65,28	0,099

La repetibilidad obtenida en los instrumentos ELITE InGenius y ELITE BeGenius con el producto Coagulation ELITE MGB Kit presentó una variabilidad máxima de los valores de Ct del IC y de la Tm de las dianas con un % CV inferior al 5 %.

Reproducibilidad

La repetibilidad dentro de las sesiones y entre sesiones de los resultados obtenidos con el producto **Coagulation ELITE MGB Kit** y los instrumentos ELITE InGenius y ELITE BeGenius se evaluó mediante el análisis de un panel de sangre recogida en EDTA, que incluía una muestra de genotipo heterocigótico para cada diana, a saber, mutación G20210A (Leiden) del gen del factor II (FII) de la coagulación para el SNP, mutación G1691A del gen del factor V (FV) para el SNP y mutación C677T del gen MTHFR para el SNP.

La repetibilidad entre lotes y entre instrumentos de los resultados obtenidos con el producto **Coagulation ELITE MGB Kit** y los instrumentos ELITE InGenius y ELITE BeGenius se evaluó mediante el análisis de un panel de sangre recogida en EDTA, que incluía una muestra con genotipo heterocigótico para cada diana, a saber, mutación G20210A del gen del factor II (FII) de la coagulación para el SNP, mutación G1691A heterocigótica (Leiden) del gen del factor V (FV) de la coagulación para el SNP y y mutación C677T del gen MTHFR para el SNP.

Los resultados se resumen en las tablas siguientes.

Tabla 23 Reproducibilidad entre lotes con el ELITE InGenius

Muestra del panel	Diana	N	Ct medio	%CV de Ct
Mutación G20210A del gen FII para el SNP, genotipo heterocigótico	IC	16	22,28	1,28
Mutación G1691A del gen FV para el SNP, genotipo heterocigótico		16	22,46	2,58
MTHFR SNP C677T, genotipo heterocigótico		16	23,14	1,47

Tabla 24 Reproducibilidad entre lotes con el ELITE InGenius

Muestra del panel	Alelo	N	Tm media	%CV de Ct
Mutación G20210A del gen FII para el SNP, genotipo heterocigótico	Factor II sin mutar	16	58,1	0,23
	Factor II mutado	16	65,7	0,12
Mutación G1691A del gen FV para el SNP, genotipo heterocigótico	Factor V sin mutar	16	55,1	0,10
	Factor V mutado	16	62,3	0,13
MTHFR SNP C677T, genotipo heterocigótico	MTHFR sin mutar	16	56,6	0,32
	MTHFR mutada	16	65,8	0,22

Tabla 25 Reproducibilidad entre instrumentos con el ELITE InGenius

Muestra del panel	Diana	N	Ct medio	%CV de Ct
Mutación G20210A del gen FII para el SNP, genotipo heterocigótico	IC	16	22,38	1,53
Mutación G1691A del gen FV para el SNP, genotipo heterocigótico		16	22,45	2,34
MTHFR SNP C677T, genotipo heterocigótico		16	23,13	1,27

Tabla 26 Reproducibilidad entre instrumentos con el ELITE InGenius

Muestra del panel	Alelo	N	Tm media	%CV de Ct
Mutación G20210A del gen FII para el SNP, genotipo heterocigótico	Factor II sin mutar	16	58,1	0,27
	Factor II mutado	16	65,6	0,12
Mutación G1691A del gen FV para el SNP, genotipo heterocigótico	Factor V sin mutar	16	55,1	0,21
	Factor V mutado	16	62,2	0,16
MTHFR SNP C677T, genotipo heterocigótico	MTHFR sin mutar	16	56,6	0,35
	MTHFR mutada	16	65,7	0,28

Tabla 27 Reproducibilidad entre lotes con el ELITE BeGenius

Muestra del panel	Diana	N	Ct medio	%CV de Ct
Mutación G20210A del gen FII para el SNP, genotipo heterocigótico	IC	16	22,42	1,72
Mutación G1691A del gen FV para el SNP, genotipo heterocigótico		16	22,60	1,99
MTHFR SNP C677T, genotipo heterocigótico		16	22,80	2,20

Tabla 28 Reproducibilidad entre lotes con el ELITE BeGenius

Muestra del panel	Alelo	N	Tm media	%CV de Ct
Mutación G20210A del gen FII para el SNP, genotipo heterocigótico	Factor II sin mutar	16	57,6	0,29
	Factor II mutado	16	65,2	0,11
Mutación G1691A del gen FV para el SNP, genotipo heterocigótico	Factor V sin mutar	16	54,8	0,11
	Factor V mutado	16	61,5	0,24
MTHFR SNP C677T, genotipo heterocigótico	MTHFR sin mutar	16	56,2	0,27
	MTHFR mutada	16	65,2	0,28

Tabla 29 Reproducibilidad entre instrumentos con el ELITE BeGenius

Muestra del panel	Diana	N	Ct medio	%CV de Ct
Mutación G20210A del gen FII para el SNP, genotipo heterocigótico	IC	16	22,51	1,60
Mutación G1691A del gen FV para el SNP, genotipo heterocigótico		16	22,63	1,68
Mutación C677T del gen MTHFR para el SNP, genotipo heterocigótico		16	23,15	1,83

Tabla 30 Reproducibilidad entre instrumentos con el ELITE BeGenius

Muestra del panel	Alelo	N	Tm media	%CV de Ct
Mutación G20210A del gen FII para el SNP, genotipo heterocigótico	Factor II sin mutar	16	57,7	0,45
	Factor II mutado	16	65,2	0,13
Mutación G1691A del gen FV para el SNP, genotipo heterocigótico	Factor V sin mutar	16	54,8	0,16
	Factor V mutado	16	61,6	0,23
MTHFR SNP C677T, genotipo heterocigótico	MTHFR sin mutar	16	56,2	0,30
	MTHFR mutada	16	65,3	0,17

La reproducibilidad obtenida en los instrumentos ELITE InGenius y ELITE BeGenius con el producto Coagulation ELITE MGB Kit presentó una variabilidad máxima de los valores de Ct del IC y de la Tm de las dianas con un % CV inferior al 5 %.

Robustez: análisis de contaminación cruzada

La ausencia de contaminación cruzada se verificó analizando 6 duplicados de muestras de sangre que se alternaron con 6 duplicados de agua de grado de biología molecular utilizando el producto **Coagulation ELITE MGB Kit** en ELITE InGenius.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente.

Tabla 31

Muestras	N	Genotipo			IC
		FII het	MTHFR sin mutar	FV sin mut	Ct <26,5
Sangre recogida en EDTA	30	30/30	30/30	30/30	30/30
Agua para biología molecular	30	N/A	N/A	N/A	0/30

El ensayo calificó como «No válida» cualquier muestra de agua analizada que mostrara ausencia de contaminación cruzada.

Concordancia diagnóstica: confirmación del genotipo de la muestra certificada

La concordancia diagnóstica de este ensayo, expresada como la capacidad para identificar correctamente el genotipo de la muestra certificada, se evaluó analizando en el ELITE InGenius

Los resultados se resumen en las tablas siguientes.

Tabla 32

Genotipo de la muestra: Factor V G1691A	N	Sin mutar	Heterocigótico	Homocigótico	Concordancia Concordancia	Concordancia Concordancia
Sin mutar	108	108	0	0	100 %	100 %
Heterocigótico	57	0	57	0	100 %	
Mutado homocigótico	53	0	0	53	100 %	

En la distinción de los alelos del locus de la mutación G1691A del factor V para el SNP, el ensayo devolvió resultados coincidentes para todas las muestras analizadas. En este análisis, el acuerdo total de diagnóstico para el locus de la mutación G1691A del factor V para el SNP fue del 100 %.

Tabla 33

Genotipo de la muestra: mutación G20210A del factor II	N	Sin mutar	Heterocigóti- co	Homocigótico	Concordancia Concordancia	Concordancia Concordancia
Sin mutar	160	160	0	0	100 %	100 %
Heterocigótico	59	0	59	0	100 %	
Mutado homocigótico (simulado)	56	0	0	56	100 %	

En la determinación alélica del locus de la mutación G20210A del factor II para el SNP, el ensayo devolvió resultados coincidentes para todas las muestras analizadas. En este análisis, la concordancia diagnóstica global para el locus de la mutación G20210A del factor II fue del 100 %.

Tabla 34

Genotipo de la muestra: MTHFR C677T	N	Sin mutar	Heterocigóti- co	Homocigótico	Concordancia Concordancia	Concordancia Concordancia
Sin mutar	63	63	0	0	100 %	100 %
Heterocigótico	136	0	136	0	100 %	
Mutado homocigótico	19	0	0	19	100 %	
Mutado homocigótico (simulado)	36	0	0	36		

En la determinación alélica del locus de la mutación C677T de la MTHFR para el SNP, el ensayo devolvió resultados coincidentes para todas las muestras analizadas. En este análisis, la concordancia diagnóstica global para el locus de la mutación C677T de la MTHFR fue del 100 %.

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, el rendimiento diagnóstico del ensayo obtenido con el ELiTe InGenius también es aplicable al ELiTe BeGenius.

El valor de corte para el Ct del Internal Control (Ct del IC) se estableció a 26,5 para el ELiTe InGenius y el ELiTe BeGenius.

NOTA!

Los datos y resultados completos de las pruebas realizadas para evaluar las características de rendimiento del producto con las matrices y el equipo se incluyen en la documentación técnica del producto **Coagulation ELiTe MGB Kit**, FTP RTSD00ING

12 BIBLIOGRAFÍA

Voorberg, J. *et al.* (1994) *The Lancet* 343: 1535 - 1536.

Baker, R. *et al.* (1994) *The Lancet* 344: 1162.

Poort, S. R. *et al.* (1996) Blood 88: 3698 - 3703.

Kluijtmans L. A. *et al.* (1996) Am J Hum Genet 58: 35 - 41.

Cattaneo M. *et al.* (1997) Arterioscler Thromb Vasc Biol. 17: 1662-1666

13 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Utilizar este producto únicamente con muestras clínicas sangre recogida en EDTA.

No se dispone de datos sobre el rendimiento del producto con ADN extraído de las siguientes muestras clínicas: saliva

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, los Positive Control y los propios productos de la PCR. La contaminación cruzada provoca una falsa detección del alelo de la diana. 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 para evitar resultados con detección falsa de los resultados de los alelos de las dianas.

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

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

Un resultado con ausencia de detección para el alelo de la diana obtenido con este producto indica que no se ha detectado ADN de la diana en el ADN extraído de la muestra, si bien no puede descartarse que el ADN de la diana presente un título inferior al límite de detección del producto (consultar la sección «[11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO](#) page 20»). En este caso, el resultado puede ser no concluyente.

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

Un resultado no válido o no concluyente obtenido con este producto significa que no ha sido posible detectar correctamente el ADN genómico de la muestra ni las temperaturas de disociación de los alelos. En este caso, el análisis de la muestra debe repetirse con un posible retardo en la obtención de los resultados.

Asimismo, los posibles polimorfismos existentes en la región del ADN diana cubierto por los cebadores y las sondas del producto pueden afectar negativamente a la detección del ADN diana y dar lugar a resultados incorrectos.

Como con cualquier otro producto sanitario para diagnóstico, los resultados obtenidos con este producto deben interpretarse teniendo en cuenta todos 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 35

Reacción no válida del Positive Control	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Revisar la posición de la PCR Mix y del Positive Control. Comprobar los volúmenes de la PCR Mix y del Positive Control.
Degradación de la PCR Mix.	No utilizar la PCR Mix durante más de 7 sesiones independientes: 3 horas en el bloque refrigerado de la «Inventory Area» (área del inventario) o en la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración). No utilizar la PCR Mix durante más de 3 sesiones consecutivas: 7 horas en el bloque refrigerado de la «Inventory Area» (área del inventario) o en la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración). No dejar la PCR Mix a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. Utilizar una nueva alícuota de la PCR Mix.
Degradación de la Positive Control.	No utilizar el Positive Control para más de 4 sesiones independientes: 3 horas cada una en el área de extracción o en la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración). Utilizar una nueva alícuota de la Positive Control.
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELiTechGroup.

Tabla 36

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 37

Reacción no válida o no concluyente de la muestra	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la posición de la PCR Mix y de la muestra. Comprobar los volúmenes de la PCR Mix y de la muestra.
Degradación de la PCR Mix.	No utilizar la PCR Mix para más de 7 sesiones independientes: 3 horas cada una en la «Inventory Area» (área del inventario) o en la «Cooler Unit». No utilizar la PCR Mix durante más de 3 sesiones consecutivas: 7 horas en el bloque refrigerado de la «Inventory Area» (área del inventario) o en la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración). No dejar la PCR Mix a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. Utilizar una nueva alícuota de la PCR Mix.
Inhibición debida a la presencia de sustancias interferentes en la muestra.	Repetir la amplificación con una dilución de 1:2 en agua para biología molecular de la muestra eluida en una sesión en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR). Repetir la extracción con una dilución de 1:2 en agua para biología molecular de la muestra en una sesión realizada en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Tabla 38

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

Tabla 39

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 40

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 PCR Mix.

15 SÍMBOLOS



Número de catálogo.



Límite superior de temperatura.



Código de lote.



Fecha de caducidad (último día del mes).

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

Identificador único del producto



Contenido suficiente para <<N>> análisis.



Consulte las instrucciones de uso



Contenido.



Manténgase fuera de la luz del sol



Fabricante.

16 NOTA PARA LOS USUARIOS

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

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

17 AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA

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

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

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

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

Appendix A Coagulation 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 **Coagulation ELITE MGB® Kit** es un producto sanitario para diagnóstico *in vitro* concebido para su uso por parte de profesionales sanitarios como ensayo cualitativo de ácidos nucleicos mediante PCR en tiempo real para la determinación alélica de los tres locus siguientes:

- mutación G1691A (Leiden) del gen del factor V de la coagulación para el polimorfismo mononucleotídico (SNP),
- mutación G20210A del gen del factor II de la coagulación para el SNP,
- mutación C677T del gen de la 5,10-metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) para el SNP.

En los formatos singleplex, duplex (FII y FV) o triplex (FII, FV y MTHFR) en muestras de ADN genómico humano extraído de muestras clínicas.

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

El producto está concebido para su uso como ayuda a la hora de evaluar el riesgo de sufrir una trombosis venosa profunda en pacientes en los que se sospecha la presencia de algún trastorno de la coagulación y de un riesgo elevado de desarrollar una trombosis venosa profunda.

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

Secuencia amplificada

Secuencia	Gen	Fluoróforo	Canal
Diana 1	Mutación G1691A (Leiden) del factor V para el SNP	AP639	FV
Diana 2	Mutación G20210A del factor II para el SNP	FAM	FII
Diana 3	Mutación C677T del gen MTHFR para el SNP	AP593	MTHFR
Internal Control	Gen de la beta globina humana	AP525	IC

Matriz validada

- Sangre recogida en EDTA

Contenido del kit y productos relacionados

Coagulation ELITe MGB Kit (RTSD00ING)		Coagulation - ELITe Positive Control (CTRD00ING)	
 X 8		 X 3	
52M PCRMix 8 probetas de 280 µL 12 reacciones por probeta 96 reacciones por kit 7 ciclos de congelación/descongelación por cada probeta		52M Positive Control 3 probetas de 160 µL 4 reacciones por probeta 12 reacciones por kit 4 ciclos de congelación/descongelación por cada probeta	
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.	ELITe InGenius y ELITe BeGenius Consumables (consultar las instrucciones de uso del ELITe InGenius y del ELITe BeGenius)
---	---

Protocolo del ELITe InGenius y del ELITe BeGenius

- Volumen de la muestra - Volumen total de elución:	200 µL 200 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

Genotipo de la muestra: Factor V G1691A	Sensibilidad analítica	Concordancia diagnóstica
Sin mutar	70 ng de ADN/reacción	100 %
Heterocigótico	70 ng de ADN/reacción	100 %
Mutado homocigótico	70 ng de ADN/reacción	100 %

Genotipo de la muestra: factor II G20210A	Sensibilidad analítica	Concordancia diagnóstica
Sin mutar	70 ng de ADN/reacción	100 %
Heterocigótico	70 ng de ADN/reacción	100 %
Mutado homocigótico	70 ng de ADN/reacción	100 %

Genotipo de la muestra: MTHFR C677T	Sensibilidad analítica	Concordancia diagnóstica
Sin mutar	70 ng de ADN/reacción	100 %
Heterocigótico	70 ng de ADN/reacción	100 %
Mutado homocigótico	70 ng de ADN/reacción	100 %

Preparación de la muestra

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

Tabla 41

Muestra	Requisitos de obtención	Condiciones transporte/almacenamiento			
		de +16 °C a +26 °C (temperatura ambiente)	de +2 °C a +8 °C	-20 °C ±10 °C	-70 °C ±15 °C
Sangre	EDTA	≤3 d	≤7 d	≤30 d	≤1 año

d: días; EDTA: ácido edético

Procedimientos con el ELiTe InGenius

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

Antes del análisis

1. Encender el ELiTe InGenius. Iniciar sesión con el nombre de usuario y la contraseña correspondientes. Seleccionar el modo «CLOSED»	2. Verificar los 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 . 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): «200 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): 52M ELITE_WB_200_200 52M ELITE_FII_WB_200_200 52M ELITE_FV_WB_200_200 52M ELITE_MTHFR_WB_200_200 52M ELITE_FVFII_WB_200_200	5. Seleccionar el método «Extract + PCR» (Extracción + PCR) y la posición de la muestra: «Extraction Tube» (Tubo de extracción)	6. Cargar la PCR Mixy el Internal Control en el «Inventory Block» (administrador de inventarios).
7. Cargar: Cargar el PCR Cassette, el cartucho de extracción, la «Elution Tube» (Tubo de elución), el cartucho de puntas y las gradillas del «Extraction Tube» (Tubo de extracción).	8. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	9. Consultar, aprobar y almacenar los resultados.

NOTA!

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

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

1. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil.	2. Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL», «Eluate» (Eluido): «200 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): 52M ELITE_PC o 52M ELITE_NC o 52M ELITE_WB_200_200 52M ELITE_FII_WB_200_200 52M ELITE_FV_WB_200_200 52M ELITE_MTHFR_WB_200_200 52M ELITE_FVFII_WB_200_200	5. Seleccionar el método «PCR Only» (Solo PCR) y establecer la posición de la muestra «Elution Tube» (Tubo de elución).	6. Cargar la mezcla PCR Mix en el «Inventory Block» (administrador de inventarios).
7. Cargar Cargar el PCR Cassette y las gradillas del «Elution Tube» (tubo de elución) con el ácido nucleico extraído.	8. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	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). <u>Nota:</u> los dos tienen que haberse procesado y aprobado y no deben estar caducados.	3. Descongelar las probetas de PCR Mix . 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 el «Sample Rack» (Rack de muestras) con las muestras dotadas de códigos de barras en la «Cooling Unit». El escaneo de códigos de barras ya está activo.	3. Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL», «Eluate» (Eluido): «200 µL»
4. Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo): 52M ELITE_Be_WB_200_200 52M ELITE_FII_Be_WB_200_200 52M ELITE_FV_Be_WB_200_200 52M ELITE_MTHFR_Be_WB_200_200 52M ELITE_FVFII_Be_WB_200_200 Nota: Si es necesario llevar a cabo una segunda extracción, repetir los pasos del 2 al 4.	5. Imprimir las etiquetas para incluir el código de barras correspondiente en los «Elution tubes» (tubos de elución) vacíos. Cargar las probetas en la «Elution Rack» (rejilla de elución) e insertarla en la «Cooler Unit».	6. Cargar el PCR Mix y el Internal Control en la «Reagent Rack/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) e insertarla en la «Cooler Unit»
7. Cargar la «PCR Rack» (rejilla de PCR) con el «PCR Cassette» y la «Extraction Basket» (cesta de extracción), con los cartuchos de extracción «ELITE InGeniusSP 200» y los consumibles que se necesitan para la extracción.	8. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	9. Consultar, aprobar y almacenar los resultados.

NOTA!

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

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

1. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil y, a continuación, hacer clic en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).	2. Cargar el ácido nucleico extraído o las probetas con códigos de barras de los controles en la «Elution Rack» (rejilla de elución) e insertarla en la «Cooler Unit».	3. En el caso de los controles: para cada «Position» (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). En el caso de los eluidos, para cada «Position» (Posición), introducir el «SID» (ID de la muestra), la «Sample matrix» (matriz de la muestra), el «Extraction Kit» (kit de extracción) y el «Extracted Eluate Volume» (volumen de elución extraído).
4. Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo): 52M ELITe_Be_PC o 52M ELITe_Be_NC o 52M ELITe_Be_WB_200_200 52M ELITe_FII_Be_WB_200_200 52M ELITe_FV_Be_WB_200_200 52M ELITe_MTHFR_Be_WB_200_200 52M ELITe_FVFII_Be_WB_200_200	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» 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

