

Instructions for use

ENTEROVIRUS ELITe MGB® Kit

Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real



REF RTS076PLD

UDI 08033891485399

CE
0123

IVD

HISTORIAL DE CAMBIOS

Rev.	Información del cambio	Fecha (dd/mm/aaaa)												
07	Introducción del apartado dedicado a incertidumbre de la curva de calibración, sección 11.3 Actualización del apartado dedicado a la reactividad cruzada, sección 11.5 Actualización del apartado dedicado a la inhibición, sección 11.8	26/11/24												
06	<p>Cumple los requisitos del Reglamento (UE) 2017/746 sobre productos sanitarios para diagnóstico <i>in vitro</i>.</p> <p style="text-align: center;">NOTA!</p> <p>Los siguientes lotes de productos seguirán comercializándose según la Directiva relativa a los productos sanitarios para diagnóstico <i>in vitro</i> hasta sus fechas de caducidad, tal como se establece en el artículo 110 del reglamento mencionado. Si tiene alguno de estos lotes de productos, póngase en contacto con el personal de ELITechGroup para solicitar la versión anterior de las instrucciones de uso relacionadas con dicho producto.</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center; padding: 2px;">REF. DEL PRODUCTO</th><th style="text-align: center; padding: 2px;">Código de lote</th><th style="text-align: center; padding: 2px;">Fecha de caducidad</th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center; padding: 2px;">RTS076PLD</td><td style="text-align: center; padding: 2px;">U0624-154</td><td style="text-align: center; padding: 2px;">31/12/2025</td></tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 2px;">RTS076PLD</td><td style="text-align: center; padding: 2px;">U1123-101</td><td style="text-align: center; padding: 2px;">31/05/2025</td></tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 2px;">RTS076PLD</td><td style="text-align: center; padding: 2px;">U0823-002</td><td style="text-align: center; padding: 2px;">28/02/2025</td></tr> </tbody> </table> <p>Cambio en la fórmula de la PCR-Mix/el envase para mejorar la comodidad de uso del producto: cambio de tres componentes a solo dos componentes (enzima para reacción en tiempo real y PCR-Mix). Ampliación del uso del producto con el instrumento ELITe BeGenius® y matrices de plasma y de LCR. Actualización del apartado CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO: Se han realizado nuevos estudios de evaluación. Se han actualizado los siguientes parámetros de rendimiento: estabilidad de la muestra clínica; límite de detección; rango de medición lineal; reactividad cruzada; organismos y sustancias de inhibición; repetibilidad y reproducibilidad.</p> <p style="text-align: center;">NOTA!</p> <p>Se han confirmado los resultados de especificidad diagnóstica y sensibilidad diagnóstica del nuevo estudio.</p> <p>Nuevo diseño de los gráficos y del contenido de las instrucciones de uso</p>	REF. DEL PRODUCTO	Código de lote	Fecha de caducidad	RTS076PLD	U0624-154	31/12/2025	RTS076PLD	U1123-101	31/05/2025	RTS076PLD	U0823-002	28/02/2025	18/10/2024
REF. DEL PRODUCTO	Código de lote	Fecha de caducidad												
RTS076PLD	U0624-154	31/12/2025												
RTS076PLD	U1123-101	31/05/2025												
RTS076PLD	U0823-002	28/02/2025												
05	Se ha modificado el número de sesiones analíticas que deben realizarse con el instrumento ELITe InGenius.	10/05/2022												
04	Se ha modificado el número de reacciones que pueden procesarse con el instrumento ELITe InGenius.	26/02/2020												
03	Correcciones formales	07/09/2018												
02	Ampliación del uso del producto con el instrumento ELITe InGenius® y matrices de plasma y de LCR. Nuevo envase: caja de plástico en lugar de caja de cartón	09/05/2016												
00–01	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	7
9 PROCEDIMIENTO CON EL ELITe InGenius.....	10
10 PROCEDIMIENTO CON EL ELITe BeGenius	18
11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO	25
12 BIBLIOGRAFÍA	35
13 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO.....	35
14 PROBLEMAS Y SOLUCIONES	36
15 SÍMBOLOS.....	39
16 NOTA PARA LOS USUARIOS	40
17 AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA.....	40
Appendix A QUICK START GUIDE.....	41

1 USO PREVISTO

El producto **ENTEROVIRUS ELITe MGB® Kit** es un producto sanitario para diagnóstico *in vitro* concebido para uso por parte de profesionales sanitarios como ensayo cuantitativo de ácidos nucleicos mediante retrotranscriptasa y PCR en tiempo real para la detección y la cuantificación de ARN de enterovirus humano (A, B, C, D) 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 retrotranscriptasa, la PCR en tiempo real y la interpretación de los resultados utilizando muestras humanas de plasma recogido en EDTA y de líquido cefalorraquídeo (LCR).

El producto se utiliza como ayuda en el diagnóstico de infecciones por enterovirus (EV) humano en pacientes en los que se sospecha la presencia de alguna infección por EV o y el seguimiento en pacientes que tienen que someterse a un seguimiento de una infección por EV.

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

2 PRINCIPIO DEL ENSAYO

Este es un ensayo cuantitativo en un solo paso de retrotranscriptasa y PCR en tiempo real para la detección de ARN de enterovirus aislado de muestras, sometido a retrotranscriptasa y amplificado a continuación utilizando una mezcla completa de reacción 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. El **ELITe InGenius** y el **ELITe BeGenius** controlan el aumento de fluorescencia y calculan los ciclos umbral (Ct) y las temperaturas de fusión (Tm). La cantidad de ARN de EV se calcula basándose en una curva de calibración almacenada.

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 **ENTEROVIRUS ELITe MGB Kit** incluye los siguientes componentes:

- **EV PCR Mix**, una mezcla de PCR optimizada y estabilizada que contiene los cebadores y las sondas específicos para:
 - Región **5' UTR de enterovirus**, detectada en el canal **ENTEROVIRUS**; la sonda se estabiliza mediante la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher® y se marca con el colorante FAM.
 - El Internal Control (**IC**), específico para una región del ARN genómico del bacteriófago MS2, detectado en el canal **IC**; la sonda se estabiliza con la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher y se marca con el colorante AquaPhluor® 525 (AP525).

La mezcla **EV PCR Mix** también contiene solución tampón, cloruro de magnesio, nucleótidos-trifosfatos y la enzima ADN polimerasa con activación térmica («hot-start»). Cada vial contiene **600 µL** de solución, suficiente para **24 análisis** (procesando al menos 5 muestras por sesión).

- **RT EnzymeMix**, una mezcla optimizada y estabilizada de enzimas para retrotranscriptasa. Cada vial contiene **20 µL** de solución, suficiente para **48 análisis** (procesando al menos 5 muestras por sesión).

El producto **ENTEROVIRUS ELITe MGB Kit** contiene suficientes reactivos para utilizar **96 análisis** en el **ELITe InGenius** y el **ELITe BeGenius** cuando se utilizan 20 µL de **EV PCR Mix** y 0,3 µL de **RT EnzymeMix** en cada reacción.

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

4 MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

Tabla 1

Componente	Descripción	Cantidad	Clasificación de peligros
EV PCR Mix ref. RTS076PLD	Mezcla de reactivos para retrotranscriptasa y PCR en tiempo real en una probeta con tapón blanco	4 × 600 µL	-
RT EnzymeMix ref. RTS003-RT	Enzimas de retrotranscriptasa en una probeta con tapón con inserto NEGRO	2 × 20 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 (0,5–10 µL, 2–20 µL, 5–50 µL, 50–200 µL, 200–1000 µL).
- Probetas estériles de 2,0 mL con tapón roscado (Sarstedt, Alemania, ref. 72.694.005).
- Agua para biología molecular.

6 OTROS PRODUCTOS NECESARIOS

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

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

Tabla 2

Instrumentos y software	Productos y reactivos
ELITe InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA ref. INT030) ELITe InGenius Software versión 1.3.0.19 (o posterior). EV ELITe_STD , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de los calibradores EV ELITe_PC , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control EV ELITe_NC , Assay Protocol (protocolo de ensayo) para el análisis del Negative Control EV ELITe_PL_200_100 , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de plasma EV ELITe_CSF_200_100 , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de líquido cefalorraquídeo.	
ELITe BeGenius (EG SpA, ref. INT040) ELITe BeGenius Software versión 2.2.1. (o posterior) EV ELITe_Be_STD , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de los calibradores EV ELITe_Be_PC , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control EV ELITe_Be_NC , Assay Protocol (protocolo de ensayo) para el análisis del Negative Control EV ELITe_Be_PL_200_100 , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de las muestras de plasma EV ELITe_Be_CSF_200_100 , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de las muestras de líquido cefalorraquídeo	ELITe InGenius SP200 (EG SpA, ref. INT032SP200) ELITe InGenius SP 200 Consumable Set (EG SpA, ref. INT032CS) ELITe InGenius PCR Cassette (EG SpA, ref. INT035PCR). ELITe InGenius Waste Box (EG SpA, ref. F2102-000) 300 µL Filter Tips Axygen (Corning Life Sciences Inc., ref. TF-350-L-R-S), solo con el ELITe InGenius 1000 µL Filter Tips Tecan (Tecan, Switzerland, ref. 30180118) solo con el ELITe BeGenius CPE - Internal Control (EG SpA, ref. CTRCPE). ENTEROVIRUS ELITe Standard (EG SpA, ref. STD076PLD) ENTEROVIRUS - ELITe Positive Control (EG SpA, ref. CTR076PLD)

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.

Con el fin de evitar el riesgo de contaminación, los productos de extracción deben manipularse de manera que se reduzca al mínimo la dispersión hacia el entorno.

Los cartuchos PCR Cassette deben manipularse con cuidado y no deben abrirse nunca para evitar la dispersión del producto de PCR hacia el entorno, así como la contaminación de muestras y reactivos.

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
EV PCR Mix	-20 °C o menos (protegido de la luz)	un mes	máximo cinco
RT EnzymeMix	-20 °C o menos	un mes	máximo diez veces, durante un máximo de diez minutos a una temperatura comprendida entre +2 °C y +8 °C

8 MUESTRAS Y CONTROLES

8.1 Muestras

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

Tabla 4

Muestra	Requisitos de obtención	Condiciones transporte/almacenamiento			
		de +16 °C a +26 °C (temperatura ambiente)	de +2 °C a +8 °C	-20 °C ± 10 °C	-70 °C ± 15 °C
Plasma	EDTA	≤24 horas	≤3 días	≤1 mes	≤1 mes
LCR	-	NR	≤24 horas	≤1 mes	≤1 mes

NR: no recomendado.

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

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

Tabla 5 Protocolos de ensayo para ENTEROVIRUS ELITe MGB Kit

Muestra	Instrumento	Transfe-rencia de muestras	Nombre del protocolo de ensayo	Informe	Características
Plasma	ELITe InGenius	No se necesita	EV ELITe_PL_200_100	copias/mL	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución de extracción: 100 µL Internal Control: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen de carga de PCR de la muestra: 10 µL
	ELITe BeGenius	No se necesita	EV ELITe_Be_PL_200_100	copias/mL	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución de extracción: 100 µL Internal Control: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen de carga de PCR de la muestra: 10 µL
LCR	ELITe InGenius	Se necesita, en la «Extraction Tube» (Tubo de extracción)	EV ELITe_CSF_200_100	copias/mL	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución de extracción: 100 µL Internal Control: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen de carga de PCR de la muestra: 10 µL
	ELITe BeGenius	Se necesita, en la probeta Sarstedt de 2 mL	EV ELITe_Be_CSF_200_100	copias/mL	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución de extracción: 100 µL Internal Control: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen de carga de PCR de la muestra: 10 µL

Siempre que sea necesario, es preciso verter 200 µL de muestra en la «Extraction Tube» (Tubo de extracción), en el caso del ELITe InGenius, o en una probeta Sarstedt de 2 mL, en el caso del ELITe BeGenius.

NOTA!

el pipeteado de las muestras en el **Extraction tube** (Tubo de extracción) o en la **probeta Sarstedt de 2 mL** puede **desarrollar contaminación**. Así pues, utilizar pipetas apropiadas y seguir todas las recomendaciones indicadas en el apartado «Advertencias y precauciones».

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 cómo configurar y realizar el procedimiento de extracción, consultar las instrucciones del kit de extracción o las instrucciones de uso del **ELITe InGenius** y del **ELITe BeGenius**.

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

Consultar «Sustancias potencialmente interferentes» en la sección «Características de rendimiento» para comprobar los datos relativos a tales sustancias.

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

8.2 Calibradores y controles de PCR

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

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

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 **ENTEROVIRUS - ELITe Positive Control** (no incluido con este kit) con los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **EV ELITe_PC** o **EV 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) **EV ELITe_NC** o **EV ELITe_Be_NC**.

NOTA!

El **ELITe InGenius** y el **ELITe BeGenius** permiten generar y guardar la curva de calibración y la validación del control de PCR para cada lote de reactivos de PCR.

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

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

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

- Se utiliza un nuevo lote de reactivos.
- Los resultados del análisis de control de calidad (consultar el apartado siguiente) están fuera de las especificaciones.
- Se realiza una operación importante de mantenimiento en uno de los instrumentos **ELITe InGenius** 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 **ENTEROVIRUS 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 de calibración; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
		D) Sesión para el Positive Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
PASO 3	Evaluación y aprobación de los resultados	1) Validación de la curva de calibración
		2) Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
		3) Validación de los resultados de las muestras
		4) Generación del informe de los resultados de la muestra

9.1 PASO 1. Verificación de la disponibilidad del sistema

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

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

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

NOTA!

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

Antes de configurar una sesión:

- Descongelar las probetas necesarias de **EV PCR Mix** a temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para **24 análisis** en condiciones óptimas de uso, es decir, realizando al menos 5 análisis por sesión. Mezclar en vórtex a baja velocidad durante 10 segundos tres veces y, a continuación, centrifugar el contenido durante 5 segundos y conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.

NOTA!

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

- Tomar las probetas de **RT EnzymeMix** que se necesiten. Cada probeta es suficiente para 48 análisis en condiciones óptimas de uso (es decir, realizando al menos 5 análisis por sesión). Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.

NOTA!

la mezcla **RT EnzymeMix** no debe exponerse a temperaturas superiores a -20 °C durante más de 10 minutos.

- Preparar una probeta de 2 mL (Sarstedt ref. 72.694.005, no incluida en el kit) para la **mezcla completa de reacción** y etiquetarla con un rotulador permanente.
- Calcular los volúmenes necesarios de **EV PCR Mix** y de **RT EnzymeMix** para preparar la **mezcla completa de reacción** en función del número de muestras (N) que vayan a analizarse, tal como se describe en la tabla siguiente.

Tabla 7

Número de muestras (N)	EV PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) × 20 µL	(N + 1) × 0,3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) × 20 µL	(N + 2) × 0,3 µL
N = 12	290 µL	4,4 µL

- Preparar la **mezcla completa de reacción** vertiendo los volúmenes calculados de los dos componentes en la probeta de 2 mL etiquetada. Mezclar mediante vórtex a baja velocidad tres veces durante 10 segundos, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservar en hielo o en el bloque refrigerado.

NOTA!

La **mezcla completa de reacción** puede utilizarse en el transcurso de **7 horas** si se conserva en un bloque refrigerado (para dos sesiones de 3 horas cada una y durante el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión). La mezcla completa de reacción **no puede** guardarse para reutilizarla.

NOTA!

La **mezcla completa de reacción** es fotosensible, por lo que no debe exponerse a la luz directa.

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

Tabla 8

	A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)	B. Sesión con la muestra; eluida modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
1	Identificar las muestras y, en caso necesario, descongelar a temperatura ambiente, mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. En caso necesario, verter 200 µL de muestra en un «Extraction Tube» (Tubo de extracción) previamente etiquetada. Descongelar las probetas de CPE necesarias a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Cada probeta es suficiente para 12 extracciones.	Descongelar el «Elution Tube» (Tubo de elución) que contiene los ácidos nucleicos extraídos a temperatura ambiente. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.
2	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).
3	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.
4	Para cada muestra, asignar un carril e introducir el «SampleID» o SID (ID de la muestra), ya sea rellenándolo directamente o escaneando su código de barras.	Para cada muestra, asignar un carril e introducir el «SampleID» o SID (ID de la muestra), ya sea rellenándolo directamente o escaneando su código de barras.
5	Seleccionar el Assay Protocol (Protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».	Seleccionar el Assay Protocol (Protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».
6	Asegurarse de que el protocolo que se muestra en el área «Protocol» (Protocolo) sea «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	Seleccionar «PCR Only» en la columna «Protocol» (Protocolo).
7	En la columna «Sample Position» (Posición de la muestra), seleccionar la posición de carga «Extraction Tube» (Tubo de extracción) para la muestra. Asegurarse de que la opción «Dilution factor» (Factor de dilución) esté configurada a «1».	Asegurarse de que la posición de carga de la muestra en la columna «Sample Position» (Posición de la muestra) sea «Elution Tube (bottom row)» (Tubo de elución [fila inferior]). Asegurarse de que la opción «Dilution factor» (Factor de dilución) esté configurada a «1».
8	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
9	Cargar el CPE y la mezcla completa de reacción en el «Inventory Block» (administrador de inventarios) en función de la «Load List» (Cargar lista) y, después, introducir el número de lote del CPE y de la mezcla PCR Mix, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.	Cargar la mezcla completa de reacción en el «Inventory Block» (administrador de inventarios), en función de la «Load List» (Cargar lista) y, después, introducir el número de lote de la mezcla de PCR, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.
10	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
11	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) 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.
13	Cargar el PCR Cassette, los cartuchos de extracción ELITe InGenius SP 200, así como todos los consumibles necesarios y las muestras que deben extraerse.	Cargar el PCR Cassette y «Elution Tube» (Tubo de elución) con las muestras extraídas.
14	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.

Tabla 8 (continued)

	A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)	B. Sesión con la muestra; eluida modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
15	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.
16	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).

Tabla 9

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

Tabla 9 (continued)

	C. Sesión de calibración «PCR Only» (Solo PCR)	D. Sesión para el Positive Control y el Negative Control «PCR Only» (Solo PCR)
13	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.
14	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).

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

NOTA!

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

NOTA!

La **mezcla completa de reacción** puede guardarse en el bloque refrigerado durante un máximo de 7 horas (para dos sesiones de 3 horas cada una y durante 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. La mezcla completa de reacción **no puede** conservarse para reutilizarla.

NOTA!

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

NOTA!

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

NOTA!

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

NOTA!

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

NOTA!

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

9.3 PASO 3. Evaluación y aprobación de los resultados

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

Al finalizar la sesión, aparece automáticamente la pantalla «Results Display» (Presentación de resultados). 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 **ENTEROVIRUS ELITe MGB Kit** mediante el siguiente procedimiento:

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

9.3.1 **Validación de la curva de calibración**

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

Las curvas de calibración, específicas para el lote de reactivos de PCR, se guardan en la base de datos («Calibration»), por lo que el personal cualificado como administrador («Administrator») o analista («Analyst») puede verlas siguiendo las instrucciones de la interfaz.

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

NOTA!

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

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

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

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

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

El **ELITe InGenius Software** procesa los resultados del Positive Control y del Negative Control y genera los gráficos de control («Control Charts»). Para configurar el gráfico de control inicial, se utilizan cuatro resultados aprobados del Positive Control y del Negative Control. Para los controles siguientes, el software analiza los resultados para garantizar que el rendimiento del sistema se encuentre dentro de los criterios de aceptación que se muestran en los gráficos de control («Control Charts»). Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

NOTA!

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

NOTA!

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

9.3.3 Validación de los resultados de la muestra

El **ELITe InGenius Software** interpreta los resultados de la PCR para la diana (canal EV) y el Internal Control (canal IC) con los parámetros de los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **EV ELITe_PL_200_100** y **EV ELITe_CSF_200_100**. Los valores resultantes del Ct de la diana se convierten en concentración.

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

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

Tabla 10

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

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

Para cada muestra, el sistema muestra una combinación de los siguientes mensajes y especifica si los ARN de los patógenos se han detectado o no.

Tabla 11

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

Las muestras notificadas como «Invalid: Retest Sample» (No válido-Volver a probar muestra) indican que el ARN del Internal Control no ha podido detectarse correctamente, probablemente debido a problemas en los pasos de recogida, extracción, retrotranscriptasa o PCR de la muestra (p. ej., obtención incorrecta de la muestra, degradación o pérdida de ARN 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 36](#)».

Las muestras que se notifican como «EV: RNA Not Detected or below the “LoD” copies/mL (EV: ARN no detectado o por debajo del “LoD” en copias/mL)» son aptas para el análisis, pero no ha sido posible detectar EV. En este caso, puede que la muestra sea negativa para ARN de EV, o que haya ARN de EV a una concentración inferior al límite de detección del ensayo (ver sección [11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO page 25](#)).

Si se detectan muestras positivas para ARN de EV a una concentración inferior al límite de detección (y al límite inferior de cuantificación) del ensayo, estas se notifican como «EV:RNA Detected, quantity below “LLoQ” copies/mL»(EV: ARN detectado, cantidad por debajo del LLoQ en copias/mL); consultar la sección «[11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO page 25](#)».

Las muestras positivas para ARN de EV dentro del rango de medición lineal (consultar la sección «[11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO page 25](#)») se detectan y notifican como «EV:RNA Detected, quantity equal to “XXX” copies / mL» (EV: ARN detectado, cantidad igual a “XXX” copias/mL).

Las muestras positivas para ARN de EV que se encuentran por encima del límite superior de cuantificación se notifican como «EV:RNA Detected, quantity beyond “ULoQ” copies/mL (EV: RNA detectado, cantidad mas alta de “ULoQ” copias/mL)» y no son aptas para la cuantificación. En caso necesario, es posible diluir la muestra antes de la extracción o de la PCR y volver a analizarla para obtener resultados dentro del rango de medición lineal del ensayo.

NOTA!

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

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

9.3.4 Generación del informe de los resultados de la muestra

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

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

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

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

10 PROCEDIMIENTO CON EL ELITe BeGenius

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

Tabla 12

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

10.1 PASO 1. Verificación de la disponibilidad del sistema

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

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

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

Todos los parámetros necesarios están incluidos en el Assay Protocol (protocolo de ensayo) disponible 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 **EV PCR Mix** a temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para **24 análisis** en condiciones óptimas de uso, es decir, realizando al menos 5 análisis por sesión. Mezclar en vórtex a baja velocidad durante 10 segundos tres veces y, a continuación, centrifugar el contenido durante 5 segundos y conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.

NOTA!

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

- Tomar las probetas de **RT EnzymeMix** que se necesiten. Cada probeta es suficiente para **48 análisis** en condiciones óptimas de uso, es decir, realizando al menos 5 análisis por sesión. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.

NOTA!

la mezcla **RT EnzymeMix** no debe exponerse a temperaturas superiores a -20 °C durante más de 10 minutos.

- Preparar una probeta de 2 mL (Sarstedt ref. 72.694.005, no incluida en el kit) para la **mezcla completa de reacción** y etiquetarla con un rotulador permanente.
- Calcular los volúmenes necesarios de **EV PCR Mix** y de **RT EnzymeMix** para preparar la **mezcla completa de reacción** en función del número de muestras (N) que vayan a analizarse, tal como se describe en la tabla siguiente.

Tabla 13

Número de muestra (N)	EV PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) × 20 µL	(N + 1) × 0,3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) × 20 µL	(N + 2) × 0,3 µL
N = 12	290 µL	4,4 µL
13 ≤ N ≤ 18	(N + 3) × 20 µL	(N + 3) × 0,3 µL
19 ≤ N ≤ 23	(N + 4) × 20 µL	(N + 4) × 0,3 µL
N = 24	580 µL	8,7 µL

- Preparar la **mezcla completa de reacción** vertiendo los volúmenes calculados de los dos componentes en la probeta de 2 mL etiquetada. Mezclar mediante vórtex a baja velocidad tres veces durante 10 segundos, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservar en hielo o en el bloque refrigerado.

NOTA!

La **mezcla completa de reacción** puede utilizarse en el transcurso de **7 horas** si se conserva en un bloque refrigerado (para dos sesiones de 3 horas cada una y durante el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión). La mezcla completa de reacción **no puede** guardarse para reutilizarla.

NOTA!

La **mezcla completa de reacción** es fotosensible, por lo que no debe exponerse a la luz directa.

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

Tabla 14

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

Tabla 14 (continued)

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

Tabla 15

	C. Sesión de calibración «PCR Only» (Solo PCR)	D. Sesión para el Positive Control y el Negative Control «PCR Only» (Solo PCR)
1	Descongelar las probetas de calibrador Q-PCR Standard tubes (Cal1: Q-PCR Standard 10^2 , Cal2: Q-PCR Standard 10^3 , Cal3: Q-PCR Standard 10^4 , Cal4: Q-PCR Standard 10^5) durante 30 minutos 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. Preparar el Negative Control vertiendo al menos 50 μ L de agua para biología molecular en el «Elution Tube» (tubo de elución) que se incluye con el ELITe InGenius SP 200 Consumable Set.
2	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).
3	Extraer las racks de los «Lanes» 1, 2 y 3 (L1, L2, L3) de la «Cooler Unit» y colocarlas en la 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 modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).	Seleccionar el «Run Mode»: «PCR Only» (Solo PCR).
5	Cargar las probetas de Q-PCR Standard en la «Elution Rack» (rejilla de elución).	Cargar las probetas de Positive Control y de Negative Control en la «Elution Rack» (rejilla de elución).

Tabla 15 (continued)

	C. Sesión de calibración «PCR Only» (Solo PCR)	D. Sesión para el Positive Control y el Negative Control «PCR Only» (Solo PCR)
6	Insertar la « Elution Rack » (rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). En caso necesario, para cada «Position» introducir el «Reagent name» (nombre del reactivo), el «S/N» (número de serie) el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).	Insertar la « Elution Rack » (rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). En caso necesario, para cada «Position» introducir el «Reagent name» (nombre del reactivo), el «S/N» (número de serie) el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).
7	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
8	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 600 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 50 µL.	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 600 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 50 µL.
9	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».
10	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
11	Cargar la mezcla completa de reacción en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución).	Cargar la mezcla completa de reacción en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución).
12	Insertar la « Reagent/Elution Rack » (rejilla de reactivos/elución) en el «Lane» 2 (L2) de la «Cooler Unit». Para cada PCR Mix, llenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).	Insertar la « Reagent/Elution Rack » (rejilla de reactivos/elución) en el «Lane» 2 (L2) de la «Cooler Unit». Para cada PCR Mix, llenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).
13	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
14	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.
15	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
16	Cargar la « PCR Rack » con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario).	Cargar la « PCR Rack » con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario).
17	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
18	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.
19	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).

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

NOTA!

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

NOTA!

La **mezcla completa de reacción** puede guardarse en el bloque refrigerado durante un máximo de 7 horas (para dos sesiones de 3 horas cada una y durante 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. La mezcla completa de reacción **no puede** conservarse para reutilizarla.

NOTA!

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

NOTA!

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

NOTA!

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

NOTA!

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

NOTA!

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

10.3 PASO 3. Evaluación y aprobación de los resultados

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

Al finalizar la sesión, aparece automáticamente la pantalla «Results Display» (Presentación de resultados). 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 **ENTEROVIRUS ELITe MGB Kit** mediante el siguiente procedimiento:

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

NOTA!

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

11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

11.1 Límite de detección (LoD)

El límite de detección (LoD) del ensayo se determinó con muestras de plasma recogido en EDTA y de líquido cefalorraquídeo (LCR) y utilizando los instrumentos ELITe ELITe InGenius y ELITe BeGenius.

Plasma recogido en EDTA.

El LoD del ensayo se determinó en el ELITe InGenius con muestras de plasma enriquecidas con material de referencia de enterovirus 71 (ZeptoMetrix, US). Se realizó un análisis de regresión de Probit en los resultados, definido como la concentración correspondiente al 95 % de probabilidades de un resultado positivo.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 16

Límite de detección (copias/mL) para muestras de plasma y el ELITe InGenius		
Límite de detección	Intervalo de confianza del 95 %	
	Límite inferior	Límite superior
141	101	278

El valor calculado del LoD se verificó analizando un conjunto de muestras de plasma recogido en EDTA que se enriquecieron con material de referencia certificado de *Enterovirus* a la concentración declarada. Los resultados obtenidos confirmaron la concentración declarada para la diana, tanto en el ELITe InGenius como en el ELITe BeGenius.

Líquido cefalorraquídeo (LCR):

El LoD del ensayo se determinó en el ELITe InGenius con muestras de LCR enriquecidas con material de referencia de enterovirus 71 (ZeptoMetrix, US). Se realizó un análisis de regresión de Probit en los resultados, definido como la concentración correspondiente al 95 % de probabilidades de un resultado positivo.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 17

Límite de detección (copias/mL) para muestras de LCR y el ELITe InGenius		
Límite de detección	Intervalo de confianza del 95 %	
	Límite inferior	Límite superior
490	304	1185

El valor calculado del LoD se verificó analizando un conjunto de muestras de LCR enriquecidas con material de referencia certificado de enterovirus a la concentración declarada. Los resultados obtenidos confirmaron la concentración declarada para la diana, tanto en el ELITe InGenius como en el ELITe BeGenius.

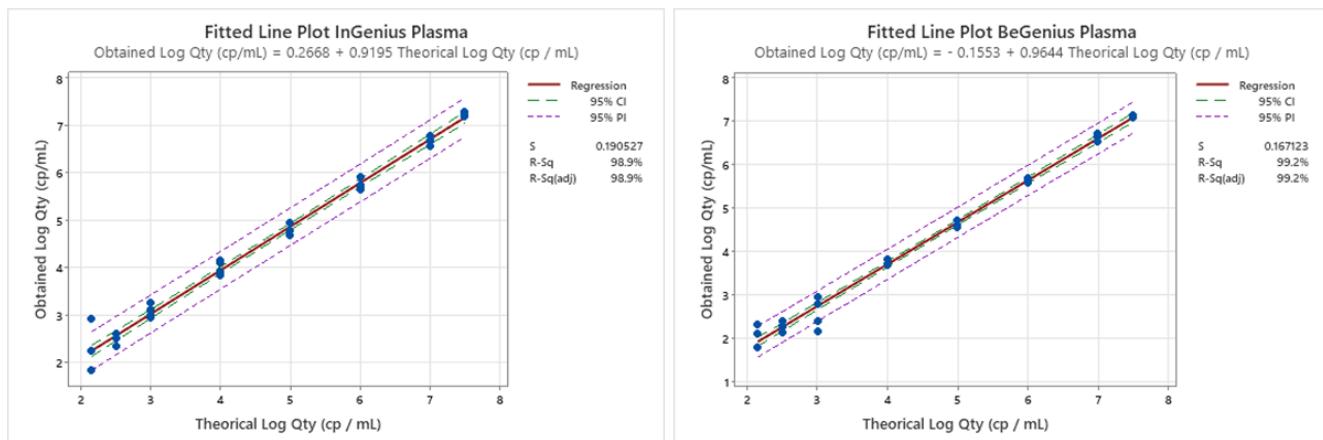
11.2 Rango de medición lineal

El rango de medición lineal del producto ENTEROVIRUS ELITe MGB Kit se determinó con muestras de plasma y de LCR en los instrumentos ELITe InGenius y ELITe BeGenius.

Plasma recogido en EDTA.

El rango de medición lineal del producto ENTEROVIRUS ELITe MGB Kit se determinó con muestras de plasma en el ELITe InGenius y el ELITe BeGenius utilizando diluciones de material de referencia de enterovirus 71 (ZeptoMetrix, US). Se realizó un análisis de regresión lineal en los resultados y se definió el rango de medición lineal

Los resultados se muestran en la siguiente figura.



Los resultados finales se resumen en la tabla siguiente.

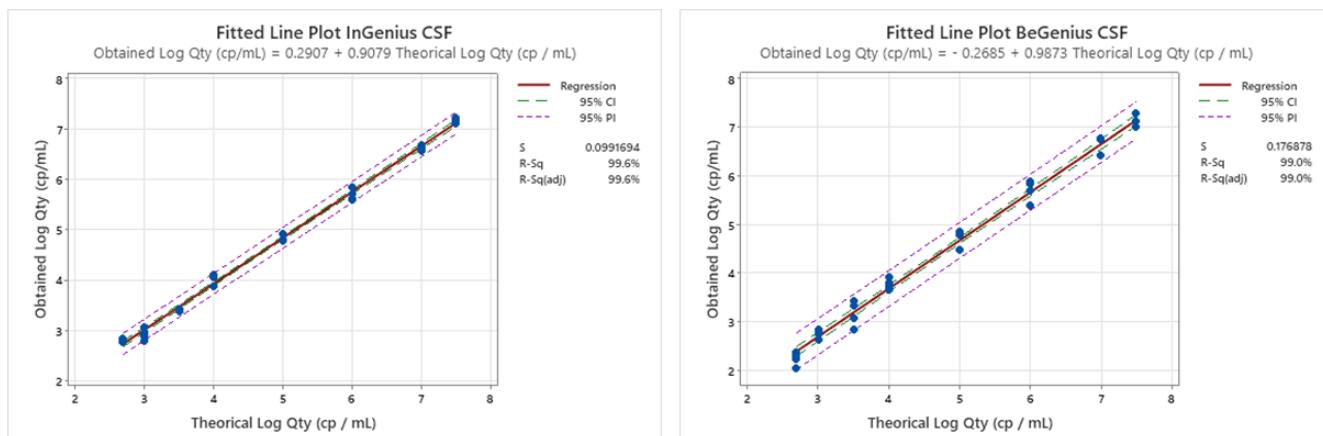
Tabla 18

Rango de medición lineal para muestras de plasma recogido en EDTA y los instrumentos ELITe InGenius y ELITe BeGenius	
Límite inferior	Límite superior
141 copias/mL	31.622.777 copias/mL

LCR

El rango de medición lineal del producto ENTEROVIRUS ELITe MGB Kit se determinó con muestras de LCR en el ELITe InGenius y el ELITe BeGenius utilizando diluciones de material de referencia de enterovirus 71 (ZeptoMetrix, US). Se realizó un análisis de regresión lineal en los resultados y se definió el rango de medición lineal.

Los resultados se muestran en la siguiente figura.



Los resultados finales se resumen en la tabla siguiente.

Tabla 19

Rango de medición lineal para muestras de LCR y los instrumentos ELITe InGenius y ELITe BeGenius	
Límite inferior	Límite superior
490 copias/mL	31.622.777 copias/mL

11.3 Incertidumbre de la curva de calibración

El valor de incertidumbre de la curva de calibración se calculó combinando los errores aleatorios (DE) de todas las cuantificaciones de nivel y multiplicando por el factor de cobertura $k = 2$ (incertidumbre combinada ampliada) y resultó ser de 0,1507 log copias/reacción.

Tabla 20

Niveles de la curva de calibración	Teóricos	Medidos	DE	Incertidumbre combinada ampliada
	Log copias/reacción	Log copias/reacción		
EV Q - PCR Standard 10^5	5,0000	5,0214	0,0334	0,1507
EV Q - PCR Standard 10^4	4,0000	3,9727	0,0381	
EV Q - PCR Standard 10^3	3,0000	2,9905	0,0264	
EV Q - PCR Standard 10^2	2,0000	2,0154	0,0491	

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

La inclusividad del ensayo, definida como la eficacia de detección de diferentes genotipos del enterovirus, se evaluó mediante un análisis informático de las secuencias disponibles en las bases de datos de nucleótidos. El análisis demostró la conservación de la secuencia y la ausencia de mutaciones significativas. Así, cabe esperar una detección eficaz de los siguientes genotipos: enterovirus A (virus de Coxsackie A2-A8, A10, A12, A14, A16 e, enterovirus EV71, EV76, EV89-EV92), enterovirus B (virus de Coxsackie B1-B6, A9, enterovirus EV69, EV73, EV74, EV75, EV77, EV79-EV88, EV97, EV98, EV100, EV101, EV107, virus ECHO E1-E21, E24-E27, E29-E33), enterovirus C (virus de Coxsackie A1, A11, A13, A15, A17-A22, A24, poliovirus PV1-PV3, enterovirus EV96, EV99, EV102, EV109), enterovirus D (enterovirus EV68, EV70, EV94).

11.5 Marcadores potencialmente interferentes: reactividad cruzada

La reactividad cruzada potencial del ensayo con ARN genómico de enterovirus y otros microorganismos imprevistos, inclusive los virus filogenéticamente cercanos al enterovirus (rinovirus y parechovirus) se evaluó mediante un análisis informático de las secuencias disponibles en las bases de datos de nucleótidos.

El análisis en los rinovirus y los parechovirus demostró la presencia de una especificidad parcial. No se detectaron homologías reseñables con las secuencias genómicas de los parechovirus humanos A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7 o A8, aunque el producto sí mostró una posible reactividad cruzadas con algunos genotipos de rinovirus (a excepción del rinovirus B14).

El análisis no presentó ninguna homología reseñable con otros microorganismos imprevistos, por lo que no cabe esperar reactividad cruzada.

La reactividad cruzada potencial con otros microorganismos que puede encontrarse en muestras clínicas de plasma también se verificó analizando un panel de materiales de referencia certificados (ATCC y NIBSC) a un título alto.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 21

Muestra	de EV	Resultado
VIH1	0/6	Sin reactividad cruzada
VEB	0/6	Sin reactividad cruzada
VHA	0/6	Sin reactividad cruzada
VHB	0/6	Sin reactividad cruzada
VHH6	0/6	Sin reactividad cruzada
VHS1	0/6	Sin reactividad cruzada

Tabla 21 (continued)

Muestra	de EV	Resultado
VHS2	0/6	Sin reactividad cruzada
VHE	0/6	Sin reactividad cruzada
VRS	0/6	Sin reactividad cruzada
VVZ	0/6	Sin reactividad cruzada
Gripe A	0/6	Sin reactividad cruzada
Gripe B	0/6	Sin reactividad cruzada
CMV	0/6	Sin reactividad cruzada
ADV	0/6	Sin reactividad cruzada
PVB19	0/6	Sin reactividad cruzada
VHC	0/6	Sin reactividad cruzada
Aspergillus fumigatus	0/6	Sin reactividad cruzada
Staphylococcus aureus	0/6	Sin reactividad cruzada
Candida albicans	0/6	Sin reactividad cruzada
BKV	0/6	Sin reactividad cruzada
Rinovirus B14	0/6	Sin reactividad cruzada
Parechovirus 1	0/6	Sin reactividad cruzada

Ninguno de los marcadores potencialmente interferentes analizados mostró reactividad cruzada para la amplificación de la diana de EV cuando se utilizó el producto **ENTEROVIRUS ELITe MGB Kit**.

11.6 Marcadores potencialmente interferentes: Inhibición

La inhibición potencial causada por otros microorganismos que puede encontrarse en muestras clínicas de plasma o de LCR también se verificó analizando un panel de materiales de referencia certificados.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 22

Muestra	Pos/Dup de EV	Resultado
VIH1	6/6	Sin interferencia
VEB	6/6	Sin interferencia
VHA	6/6	Sin interferencia
VHB	6/6	Sin interferencia
VHH6	6/6	Sin interferencia
VHS1	6/6	Sin interferencia
VHS2	6/6	Sin interferencia
VHE	6/6	Sin interferencia
VRS	6/6	Sin interferencia
VVZ	6/6	Sin interferencia

Tabla 22 (continued)

Muestra	Pos/Dup de EV	Resultado
Gripe A	6/6	Sin interferencia
Gripe B	6/6	Sin interferencia
CMV	6/6	Sin interferencia
ADV	6/6	Sin interferencia
PVB19	6/6	Sin interferencia
VHC	6/6	Sin interferencia
Aspergillus fumigatus	6/6	Sin interferencia
Staphylococcus aureus	5/6*	Sin interferencia
Candida albicans	6/6	Sin interferencia
BKV	6/6	Sin interferencia
Rinovirus B14	6/6	Sin interferencia
Parechovirus 1	6/6	Sin interferencia

Nota: debido a un error del operador, una muestra no se tuvo en cuenta en los análisis porque dio un resultado no válido. El tamaño mínimo de la muestra necesaria para la prueba fue de 5, por lo que la muestra no volvió a analizarse.

Ninguno de los microorganismos potencialmente interferentes analizados mostró inhibición de la amplificación de la diana de EV cuando se utilizó el producto ENTEROVIRUS ELITE MGB Kit.

11.7 Sustancias potencialmente interferentes: reactividad cruzada

Plasma recogido en EDTA.

La reactividad cruzada del ensayo con las sustancias potencialmente interferentes (endógenas y exógenas) que pueden encontrarse en las muestras clínicas de plasma se evaluó analizando un panel de sustancias a la concentración pertinente.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 23

Muestra	Pos/Dup de EV	Resultado
Plasma icterico	0/6	Sin reactividad cruzada
Plasma lipémico	0/6	Sin reactividad cruzada
Sangre hemolítica tipo H	0/6	Sin reactividad cruzada
Sangre hemolítica tipo M	0/6	Sin reactividad cruzada
Sangre hemolítica tipo L	0/6	Sin reactividad cruzada
Plasma heparinizado	0/6	Sin reactividad cruzada
Plasma recogido en EDTA	0/6	Sin reactividad cruzada
Ampicilina	0/6	Sin reactividad cruzada
Cefodoxima	0/6	Sin reactividad cruzada

Tabla 23 (continued)

Muestra	Pos/Dup de EV	Resultado
Azitromicina	0/5*	Sin reactividad cruzada
Ganciclovir	0/5*	Sin reactividad cruzada
Ribavirina	0/6	Sin reactividad cruzada
Sulfato de abacavir	0/6	Sin reactividad cruzada
Cidofovir	0/6	Sin reactividad cruzada
Ciclosporina A	0/6	Sin reactividad cruzada
Bactrim	0/6	Sin reactividad cruzada
Ciprofloxacino	0/6	Sin reactividad cruzada

Nota: debido a un error del operador, una muestra no se tuvo en cuenta en los análisis porque dio un resultado no válido. El tamaño mínimo de la muestra necesaria para la prueba fue de 5, por lo que la muestra no volvió a analizarse.

El análisis demostró que ninguna de las sustancias presentan una reacción cruzada con la amplificación de la diana de EV cuando se utiliza el producto ENTEROVIRUS ELITe MGB Kit.

LCR

La reactividad cruzada del ensayo con las sustancias potencialmente interferentes que pueden encontrarse en las muestras clínicas de LCR se evaluó analizando un panel de sustancias a la concentración pertinente.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 24

Muestra	Pos/Dup de EV	Resultado
5 % de sangre	0/6	Sin reactividad cruzada

El análisis demostró que la sangre no presenta una reacción cruzada con la diana de EV cuando se utiliza el producto ENTEROVIRUS ELITe MGB Kit.

11.8 Sustancias potencialmente interferentes: Inhibición

Plasma recogido en EDTA.

La inhibición causada por las sustancias potencialmente interferentes (endógenas y exógenas) que pueden encontrarse en las muestras clínicas de plasma se evaluó analizando un panel de sustancias a la concentración pertinente.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 25

Muestra	Pos/Dup de EV	Resultado
Plasma icterico	6/6	Sin interferencia
Plasma lipémico	6/6	Sin interferencia
Sangre hemolítica tipo H	6/6	Sin interferencia
Sangre hemolítica tipo M	6/6	Sin interferencia
Sangre hemolítica tipo L	6/6	Sin interferencia

Tabla 25 (continued)

Muestra	Pos/Dup de EV	Resultado
Plasma heparinizado	3/6	Muestra no válida
Plasma recogido en EDTA	6/6	Sin interferencia
Ampicilina	6/6	Sin interferencia
Cefedoxima	6/6	Sin interferencia
Azitromicina	6/6	Sin interferencia
Ganciclovir	6/6	Sin interferencia
Ribavirina	6/6	Sin interferencia
Sulfato de abacavir	6/6	Sin interferencia
Cidofovir	6/6	Sin interferencia
Ciclosporina A	6/6	Sin interferencia
Bactrim	6/6	Sin interferencia
Ciprofloxacino	6/6	Sin interferencia

El análisis demostró que ninguna de las sustancias, a excepción de la heparina, inhiben la detección ni la cuantificación de la diana cuando se utiliza el producto ENTEROVIRUS ELITe MGB Kit.

Se confirmó que la heparina tenía la capacidad de inhibir el ensayo. No obstante, debido al fallo del Internal Control (C_t del IC >35), esta muestra dio un resultado «Invalid» (No válido) en lugar de un falso negativo.

LCR

La inhibición causada por las sustancias potencialmente interferentes que pueden encontrarse en las muestras clínicas de LCR se evaluó analizando un panel de sustancias a la concentración pertinente.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 26

Muestra	Pos/Dup de EV	Sesgo de cuantificación	Resultado
5 % de sangre	6/6	0,0653	Sin interferencia

El análisis demostró que la sangre no inhibe la detección ni la cuantificación de la diana de EV cuando se utiliza el producto ENTEROVIRUS ELITe MGB Kit.

11.9 Repetibilidad

La repetibilidad dentro de las sesiones y entre sesiones del ensayo se evaluó en el ELITe InGenius y el ELITe BeGenius analizando un panel de muestras de plasma, inclusive una muestra negativa y dos muestras enriquecidas con material de referencia certificado de EV (Zeptometrix, EE. UU.).

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

Tabla 27

Repetibilidad dentro de las sesiones con el ELITe InGenius (día 1)								
Muestra	N	ENTEROVIRUS			Concordancia	Internal Control		
		Ct medio	DE	%CV		Ct medio	DE	%CV
ENTEROVIRUS ELITe MGB Kit								
Negativas	8	-	-	-	100 %	29,16	0,23	0,78
3×LoD	8	35,44	0,20	0,57	100 %			
10×LoD	8	33,88	0,29	0,86	100 %			
10×LoD	8	33,79	0,28	0,83	100 %			

Tabla 28

Repetibilidad dentro de las sesiones con el ELITe BeGenius (día 1)								
Muestra	N	ENTEROVIRUS			Concordancia	Internal Control		
		Ct medio	DE	%CV		Ct medio	DE	%CV
ENTEROVIRUS ELITe MGB Kit U0722-018 (LP1). Día 1								
Negativas	8	-	-	-	100 %	30,31	0,71	2,36
3×LoD	8	37,75	1,44	3,82	100 %			
10×LoD	8	35,46	0,44	1,25	100 %			

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

Tabla 29

Repetibilidad entre sesiones con el ELITe InGenius (día 1 + día 2)								
Muestra	N	ENTEROVIRUS			Concordancia	Internal Control		
		Ct medio	DE	%CV		Ct medio	DE	%CV
ENTEROVIRUS ELITe MGB Kit								
Negativas	16	-	-	-	100 %	29,21	0,21	0,73
3×LoD	16	35,25	0,47	1,34	100 %			
10×LoD	16	33,92	0,43	1,26	100 %			

Tabla 30

Repetibilidad entre sesiones con el ELITE BeGenius (día 1 + día 2)								
Muestra	N	ENTEROVIRUS			Concordancia	Internal Control		
		Ct medio	DE	%CV		Ct medio	DE	%CV
ENTEROVIRUS ELITE MGB Kit U0722-018 (LP1). Día 1 - 2								
Negativas	16	-	-	-	100 %	30,45	0,96	3,17
3×LoD	16	37,46	1,31	3,49	100 %			
10×LoD	16	35,72	0,73	2,04	100 %			

En la prueba de repetibilidad, el producto ENTEROVIRUS ELITE MGB Kit detectó la diana y presentó una variación máxima de los valores de Ct de la diana como un %CV inferior al 5 %.

11.10 Reproducibilidad

La reproducibilidad del ensayo se evaluó en el ELITE InGenius y el ELITE BeGenius analizando un panel de muestras de plasma, inclusive una muestra negativa y dos muestras enriquecidas con material de referencia certificado de EV (Zeptometrix, EE. UU.).

En las tablas siguientes se incluye un resumen de la reproducibilidad entre instrumentos.

Tabla 31

Reproducibilidad entre instrumentos en el ELITE InGenius								
Muestra	N	ENTEROVIRUS			Concordancia	Internal Control		
		Ct medio	DE	%CV		Ct medio	DE	%CV
Negativas	24	-	-	-	100 %	29,37	0,36	1,22
3×LoD	24	35,62	0,55	1,55	100 %			
10×LoD	24	33,77	0,36	1,05	100 %			

Tabla 32

Reproducibilidad entre instrumentos en el ELITE BeGenius								
Muestra	N	ENTEROVIRUS			Concordancia	Internal Control		
		Ct medio	DE	%CV		Ct medio	DE	%CV
Negativas	24	-	-	-	100 %	30,48	0,49	1,62
3×LoD	24	37,45	1,05	2,81	100 %			
10×LoD	24	35,24	0,63	1,78	100 %			

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

Tabla 33

Reproducibilidad entre lotes en el ELITe InGenius								
Muestra	N	ENTEROVIRUS			Concordancia	Internal Control		
		Ct medio	DE	%CV		Ct medio	DE	%CV
Negativas	48	-	-	-	100 %	29,30	0,32	1,10
3×LoD	48	35,55	0,35	0,99	100 %			
10×LoD	48	33,94	0,33	0,98	100 %			

Tabla 34

Reproducibilidad entre lotes en el ELITe BeGenius								
Muestra	N	ENTEROVIRUS			Concordancia	IC		
		Ct medio	DE	%CV		Ct medio	DE	%CV
Negativas	48	-	-	-	100 %	30,44	0,91	2,99
3×LoD	48	37,54	1,30	3,47	100 %			
10×LoD	48	35,47	0,84	2,37	100 %			

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

11.11 Especificidad diagnóstica: confirmación de las muestras negativas

La especificidad diagnóstica del ensayo, expresada como confirmación de las muestras negativas, se evaluó utilizando el ELITe InGenius y analizando muestras clínicas de plasma recogido en EDTA y de LCR, que se certificaron como negativas para la diana. Como el ELITe BeGenius presenta un rendimiento analítico equivalente al del ELITe InGenius, el rendimiento diagnóstico del ensayo observado en los dos instrumentos también se considera equivalente. Así pues, la especificidad diagnóstica del ensayo obtenida con el ELITe InGenius también es aplicable al ELITe BeGenius.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente:

Tabla 35

Negativas para ARN de EV	N	Positivas	Negativas	% de especificidad diagnóstica
Plasma recogido en EDTA	50	0	50	100 %
LCR	50	0	50	100 %

En este análisis, la especificidad diagnóstica del producto ENTEROVIRUS ELITe MGB Kit cuando se utilizaron muestras plasma recogido en EDTA y de LCR fue del 100 %.

El valor de corte para el Ct del IC se ha establecido a 35 para las dos matrices.

11.12 Sensibilidad diagnóstica: confirmación de las muestras positivas

La sensibilidad diagnóstica del ensayo, expresada como confirmación de las muestras positivas, se evaluó utilizando el ELITe InGenius y analizando muestras clínicas de plasma recogido en EDTA y de LCR, que se enriquecieron con diferentes materiales de referencia. 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. Por lo tanto, la sensibilidad diagnóstica del ensayo obtenida con el ELITe InGenius también es aplicable al ELITe BeGenius.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente:

Tabla 36

Enriquecidas con ARN de EV	N	Positivas	Negativas	% de sensibilidad diagnóstica
Plasma recogido en EDTA	64	64	0	100 %
LCR	64	64	0	100 %

En este análisis, la sensibilidad diagnóstica del producto ENTEROVIRUS ELITe MGB Kit cuando se utilizaron muestras plasma recogido en EDTA y de LCR fue del 100 %.

NOTA!

Los datos y resultados completos de las pruebas realizadas para evaluar las características de rendimiento del producto con las matrices y los instrumentos se incluyen en la documentación técnica del producto **ENTEROVIRUS ELITe MGB® Kit**, FTP 076PLD.

12 BIBLIOGRAFÍA

W. A. Verstrepen *et al.* (2001) J Clin Microbiology **39**: 4093 - 4096.

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

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

C. N. Kotton *et al.* (2018) Transplantation **02**: 900 - 931.

13 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Utilizar este producto únicamente con las siguientes muestras clínicas: Plasma recogido en EDTA y LCR.

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

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

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

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

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

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

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

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

Es necesario tener áreas separadas para la preparación de la mezcla de reacción completa y la extracción/amplificación/detección de los productos de amplificación.

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

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

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

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

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

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

14 PROBLEMAS Y SOLUCIONES

Tabla 37

Reacción no válida del calibrador Q-PCR-Standard, de la curva de calibración o del Positive Control	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la posición de la mezcla completa de reacción, así como de los calibradores Q-PCR Standard y del Positive Control. Comprobar el volumen de la mezcla completa de reacción, así como el de los calibradores Q-PCR Standard y el del Positive Control.
Error en la preparación de la mezcla completa de reacción.	Comprobar los volúmenes de los reactivos utilizados durante la preparación de la mezcla completa de reacción.

Tabla 37 (continued)

Reacción no válida del calibrador Q-PCR-Standard, de la curva de calibración o del Positive Control	
Posibles causas	Soluciones
Degradación de la mezcla completa de reacción o de sus componentes.	No utilizar la mezcla completa de reacción durante más de 3 sesiones consecutivas: 7 horas en el bloque refrigerado de la «Inventory Area» (área del inventario) o en la «Cooler Unit». No dejar la PCR Mix a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. No exponer la mezcla «RT EnzymeMix» a temperaturas superiores a -20 °C durante más de 10 minutos. Volver a preparar la mezcla completa de reacción. Utilizar una nueva alícuota de los componentes.
Degradación de los calibradores «Q-PCR-Standard» o del Positive Control.	No utilizar el Q-PCR Standard para más de 4 sesiones independientes: 2 horas cada una en el área de extracción o en la «Cooler Unit». No utilizar el Positive Control para más de 4 sesiones independientes: 3 horas cada una en el área de extracción o en la «Cooler Unit». Utilizar nuevas alícuotas de los calibradores Q-PCR-Standard o del Positive Control.
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Tabla 38

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

Tabla 39

Reacción no válida de la muestra	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la posición de la mezcla completa de reacción, así como del Internal Control y la de la muestra. Comprobar los volúmenes de la mezcla completa de reacción, así como la del Internal Control y la de la muestra.
Error en la preparación de la mezcla completa de reacción.	Comprobar los volúmenes de los reactivos utilizados durante la preparación de la mezcla completa de reacción.

Tabla 39 (continued)

Reacción no válida de la muestra	
Posibles causas	Soluciones
Degradación de la mezcla completa de reacción o de sus componentes.	No utilizar la mezcla completa de reacción durante más de 3 sesiones consecutivas: 7 horas en el bloque refrigerado de la «Inventory Area» (área del inventario) o en la «Cooler Unit». No dejar la PCR Mix a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. No exponer la mezcla «RT EnzymeMix» a temperaturas superiores a -20 °C durante más de 10 minutos. Volver a preparar la mezcla completa de reacción. Utilizar una nueva alícuota de los componentes.
Degradación de la plantilla del Internal Control.	Utilizar una nueva alícuota del Internal Control.
Inhibición debida a la presencia de sustancias interferentes en la muestra.	Repetir la amplificación con una dilución de 1:2 en agua para biología molecular de la muestra eluida en una sesión en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR). Repetir la extracción con una dilución de 1:2 en agua para biología molecular de la muestra en una sesión realizada en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Tabla 40

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

Tabla 41

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 notable en el gráfico de PCR, proceder de la manera siguiente: - Seleccionar el carril relativo a la muestra y aprobar manualmente el resultado como positivo. Si no se observa ninguna amplificación en el gráfico de la PCR, seleccionar el carril relativo a la muestra y aprobar manualmente el resultado como negativo, o bien dejarlo como no válido. Si se requiere un valor Ct: - Repetir la amplificación de la muestra eluida con una dilución de 1:10 en agua para biología molecular de la muestra en una sesión realizada en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR). - Repetir la extracción de la muestra con una dilución de 1:10 en agua para biología molecular en una sesión realizada en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).

Tabla 42

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.	<p>Limpiar la micropipeta con una solución reciente de hipoclorito de sodio (lejía) al 3 % o un limpiador de ADN/ARN después de pipetear cada muestra.</p> <p>No utilizar pipetas de Pasteur. Las pipetas deben ser del tipo de desplazamiento positivo o utilizarse con puntas con filtro para aerosoles.</p> <p>Introducir las muestras en las últimas posiciones de los instrumentos, tal como se indica en la interfaz. Seguir la secuencia de carga indicada por el software.</p>
Contaminación medioambiental en el laboratorio	<p>Limpiar todas las superficies que están en contacto con el operador y las muestras (inclusive las pipetas) con solución de hipoclorito de sodio (lejía) al 3 % reciente o limpiador de ADN/ARN.</p> <p>Realizar un ciclo de descontaminación con radiación UV.</p> <p>Volver a preparar la mezcla completa de reacción o utilizar una nueva alícuota de reactivos o de CPE.</p>

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.



Atención: Consultar 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. En el momento de la revisión actual de las instrucciones de uso, no se había producido ningún incidente grave ni ninguna retirada relacionada con el rendimiento del producto o la seguridad del dispositivo.

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 del departamento de licencias de Thermo Fisher Scientific. Correo electrónico: outlicensing@thermofisher.com.

ELITe MGB® detection reagents are covered by one or more of U. S. Patent numbers 7319022, 7348146, 7381818, 7541454, 7671218, 7718374, 7723038, 7759126, 7767834, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529, and EP patent numbers 1687609, 1781675, 1789587, 2689031, 2714939, 2736916, 2997161 as well as applications that are currently pending.

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 licenciatarios conceden ninguna otra licencia, ni expresa ni implícita, para ningún otro propósito.

El logotipo de ELITe MGB® logo, ELITe InGenius® y ELITe BeGenius® son marcas registradas de ELITechGroup en la Unión Europea. MGB®, Eclipse Dark Quencher®, AquaPhluor®, ELITe MGB®, el logotipo de ELITe MGB® logo, ELITe InGenius® y ELITe BeGenius® son marcas registradas de ELITechGroup en la Unión Europea.

Appendix A ENTEROVIRUS 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 **ENTEROVIRUS ELITe MGB® Kit** es un producto sanitario para diagnóstico *in vitro* concebido para uso por parte de profesionales sanitarios como ensayo cuantitativo de ácidos nucleicos mediante retrotranscriptasa y PCR en tiempo real para la detección y la cuantificación de ARN de enterovirus humano (A, B, C, D) 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 retrotranscriptasa, la PCR en tiempo real y la interpretación de los resultados utilizando muestras humanas de plasma recogido en EDTA y de líquido cefalorraquídeo (LCR).

El producto se utiliza como ayuda en el diagnóstico de infecciones por enterovirus (EV) humano en pacientes en los que se sospecha la presencia de alguna infección por EV o y el seguimiento en pacientes que tienen que someterse a un seguimiento de una infección por EV.

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

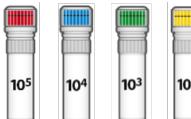
Secuencia amplificada

Secuencia	Gen	Fluoróforo	Canal
Diana	Región 5' UTR del EV	FAM	EV
Internal Control	Gen de la proteína A del bacteriófago MS2	AP525	IC

Matrices validadas

- Plasma recogido en EDTA
- Líquido cefalorraquídeo (LCR)

Contenido del kit y productos relacionados

ENTEROVIRUS ELITe MGB Kit (RTS020PLD)		ENTEROVIRUS ELITe Standard (STD020PLD)	ENTEROVIRUS - ELITe Positive Control (CTR020PLD)
 X 4	 x 2	 X 2	 X 2
EV PCR Mix 4 probetas de 600 µL 96 reacciones por kit 5 ciclos de congelación/ descongelación	RT EnzymeMix 2 probetas de 20 µL 96 reacciones por kit 10 ciclos de congelación/ descongelación	4 niveles listos para el uso: 10^5 , 10^4 , 10^3 , 10^2 2 conjuntos de 4 probetas de 160 µL 4 ciclos de congelación/ descongelación	Positive Control listo para el uso 2 probetas de 160 µL 8 reacciones por kit 4 ciclos de congelación/ descongelación
Período de estabilidad máximo: 18 meses Temperatura de almacenamiento: -20 °C		Período de estabilidad máximo: 24 meses Temperatura de almacenamiento: -20 °C	Período de estabilidad máximo: 24 meses Temperatura de almacenamiento: -20 °C

Otros productos necesarios no proporcionados con el kit

<ul style="list-style-type: none"> Instrumento ELITe InGenius: INT030. Instrumento ELITe BeGenius: INT040. ELITe InGenius SP 200: INT032SP200. ELITe InGenius SP 200 Consumable Set: INT032CS. 	<ul style="list-style-type: none"> ELITe InGenius PCR Cassette: INT035PCR. ELITe InGenius Waste Box: F2102-000. CPE - Internal Control: CTRCPE 300 µL Filter Tips Axigen: TF-350-L-R-S. 1000 µL Filter Tips Tecan: 30180118.
--	---

Protocolos ELITe InGenius y ELITe BeGenius

Tabla 43

<ul style="list-style-type: none"> Volumen inicial de extracción Volumen del CPE Volumen de elución extraído Volumen inicial de PCR de la muestra: 	<ul style="list-style-type: none"> 200 µL 10 µL 100 µL 10 µL 	<ul style="list-style-type: none"> Volumen de la PCR Mix Frecuencia de los controles Frecuencia de la calibración Unidad del resultado cuantitativo 	<ul style="list-style-type: none"> 20 µL 15 días 60 días copias/mL
--	--	---	--

Rendimiento del ELITe InGenius y de ELITe BeGenius

Matriz	Límite de detección	Sensibilidad	Especificidad
Plasma recogido en EDTA	141 copias/mL	100 % 64 muestras analizadas	100 % 50 muestras analizadas
LCR	490 copias/mL	100 % 64 muestras analizadas	100 % 50 muestras analizadas

Preparación de la muestra

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

Muestra	Requisitos de obtención	Condiciones transporte/almacenamiento			
		de +16 °C a +26 °C (temperatura ambiente)	de +2 °C a +8 °C	-20 °C ± 10 °C	-70 °C ± 15 °C
Plasma	EDTA	≤24 horas	≤3 días	≤1 mes	≤1 mes
LCR	-	NR	≤24 horas	≤1 mes	≤1 mes

NR: no recomendado.

Procedimientos con el ELITe InGenius

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

Antes del análisis

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

4. Preparar la mezcla completa de reacción.	5. Agitar suavemente en un vórtex. Centrifugar durante 5 segundos. Mantener la mezcla de reacción completa en hielo. No exponer el producto a la luz directa.
Número de muestras (N)	la mezcla de PCR
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) × 20 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) × 20 µL
N = 12	290 µL
	RT EnzymeMix
	(N + 1) × 0,3 µL
	(N + 2) × 0,3 µL
	4,4 µL

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

1. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil.	2. Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL»; «Elution» (Elución): «100 µL»	3. Escanear los códigos de barras de las muestras con el lector de códigos de barras manual, o bien introducir directamente el ID de la muestra.
4. Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo): EV ELITe_PL_200_100 y EV ELITe_CSF_200_100	5. Seleccionar el método «Extract + PCR» (Extracción + PCR) y la posición de la muestra: «Extraction Tube» (Tubo de extracción).	6. Cargar la mezcla completa de reacción en el «Inventory Block» (administrador de inventarios).
7. Cargar: Cargar el PCR Cassette, el cartucho de extracción, el «Elution Tube» (Tubo de elución), el cartucho de puntas y las gradillas de «Extraction Tube» (Tubo de extracción).	8. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	9. Consultar, aprobar y almacenar los resultados.

NOTA!

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

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

1 a 4. Seguir el Procedimiento 1 que se ha descrito antes; seleccione los Assay Protocols (protocolos de ensayo). EV ELITe_PC y EV ELITe_NC or EV ELITe_STD.	5. Seleccionar el método «PCR Only» (Solo PCR) y establecer la posición de la muestra «Elution Tube» (Tubo de elución).	6. Cargar la mezcla completa de reacción en el «Inventory Block» (administrador de inventarios).
7. Cargar: El PCR Cassette y la rejilla de la «Elution Tube» (Tubo de elución) con el ácido nucleico extraído.	8. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	9. Consultar, aprobar y almacenar los resultados.

Procedimientos con el ELITe BeGenius

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

Antes del análisis

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

4. Preparar la mezcla completa de reacción.			5. Agitar suavemente en un vórtex. Centrifugar durante 5 segundos. Mantener la mezcla de reacción completa en hielo. No exponer el producto a la luz directa.
Número de muestras (N)	la mezcla de PCR	RT EnzymeMix	
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) × 20 µL	(N + 1) × 0,3 µL	
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) × 20 µL	(N + 2) × 0,3 µL	
N = 12	290 µL	4,4 µL	
13 ≤ N ≤ 18	(N + 3) × 20 µL	(N + 3) × 0,3 µL	
19 ≤ N ≤ 23	(N + 4) × 20 µL	(N + 4) × 0,3 µL	
N = 24	580 µL	8,7 µL	

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

1. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil y, a continuación, hacer clic en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	2. Insertar la «Sample Rack» (Rack de muestras) con las muestras dotadas de códigos de barras en la «Cooling Unit» (unidad de refrigeración). El escaneado de códigos de barras ya está activo.	3. Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL», «Eluate» (Eluido): «100 µL»
4. Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo). EV ELITe_Be_PL_200_100 o EV ELITe_Be_CSF_200_100 Nota: Si es necesario llevar a cabo una segunda extracción, repetir los pasos del 2 al 4.	5. Imprimir las etiquetas para incluir el código de barras correspondiente en las probetas de elución vacías. Cargar las probetas en la «Elution Rack» (rejilla de elución) e insertarla en la «Cooler Unit».	6. Cargar la mezcla completa de reacción y el Internal Control en la «Reagent Rack» (gradilla de reactivos) e insertarla en la «Cooler Unit».
7. Cargar la «PCR Rack» (rejilla de PCR) con el «PCR Cassette» y la «Extraction Rack» (rejilla de extracción), con los cartuchos de extracción «ELITe InGenius SP 200» y los consumibles que se necesitan para la extracción.	8. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	9. Consultar, aprobar y almacenar los resultados.

NOTA!

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

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

1. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil 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. Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL», «Eluate» (Eluido): «100 µL»
4. Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo). (EV ELITe_Be_PC and EV ELITe_Be_NC or EV ELITe_Be_STD)	5. Load the complete reaction mixture in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit	6. Cargar la «PCR Rack» (rejilla de PCR) con el «PCR Cassette»
7. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	8. Consultar, aprobar y almacenar los resultados.	

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

