



NOTICE of CHANGE dated 20/06/2025

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«HBV ELITe MGB[®] Kit» Ref. RTK602ING

This new revision of the Instruction for Use (IFU) contains the following change:

- *Update for compliance with the Regulation (EU) 2017/746 on in vitro diagnostic medical devices (IVDR) requirements.*
- *Updated data have been added in PERFORMANCE CHARACTERISTICS paragraph.*

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

PLEASE NOTE

The product batches identified by the following LOT numbers are still placed on the market as per IVDD till to their expiration dates, according to Article 110 of IVDR. If you have those product batches, please contact ELITechGroup staff to request the related previous revision of IFUs.

PRODUCT REF.	Lot Number	Expiry date
RTK602ING	C1224-002	31/10/2026
RTK602ING	C0225-002	31/12/2026

HBV ELITe MGB® Kit

Reactivo para la PCR de ADN en tiempo real

REF

RTK602ING



IVD



UDI

08033891487027

0123

ÍNDICE

USO PREVISTO	página 1
PRINCIPIO DEL ENSAYO	página 2
DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO	página 2
MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO	página 3
MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO	página 3
OTROS PRODUCTOS NECESARIOS	página 4
ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES	página 5
MUESTRAS Y CONTROLES	página 6
PROCEDIMIENTO CON EL ELITe InGenius	página 8
PROCEDIMIENTO CON EL ELITe BeGenius	página 14
CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO	página 18
BIBLIOGRAFÍA	página 30
LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO	página 30
PROBLEMAS Y SOLUCIONES	página 32
SÍMBOLOS	página 34
NOTA PARA LOS USUARIOS	página 35
AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA	página 35
ANEXO: GUÍA RÁPIDA	página A

USO PREVISTO

El producto **HBV ELITe MGB® Kit** es un producto sanitario para diagnóstico *in vitro* concebido para uso por parte de profesionales sanitarios como ensayo cuantitativo de ácidos nucleicos mediante PCR en tiempo real para la detección y la cuantificación de ADN de virus de la hepatitis B (VHB), extraído de muestras clínicas.

El ensayo se ha validado con los instrumentos **ELITe InGenius®** y **ELITe BeGenius®**, que son sistemas automatizados e integrados para la extracción, la PCR en tiempo real y la interpretación de los resultados utilizando muestras humanas de plasma recogido en EDTA o en ACD y de suero.

El producto está concebido para utilizarlo como ayuda en el tratamiento de personas infectadas por el VHB que están recibiendo un tratamiento antivírico.

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

Este producto no está concebido para utilizarlo en análisis de cribado ni para detectar la presencia de agentes contagiosos o la exposición a ellos en sangre, hemoderivados, células, tejidos, órganos o cualquiera de sus derivados a la hora de evaluar su idoneidad para una transfusión, un trasplante o una administración de células. El producto tampoco está concebido como prueba de diagnóstico para confirmar la presencia de una infección por el VHB.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

Este es un ensayo cuantitativo de PCR en tiempo real para la detección de ADN de VHB aislado de muestras y amplificado utilizando el reactivo de ensayo **HBV PCR Mix**, que contiene cebadores y sondas con la tecnología ELITE MGB®.

Las sondas ELITE MGB se activan cuando se hibridan con los productos de PCR relacionados. 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 VHB 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.

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

El producto **HBV ELITE MGB Kit** incluye los siguientes componentes:

- **HBV ELITE MGB Mix**

Este componente incluye el subcomponente **HBV PCR Mix**, una mezcla de PCR optimizada y estabilizada que contiene cebadores y una sonda específicos para:

- El gen de la polimerasa de **VHB** (gen P), detectado en el canal **HBV**; la sonda se estabiliza con la tecnología MGB®, se inactiva con el Eclipse Dark Quencher® y se marca con el colorante FAM.
- El Internal Control (IC), específico para la secuencia artificial IC2, detectado en el canal **IC**; la sonda se estabiliza con la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher® y se marca con el colorante AquaPhluor® AP525.
- El producto **HBV PCR Mix** también contiene solución tampón, cloruro de magnesio, nucleótidos-trifosfatos y la enzima ADN polimerasa con activación térmica («hot-start»). Cada vial contiene **280 µL** de solución, suficiente para **12 análisis** (procesando al menos 2 muestras por sesión).

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

- **HBV ELITE Standard**

Este componente incluye los subcomponentes **HBV Q-PCR Standard**, que son cuatro soluciones estabilizadas de ADN plasmídico con la región amplificada del gen de la polimerasa de VHB a un **título conocido**. El componente **HBV ELITE Standard** debe utilizarse con el producto **HBV PCR Mix** en los instrumentos **ELITE InGenius** y **ELITE BeGenius** con el fin de calcular la curva de calibración del sistema (lote de producto e instrumento) para la cuantificación de VHB.

La concentración de ADN plasmídico se determinó mediante un espectrofotómetro de UV como copias/mL, que se relacionó con el 4º Estándar internacional de la OMS para ensayos basados en técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (TAAN) para ADN de VHB (NIBSC, Reino Unido, código 10/266), aplicando un factor de conversión que permitió realizar una cuantificación de VHB en unidades internacionales/mL (UI/mL).

La concentración de ADN plasmídico también se relacionó al 5º Estándar internacional de la OMS para ensayos basados en técnicas de amplificación de ácidos nucleicos para ADN de VHB (NIBSC, Reino Unido, código 22/120) aplicando un factor de conversión en unidades internacionales, tal como se indica en la sección «Características de rendimiento».

HBV ELITE MGB® Kit

Reactivo para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTK602ING

El producto **HBV ELITE Standard** contiene suficientes reactivos para realizar **2 sesiones** en el **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius** cuando se utilizan 20 µL en cada reacción.

- **HBV – ELITE Positive Control**

Este componente contiene el subcomponente **HBV Positive Control**, una solución estabilizada de ADN plasmídico con la región amplificada del gen de la polimerasa de VHB a un **título conocido**. El producto **HBV Positive Control** debe utilizarse con la mezcla **HBV PCR Mix** en el **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius** para generar los gráficos de control («Control Charts») que permiten realizar la verificación del sistema (lote del producto e instrumento).

El componente **HBV - ELITE Positive Control** contiene suficientes reactivos para realizar **8 sesiones** en el **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius (4 sesiones con cada probeta)** cuando se utilizan 20 µL en cada reacción.

- **HBV Internal Control**

Este componente incluye el subcomponente **HBV CPE (Internal Control exógeno)**, una solución estabilizada de ADN plasmídico que contiene la secuencia artificial IC2. El **HBV CPE** se añade a los reactivos de extracción para validar los resultados de las muestras negativas para VHB.

El componente **HBV Internal Control** contiene suficientes reactivos para realizar **96 análisis** en el **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius (12 análisis con cada probeta)** cuando se utilizan 10 µL en cada reacción.

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

MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

Componente	Subcomponente	Descripción	Cantidad	Clasificación de peligros
HBV ELITE MGB Mix ref. RTS602ING	HBV PCR Mix ref. RTS602ING	Mezcla de reactivos para la PCR en tiempo real con tapón blanco	8 × 280 µL	-
HBV ELITE Standard ref. STD602ING	HBV Q-PCR Standard 10 ⁵ ref. STD602ING-5	Solución plasmídica en probeta con tapón rojo	1 × 160 µL	-
	HBV Q-PCR Standard 10 ⁴ ref. STD602ING-4	Solución plasmídica en probeta con tapón azul	1 × 160 µL	
	HBV Q-PCR Standard 10 ³ ref. STD602ING-3	Solución plasmídica en probeta con tapón verde	1 × 160 µL	
	HBV Q-PCR Standard 10 ² ref. STD602ING-2	Solución plasmídica en probeta con tapón amarillo	1 × 160 µL	
HBV - ELITE Positive Control ref. CTR602ING	HBV Positive Control ref. CTR602ING	Solución plasmídica en probeta con tapón negro	2 × 160 µL	-
HBV Internal Control ref. CPE602ING	HBV CPE ref. CPE602ING	Solución de ADN plasmídicos y ARN genómico del bacteriófago MS2 con tapón neutro	8 × 160 µL	-

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 3000 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.

HBV ELITE MGB® Kit

Reactivo para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTK602ING

OTROS PRODUCTOS NECESARIOS

Este kit **no** incluye los reactivos para la extracción de ADN de las muestras ni los consumibles. Para la extracción automática de ácidos nucleicos, la PCR en tiempo real y la interpretación de los resultados de las muestras, es necesario utilizar los siguientes productos:

Instrumentos y productos de software	Productos y reactivos
<p>ELITE InGenius (ELITechGroup S.p.A.,EG SpA, ref. INT030)</p> <p>ELITE InGenius Software, versión 1.3.0.17 (o posterior)</p> <p>HBV ELITE_PC, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control.</p> <p>HBV ELITE_NC, Assay Protocol (protocolo de ensayo) para el análisis del Negative Control.</p> <p>HBV ELITE_STD, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de los calibradores</p> <p>HBV ELITE_PL_200_50, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de plasma</p> <p>HBV ELITE_Se_200_50, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de suero</p>	<p>ELITE InGenius SP 200 (EG SpA, ref. INT032SP200)</p> <p>ELITE InGenius SP 200 Consumable Set (EG SpA, ref. INT032CS)</p> <p>ELITE InGenius PCR Cassette (EG SpA, ref. INT035PCR),</p> <p>300 µL Filter Tips Axygen (Corning Life Sciences Inc., ref. TF-350-L-R-S), solo con el ELITE InGenius</p> <p>1000 µL Filter Tips Tecan (Tecan, Switzerland, ref. 30180118), solo con el ELITE BeGenius</p> <p>ELITE InGenius Waste Box (EG SpA, ref. F2102-000)</p>
<p>ELITE BeGenius (EG SpA, ref. INT040)</p> <p>ELITE BeGenius Software versión 2.1.0 (o posterior)</p> <p>HBV ELITE_Be_PC, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control.</p> <p>HBV ELITE_Be_NC, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Negative Control</p> <p>HBV ELITE_Be_STD, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de los calibradores</p> <p>HBV ELITE_Be_PL_200_50, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de plasma</p> <p>HBV ELITE_Be_Se_200_50, Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras de suero</p>	

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

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

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.

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.

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

HBV ELITE MGB® Kit

Reactivo para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTK602ING

Advertencias y precauciones específicas para los componentes:

Componente (subcomponente)	Temperatura de almacenamiento	Uso a partir de la primera apertura	Ciclos de congelación y descongelación	Estabilidad con carga (ELITE InGenius y ELITE BeGenius)
HBV ELITE MGB Mix (HBV PCR Mix)	-20 °C o menos (protegido de la luz)	60 días	siete como máximo	Hasta 7 sesiones independientes* de 3 horas cada una o hasta 7 horas consecutivas (2 sesiones de 3 horas cada una y el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión)
HBV ELITE Standard (HBV Q-PCR Standard)	-20 °C o menos	60 días	máximo dos	hasta 2 sesiones independientes de 2 horas cada una
HBV ELITE – Positive Control (HBV Positive Control)	-20 °C o menos	60 días	Cuatro como máximo	hasta 4 sesiones independientes de 3 horas cada una
HBV ELITE Internal Control (HBV CPE)	-20 °C o menos	60 días	hasta seis	hasta 6 sesiones independientes de 3 horas cada una

* con ciclos de congelación y descongelación intermedios

MUESTRAS Y CONTROLES**Muestras**

Este producto está concebido para utilizarlo en los instrumentos **ELITE InGenius** y **ELITE BeGenius** con las siguientes muestras clínicas, identificadas y manipuladas conforme a las directrices para laboratorios y obtenidas, transportadas y conservadas en las condiciones que se indican a continuación.

Tipo de muestra	Requisitos de obtención	Condiciones transporte/almacenamiento			
		de +16 a +26 °C (temperatura ambiente)	de +2 °C a +8 °C	-20 °C ± 10 °C	-70 °C ± 15 °C
Plasma	EDTA o ACD	≤3 días	≤5 días	≤1 mes	≤6 meses
Suero	-	≤3 días	≤5 días	≤1 mes	≤6 meses

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** y el **ELITE BeGenius**, es necesario utilizar los siguientes Assay Protocols (protocolos de ensayo). Estos protocolos IVD se han validado específicamente con los productos ELITE MGB Kit y los instrumentos **ELITE InGenius** o **ELITE BeGenius** con las matrices indicadas.

Protocolo de ensayo para el producto HBV ELITE MGB Kit

Muestra	Instrumento	Nombre del Assay Protocol (protocolo de ensayo)	Informe	Características
Plasma recogido en ACD o en EDTA	ELITE InGenius	HBV ELITE_PL_200_50	Positivo / copias/mL / IU/mL / Negativo	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución de extracción: 50 µL Internal Control: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL
	ELITE BeGenius	HBV ELITE_Be_PL_200_50	Positivo / copias/mL / IU/mL / Negativo	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución de extracción: 50 µL Internal Control: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL
Suero	ELITE InGenius	HBV ELITE_Se_200_50	Positivo / copias/mL / IU/mL / Negativo	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución de extracción: 50 µL Internal Control: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL
	ELITE BeGenius	HBV ELITE_Be_Se_200_50	Positivo / copias/mL / IU/mL / Negativo	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución de extracción: 50 µL Internal Control: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 20 µL

Para todos los protocolos, es preciso verter 200 µL de muestra en el «Extraction Tube» (tubo de extracción), en el caso del ELITE InGenius, o en una probeta Sarstedt de 2 mL, en el caso del ELITE BeGenius.

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

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 es un inhibidor de la PCR.

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 **HBV ELITE Standard** (incluido con este kit) con los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **HBV ELITE_STD** o **HBV ELITE_Be_STD**.

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

HBV ELITE MGB® Kit

Reactivo para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTK602ING

reactivo de PCR.

- Para el Positive Control, utilizar el producto **HBV - ELITE Positive Control** incluido con este kit con los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **HBV ELITE_PC** o **HBV 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) **HBV ELITE_NC** o **HBV ELITE_Be_NC**.

Nota: El **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius** permiten generar y guardar la curva de calibración y validar el 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 servicio o mantenimiento en uno de los instrumentos **ELITE InGenius** o **ELITE BeGenius**.

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.

PROCEDIMIENTO CON EL ELITE InGenius

El procedimiento para utilizar el producto **HBV ELITE MGB Kit** con el **ELITE InGenius** comprende tres pasos:

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	A) Validación de la curva de calibración
		B) Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
		C) Validación de los resultados de las muestras
		D) Elaboración de los informes de resultados de las muestras

PASO 1. Verificación de la disponibilidad del sistema

Antes de 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 (**HBV Q - PCR Standard**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de **HBV PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de calibradores válidos para el lote de mezcla **HBV 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 (**HBV Positive Control** y **HBV Negative Control**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de mezcla **HBV PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de controles de PCR válidos para el lote de **HBV Q-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.

PASO 2. Configuración de la sesión

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

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

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

	A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)	B. Sesión con la muestra eluida; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
1	<p>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.</p> <p>Para este ensayo, es necesario verter 200 µL de muestra en un «Extraction Tube» (tubo de extracción) previamente etiquetado.</p> <p>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.</p>	<p>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.</p>
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 50 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 50 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	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la

	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)
	«Muestras y controles».	sección «Muestras y controles».
6	Asegurarse de que el protocolo que se muestra en el área «Protocol» (Protocolo) sea «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	Seleccionar «PCR Only» (Solo PCR) en la columna «Protocol» (Protocolo).
7	En la columna «Sample Position» (Posición de la muestra), seleccionar la posición de carga «Extraction Tube» (Tubo de extracción) para la muestra. Asegurarse de que la opción «Dilution factor» (Factor de dilución) esté configurada a «1».	Asegurarse de que la posición de carga de la muestra de la columna «Sample Position» (Position 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» (Siguiete) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiete) para continuar.
9	Cargar el CPE y la PCR Mix en el «Inventory Block» (administrador de inventarios) en función de la «Load List» (Cargar lista) y, después, introducir el número de lote del CPE y de la mezcla PCR Mix, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.	Cargar la PCR Mix en el «Inventory Block» (administrador de inventarios) en función de la «Load List» (Cargar lista) y, después, introducir el número de lote de la PCR Mix, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.
10	Hacer clic en «Next» (Siguiete) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiete) 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» (Siguiete) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiete) para continuar.
13	Cargar el PCR Cassette, los cartuchos de extracción ELITE InGenius SP 200, así como todos los consumibles necesarios y las muestras que deben extraerse.	Cargar el PCR Cassette y las «Elution Tube» (Tubo de elución) con las muestras extraídas.
14	Hacer clic en «Next» (Siguiete) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiete) para continuar.
15	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.
16	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).

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

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

Nota: al finalizar la sesión, la parte que queda de la muestra extraída en el «**Elution Tube**» (tubo de elución) debe extraerse del instrumento, taparse, identificarse y conservarse a -20 °C o a una temperatura inferior durante un máximo de un mes. Evitar derramar la muestra extraída.

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

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

PCR Standard.

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

Nota: 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.

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 **HBV ELITE MGB Kit** mediante el siguiente procedimiento:

- A. Validación de la curva de calibración
- B. Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
- C. Validación de los resultados de las muestras
- D. Elaboración de los informes de resultados de las muestras

A. 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) **HBV ELITE_STD**. La relación Ct a concentración resultante da lugar a la curva de calibración.

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

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

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

B. 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) **HBV ELITE_PC** y **HBV ELITE_NC**. Los valores de Ct resultantes se convierten en concentraciones y se utilizan para verificar el sistema (lote de reactivos e instrumento).

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

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

El **ELITE InGenius Software** procesa los resultados del Positive Control y del Negative Control y genera los gráficos de control («Control Charts»). 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.

C. Validación de los resultados de la muestra

El **ELITE InGenius Software** interpreta los resultados de la PCR para la diana (canal **HBV**) y el Internal Control (canal **IC**) con los parámetros de los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **HBV ELITE_PL_200_50** y **HBV ELITE_Se_200_50**. 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.

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

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

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

Resultado de la sesión de la muestra	Interpretación
HBV:DNA Detected, quantity equal to XXX copies/mL or IU/mL (VHB:ADN detectado, cantidad igual a "XXX" copias/mL o UI/mL) o	Se ha detectado ADN de VHB en la muestra dentro del rango de medición del ensayo y se indica su concentración.
HBV:DNA Detected, quantity below LLoQ copies/mL or IU/mL (VHB:ADN detectado, cantidad por debajo de "LLoQ" copias/mL o UI/mL)	Se ha detectado ADN de VHB en la muestra, pero su concentración se encuentra por debajo del límite inferior de cuantificación del ensayo.
HBV:DNA Detected, quantity beyond "ULoQ" copies/mL or IU/mL (VHB:ADN detectado, cantidad mas alta de "ULoQ" copias/mL o UI/mL)	Se ha detectado ADN de VHB en la muestra, pero su concentración se encuentra por encima del límite superior de cuantificación del ensayo.
HBV:DNA Not detected or below the "LoD" copies/mL or IU/mL (VHB:ADN no detectado o por debajo de "LoD" copias/mL o UI/mL)	No se ha detectado ADN de VHB en la muestra. La muestra es negativa para el ADN 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 la prueba.

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

Si queda un volumen de eluido suficiente, dicho eluido puede volver a analizarse (tal cual o diluido) en 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 la extracción de una nueva muestra utilizando el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR). (consultar la sección «Problemas y soluciones»)

Las muestras que se notifican como «HBV:DNA Not Detected or below "LoD" copies/mL or IU/mL» (VHB:ADN no detectado o por debajo del "LoD" copias/mL o UI/mL) son aptas para el análisis, pero no ha sido posible detectar ADN de VHB. En este caso, puede que la muestra sea negativa para ADN de VHB, o

HBV ELITE MGB® Kit

Reactivo para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTK602ING

que haya ADN de VHB a una concentración inferior al límite de detección del ensayo (ver sección «Características de rendimiento»).

Si se detectan muestras positivas para ADN de VHB a una concentración inferior al límite de detección (y al límite inferior de cuantificación) del ensayo, estas se notifican como «HBV:DNA Detected, quantity below “LLoQ” copias/mL or IU/mL (VHB:ADN detectado, cantidad por debajo de “LLoQ” copias/mL o UI/mL)»; consultar la sección «Características de rendimiento».

Las muestras positivas para ADN de VHB dentro del rango de medición lineal (consultar «Características de rendimiento») se detectan y notifican como «HBV:DNA Detected, quantity equal to “XXX” copias/mL or IU/mL (VHB:ADN detectado, cantidad igual a “XXX” copias/mL o UI/mL)».

Las muestras positivas par ADN de VHB que se encuentran por encima del límite superior de cuantificación se notifican como «HBV: DNA Detected, quantity beyond ULoQ copias/mL or IU/mL» (VHB:ADN detectado, cantidad mas alta de “ULoQ” copias/mL o UI/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 ventana «Results Display») 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».

D. 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».

PROCEDIMIENTO CON EL ELITE BeGenius

El procedimiento para utilizar el producto **HBV ELITE MGB Kit** con el **ELITE InGenius** comprende tres pasos:

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	A) Validación de la curva de calibración
		B) Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
		C) Validación de los resultados de las muestras
		D) Elaboración de los informes de resultados de las muestras

PASO 1. Verificación de la disponibilidad del sistema

Antes de 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 (**HBV 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 **HBV 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 (**HBV Positive Control** y **HBV Negative Control**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de mezcla **HBV PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de controles de PCR válidos para el lote de **HBV 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.

PASO 2. Configuración de la sesión

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

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

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

	A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)	B. Sesión con la muestra eluida; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
1	Identificar las muestras y, en caso necesario, descongelar a temperatura ambiente, mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Para este ensayo, es preciso verter 200 µL de muestra en una probeta Sarstedt de 2 mL previamente etiquetada. Descongelar las probetas de CPE necesarias a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.	En caso necesario, descongelar los «Elution Tube» (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 el «Sample Rack» (rack de muestras). Nota: si se cargan probetas secundarias «2 mL Tube», utilizar los adaptadores azules para el «Sample Rack» (rack de muestras).	Cargar las muestras en la «Elution Rack» (rejilla de elución).

HBV ELITE MGB® Kit

Reactivo para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTK602ING

	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)
6	Insertar el « Sample Rack » (rack de muestras) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 5 (L5). En caso necesario, insertar el ID de la muestra para cada posición utilizada. Si se cargan probetas secundarias, marcar la probeta de 2 mL como «2 mL Tube». Si las probetas secundarias no tienen códigos de barras, introducir manualmente el ID de las muestras («Sample ID»).	Insertar la « Elution Rack » (rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). En caso necesario, para cada «Position» (Posición), introducir el «SID» (ID de la muestra), la «Sample matrix» (matriz de la muestra), el «Extraction Kit» (kit de extracción) y el «Extracted Eluate Volume» (volumen de elución extraído).
7	Hacer clic en «Next» (Siguiete) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiete) 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 50 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 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» (Siguiete) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiete) 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); los tubos 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
15	Hacer clic en «Next» (Siguiete) para continuar.	No aplicable
16	Cargar el CPE y la PCR Mix en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución).	Cargar la PCR Mix en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución).
17	Insertar la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) en el Lane 2 (L2) de la «Cooler Unit» o, si está disponible, en el Lane 1 (L1). En caso necesario, para cada PCR Mix o CPE, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).	Insertar la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) en el Lane 2 (L2) de la «Cooler Unit» o, si está disponible, en el Lane 1 (L1). En caso necesario, para cada PCR Mix, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).
18	Hacer clic en «Next» (Siguiete) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiete) para continuar.
19	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.
20	Hacer clic en «Next» (Siguiete) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiete) para continuar.
21	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).
22	Hacer clic en «Next» (Siguiete) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiete) para continuar.
23	Cargar la «Extraction Rack» (rejilla de extracción) con los cartuchos de extracción ELITE InGenius SP 200 y los consumibles de extracción necesarios.	No aplicable
24	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.
25	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).

HBV ELITE MGB® Kit

Reactivo para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTK602ING

	C. Sesión de calibración; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)	D. Sesión para el Positive Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
1	Descongelar las probetas necesarias de calibrador Q-PCR Standard (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 µL 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 tabla de preparación.	Extraer las racks de los «Lanes» 1, 2 y 3 (L1, L2, L3) de la «Cooler Unit» y colocarlas en la tabla de preparación.
4	Seleccionar el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).	Seleccionar el «Run Mode»: «PCR Only» (Solo PCR).
5	Cargar las probetas de Q-PCR Standard en la «Elution Rack» (rejilla de elución).	Cargar las probetas de Positive Control y de Negative Control en la «Elution Rack» (rejilla de elución).
6	Insertar la «Elution Rack» (rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). En caso necesario, para cada «Position» introducir el «Reagent name» (nombre del reactivo), el «S/N» (número de serie) el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).	Insertar la «Elution Rack» (rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). En caso necesario, para cada «Position» introducir el «Reagent name» (nombre del reactivo), el «S/N» (número de serie) el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).
7	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
8	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 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 200 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 PCR Mix en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución).	Cargar la PCR Mix en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución).
12	Insertar la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) en la «Cooler Unit», en el Lane 2 (L2). En caso necesario, para cada PCR Mix, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).	Insertar la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) en el «Lane» 2 (L2) de la «Cooler Unit». En caso necesario, para cada PCR Mix, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).
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 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 10\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante un máximo de un mes. Evitar cualquier derrame de la muestra extraída.

Nota: al finalizar la sesión, la **PCR Mix** puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ o a una temperatura inferior, o bien mantenerse en el bloque refrigerado durante un máximo de 7 horas (2 sesiones de 3 horas cada una y el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión). Mezclar suavemente y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos antes de iniciar la siguiente sesión.

Nota: al finalizar la sesión, la parte que queda del calibrador **Q-PCR Standard** puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ o a una temperatura inferior. Evitar derramar el calibrador Q - PCR Standard.

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

Nota: 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.

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 **HBV ELITE MGB Kit** mediante el siguiente procedimiento:

- A. Validación de la curva de calibración
- B. Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
- C. Validación de los resultados de las muestras
- D. Elaboración de los informes de resultados de las muestras

Nota: consultar el mismo apartado del **procedimiento con el ELITE InGenius** para obtener más información.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Límite de detección (LoD)

El límite de detección (LoD) del ensayo se determinó en el instrumento ELITE InGenius, analizando un panel de muestras de plasma recogido en ACD negativas para VHB, que se enriquecieron con material de referencia certificado de VHB (4º Estándar internacional de la OMS, NIBSC). Se realizó un análisis de regresión Probit en los resultados y el LoD se calculó como la concentración correspondiente al 95 % de probabilidad de un resultado positivo.

Los resultados se muestran en las tablas siguientes.

Límite de detección (UI/mL) para muestras de plasma recogido en ACD y el ELITE InGenius			
Diana	Límite de detección	Intervalo de confianza del 95 %	
		Límite inferior	Límite superior
VHB	9	6	18

El LoD para las muestras de plasma recogido en ACD se calculó aplicando el factor de conversión específico (0,24 UI/copia). La sensibilidad analítica expresada en copias/mL se indica a continuación.

Límite de detección (copias/mL) para muestras de plasma recogido en ACD y el ELITE InGenius			
Diana	Límite de detección	Intervalo de confianza del 95 %	
		Límite inferior	Límite superior
VHB	38	27	73

El valor calculado para el LoD se verificó analizando en el ELITE InGenius y el ELITE BeGenius un conjunto de muestras de plasma recogido en ACD, un conjunto de muestras de plasma recogido en EDTA y un conjunto de muestras de suero, que se enriquecieron con material de referencia certificado de VHB a la concentración declarada.

Los resultados obtenidos confirmaron la concentración declarada para la diana del producto **HBV ELITE MGB Kit**, tanto en el ELITE InGenius como en el ELITE BeGenius.

Equivalencia de matriz: plasma recogido en EDTA frente a plasma recogido en ACD y suero

La equivalencia de matriz del producto **HBV ELITE MGB Kit** se verificó analizando muestras emparejadas (del mismo donante) de plasma recogido en ACD, plasma recogido en EDTA y suero en el ELITE InGenius.

Para 30 muestras que habían dado un resultado negativo para VHB en un inmunoensayo para diagnóstico *in vitro* con marcado CE, se evaluaron el porcentaje de concordancia negativa (NPA) y el coeficiente de variación porcentual (%CV) de los valores del Ct del Internal Control.

Los resultados se muestran en las tablas siguientes.

Muestra	N	Positivas	Negativas	NPA	%CV del Ct del IC	%CV total del Ct del IC
Plasma recogido en EDTA	30	0	30	100 %	0,86	0,98
Plasma recogido en ACD	30	0	30		1,01	

Muestra	N	Positivas	Negativas	NPA	%CV del Ct del IC	%CV total del Ct del IC
Plasma recogido en EDTA	30	0	30	97 %	0,90	0,86
Suero	30	1	29		0,82	

Una muestra de suero presentó un resultado positivo con un título muy bajo (inferior a 9 UI/mL), lo que es compatible con el resultado negativo obtenido en el inmunoensayo para diagnóstico *in vitro* con marcado CE que se utilizó para certificar la negatividad de la muestra.

Para 30 muestras enriquecidas con material de referencia certificado (4º Estándar internacional de la OMS para VHB, NIBSC), se evaluaron el porcentaje de concordancia positiva (PPA) y el coeficiente de variación (%CV) de los valores del Ct de VHB.

Los resultados se muestran en las tablas siguientes.

Muestra	N	Positivas	Negativas	PPA	%CV del Ct del VHB	%CV total del Ct del VHB
Plasma recogido en EDTA	30	30	0	100 %	1,75	1,81
Plasma recogido en ACD	30	30	0		1,88	

Muestra	N	Positivas	Negativas	PPA	%CV del Ct del VHB	%CV total del Ct del VHB
Plasma recogido en EDTA	30	30	0	100 %	1,59	1,49
Suero	30	30	0		1,29	

En estos análisis, tanto las 30 muestras emparejadas de plasma recogido en EDTA y plasma recogido en ACD como las 30 muestras emparejadas de plasma recogido en EDTA y suero presentaron un

HBV ELITE MGB® Kit

Reactivo para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTK602ING

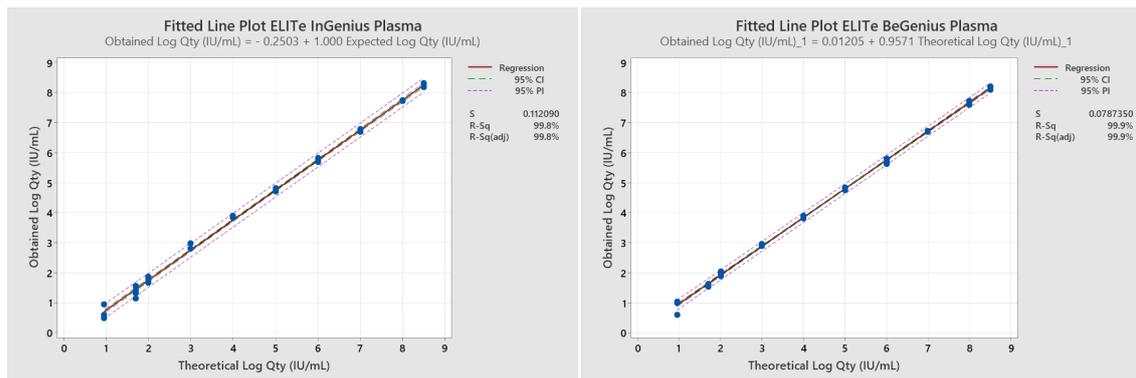
rendimiento equivalente cuando se analizaron con el producto **HBV ELITE MGB Kit** utilizando el ELITE InGenius.

Se realizaron análisis adicionales de equivalencia de matrices durante el estudio del rango de medición lineal que se menciona en el apartado siguiente.

Rango de medición lineal

El rango de medición lineal del ensayo se determinó analizando muestras de plasma recogido en ACD en el ELITE InGenius y el ELITE BeGenius, utilizando un panel de diluciones de material de referencia de VHB (ZeptoMetrix) en muestras negativas de plasma recogido en ACD.

Los resultados se muestran en las figuras siguientes.



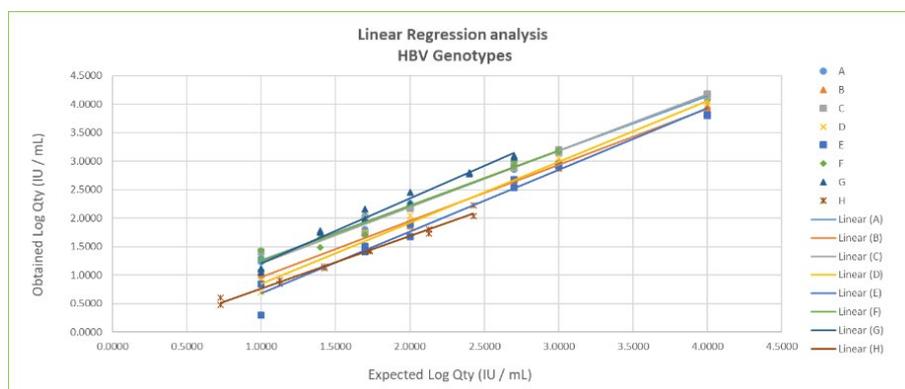
El rango de medición lineal expresado en copias/mL para plasma recogido en ACD se calculó aplicando el factor de conversión específico que se indica en el apartado siguiente.

Los resultados finales se resumen en la tabla siguiente.

Rango de medición lineal para el producto HBV ELITE MGB Kit y los instrumentos ELITE InGenius y ELITE BeGenius	
Límite inferior	Límite superior
9 UI/mL	317750000 UI/mL
38 copias/mL	1.323.958.333 copias/mL

Para los principales genotipos de VHB (A, B, C, D, E, F, G), el rango de medición lineal se verificó analizando muestras de plasma recogido en EDTA negativo y enriquecido con material de referencia de VHB (1^{er} Panel de referencia internacional de la OMS para genotipos de VHB, PEI).

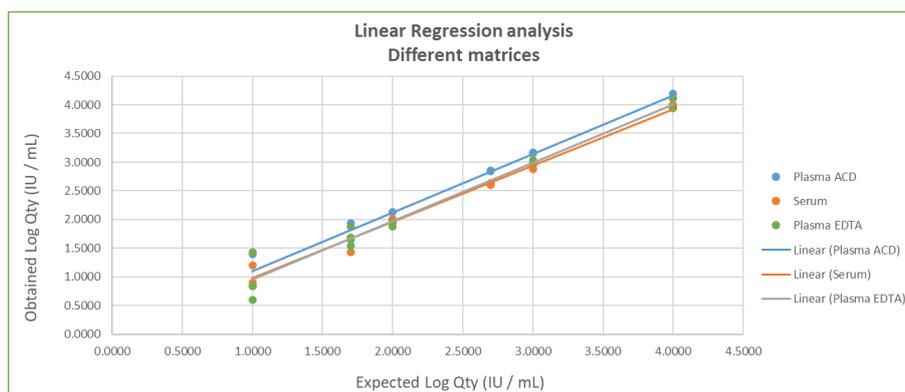
Los resultados se muestran en la siguiente figura.



La linealidad del ensayo se confirmó para los principales genotipos del VHB (A, B, C, D, E, F y G) que dieron resultados cuantitativos en el margen de $\pm 0,5$ log UI/mL y un R2 de 0,979 a 0,996.

Para las tres matrices, el rango de medición lineal se verificó analizando muestras negativas de plasma recogido en EDTA, muestras negativas de plasma recogido en ACD y muestras negativas de suero, que se enriquecieron con material de referencia de VHB (4^o Estándar internacional de la OMS, NIBSC).

Los resultados se muestran en la siguiente figura.



La linealidad del ensayo se verificó para muestras de plasma recogido en EDTA, muestras de plasma recogido en ACD y muestras de suero que dieron resultados cuantitativos en el margen de $\pm 0,5$ log UI/mL y un R2 de 0,974 para plasma recogido en EDTA, de 0,982 para plasma recogido en ACD y de 0,988 para suero.

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 0,2832 log copias/reacción.

Niveles de la curva de calibración	Valor teórico de log copias/reacción	DE	Incertidumbre combinada ampliada
HBV Q - PCR Standard 10^5	5,0000	0,0652	0,2832
HBV Q - PCR Standard 10^4	4,0000	0,0641	
HBV Q - PCR Standard 10^3	3,0000	0,0489	
HBV Q - PCR Standard 10^2	2,0000	0,0964	

Inclusividad: Eficacia de detección y cuantificación en distintos genotipos

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

La inclusividad del ensayo se verificó analizando dos paneles de materiales de referencia de VHB (PEI y SeraCare) a una concentración de 3 veces el LoD.

Los resultados se muestran en las tablas siguientes.

Primer panel de referencia internacional de la OMS para VHB		
ID de la muestra	Pos./Dup.	Resultado
VHB 1/A	3/3	HBV detectada
VHB 2/A	3/3	HBV detectada
VHB 3/A	3/3	HBV detectada
VHB 4/B	3/3	HBV detectada
VHB 5/B	3/3	HBV detectada
VHB 6/B	3/3	HBV detectada
VHB 7/B	3/3	HBV detectada
VHB 8/C	3/3	HBV detectada
VHB 9/C	3/3	HBV detectada
VHB 10/D	3/3	HBV detectada
VHB 11/D	3/3	HBV detectada
VHB 12/D	3/3	HBV detectada

HBV ELITE MGB® Kit
Reactivo para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTK602ING

Primer panel de referencia internacional de la OMS para VHB		
ID de la muestra	Pos./Dup.	Resultado
VHB 13/E	3/3	HBV detectada
VHB 14/F	3/3	HBV detectada
VHB 15/G	3/3	HBV detectada

AccuSet™ HBV DNA Genotype Performance Panel		
ID de la muestra	Pos./Dup.	Resultado
A	3/3	HBV detectada
B	3/3	HBV detectada
C	3/3	HBV detectada
D	3/3	HBV detectada
E	3/3	HBV detectada
F	3/3	HBV detectada
H	3/3	HBV detectada

Todas las muestras se detectaron correctamente y se cuantificaron en el margen de $\pm 0,5$ log UI/mL utilizando el producto **HBV ELITE MGB Kit** con el **ELITE InGenius**.

Marcadores potencialmente interferentes: reactividad cruzada

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

La ausencia de reactividad cruzada con otros microorganismos también se verificó analizando un panel de microorganismos imprevistos (ATCC, NIBSC y ZeptoMetrix) a un título alto.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

ID de la muestra	Pos/Dup de VHB	Resultado
Adenovirus 2	0/3	Sin reactividad cruzada
CMV	0/3	Sin reactividad cruzada
VEB	0/3	Sin reactividad cruzada
VHH6	0/3	Sin reactividad cruzada
VVZ	0/3	Sin reactividad cruzada
VHS1	0/3	Sin reactividad cruzada
VHS2	0/3	Sin reactividad cruzada
VIH-1	0/3	Sin reactividad cruzada
VIH-2	0/3	Sin reactividad cruzada
Parvovirus B19	0/3	Sin reactividad cruzada
Virus ECHO 4	0/3	Sin reactividad cruzada
Virus del dengue tipo 3	0/3	Sin reactividad cruzada
WNV	0/3	Sin reactividad cruzada
Virus de la gripe A (H1N1)	0/3	Sin reactividad cruzada
Virus de la gripe B (Florida)	0/3	Sin reactividad cruzada
VRS A2	0/3	Sin reactividad cruzada
VHA	0/3	Sin reactividad cruzada
VHC	0/3	Sin reactividad cruzada
VHE	0/3	Sin reactividad cruzada
VIH-1	0/3	Sin reactividad cruzada
VIH-2	0/3	Sin reactividad cruzada
<i>Candida albicans</i>	0/3	Sin reactividad cruzada

HBV ELITE MGB® Kit
Reactivo para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTK602ING

ID de la muestra	Pos/Dup de VHB	Resultado
<i>Staphylococcus aureus</i>	0/3	Sin reactividad cruzada

Ninguno de los microorganismos potencialmente interferentes analizados mostró reactividad cruzada para la amplificación de la diana de VHB cuando se utilizó el producto **HBV ELITE MGB Kit**.

Marcadores potencialmente interferentes: Inhibición

La inhibición potencial de microorganismos imprevistos que pueden encontrarse en las muestras clínicas se evaluó para el ensayo analizando paneles de microorganismos imprevistos (ATCC, NIBSC y ZeptoMatrix) a un título alto, que se enriquecieron con ADN genómico de VHB (NIBSC) a 3 veces el LoD.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

ID de la muestra	Pos/Dup de VHB	Resultado
Adenovirus 2	3/3	Sin interferencia
CMV	3/3	Sin interferencia
VEB	3/3	Sin interferencia
VHH6	3/3	Sin interferencia
VVZ	3/3	Sin interferencia
VHS1	3/3	Sin interferencia

ID de la muestra	Pos/Dup de VHB	Resultado
VHS2	3/3	Sin interferencia
VIH-1	3/3	Sin interferencia
VIH-2	3/3	Sin interferencia
Parvovirus B19	3/3	Sin interferencia
Virus ECHO 4	3/3	Sin interferencia
Virus del dengue tipo 3	3/3	Sin interferencia
WNV	3/3	Sin interferencia
Virus de la gripe A (H1N1)	3/3	Sin interferencia
Virus de la gripe B (Florida)	3/3	Sin interferencia
VRS A2	3/3	Sin interferencia
VHA	3/3	Sin interferencia
VHC	3/3	Sin interferencia
VHE	3/3	Sin interferencia
VIH-1	3/3	Sin interferencia
VIH-2	3/3	Sin interferencia
<i>Staphylococcus aureus</i>	3/3	Sin interferencia
<i>Candida albicans</i>	3/3	Sin interferencia

Ninguno de los microorganismos potencialmente interferentes mostraron inhibición de la detección y cuantificación de la diana de VHB cuando se utilizó el producto **HBV ELITE MGB Kit**.

Sustancias potencialmente interferentes: Inhibición

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

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Muestra	Pos/Dup de VHB	Resultado
EDTA	3/3	Sin interferencia
Heparina	1/3	Interferencia
Sangre hemolítica alta	3/3	Sin interferencia
Plasma lipémico	3/3	Sin interferencia
Plasma icterico	3/3	Sin interferencia
Ganciclovir	3/3	Sin interferencia
Azitromicina	3/3	Sin interferencia
Glecaprevir	3/3	Sin interferencia
Entecavir	3/3	Sin interferencia
Tenofovir	3/3	Sin interferencia
Lamivudina	3/3	Sin interferencia

La mayoría de las sustancias analizadas no interfirieron en la amplificación del VHB o del Internal Control.

Se confirmó que la heparina era capaz de inhibir la amplificación del VHB. No obstante, dado el valor corte del Ct del Internal Control (Ct del IC inferior a 31), las muestras presentaron un resultado «no válido» en lugar de «falso negativo».

HBV ELITE MGB® Kit

Reactivo para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTK602ING

Contaminación cruzada

La posible contaminación cruzada se evaluó analizando 30 muestras de plasma negativas para ADN de VHB, que se alternaron con 30 muestras de plasma enriquecidas con material de referencia certificado de VHB (Zeptomatrix) a un título alto.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Muestras	N	Negativas	Positivas
Plasma recogido en ACD enriquecido a 1×10^6 UI/mL de VHB	30	0	30
Plasma recogido en ACD negativo para el VHB	30	30	0

En este análisis con el producto **HBV ELITE MGB Kit**, no se detectó contaminación cruzada dentro de las propias sesiones ni entre las sesiones.

Tasa total de fallos del sistema

La tasa total de fallos del sistema para el ensayo se evaluó en el ELITE InGenius y el ELITE BeGenius analizando un panel de muestras que se enriquecieron con material de referencia certificado (4° Estándar internacional de la OMS para VHB, NIBSC) a una concentración de 3 veces el LoD (aproximadamente 27 UI/mL).

Los resultados se resumen en las tablas siguientes.

ELITE InGenius: tasa total de fallos del sistema				
Muestras	N	Positivas	Negativas	Tasa total de fallos del sistema
Plasma recogido en EDTA y enriquecido	100	100	0	0 %
Plasma recogido en ACD y enriquecido	30	30	0	0 %
Suero enriquecido	30	30	0	0 %

ELITE BeGenius: tasa total de fallos del sistema				
Muestras	N	Positivas	Negativas	Tasa total de fallos del sistema
Plasma recogido en EDTA y enriquecido	100	100	0	0 %

En el análisis con el producto **HBV ELITE MGB Kit**, ninguna de las muestras positivas para ADN de VHB analizadas presentó resultados falsos negativos. En este análisis, la tasa total de fallos del sistema fue del 0 %.

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 VHB (4° Estándar internacional de la OMS para VHB, NIBSC).

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

Repetibilidad dentro de las sesiones en el ELITE InGenius (día 1)								
Muestra	VHB				% de concordancia	Internal Control		
	N	Ct medio	DE	%CV		Ct medio	DE	%CV
Negativas	8	-	-	-	100 %	29,10	0,23	0,79
3×LoD	8	38,90	0,50	1,29	100 %			
10×LoD	8	36,50	0,16	0,44	100 %			

Repetibilidad dentro de las sesiones en el ELITE BeGenius (día 1)								
Muestra	VHB				% de concordancia	Internal Control		
	N	Ct medio	DE	%CV		Ct medio	DE	%CV
Negativas	8	-	-	-	100 %	30,06	0,37	1,24
3×LoD	8	38,64	0,46	1,19	100 %			
10×LoD	8	36,83	0,34	0,93	100 %			

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

Repetibilidad entre sesiones en el ELITE InGenius (día 1 + día 2)								
Muestra	VHB				% de concordancia	Internal Control		
	N	Ct medio	DE	%CV		Ct medio	DE	%CV
Negativas	16	-	-	-	100 %	29,15	0,51	1,74
3×LoD	16	38,71	0,69	1,78	100 %			
10×LoD	16	36,57	0,33	0,91	100 %			

Repetibilidad entre sesiones en el ELITE BeGenius (día 1 + día 2)								
Muestra	VHB				% de concordancia	Internal Control		
	N	Ct medio	DE	%CV		Ct medio	DE	%CV
Negativas	16	-	-	-	100 %	30,04	0,54	1,80
3×LoD	16	38,93	0,86	2,22	100 %			
10×LoD	16	36,87	0,35	0,94	100 %			

En la prueba de repetibilidad, el producto **HBV ELITE MGB Kit** detectó correctamente la diana y presentó una variación máxima de los valores de Ct de la diana como un %CV del 2,22 %.

Reproducibilidad

La reproducibilidad entre centros, entre instrumentos y entre lotes 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 VHB (4º Estándar internacional de la OMS para VHB, NIBSC).

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

Reproducibilidad entre centros en el ELITE InGenius								
Muestra	VHB				% de concordancia	Internal Control		
	N	Ct medio	DE	%CV		Ct medio	DE	%CV
Negativas	24	Sin determinar	-	-	100 %	28,73	0,45	1,58
3×LoD	24	37,60	0,68	1,80	100 %			
10×LoD	24	35,63	0,35	0,98	100 %			

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

Reproducibilidad entre instrumentos en el ELITE InGenius								
Muestra	VHB				% de concordancia	Internal Control		
	N	Ct medio	DE	%CV		Ct medio	DE	%CV
Negativas	24	-	-	-	100 %	29,08	0,31	1,05
3×LoD	24	37,69	0,69	1,83	100 %			
10×LoD	24	36,04	0,55	1,53	100 %			

Reproducibilidad entre instrumentos en el ELITE BeGenius								
Muestra	VHB				% de concordancia	Internal Control		
	N	Ct medio	DE	%CV		Ct medio	DE	%CV
Negativas	24	-	-	-	100 %	30,67	0,86	2,80
3×LoD	24	38,54	1,08	2,79	100 %			
10×LoD	24	36,53	0,76	2,09	100 %			

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

Reproducibilidad entre lotes en el ELITE InGenius								
Muestra	VHB				% de concordancia	Internal Control		
	N	Ct medio	DE	%CV		Ct medio	DE	%CV
Negativas	48	-	-	-	100 %	29,01	0,38	1,31
3×LoD	48	38,05	0,85	2,23	100 %			
10×LoD	48	35,99	0,53	1,47	100 %			

Reproducibilidad entre lotes en el ELITE BeGenius								
Muestra	VHB				% de concordancia	Internal Control		
	N	Ct medio	DE	%CV		Ct medio	DE	%CV
Negativas	48	-	-	-	100 %	29,89	0,51	1,71
3×LoD	48	38,19	0,85	2,24	100 %			
10×LoD	48	36,38	0,57	1,57	100 %			

En la prueba de reproducibilidad, el producto **HBV ELITE MGB Kit** detectó todas las muestras tal como se esperaba y presentó una variación máxima de los valores de Ct de la diana como un %CV del 2,79 %.

Factor de conversión a unidades internacionales

El factor de conversión utilizado para notificar los resultados cuantitativos en unidades/mL a partir de copias/mL se calculó utilizando material de referencia calibrado y certificado del 4º Estándar internacional de la OMS para VHB (NIBSC). El factor de conversión se determinó en 0,24 UI/copia.

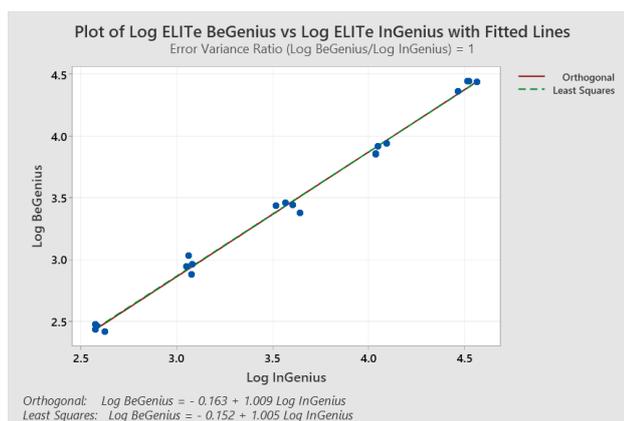
En la tabla siguiente se muestra un resumen de los resultados.

Factor de conversión a unidades internacionales, Fc = 0,24 UI/copia						
Muestra			Resultado			Diferencia logarítmica (referencia - prueba)
UI/mL	medido	N	Media de copias/mL	Media de UI/mL	Media de log UI/mL	
31.600	4,5000	27	133.240	31.748	4,4877	+0,0123
10.000	4,0000	27	41.965	9.999	3,9917	+0,0083
3.160	3,5000	27	14.275	3.401	3,5187	-0,0187
1.000	3,0000	27	4.337	1.033	3,0020	-0,0020

Como se demostró previamente la equivalencia entre el plasma recogido en EDTA, el plasma recogido en ACD y el suero, el factor de conversión puede aplicarse a las tres matrices.

El factor de conversión del producto **HBV ELITE MGB Kit** cuando se analizaron muestras de plasma recogido en EDTA se verificó en los instrumentos ELITE BeGenius y ELITE InGenius utilizando material de referencia calibrado y certificado del 4º Estándar internacional de la OMS para VHB (NIBSC). Los resultados obtenidos se analizaron mediante un análisis de regresión ortogonal y lineal con el fin de calcular la relación entre los métodos.

Los resultados se resumen en la figura siguiente.



El análisis de regresión ortogonal generó una intersección de $-0,163$ (IC del 95 %: $-0,294$; $-0,032$) y una pendiente de $1,009$ (IC del 95 %: $0,973$; $1,045$). El análisis de regresión lineal generó un valor de R^2 de $0,994$.

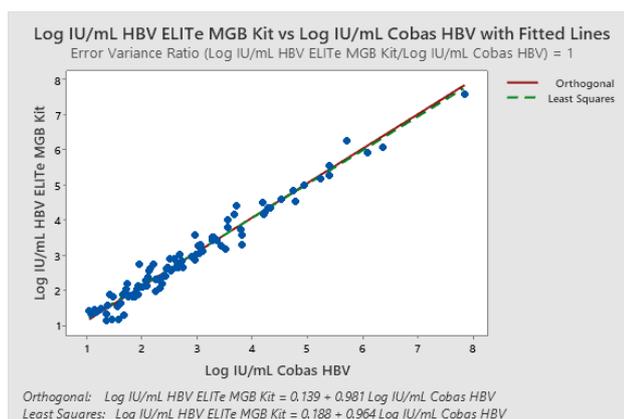
Nota: Los factores de conversión al estándar internacional ($0,24$ UI/copias), calculados con el 4^a Estándar internacional de la OMS para ensayos basados en técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (TAAN) para ADN de VHB, pueden aplicarse también para el 5^o Estándar internacional de la OMS para ensayos basados en técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (TAAN) para ADN de VHB (NIBSC, Reino Unido, código 22/120)

Sensibilidad diagnóstica: relación entre métodos

La sensibilidad diagnóstica del ensayo, evaluada mediante un análisis de la relación entre diferentes métodos, se evaluó en tres centros diferentes con el ELITe InGenius, analizando muestras clínicas positivas para ADN de VHB, que procedían de pacientes que estaban recibiendo un tratamiento antivírico y que presentaban una carga vírica dentro del rango de medición del producto **HBV ELITe MBG Kit** y de otros métodos de diagnóstico molecular de referencia para diagnóstico *in vitro* con marcado CE. Los resultados obtenidos con el producto **HBV ELITe MBG Kit** y los métodos de referencia se analizaron mediante regresión ortogonal y lineal.

El estudio de relación se realizó en un centro con 93 muestras clínicas de plasma recogido en EDTA positivas para ADN de VHB, utilizando el «cobas HBV for use on the 6800 System» como comparador.

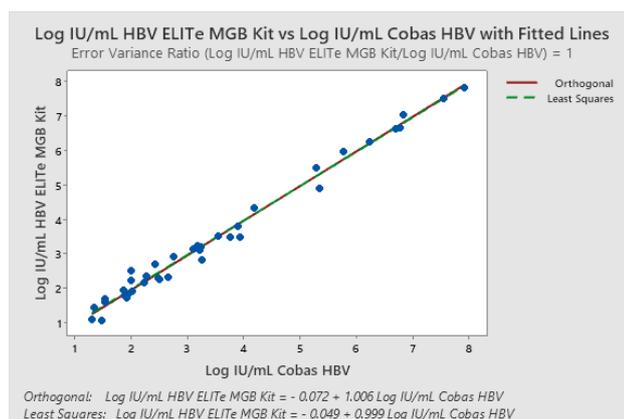
Los resultados se resumen en la figura siguiente.



En esta prueba, el análisis de regresión ortogonal generó una pendiente de $0,981$ (IC del 95 %: $0,943$; $1,020$) y una intersección igual a $0,139$ (IC del 95 %: $0,018$; $0,259$). El análisis de regresión lineal generó un valor de R^2 de $0,964$.

El estudio de relación se realizó en otros dos centros con 38 muestras clínicas de plasma recogido en EDTA positivas para ADN de VHB, utilizando el «cobas HBV for use on the 4800 System» como comparador.

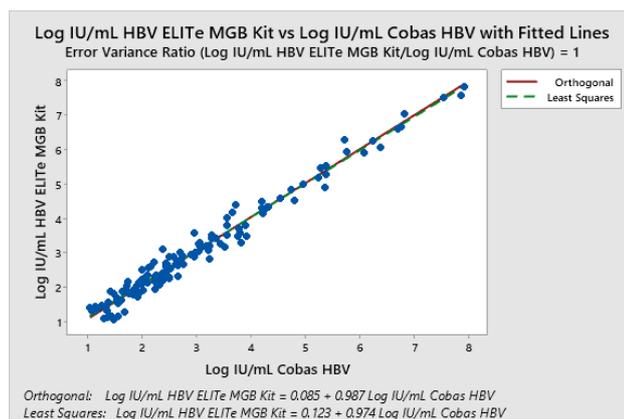
Los resultados se resumen en la figura siguiente.



En esta prueba, el análisis de regresión ortogonal generó una pendiente de 1,006 (IC del 95 %: 0,968; 1,043) y una intersección igual a -0,072 (IC del 95 %: -0,219; 0,080). El análisis de regresión lineal generó un valor de R² de 0,987.

Como los dos métodos de referencia («cobas HBV for use on the 4800 System» y «cobas HBV for use on the 6800 System», de Roche Diagnostics) tienen rendimientos equivalentes, el estudio de relación se realizó también en los resultados combinados de los tres centros distintos.

Los resultados se resumen en la figura siguiente.



En esta prueba, el análisis de regresión ortogonal generó una pendiente de 0,987 (IC del 95 %: 0,959; 1,015) y una intersección igual a 0,085 (IC del 95 %: -0,009; 0,179). El análisis de regresión lineal generó un valor de R² de 0,974.

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

Especificidad diagnóstica: confirmación de las muestras negativas

La especificidad diagnóstica del ensayo, evaluada como porcentaje de concordancia negativa, se evaluó en tres centros diferentes en el ELITe InGenius analizando muestras clínicas negativas para ADN de VHB, que también se habían analizado con métodos de referencia para diagnóstico molecular *in vitro* con marcado CE.

En la tabla siguiente se resumen los resultados del estudio de especificidad diagnóstica después del análisis con resultado distinto, ambos diferenciados según el método de referencia («cobas® HBV for use on the 4800 System» y «cobas® HBV for use on the 6800 System», de Roche Diagnostics) que, después, se combinaron, pues presentaron rendimientos equivalentes.

HBV ELITE MGB® Kit

Reactivo para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTK602ING

Muestras de plasma recogido en EDTA negativas para ADN de VHB	N	Positivas	Negativas	Especificidad diagnóstica
Método de referencia: cobas HBV for use on the 6800 System	93	3	90	96,8 %
Método de referencia: cobas HBV for use on the 4800 System	34	0	34	100 %
Resultados combinados	127	3	124	97,6 %

Tres muestras dieron resultados positivos diferentes con títulos inferiores al LoD del producto **HBV ELITE MBG Kit** y de los métodos de referencia. Estas muestras pueden generar resultados positivos de forma aleatoria.

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.

Nota: Los datos y resultados completos de las pruebas realizadas para evaluar las características de rendimiento del producto con las matrices y el instrumento indicados se incluyen en la documentación técnica del producto **HBV ELITE MGB® Kit**, FTP FTP602ING.

BIBLIOGRAFÍA

S. Velkov *et al.* (2018) *Genes*. 9: 495.

D. N. Clark *et al.* (2017) *J. of Virology*. 91: e01785-16.

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

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

<https://www.mayocliniclabs.com> (ID de la prueba HBVQN).

<https://ltd.aruplab.com> (número de prueba 3000863).

<https://ltd.clevelandcliniclabs.com> (test number 87517).

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Utilizar este producto únicamente con las siguientes muestras clínicas: Plasma recogido en EDTA o en ACD, y suero

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

No utilizar con este producto plasma recogido en heparina, pues esta sustancia inhibe la reacción de amplificación de los ácidos nucleicos y da lugar a resultados no válidos.

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

Este producto no está concebido para utilizarlo en análisis de cribado ni para detectar la presencia de agentes contagiosos o la exposición a ellos en sangre, hemoderivados, células, tejidos, órganos o cualquiera de sus derivados a la hora de evaluar su idoneidad para una transfusión, un trasplante o una administración de células.

El producto tampoco está concebido como prueba de diagnóstico para confirmar la presencia de una infección por el VHB.

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 PCR y la detección de ácidos nucleicos.

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

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

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

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

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

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

PROBLEMAS Y SOLUCIONES

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 PCR Mix, así como la de los calibradores Q-PCR-Standard y la del Positive Control. Comprobar el volumen de la mezcla PCR Mix, así como el de los calibradores Q-PCR-Standard y el del Positive Control.
Degradación de la PCR Mix (mezcla de PCR).	No utilizar la PCR Mix durante más de 7 sesiones independientes: 3 horas en el bloque refrigerado de la «Inventory Area» (área del inventario) o en la «Cooler Unit». No utilizar la PCR Mix durante más de tres 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. Utilizar una nueva alícuota de la PCR Mix.
Degradación de los calibradores Q-PCR-Standard o del Positive Control.	No utilizar el Q-PCR Standard para más de 2 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.

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

Reacción no válida de la muestra	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la posición de la PCR Mix, la del Internal Control y la de la muestra. Comprobar el volumen de la PCR Mix, el del Internal Control y el de la muestra.
Degradación de la PCR Mix (mezcla de PCR).	No utilizar la PCR Mix durante más de 7 sesiones independientes: 3 horas en el bloque refrigerado de la «Inventory Area» (área del inventario) o en la «Cooler Unit». No utilizar la PCR Mix durante más de 3 sesiones consecutivas: 7 horas en el bloque refrigerado de la «Inventory Area» (área del inventario) o en la «Cooler Unit». No dejar la PCR Mix a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. Utilizar una nueva alícuota de la PCR Mix.
Degradación de la plantilla del Internal Control.	Utilizar una nueva alícuota del Internal Control.
Inhibición debida a la presencia de sustancias interferentes en la muestra.	Repetir la amplificación 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.

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.

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

Tasa anormalmente alta de resultados positivos dentro de la misma sesión (reacciones con valores de Ct tardíos similares)

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

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.

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.

AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA

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

Los reactivos de detección ELITE® MGB están cubiertos por una o varias patentes de EE. UU., 7319022, 7348146, 7381818, 7541454, 7671218, 7718374, 7723038, 7759126, 7767834, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529, así como por las patentes europeas 1687609, 1781675, 1789587, 2689031, 2714939, 2736916, 2997161 y por solicitudes de patentes pendientes en la actualidad.

Las tecnologías ELITE InGenius® y ELITE BeGenius® están cubiertas por patentes y solicitudes de patentes.

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

cobas® es una marca comercial registrada de Roche Diagnostics.

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



Caution, this document is a simplified version of the official instruction for use. Please refer to the complete document before use: www.elitechgroup.com

Intended use

The product **HBV ELITe MGB® Kit** is an *in vitro* diagnostic medical device intended to be used by healthcare professionals as quantitative nucleic acids Real-Time PCR assay for the detection and the quantification of the DNA of Hepatitis B Virus (HBV), extracted from clinical specimens.

The assay is validated in association with **ELITe InGenius®** and **ELITe BeGenius®** instruments, automated and integrated systems for extraction, Real-Time PCR and results interpretation, using human specimens of plasma collected in EDTA or in ACD and serum.

The product is intended for use as an aid in managing of HBV-infected individuals undergoing antiviral therapy. The results must be interpreted in combination with all relevant clinical observations and laboratory outcomes.

The product is not intended to be used for screening or to detect the presence or the exposure to transmissible agents in blood, blood components, cells, tissues, organs or any of their derivatives in order to assess their suitability for transfusion, transplantation or cell administration. The product is not intended for use as a diagnostic test to confirm the presence of HBV infection.

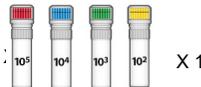
Amplified sequence

Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
Target	HBV polymerase gene (P gene)	FAM	HBV
Internal Control	IC2	AP525	IC

Validated matrix

› Plasma EDTA or Plasma ACD › Serum

Kit content

HBV ELITe MGB Mix	HBV ELITe Standard	HBV Internal Control	HBV - ELITe Positive Control
 X 8	 X 1	 X 8	 X 2
Ready-to-use PCR Mix 8 tubes of 280 µL 12 reactions per tube 96 reactions per kit 7 freeze-thaw cycles	Ready-to-use Calibrators: 4 levels 1 set of 4 tubes of 160 µL 2 reactions per tube 2 reactions per kit 2 freeze-thaw cycles	Ready-to-use IC 8 tubes of 160 µL 96 reactions per kit 6 freeze-thaw cycles	Ready-to-use Positive Control 2 tubes of 160 µL 4 reactions per tube 8 reactions per kit 4 freeze-thaw cycles

Maximum shelf-life: **24 months**

Storage Temperature: **-20 °C**

Other product required not provided in the kit

- › ELITe InGenius instrument: INT030
- › ELITe BeGenius instrument: INT040
- › ELITe InGenius SP 200: INT032SP200.
- › ELITe InGenius PCR Cassette: INT035PCR.
- › ELITe InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS
- › ELITe InGenius Waste Box: F2102-000
- › 300 µL Filter Tips Axigen: TF-350-L-R-S (ELITe InGenius only)
- › 1000 µL Filter Tips Tecan : 30180118 (ELITe BeGenius only)

ELITe InGenius and ELITe BeGenius protocol

› Sample volume	200 µL	› Unit of quantitative result	International Unit: IU/mL
› HBV CPE volume	10 µL	› Conversion factor to IU	0.24 IU/copy
› Total elution volume	50 µL	› Frequency of controls	15 days
› PCR elution input volume	20 µL	› Frequency of calibration	60 days
› HBV PCR Mix volume	20 µL		

ELITe InGenius and ELITe BeGenius Performances

Matrix	Limit of Detection	Diagnostic Sensitivity: Method Correlation	Diagnostic Specificity
Plasma / Serum	9 IU / mL 38 copies / mL	R² = 0.974 <small>131 quantified samples</small>	97.6% <small>124 confirmed samples / 127 tested samples</small>
		reference methods: "cobas® HBV for use on the 4800 Systems" and "cobas® HBV for use on the 6800 Systems", Roche Diagnostics.	

Sample preparation

This product is intended for use on the **ELITe InGenius®** and **ELITe BeGenius®** with the following clinical specimens identified according to laboratory guidelines, and collected, transported, and stored under the following conditions.

Sample type	Transport/Storage conditions			
	+16 / +26 °C (room temperature)	+2 / +8 °C	-20 ±10 °C	-70 ±15 °C
Plasma samples collected in EDTA or ACD	≤ 3 days	≤ 5 days	≤ 1 month	≤ 6 months
Serum	≤ 3 days	≤ 5 days	≤ 1 month	≤ 6 months

Do not use Plasma collected in heparin to prevent inhibition of amplification reaction and frequent invalid results.

ELITe InGenius Procedures

The user is guided step-by-step by the Graphic User Interface of ELITe InGenius software to setup the run. All the steps: extraction, Real-Time PCR and result interpretation are automatically performed. Two operational modes are available: complete run (Extract + PCR), or PCR Only.

Before analysis

1. Switch on ELITe InGenius. Log in with username and password. Select the mode "Closed".	2. Verify calibrators: Q-PCR Standard in the "Calibration" menu. Verify controls: Positive Control and Negative Control in the "Controls" menu. <i>Note:</i> All must have been run, approved and not expired.	3. Thaw the PCR Mix and the CPE tubes. Vortex gently. Spin down 5 sec.
--	--	---

Procedure 1 - Complete run: Extract + PCR (e.g., samples)

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", elution: "50 µL"	3. Scan the sample barcodes with hand-held barcode reader or type the sample ID
4. Select the "Assay Protocol" of interest: HBV ELITe_PL_200_50 or HBV ELITe_Se_200_50	5. Select the method "Extract + PCR" and the sample position: Extraction Tube	6. Load the PCR Mix and the Internal Control in the Inventory Block
7. Load: PCR Cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip Cassette, Extraction Tube racks	8. Close the door Start the run	9. View, approve and store the results

Note: If an Extract Only mode is needed, refer to the instrument user's manual for procedure.

Procedure 2 - PCR Only (e.g., eluates, standards, controls)

1 to 4: Follow the Procedure 1 described above (select the Assay Protocol: HBV ELITe_PC and HBV ELITe_NC or HBV ELITe_STD)	5. Select the method "PCR Only" and set the sample position "Elution Tube"	6. Load the PCR Mix in the Inventory Block
7. Load: PCR Cassette rack and the Elution tube rack with the extracted nucleic acid, standards or controls	8. Close the door Start the run	9. View, approve and store the results

ELITE BeGenius Procedures

The user is guided step-by-step by the Graphic User Interface of ELITE BeGenius software to setup the run. All the steps: extraction, Real-Time PCR and result interpretation are automatically performed. Two operational mode are available: complete run (Extract + PCR), or PCR Only.

Before analysis

<p>1. Switch on ELITE BeGenius. Log in with username and password. Select the mode "Closed".</p>	<p>2. Verify calibrators: Q-PCR Standard in the "Calibration" menu. Verify controls: Positive Control and Negative Control in the "Controls" menu. <i>Note:</i> Both must have been run, approved and not expired.</p>	<p>3. Thaw the PCR Mix and the CPE tubes. Vortex gently. Spin down 5 sec.</p>
---	--	--

Procedure 1 - Complete run: Extract + PCR (e.g., samples)

<p>1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «Extract + PCR»</p>	<p>2. Insert the Sample Rack with the barcoded samples in the Cooler Unit. The barcode scan is already active</p>	<p>3. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "50 µL"</p>
<p>4. Select the "Assay Protocol" of interest (HBV ELITE_Be_PL_200_50 or HBV ELITE_Be_Se_200_50) Note: if a second extraction is performed repeat steps from 2 to 4</p>	<p>5. Print the labels to barcode the empty elution tubes. Load the tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit.</p>	<p>6. Load the PCR-Mix and the CPE in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit.</p>
<p>7. Load: "PCR Rack" with "PCR Cassette" and the "Extraction Rack" with the "ELITE InGenius SP 200" extraction cartridges and the required extraction consumables</p>	<p>8. Close the door. Start the run</p>	<p>9. View, approve and store the results</p>

Note: If an Extract Only mode is needed, refer to the instrument user's manual for procedure.

Procedure 2 - PCR Only (e.g., eluates, standards, controls)

<p>1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «PCR Only»</p>	<p>2. Load the extracted nucleic acid or controls/calibrators barcoded tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit</p>	<p>3. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "50 µL"</p>
<p>4. Select the "Assay protocol" of interest (HBV ELITE_Be_PC and HBV ELITE_Be_NC or HBV ELITE_Be_STD)</p>	<p>5. Load the PCR-Mix in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit</p>	<p>6. Load "PCR Rack" with "PCR Cassette"</p>
<p>7. 4. Close the door. Start the run</p>	<p>8. . View, approve and store the results</p>	