



## NOTICE of CHANGE dated 07/06/2024

### IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

# «HCV ELITe MGB<sup>®</sup> Kit» Ref. RTK601ING

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

- *Other products required: note regarding availability of HCV ELITe Standard (Ref STD601ING) and HCV - ELITe Positive Control (Ref CTR601ING) as separate products.*
- *ELITe BeGenius Procedure: detailed instructions for preparing the complete reaction mixture for samples number greater than 12 in association with ELITe BeGenius instrument.*
- *ELITe BeGenius Procedure: typing correction in Assay Protocol description.*
- *Warning and Precautions specific for the components: extension of the period of use of each reagent tube up to 60 days from first opening.*

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

## **PLEASE NOTE**



LA REVISIONE DI QUESTO IFU E' COMPATIBILE ANCHE CON LA VERSIONE PRECEDENTE DEL KIT



THE REVIEW OF THIS IFU IS ALSO COMPATIBLE WITH THE PREVIOUS VERSION OF THE KIT



CET IFU MIS A JOUR ANNULE ET REMPLACE ET EST PARFAITEMENT COMPATIBLE AVEC LA VERSION PRECEDENTE DU KIT



LA REVISIÓN DE ESTE IFU ES COMPATIBLE TAMBIÉN CON LA VERSIÓN ANTERIOR DEL KIT



A REVISÃO DO ESTE IFU ÉTAMBÉM COMPATÍVEL COM A VERSÃO ANTERIOR DO KIT



DIE REVIEW VON DIESER IFU IST KOMPATIBLE MIT DER VORIGE VERSION VON DEM TEST-KIT



## HCV ELITE MGB® Kit

Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTK601ING



### INDICE

USO PREVISTO	página 1
PRINCIPIO DEL ENSAYO	página 2
DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO	página 3
MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO	página 4
MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO	página 4
OTROS PRODUCTOS NECESARIOS	página 5
ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES	página 5
ELITE InGenius®	página 7
MUESTRAS Y CONTROLES	página 7
PROCEDIMIENTO	página 9
ELITE BeGenius®	página 17
MUESTRAS Y CONTROLES	página 17
PROCEDIMIENTO	página 19
CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ELITE InGenius® y DEL ELITE BeGenius®	página 25
BIBLIOGRAFÍA	página 41
LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO	página 42
PROBLEMAS Y SOLUCIONES	página 43
SÍMBOLOS	página 45
AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA	página 46
ANEXO: GUÍA RÁPIDA	página A

### USO PREVISTO

El producto «HCV ELITE MGB® Kit» es un ensayo cuantitativo de retrotranscriptasa y amplificación de ácidos nucleicos para la **detección y la cuantificación de ARN** de virus de la hepatitis C (VHC) en muestras de ARN extraídas de muestras clínicas.

El ensayo es capaz de detectar ARN de VHC de los genotipos 1, 2, 3, 4, 5 y 6.

El ensayo se ha validado con los instrumentos **ELITE InGenius®** y **ELITE BeGenius®** utilizando muestras de plasma humano recogido en EDTA o en ACD y muestras de suero.

El producto se utiliza como ayuda en el diagnóstico y el tratamiento de pacientes infectados por el VHC que siguen un tratamiento antivírico, junto con los datos clínicos y los resultados de otras pruebas analíticas del paciente.

## HCV ELITE MGB® Kit

Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTK601ING

El producto no está concebido para su uso como prueba de cribado para detectar la presencia del VHC en la sangre o en hemoderivados, ni tampoco como prueba diagnóstica para confirmar la presencia de una infección por el VHC.

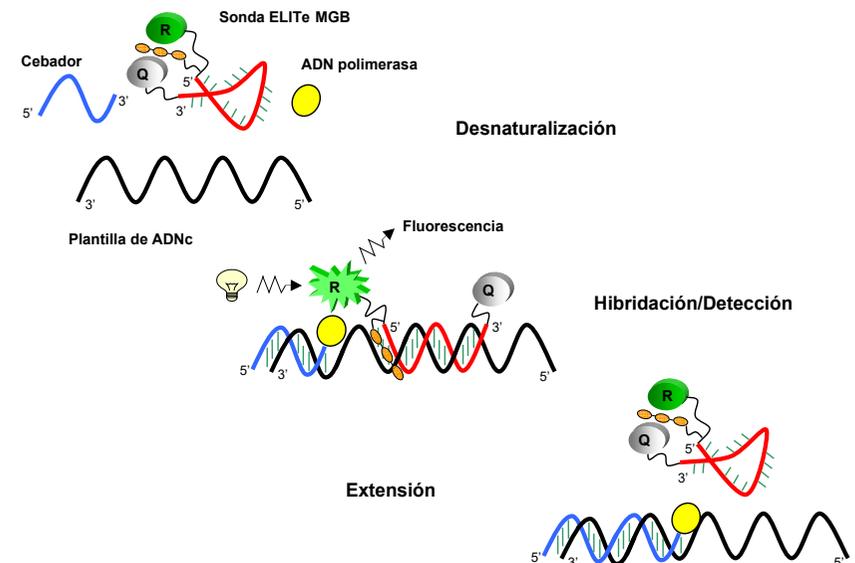
### PRINCIPIOS DEL ENSAYO

El ensayo consiste en la realización de una retrotranscriptasa y una reacción de amplificación en tiempo real (método de un solo paso) con los instrumentos **ELITE InGenius** y **ELITE BeGenius**, que son sistemas integrados y automatizados para la extracción, la retrotranscriptasa, la amplificación y la detección de ácidos nucleicos, así como para la interpretación de los resultados.

A partir del ARN extraído con el instrumento **ELITE InGenius** de la muestra que va a analizarse, se utiliza la mezcla completa **HCV PCR Mix** para llevar a cabo una reacción de retrotranscriptasa y de amplificación específica para la región 5' UTR del VHC y para una región del ARN genómico del bacteriófago MS2 (Internal Control exógeno de extracción e inhibición).

La sonda específica del VHC con la tecnología **ELITE MGB®**, marcada con el fluoróforo FAM, se activa cuando se hibrida con el producto específico de la reacción de amplificación del Internal Control. A medida que aumenta el producto específico de la reacción de amplificación, la emisión de fluorescencia también aumenta y el instrumento la mide y la registra. El procesamiento de los datos permite detectar la presencia y el título de ARN de VHC en la muestra.

En la siguiente imagen se muestra de forma esquemática el mecanismo de activación y la emisión de fluorescencia de la sonda que tiene la tecnología **ELITE MGB**.



**DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO**

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

• **Mezcla «HCV ELITE MGB Mix»**

Este componente incluye los dos subcomponentes siguientes:

- Mezcla **HCV PCR Mix**, una mezcla optimizada y estabilizada de oligonucleótidos y reactivos para la retrotranscriptasa y la amplificación en tiempo real, dividida previamente a partes iguales en **cuatro probetas** (tapón blanco). Cada probeta contiene **600 µL** de solución, suficiente para **24 análisis** (procesando al menos 5 muestras por sesión) cuando se utilizan los instrumentos **ELITE InGenius** y **ELITE BeGenius**.

Los cebadores y las sondas del VHC (estabilizadas mediante el grupo MGB®, marcadas con el fluoróforo FAM e inactivadas con una porción «Eclipse» no fluorescente) son específicos de la región 5' UTR del VHC. La señal del VHC se detecta mediante el canal 1 («HCV») de los instrumentos **ELITE InGenius** y **ELITE BeGenius**.

Los cebadores y la sonda del Internal Control (estabilizada mediante el grupo MGB®, marcada con el fluoróforo AP525 e inactivada con una porción Eclipse no fluorescente) son específicos para una región del ARN genómico del bacteriófago **MS2**. La señal del Internal Control se detecta mediante el canal 2 («IC») de los instrumentos **ELITE InGenius** y **ELITE BeGenius**.

La mezcla de reacción contiene también la solución tampón, así como cloruro de magnesio, nucleótidos-trifosfatos y la enzima ADN polimerasa con capacidad de activación térmica («hot start»).

- **RT EnzymeMix**, una mezcla optimizada y estabilizada de enzimas para la retrotranscriptasa, dividida previamente a partes iguales en **dos probetas** (tapón con inserto negro). Cada probeta contiene **20 µL** de solución, suficiente para **48 análisis** (procesando al menos 5 muestras por sesión) cuando se utilizan los instrumentos **ELITE InGenius** y **ELITE BeGenius**.

Los dos subcomponentes son suficientes para realizar **96 análisis con los instrumentos ELITE InGenius y ELITE BeGenius**, utilizando 20 µL (de un componente) y 0,3 µL (del otro componente) en cada reacción.

• **HCV ELITE Standard**

Este componente contiene el subcomponente **HCV Q-PCR Standard**, formado por cuatro soluciones estabilizadas de ADN plasmídico a un **título conocido**, cada una de ellas distribuida en **una probeta lista para el uso**. Cada probeta contiene **160 µL** de solución, suficiente para **2 sesiones**. El ADN plasmídico contiene una región 5' UTR del VHC. La detección y la cuantificación de ADN de VHC, como resultado del análisis con el componente «**HCV ELITE MGB Mix**» en los instrumentos **ELITE InGenius** y **ELITE BeGenius**, permiten calcular la curva de calibración del sistema (lote de producto e instrumento) para la cuantificación de VHC.

La concentración de ADN plasmídico en copias/mL se determinó midiendo la absorbencia con un espectrofotómetro. La concentración de este ADN plasmídico se relacionó con la «6ª norma internacional de la OMS para el VHC» (NIBSC, Reino Unido, código 18/184), aplicando un factor de conversión para permitir el cálculo de la concentración en unidades internacionales/mL (UI/mL).

El componente es suficiente para **2 sesiones de análisis independientes** en el **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius**, si se utilizan 20 µL en cada reacción.

• **HCV - ELITE Positive Control**

Este componente incluye el subcomponente **HCV Positive Control**, una solución estabilizada de ADN plasmídico a un **título conocido** distribuida a partes iguales en **dos probetas listas para el uso**. Cada probeta contiene **160 µL** de solución, que es suficiente para **4 sesiones**. El ADN plasmídico contiene una región 5' UTR del VHC. La detección y la cuantificación de ADN diana, como resultado del análisis con el componente «**HCV ELITE MGB Mix**» en los instrumentos **ELITE InGenius** y **ELITE BeGenius**, permiten validar el sistema (lote de producto e instrumento) para la detección y la cuantificación de VHC.

El componente es suficiente para **8 sesiones de análisis independientes** en el **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius**, si se utilizan 20 µL en cada reacción.

• **Internal Control de VHC**

Este componente incluye el subcomponente **HCV CPE**, una solución estabilizada de ARN genómico del MS2 distribuida a partes iguales en **ocho probetas listas para el uso**. Cada probeta contiene **160 µL** de solución, suficiente para **12 análisis** (procesando al menos 2 muestras por sesión). El ARN genómico del MS2 se utiliza como plantilla del Internal Control exógeno. La detección de ADN del bacteriófago MS2, como resultado del análisis con el componente «**HCV ELITE MGB Mix**» en los instrumentos **ELITE InGenius** y **ELITE BeGenius**, permite validar los resultados de las muestras negativas para HCV.

El componente es suficiente para **96 análisis cuando se utilizan el ELITE InGenius y el ELITE BeGenius**, utilizando 10 µL para la extracción.

**MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO**

Componente	Subcomponente	Descripción	Cantidad	Clasificación de peligros
<b>HCV ELITE MGB Mix</b> ref. RTS601ING	HCV PCR Mix ref. RTS601ING	Mezcla de reactivos para la retrotranscriptasa y la amplificación en tiempo real en probeta con <b>tapón blanco</b>	4 × 600 µL	-
	RT EnzymeMix ref. RTS003-RT	Retrotranscriptasa en probeta con <b>tapón con inserto negro</b>	2 × 20 µL	-
<b>HCV ELITE Standard</b> ref. STD601ING	HCV Q-PCR Standard 10 <sup>5</sup> ref. STD601ING-5	Solución plasmídica en probeta con <b>tapón rojo</b>	1 × 160 µL	-
	HCV Q-PCR Standard 10 <sup>4</sup> ref. STD601ING-4	Solución plasmídica en probeta con <b>tapón azul</b>	1 × 160 µL	
	HCV Q-PCR Standard 10 <sup>3</sup> ref. STD601ING-3	Solución plasmídica en probeta con <b>tapón verde</b>	1 × 160 µL	
	HCV Q-PCR Standard 10 <sup>2</sup> ref. STD601ING-2	Solución plasmídica en probeta con <b>tapón amarillo</b>	1 × 160 µL	
<b>HCV - ELITE Positive Control</b> ref. CTR601ING	HCV Positive Control ref. CTR601ING	Solución plasmídica en probeta con <b>tapón negro</b>	2 × 160 µL	-
<b>HCV Internal Control</b> ref. CPE601ING	HCV CPE ref. CPE601ING	Solución de ADN plasmídicos y ARN genómico del MS2 en probeta con <b>tapón neutro</b>	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
- Microcentrifugadora de mesa (12.000–14.000 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).
- Probeta Sarstedt de 2,0 mL con tapón roscado bordeado (n.º de referencia de Sarstedt 72.694.005).
- Agua de calidad para biología molecular.

### OTROS PRODUCTOS NECESARIOS

Este producto **no** incluye los reactivos para la extracción de ARN de las muestras que van a analizarse ni los consumibles.

Para la extracción automática de ácidos nucleicos, la retrotranscriptasa, la amplificación en tiempo real y la interpretación de los resultados de las muestras que van a analizarse, es preciso utilizar los instrumentos **ELiTe InGenius** y **ELiTe BeGenius** (ELiTechGroup S.p.A., EG SpA, ref. INT030) y los siguientes **protocolos de ensayo** específicos (EG SpA):

- parámetros para la amplificación de los calibradores «**HCV ELiTe\_STD**»,
- parámetros para la amplificación del Positive Control «**HCV ELiTe\_PC**»,
- parámetros para la amplificación del Negative Control «**HCV ELiTe\_NC**»,
- parámetros para las muestras de plasma que van a analizarse «**HCV ELiTe\_PL\_600\_50**»,
- parámetros para las muestras de suero que van a analizarse «**HCV ELiTe\_Se\_600\_50**».

Con el instrumento «**ELiTe InGenius**» se necesitan los siguientes productos genéricos:

- cartuchos de extracción «**ELiTe InGenius® SP 1000**» (EG SpA, ref. INT033SP1000),
- consumibles para extracción «**ELiTe InGenius® SP 200 Consumable Set**» (EG SpA, ref. INT032CS),
- cartuchos de amplificación «**ELiTe InGenius® PCR Cassette**» (EG SpA, ref. INT035PCR),
- puntas «**300 µL Filter Tips Axygen**» (Axygen BioScience Inc., CA, USA, ref. TF-350-L-R-S),
- cajas «**ELiTe InGenius® Waste Box**» (EG SpA, ref. F2102-000).

Para la extracción de ácidos nucleicos y el análisis de las muestras con el «**ELiTe BeGenius**» (ELiTechGroup S.p.A., ref. INT040), se necesitan los siguientes **protocolos de ensayo** (ELiTechGroup S.p.A.):

- parámetros para la amplificación de los calibradores «**HCV ELiTe\_Be\_STD**»,
- parámetros para la amplificación del Positive Control «**HCV ELiTe\_Be\_PC**»,
- parámetros para la amplificación del Negative Control «**HCV ELiTe\_Be\_NC**»,
- parámetros para las muestras de plasma que van a analizarse «**HCV ELiTe\_Be\_PL\_600\_50**»,
- parámetros para las muestras de suero que van a analizarse «**HCV ELiTe\_Be\_Se\_600\_50**».

Con el instrumento **ELiTe BeGenius** se necesitan los siguientes productos genéricos:

- cartuchos de extracción «**ELiTe InGenius® SP 1000**» (EG SpA, ref. INT033SP1000),
- consumibles para extracción «**ELiTe InGenius® SP 200 Consumable Set**» (EG SpA, ref. INT032CS),
- cartuchos de amplificación «**ELiTe InGenius® PCR Cassette**» (EG SpA, ref. INT035PCR),
- puntas «**1000 µL Filter Tips Tecan**» (Tecan, Suiza, ref. 30180118)
- cajas «**ELiTe InGenius® Waste Box**» (EG SpA, ref. F2102-000).

**Nota:** en caso necesario, los calibradores y el Positive Control también se encuentran disponibles como productos independientes: **HCV ELiTe Standard**, ref. STD601ING, y **HCV - ELiTe Positive Control**, ref. CTR601ING.

### ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

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

#### Advertencias y precauciones generales

Manipular y eliminar todas las muestras biológicas como si fueran potencialmente infecciosas. Evitar el contacto directo con las muestras biológicas. Evitar salpicaduras o pulverizaciones. Los 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. Evitar que los reactivos de extracción entren en contacto con hipoclorito de sodio (lejía).

Manipular y eliminar todos los reactivos y materiales utilizados para realizar el ensayo como si fueran potencialmente 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 ser eliminados.

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.

Antes de realizar el ensayo, leer atentamente todas las instrucciones proporcionadas con el producto.

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

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

Utilizar únicamente los reactivos incluidos en el volumen de suministro del producto y los recomendados por el fabricante.

No utilizar reactivos procedentes de lotes diferentes.

No utilizar reactivos de otros fabricantes.

#### 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 amplificación, 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. Los reactivos necesarios para la sesión deben prepararse de forma que puedan utilizarse en un solo día. 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 reduciendo en la medida de lo posible la dispersión hacia el entorno.

Los cartuchos PCR Cassette deben manipularse para evitar la dispersión del producto de amplificación en el entorno, así como la contaminación de muestras y reactivos.

#### Advertencias y precauciones específicas para los componentes:

- **Mezcla «HCV ELiTe MGB Mix»**

La mezcla **HCV PCR Mix** debe conservarse a una temperatura inferior a -20 °C en un lugar protegido de la luz.

La mezcla **HCV PCR Mix** debe utilizarse en el plazo de 60 días a partir de la primera apertura.

La mezcla **HCV PCR Mix** puede congelarse y descongelarse un máximo de **cinco veces**: más ciclos de congelación y descongelación pueden reducir el rendimiento del producto.

La mezcla **RT EnzymeMix** debe conservarse a una temperatura inferior a -20 °C.

La mezcla **RT EnzymeMix** debe utilizarse en el plazo de 60 días a partir de la primera apertura.

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

La mezcla **RT EnzymeMix** no debe exponerse a temperaturas superiores a -20 °C **más de diez veces**: un mayor número de usos puede reducir el rendimiento del producto.

**HCV ELITe MGB® Kit**  
Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTK601ING

- **HCV ELITe Standard**

El calibrador **HCV Q-PCR Standard** debe conservarse a una temperatura inferior a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

El calibrador **HCV Q-PCR Standard** debe utilizarse en el plazo de 60 días a partir de la primera apertura.

El calibrador **HCV Q-PCR Standard** puede congelarse y descongelarse un máximo de **dos veces**: más ciclos de congelación y descongelación pueden dar lugar a una reducción del título.

El calibrador **HCV Q-PCR Standard** puede conservarse en los instrumentos **ELITe InGenius** o **ELITe BeGenius** durante un máximo de **dos sesiones de trabajo independientes de dos horas cada una** en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).

- **HCV - ELITe Positive Control**

El componente **HCV Positive Control** debe conservarse a una temperatura inferior a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

El componente **HCV Positive Control** debe utilizarse en el plazo de 60 días a partir de la primera apertura.

El componente **HCV Positive Control** puede congelarse y descongelarse un máximo de **cuatro veces**: más ciclos de congelación y descongelación pueden reducir el rendimiento del producto.

El componente **HCV Positive Control** puede conservarse en los instrumentos **ELITe InGenius** o **ELITe BeGenius** durante un máximo de **cuatro sesiones de trabajo independientes de tres horas cada una** en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).

- **Internal Control de VHC**

El componente **HCV CPE** debe conservarse a una temperatura inferior a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

La mezcla **HCV CPE Mix** debe utilizarse en el plazo de 60 días a partir de la primera apertura.

El componente **HCV CPE** puede congelarse y descongelarse un máximo de **doce veces**: más ciclos de congelación y descongelación pueden reducir el rendimiento del producto.

El componente **HCV CPE** puede conservarse en los instrumentos **ELITe InGenius** o **ELITe BeGenius** durante un máximo de **seis sesiones de trabajo independientes de tres horas cada una** en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).

**ELITe InGenius**

**MUESTRAS Y CONTROLES**

### Muestras

Este producto debe utilizarse con las siguientes muestras clínicas:

#### Plasma recogido en EDTA o ACD

Las muestras de plasma para la extracción de ácido nucleico deben recogerse en EDTA o ACD e identificarse conforme a las directrices para laboratorios, así como transportarse y conservarse a temperatura ambiente (de  $+18\text{ }^{\circ}\text{C}$  a  $+25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) durante un máximo de 24 horas, o bien a una temperatura comprendida entre  $+2\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $+8\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante un máximo de 3 días. De lo contrario, deben congelarse y conservarse a aproximadamente  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante un máximo de 1 mes, o a aproximadamente  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 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.

**Nota:** la extracción de ARN a partir de muestras de plasma recogido en EDTA o en ACD se realiza con el instrumento **ELITe InGenius** y la versión 1.3 del **ELITe InGenius Software** (o cualquier versión posterior equivalente), utilizando el protocolo de ensayo (Assay Protocol) **HCV ELITe\_PL\_600\_50**. Este protocolo procesa 600  $\mu\text{L}$  de muestra comenzando a partir de la probeta secundaria, añade 10  $\mu\text{L}$  por cada extracción del componente **HCV CPE** (Internal Control) y eluye los ácidos nucleicos en 50  $\mu\text{L}$ . La probeta primaria no puede utilizarse con el protocolo de ensayo.

Los ácidos nucleicos purificados pueden conservarse a aproximadamente  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante un mes.

**HCV ELITe MGB® Kit**  
Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTK601ING

### Suero

Las muestras de suero concebidas para la extracción de ARN deben recogerse e identificarse conforme a las directrices para laboratorios, así como transportarse y conservarse a temperatura ambiente (aproximadamente  $+25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) durante un máximo de tres días, o bien a una temperatura comprendida entre  $+2\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $+8\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante un máximo de cinco días. De lo contrario, deben congelarse y conservarse a aproximadamente  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante un máximo de 30 días, o a aproximadamente  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 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.

**Nota:** la extracción de ARN a partir de muestras de suero se realiza con el instrumento **ELITe InGenius** y la versión 1.3 del **ELITe InGenius Software** (o cualquier versión posterior equivalente), utilizando el protocolo de ensayo (Assay Protocol) «**HCV ELITe\_Se\_600\_50**». Este protocolo procesa 600  $\mu\text{L}$  de muestra, añade 10  $\mu\text{L}$  por extracción del componente **HCV CPE** (Internal Control) y eluye los ácidos nucleicos en 50  $\mu\text{L}$ . La probeta primaria no puede utilizarse con el protocolo de ensayo.

Los ácidos nucleicos purificados pueden conservarse a aproximadamente  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante un mes.

### Otras muestras

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

### Sustancias interferentes

Los datos disponibles relativos a la inhibición causada por medicamentos y otras sustancias se incluyen en la sección «Sustancias potencialmente interferentes» del capítulo «Eficacia diagnóstica».

Con el fin de evitar la inhibición de la reacción de amplificación y la obtención de resultados no válidos con frecuencia, no utilizar plasma recogido en heparina.

Con el fin de evitar la inhibición de la reacción de amplificación y la obtención de resultados no válidos con frecuencia, no utilizar plasma hemolítico.

### Controles de amplificación

Antes de analizar cualquier muestra, es imprescindible generar y aprobar la curva de calibración y los controles de amplificación para cada lote de reactivos de amplificación:

- Como conjunto de calibradores, utilizar los cuatro niveles de concentración del componente **HCV ELITe Standard**, incluido en este kit, junto con el protocolo de ensayo (Assay Protocol) «**HCV ELITe\_STD**».
- Como Positive Control de amplificación, utilizar el componente **HCV - ELITe Positive Control**, incluido en este kit, junto con el protocolo de ensayo (Assay Protocol) «**HCV ELITe\_PC**».
- Como Negative Control de amplificación, utilizar agua para biología molecular, no incluida en este kit, junto con el protocolo de ensayo (Assay Protocol) «**HCV ELITe\_NC**».

**Nota:** el instrumento **ELITe InGenius** requiere resultados aprobados y válidos de la curva de calibración y de los controles de amplificación para cada lote de reactivos de amplificación guardado en su base de datos.

Las curvas de calibración, aprobadas y guardadas en la base de datos, caducan a **los 60 días**. Al llegar la fecha de caducidad, es necesario volver a procesar los calibradores Q-PCR Standard con el lote de reactivos de amplificación.

Los resultados de los controles de amplificación, aprobados y guardados en la base de datos, caducan a **los 15 días**. Al llegar la fecha de caducidad, es necesario volver a procesar el Positive Control y el Negative Control con el lote de reactivos de amplificación.

Además, los calibradores y los controles de amplificación deben volver a procesarse en los siguientes casos:

- Se utiliza un nuevo lote de reactivos de amplificación.
- Los resultados del análisis de control de calidad (consultar el apartado siguiente) están fuera de las especificaciones.
- Se realiza una operación importante de mantenimiento en el instrumento **ELITe InGenius**.

**Controles de calidad**

Se recomienda validar periódicamente todo el procedimiento de extracción y amplificación. Se pueden utilizar muestras ya analizadas o material de referencia certificado. Se deben realizar controles externos de acuerdo con los organismos de acreditación locales, estatales o federales, según proceda.

**PROCEDIMIENTO**

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

- Verificación de la disponibilidad del sistema.
- Configuración de la sesión.
- Revisión y exportación de los resultados.

**Verificación de la disponibilidad del sistema**

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

- Encender el **ELITe InGenius** y seleccionar el modo de inicio de sesión «**CLOSED**»,
  - Verificar que los calibradores (**HCV Q-PCR Standard**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de mezcla **HCV PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de calibradores válidos para el lote de mezcla **HCV PCR Mix**, realizar la calibración tal como se indica a continuación y verificar que los controles de amplificación (**HCV Positive Control** y **HCV Negative Control**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de mezcla **HCV PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de controles válidos para el lote de mezcla **HCV PCR Mix**, procesar los controles tal como se indica a continuación. Esto puede comprobarse en el menú «Controls» (Controles) de la pantalla «Home» (Inicio). Seleccionar el tipo de sesión, seguir las instrucciones de la interfaz para configurar la sesión y utilizar los protocolos de ensayo (Assay Protocols) proporcionados por ELITechGroup S. p. A. Estos protocolos para diagnóstico *in vitro* se han validado específicamente con los productos «ELITe MGB Kit» y el instrumento ELITe InGenius con las matrices indicadas.
- Los protocolos de ensayo (Assay Protocols) disponibles para el análisis de muestras con el producto **HCV ELITe MGB Kit** se describen en la tabla siguiente:

Protocolo de ensayo para el producto HCV ELITe MGB Kit			
Nombre	Matriz	Informe	Características
HCV ELITe_PL_600_50	Plasma	Positivo / copias/mL / IU/mL / Negativo	Volumen inicial de extracción: 600 µL Volumen de elución extraído: 50 µL Internal Control: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1,7 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen de carga de PCR de la muestra: 20 µL
HCV ELITe_Se_600_50	Suero	Positivo / copias/mL / IU/mL / Negativo	Volumen inicial de extracción: 600 µL Volumen de elución extraído: 50 µL Internal Control: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1,7 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen de carga de PCR de la muestra: 20 µL

UI: unidades internacionales

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

**Configuración de la sesión**

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

- A. Sesión integrada; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)
- B. Sesión de amplificación; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).
- C. Sesión de calibración; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).
- D. Sesión de amplificación para el Positive Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).

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

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

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

1. Descongelar las probetas necesarias de mezcla **HCV PCR Mix** (tapón blanco) a temperatura ambiente (aproximadamente +25 °C) durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para 24 reacciones en condiciones óptimas de uso (es decir, si se realizan al menos 2 análisis por sesión). Mezclar las probetas en un agitador vórtex durante 10 segundos tres veces, a continuación, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservar en hielo.

**Nota:** descongelar la mezcla **HCV PCR Mix** en un lugar protegido de la luz, pues este reactivo es fotosensible.

2. Tomar las probetas necesarias de mezcla **RT EnzymeMix** (tapón con inserto negro). Cada probeta es suficiente para preparar 48 análisis. Agitar las probetas con cuidado, a continuación, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservar en hielo.

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

3. Preparar una probeta de 2 mL con tapón roscado (número de referencia de Sarstedt 72.694.005, no incluida en el kit) para la **mezcla completa de reacción** y etiquetarla de forma identificable con un rotulador permanente.
4. Calcular los volúmenes de los dos subcomponentes que se necesitan para preparar la **mezcla completa de reacción** basándose en el número de muestras que van a analizarse, tal como se describe en la tabla siguiente.

**Nota:** para calcular los volúmenes de los dos subcomponentes que van a utilizarse para preparar la **mezcla completa de reacción**, es necesario definir el número de muestras (N) que van a analizarse en la sesión y seguir las indicaciones de la tabla siguiente.

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

5. Preparar la **mezcla completa de reacción** añadiendo a la probeta dedicada de 2 mL los volúmenes calculados de los dos componentes.
6. Mezclar **en un agitador vórtex a baja velocidad** tres veces durante 10 segundos y, después, centrifugar la probeta durante 5 segundos para llevar el contenido al fondo y conservar en hielo.

**Nota:** la **mezcla completa de reacción** debe utilizarse en el transcurso de **7 horas** si se conserva en el bloque refrigerado. La mezcla completa de reacción **no puede** conservarse para su reutilización.

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

Los pasos principales para la configuración de los tres tipos de sesión se describen en los siguientes apartados.

#### A. Sesión integrada

Para configurar una sesión integrada con la extracción y amplificación de la muestra, seguir las instrucciones de la interfaz que se indican a continuación:

1. Descongelar a temperatura ambiente (aproximadamente +25 °C) las probetas que contienen las muestras que van a analizarse y manipularlas de acuerdo con las directrices para laboratorios y conforme a las indicaciones de la sección «Muestras y controles». Tener en cuenta que se necesitan 600 µL de muestra para el análisis.
2. Descongelar las probetas del componente **HCV CPE** que se necesitan para la sesión a temperatura ambiente (aproximadamente +25 °C). Cada probeta es suficiente para 12 extracciones. Mezclar con cuidado y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos.
3. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).
4. Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 1000 µL (incluso si van a utilizarse 600 µL de muestra), y «Extracted Elute Volume» (Volumen de eluido extraído), a 50 µL.
5. Para cada carril deseado, introducir el ID de la muestra («SampleID» o SID), ya sea rellenándolo directamente o escaneando su código de barras.
6. En la columna «Assay» (Ensayo), seleccionar el protocolo de ensayo que va a utilizarse (p. ej., HCV ELITE\_PL\_600\_50).
7. Asegurarse de que la opción que se muestra en el área «Protocol» (Protocolo) sea «Extract + PCR» (Extracción + PCR).
8. En la columna «Sample Position», seleccionar la posición de carga «Extraction Tube» para la muestra. Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración. Para realizar el análisis, es necesario transferir 600 µL de muestra a la probeta de extracción. Cualquier volumen sobrante se dejará en la «Extraction Tube» (Tubo de extracción) utilizando el instrumento **ELITE InGenius**.
9. Cargar la **mezcla completa de reacción** y el componente **HCV CPE** en el «Inventory Block» (administrador de inventarios) seleccionado siguiendo las instrucciones de la interfaz y rellenar el número de lote y la fecha de caducidad de la mezcla **HCV PCR Mix** y del componente **HCV CPE**. Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
10. Cargar y revisar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) seleccionada siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
11. Cargar los cartuchos **PCR Cassette**, así como los cartuchos de extracción **ELITE InGenius SP 1000**, todos los consumibles necesarios y las muestras que deben extraerse, siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
12. Cerrar la puerta del equipo.
13. Pulsar «Start» (Inicio) para iniciar la sesión.

Una vez finalizada la sesión, el instrumento **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 en la «Elution Tube» (Tubo de elución) de la muestra extraída debe sacarse del instrumento, taparse, identificarse y conservarse a -20 °C durante un mes. Evitar derramar la muestra extraída.

**Nota:** al finalizar la sesión, los cartuchos **PCR Cassette** que contienen los productos de amplificación, los cartuchos de extracción y los consumibles deben extraerse del instrumento y eliminarse sin contaminar el medio ambiente. Evitar derramar los productos de reacción.

**Nota:** la **mezcla completa de reacción** puede conservarse en el bloque refrigerado durante un máximo de 2 sesiones de trabajo de 3 horas cada una y durante el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión de trabajo (7 horas en total). Mezclar con cuidado y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos antes de iniciar la siguiente sesión.

#### B. Sesión de amplificación en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).

Para configurar la sesión de amplificación a partir del ARN extraído, llevar a cabo el procedimiento que se indica a continuación siguiendo las instrucciones de la interfaz:

1. Descongelar a temperatura ambiente (aproximadamente +25 °C) las probetas que contienen las muestras que van a analizarse de ácido nucleico extraído. Mezclar con cuidado y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos.
2. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).
3. Aunque no vaya a realizarse ninguna extracción, asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 1000 µL (incluso si se han utilizado 600 µL de muestra), y «Extracted Elute Volume» (Volumen de eluido extraído), a 50 µL.
4. Para cada carril deseado, rellenar el SID escribiendo o escaneando el código de barras de la muestra.
5. En la columna «Assay» (Ensayo), seleccionar el protocolo de ensayo que va a utilizarse (p. ej., HCV ELITE\_PL\_600\_50).
6. Seleccionar «PCR Only» (Solo PCR) en la columna «Protocol» (Protocolo).
7. Asegurarse de que la posición de carga de la muestra en la columna «Sample Position» sea «Elution Tube (bottom row)» (Tubo de elución [fila inferior]). Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
8. Cargar la **mezcla completa de reacción** en el «Inventory Block» (administrador de inventarios) seleccionado siguiendo las instrucciones de la interfaz y rellenar el número de lote y la fecha de caducidad de la mezcla **HCV PCR Mix**. Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
9. Cargar y revisar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) seleccionada siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
10. Cargar los cartuchos **PCR Cassette** y las muestras de ácido nucleico extraídas siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
11. Cerrar la puerta del equipo.
12. Pulsar «Start» (Inicio) para iniciar la sesión.

Una vez finalizada la sesión, el instrumento **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 en la «Elution Tube» (Tubo de elución) de la muestra extraída debe extraerse del instrumento, taparse y conservarse a -20 °C durante un mes. Evitar cualquier derrame de la muestra extraída.

**Nota:** al finalizar la sesión, los cartuchos **PCR Cassette** que contienen los productos de amplificación y los consumibles deben extraerse del instrumento y eliminarse sin contaminar el medio ambiente. Evitar derramar los productos de reacción.

**Nota:** la **mezcla completa de reacción** puede conservarse en el bloque refrigerado durante un máximo de 2 sesiones de trabajo de 3 horas cada una y durante el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión de trabajo (7 horas en total). Mezclar con cuidado y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos antes de iniciar la siguiente sesión.

### C. Sesión de calibración

Para configurar la sesión de calibración con los calibradores Q-PCR Standard, seguir las instrucciones de la interfaz que se indican a continuación:

1. Descongelar las probetas de calibrador **HCV Q-PCR Standard** (Cal1: HCV Q-PCR Standard 10<sup>2</sup>, Cal2: HCV Q-PCR Standard 10<sup>3</sup>, Cal3: HCV Q-PCR Standard 10<sup>4</sup>, Cal4: HCV Q-PCR Standard 10<sup>5</sup>) a temperatura ambiente (aproximadamente +25 °C) durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para preparar 4 reacciones. Mezclar con cuidado y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos.
2. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).
3. Aunque no vaya a realizarse ninguna extracción, asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 1000 µL (incluso si van a utilizarse 600 µL de muestra), y «Extracted Elute Volume» (Volumen de eluido extraído), a 50 µL.
4. En la columna «Assay» (Ensayo), seleccionar el protocolo de ensayo (Assay Protocol) «HCV ELiTe STD» y rellenar el número de lote y la fecha de caducidad del calibrador **HCV Q-PCR Standard**. Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
5. Cargar la **mezcla completa de reacción** en el «Inventory Block» (administrador de inventarios) seleccionado siguiendo las instrucciones de la interfaz y rellenar el número de lote y la fecha de caducidad de la mezcla **HCV PCR Mix**. Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
6. Cargar y revisar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) seleccionada siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
7. Cargar los cartuchos **PCR Cassette** y las probetas de calibrador **HCV Q-PCR Standard** siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
8. Cerrar la puerta del equipo.
9. Pulsar «Start» (Inicio) para iniciar la sesión.

Una vez finalizada la sesión, el instrumento **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 los calibradores **HCV Q-PCR Standard** debe extraerse del equipo, taparse y conservarse a -20 °C.

**Nota:** los calibradores **HCV Q-PCR Standard** pueden utilizarse en 2 sesiones de trabajo independientes de 2 horas cada una.

**Nota:** al finalizar la sesión, los cartuchos **PCR Cassette** que contienen los productos de reacción y los consumibles deben extraerse del instrumento y eliminarse sin contaminar el medio ambiente. Evitar derramar los productos de reacción.

**Nota:** la **mezcla completa de reacción** puede conservarse en el bloque refrigerado durante un máximo de 2 sesiones de trabajo de 3 horas cada una y durante el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión de trabajo (7 horas en total). Mezclar con cuidado y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos antes de iniciar la siguiente sesión.

### D. Sesión de amplificación para el Positivo Control y el Negative Control

Para configurar la sesión de amplificación para el Positivo Control y el Negative Control, llevar a cabo el procedimiento que se indica a continuación siguiendo las instrucciones de la interfaz:

1. Descongelar las probetas de **HCV Positivo Control** necesarias para la sesión a temperatura ambiente (aproximadamente +25 °C) durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para preparar 4 reacciones. Mezclar con cuidado y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos.
2. Como **Negative Control**, verter al menos 50 µL de agua para biología molecular en una «Elution Tube» (Tubo de elución), incluida en el componente **ELiTe InGenius SP 200 Consumable Set**.
3. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).
4. Aunque no vaya a realizarse ninguna extracción, asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 1000 µL (incluso si van a utilizarse 600 µL de muestra), y «Extracted Elute Volume» (Volumen de eluido extraído), a 50 µL.
5. En el carril («Track») deseado, seleccionar en la columna «Assay» (Ensayo) el protocolo de ensayo (Assay Protocol) que va a utilizarse.
6. Para el Positivo Control, en la columna «Assay» (Ensayo) seleccionar el protocolo de ensayo (Assay Protocol) «HCV ELiTe\_PC» y rellenar el número de lote y la fecha de caducidad del componente **HCV Positivo Control**.
7. Para el Negative Control, en la columna «Assay» (Ensayo) seleccionar el protocolo de ensayo (Assay Protocol) «HCV ELiTe\_NC» y rellenar el número de lote y la fecha de caducidad del agua para biología molecular. Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
8. Cargar la **mezcla completa de reacción** en el «Inventory Block» (administrador de inventarios) seleccionado siguiendo las instrucciones de la interfaz y rellenar el número de lote y la fecha de caducidad de la mezcla **HCV PCR Mix**. Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
9. Cargar y revisar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) seleccionada siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
10. Cargar los cartuchos **PCR Cassette**, la probeta de **HCV Positivo Control** y la probeta de **Negative Control** siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
11. Cerrar la puerta del equipo.
12. Pulsar «Start» (Inicio) para iniciar la sesión.

Una vez finalizada la sesión, el instrumento **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 del **HCV Positivo Control** debe extraerse del instrumento, taparse y conservarse a -20 °C. La parte que queda del **Negative Control** debe eliminarse.

**Nota:** el componente **HCV Positivo Control** puede utilizarse en 4 sesiones de trabajo independientes de 3 horas cada una.

**Nota:** al finalizar la sesión, los cartuchos **PCR Cassette** que contienen los productos de amplificación y demás consumibles deben extraerse del instrumento y eliminarse sin contaminar el medio ambiente. Evitar derramar los productos de reacción.

**Nota:** la **mezcla completa de reacción** puede conservarse en el bloque refrigerado durante un máximo de 2 sesiones de trabajo de 3 horas cada una y durante el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión de trabajo (7 horas en total). Mezclar con cuidado y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos antes de iniciar la siguiente sesión.

**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 protocolo de ensayo (Assay Protocol) para generar curvas de PCR que, después, se convierten en resultados.

Al finalizar la sesión, aparece automáticamente la pantalla «Results Display», en la que se muestran los resultados de la muestra, del calibrador o del control, así como la información sobre la sesión. En esta pantalla, es posible aprobar el resultado, 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 instrumento **ELiTe InGenius** puede conectarse al servidor de información de laboratorios (LIS, «Laboratory Information Server»), que permite enviar los resultados de la sesión de trabajo al 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 **HCV ELiTe MGB Kit** mediante el siguiente procedimiento:

**A. Validación de la curva de calibración**

El **ELiTe InGenius Software** interpreta los resultados de la PCR para el VHC (canal «HCV») de las reacciones del calibrador utilizando los parámetros del protocolo de ensayo (Assay Protocol) «**HCV ELiTe\_STD**». La relación Ct a concentración resultante da lugar a la curva de calibración.

La curva de calibración, específica para el lote de los reactivos de PCR, se registra en la base de datos («Calibration»). El personal cualificado como administrador («Administrator») o analista («Analyst») puede consultar dichos resultados y aprobarlos siguiendo las instrucciones de la interfaz. La curva de calibración caduca a los **60 días**.

Antes de analizar las muestras, es necesario generar y aprobar una curva de calibración para el lote de reactivos de PCR que va a utilizarse. Las curvas de calibración con el estado «Approved» (Aprobado) se muestran en la ventana «Calibration» (Calibración) del ELiTe InGenius Software.

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

**Nota:** si la curva de calibración se procesa junto con las muestras y el resultado no es válido, se invalida la sesión entera. En este caso, también es necesario repetir la amplificación de todas las muestras.

**B. Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control de amplificación**

El software del instrumento analiza automáticamente e interpreta las señales de fluorescencia emitidas por la sonda del VHC (canal «HCV») en las reacciones de amplificación del Positive Control y del Negative Control utilizando los parámetros incluidos en los protocolos de ensayo «**HCV ELiTe\_PC**» y «**HCV ELiTe\_NC**».

Los resultados del Positive Control y del Negative Control, específicos para el lote de la diana de PCR, se guardan en la base de datos («Controls»). El personal cualificado como administrador («Administrator») o analista («Analyst») puede 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»). Se necesitan cuatro resultados del Positive Control y del Negative Control de cuatro sesiones diferentes para configurar el gráfico de control («Control Chart»). Después de esto, los resultados de los controles Positive Control y Negative Control se utilizan para controlar el rendimiento del paso de amplificación. Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso.

**Nota:** si el resultado del Positive Control o del Negative Control no cumple los criterios de aceptación, en la pantalla «Controls» aparece el mensaje «Failed». En este caso, los resultados no pueden aprobarse y es necesario repetir el procesamiento del Positive Control y del Negative Control.

**Nota:** si un Positive Control o un Negative Control se procesan junto con las muestras que van a analizarse y el resultado no es válido, las muestras pueden aprobarse, pero los resultados no se validan. En este caso, también es necesario repetir la amplificación de todas las muestras.

**C. Validación de los resultados de la muestra**

El software del instrumento analiza automáticamente e interpreta las señales de fluorescencia emitidas por las sondas del VHC (canal «HCV») y por la sonda del Internal Control (canal «IC») en las reacciones de amplificación de la muestra utilizando los parámetros incluidos en los protocolos de ensayo «**HCV ELiTe\_PL\_600\_50**» y «**HCV ELiTe\_Se\_600\_50**». Los resultados se muestran en el módulo «Result Display».

La sesión de la muestra puede aprobarse cuando se cumplen las tres condiciones que se indican en la tabla siguiente.

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

El algoritmo del **ELiTe InGenius Software** interpreta automáticamente los resultados de las muestras utilizando los parámetros del protocolo de ensayo.

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

Resultado de la sesión de la muestra	Interpretación
HCV: RNA Detected, quantity equal to XXX copies / mL or IU/mL.	<b>Se ha detectado ARN de VHC</b> en la muestra dentro del rango de medición del ensayo; la cantidad es la mostrada.
HCV: RNA Detected, quantity below LLoQ copies / mL or IU/mL.	<b>Se ha detectado ARN de VHC</b> en la muestra por debajo del límite inferior de cuantificación del ensayo.
HCV: RNA Detected, quantity beyond ULoQ copies / mL or IU/mL.	<b>Se ha detectado ARN de VHC</b> en la muestra más allá del límite superior de cuantificación del ensayo
HCV: RNA Not Detected or below the LoD copies / mL or IU/mL.	<b>No se ha detectado ARN de VHC</b> en la muestra. La muestra es negativa para ARN de VHC o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
Invalid - Retest Sample.	<b>Resultado no válido del ensayo</b> debido a un fallo en el Internal Control (extracción incorrecta o arrastre de inhibidores). Es necesario repetir la prueba.

Las muestras que se notifican como «Invalid-Retest Sample» (No válido-Volver a probar muestra) no son aptas para la interpretación de resultados. En este caso, el ARN del Internal Control no ha podido detectarse correctamente debido a problemas en el paso de retrotranscriptasa, amplificación o extracción (degradación o pérdida de ARN durante la extracción o arrastre 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).

Las muestras que se notifican como «HCV RNA Not Detected or below LoD» son aptas para el análisis, pero no ha sido posible detectar ARN de VHC. En este caso, puede que dichas muestras sean negativas para ARN de VHC, o bien que dicho ARN esté presente a una concentración inferior al límite de detección del ensayo (consultar la sección «Características de rendimiento»).

Las muestras que se notifican como «HCV: RNA Detected, quantity below LLoQ» no son aptas para la cuantificación. La concentración de ARN de VHC detectada en la muestra es inferior al nivel en el que puede cuantificarse de forma exacta. Si la muestra se ha diluido antes de la extracción o de la PCR, el análisis puede repetirse sin dilución (consultar la sección «Características de rendimiento»).

Las muestras que se notifican como «DNA Detected, quantity beyond ULoQ» no son aptas para la cuantificación. La concentración de VHC detectada en la muestra es superior al nivel en el que puede cuantificarse de forma exacta. Es posible diluir la muestra antes de la extracción o de la PCR y volver a analizarla para ofrecer resultados dentro del rango lineal del ensayo.

**Nota:** Los resultados obtenidos con este ensayo deben interpretarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y los resultados de otras pruebas analíticas del paciente.

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

#### Generación del informe de los resultados de la muestra

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

El «Sample Report» muestra 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».

### ELiTe BeGenius

### MUESTRAS Y CONTROLES

#### Muestras

Este producto debe utilizarse con las siguientes muestras clínicas:

#### Plasma recogido en EDTA o ACD

Las muestras de plasma para la extracción de ácido nucleico deben recogerse en EDTA o ACD e identificarse conforme a las directrices para laboratorios, así como transportarse y conservarse a temperatura ambiente (aproximadamente entre +18 °C y +25 °C) durante un máximo de tres días, o bien a una temperatura comprendida entre +2 °C y +8 °C durante un máximo de cinco días. De lo contrario, deben congelarse y conservarse a aproximadamente -20 °C durante un máximo de 30 días, o a aproximadamente -70 °C durante 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.

**Nota:** la extracción de ARN a partir de muestras de plasma recogido en EDTA o en ACD se realiza con el instrumento **ELiTe BeGenius** y la versión 2.1.0 del **ELiTe BeGenius Software** (o cualquier versión posterior equivalente) utilizando el protocolo de ensayo (Assay Protocol) «HCV ELiTe\_Be\_PL\_600\_50». Este protocolo procesa 600 µL de muestra, añade 10 µL por extracción del componente **HCV CPE** (Internal Control) y eluye los ácidos nucleicos en 50 µL.

Los ácidos nucleicos purificados pueden conservarse a aproximadamente -20 °C durante un mes.

#### Suero

Las muestras de suero concebidas para la extracción de ARN deben recogerse e identificarse conforme a las directrices para laboratorios, así como transportarse y conservarse a temperatura ambiente (aproximadamente +25 °C) durante un máximo de tres días, o bien a una temperatura comprendida entre +2 °C y +8 °C durante un máximo de cinco días. De lo contrario, deben congelarse y conservarse a aproximadamente -20 °C durante un máximo de 30 días, o a aproximadamente -70 °C durante 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.

**Nota:** la extracción de ARN a partir de muestras de suero se realiza con el instrumento **ELiTe BeGenius** y la versión 2.1.0 del **ELiTe BeGenius Software** (o cualquier versión posterior equivalente) utilizando el protocolo de ensayo (Assay Protocol) «HCV ELiTe\_Be\_Se\_600\_50». Este protocolo procesa 600 µL de muestra, añade 10 µL por extracción del componente **HCV CPE** (Internal Control) y eluye los ácidos nucleicos en 50 µL. La probeta primaria no puede utilizarse con el protocolo de ensayo.

Los ácidos nucleicos purificados pueden conservarse a aproximadamente -20 °C durante un mes.

#### Otras muestras

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

#### Sustancias interferentes

Los datos disponibles relativos a la inhibición causada por medicamentos y otras sustancias se incluyen en la sección «Sustancias potencialmente interferentes» del capítulo «Eficacia diagnóstica».

Con el fin de evitar la inhibición de la reacción de amplificación y la obtención de resultados no válidos con frecuencia, no utilizar plasma recogido en heparina.

#### Controles de amplificación

Antes de analizar cualquier muestra, es indispensable preparar y aprobar la curva de calibración y los controles de amplificación para cada lote de reactivos de amplificación:

- Como conjunto de calibradores, utilizar los cuatro niveles de concentración del producto **HCV ELiTe Standard** incluido en este kit junto con el protocolo de ensayo (Assay Protocol) «HCV ELiTe\_Be\_STD».
- Como Positive Control de amplificación, utilizar el producto **HCV - ELiTe Positive Control** incluido en este kit junto con el protocolo de ensayo (Assay Protocol) «HCV ELiTe\_Be\_PC».
- Como Negative Control de amplificación, utilizar agua para biología molecular (no incluida en este kit) junto con el protocolo de ensayo (Assay Protocol) «HCV ELiTe\_Be\_NC».

**Nota:** el instrumento **ELiTe BeGenius** requiere resultados aprobados y válidos de la curva de calibración y de los controles de amplificación para cada lote de reactivos de amplificación guardado en su base de datos.

Las curvas de calibración, aprobadas y guardadas en la base de datos, caducan a **los 60 días**. Al llegar la fecha de caducidad, es necesario volver a procesar los calibradores Q-PCR Standard con el lote de reactivos de amplificación.

Los resultados de los controles de amplificación, aprobados y guardados en la base de datos, caducan a **los 15 días**. Al llegar la fecha de caducidad, es necesario volver a procesar el Positive Control y el Negative Control con el lote de reactivos de amplificación.

Además, los calibradores y los controles de amplificación deben volver a procesarse en los siguientes casos:

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

#### Controles de calidad

Se recomienda validar periódicamente todo el procedimiento de extracción y amplificación. Se pueden utilizar muestras ya analizadas o material de referencia certificado. Se deben realizar controles externos de acuerdo con los organismos de acreditación locales, estatales o federales, según proceda.

**PROCEDIMIENTO**

El uso del producto **HCV ELiTe MGB Kit** con el **ELiTe BeGenius** comprende tres pasos:

- Verificación de la disponibilidad del sistema
- Configuración de la sesión
- Revisión y exportación de los resultados

**Verificación de la disponibilidad del sistema**

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

- Encender el **ELiTe BeGenius** y seleccionar el modo de inicio de sesión «**CLOSED**»,
- Verificar que los calibradores (**HCV Q-PCR Standard**) se hayan aprobado y sean válidos («Status») para el lote de mezcla **HCV PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de calibradores válidos para el lote de mezcla **HCV PCR Mix**, realizar la calibración tal como se describe a continuación.
- Verificar que los controles de amplificación (**HCV Positive Control** y **HCV Negative Control**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de mezcla **HCV PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de controles de amplificación válidos para el lote de mezcla **HCV PCR Mix**, procesar los controles tal como se indica a continuación y seleccionar el tipo de sesión siguiendo las instrucciones de la interfaz para configurar la sesión y utilizando los protocolos de ensayo (Assay Protocols) proporcionados por ELiTechGroup S.p.A. Estos protocolos para diagnóstico *in vitro* se han validado específicamente con los kits ELiTe MGB, el instrumento ELiTe BeGenius y la matriz mencionada.
- Los protocolos de ensayo (Assay Protocols) disponibles para el análisis de muestras con el producto **HCV ELiTe MGB Kit** se describen en la tabla siguiente:

Protocolo de ensayo para el producto HCV ELiTe MGB Kit y el ELiTe BeGenius			
Nombre	Matriz	Informe	Características
<b>HCV ELiTe_Be_PL_600_50</b>	Plasma	Positivo / UI/mL / copias/mL / Negativo	Volumen inicial de extracción: 600 µL Volumen de elución extraído: 50 µL Internal Control: 10 µL Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen de carga de PCR de la muestra: 20 µL
<b>VHC ELiTe_Be_Se_600_50</b>	Suero	Positivo / UI/mL / copias/mL / Negativo	Volumen inicial de extracción: 600 µL Volumen de elución extraído: 50 µL Internal Control: 10 µL Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen de carga de PCR de la muestra: 20 µL

UI: unidades internacionales

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

**Configuración de la sesión**

El producto **HCV ELiTe MGB Kit** puede utilizarse con el **ELiTe BeGenius** para realizar las siguientes tareas:

- Sesión integrada; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)
- Sesión de amplificación; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).
- Sesión de calibración; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).
- Sesión de amplificación para el Positive Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).

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

**Nota:** el instrumento **ELiTe BeGenius** puede conectarse al servidor de información de ubicaciones (LIS, «Location Information Server»), que permite cargar la información de la sesión. Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

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

- Descongelar las probetas necesarias de mezcla **HCV PCR Mix** (tapón blanco) a temperatura ambiente (aproximadamente +25 °C) durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para **24** reacciones en condiciones óptimas de uso (es decir, realizando al menos 2 análisis por sesión). Mezclar las probetas en un agitador vórtex durante 10 segundos tres veces, a continuación, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservar en hielo.

**Nota:** descongelar la mezcla **HCV PCR Mix** en un lugar protegido de la luz, pues este reactivo es fotosensible.

- Tomar las probetas necesarias de mezcla **RT EnzymeMix** (tapón con inserto negro). Cada probeta es suficiente para preparar **48** análisis. Agitar las probetas con cuidado, a continuación, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservar en hielo.

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

- Preparar una probeta de 2 mL con tapón roscado (número de referencia de Sarstedt 72.694.005, no incluida en el kit) para la **mezcla completa de reacción** y etiquetarla de forma identificable con un rotulador permanente.
- Calcular los volúmenes de los dos subcomponentes que se necesitan para preparar la **mezcla completa de reacción** basándose en el número de muestras que van a analizarse, tal como se describe en la tabla siguiente.

**Nota:** para calcular los volúmenes de los dos subcomponentes que van a utilizarse para preparar la **mezcla completa de reacción**, es necesario definir el número de muestras (N) que van a analizarse en la sesión y seguir las indicaciones de la tabla siguiente.

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

- Preparar la **mezcla completa de reacción** añadiendo a la probeta dedicada de 2 mL los volúmenes calculados de los dos componentes.

**Nota:** Si se dispone de más de 12 muestras:

- Preparar una primera probeta de 2 mL con la **mezcla completa de reacción** durante 12 muestras.
- Preparar una segunda probeta de 2 mL con la **mezcla completa de reacción** calculando los volúmenes de los dos

subcomponentes en función del número de muestras que queden (N-12).

- Mezclar **en un agitador vórtex a baja velocidad** tres veces durante 10 segundos y, después, centrifugar la probeta durante 5 segundos para llevar el contenido al fondo y conservar en hielo.

**Nota:** la **mezcla completa de reacción** debe utilizarse en el transcurso de 7 horas si se conserva en el bloque refrigerado. La mezcla completa de reacción **no puede** conservarse para su reutilización.

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

Los pasos principales para la configuración de los tres tipos de sesión se describen en los siguientes apartados.

### A. Sesión integrada

Para configurar una sesión integrada con la extracción y amplificación de la muestra, seguir las instrucciones de la interfaz que se indican a continuación:

1. Descongelar a temperatura ambiente (de +18 °C a +25 °C) las probetas que contienen las muestras que van a analizarse y manipularlas de acuerdo con las directrices para laboratorios y conforme a las indicaciones de la sección «Muestras y controles»

Tener en cuenta que se necesitan 600 µL de muestra para el análisis.

2. Descongelar las probetas de **HCV CPE** necesarias para la sesión a temperatura ambiente (aproximadamente +25 °C) durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para 12 extracciones. Mezclar con cuidado y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos.
3. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).
4. Extraer las gradillas de la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración) y colocarlas en la mesa de preparación.
5. Seleccionar el modo de procesamiento («Run Mode») «Extract + PCR» (Extracción + PCR).
6. Cargar las muestras en las gradillas 5 y 4 (comenzando siempre por la gradilla 5).
7. Insertar la gradilla en la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración). Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.

**Nota:** si se cargan probetas secundarias, marcar la probeta de 2 mL. Si las probetas secundarias no tienen códigos de barras, introducir manualmente el ID de las muestras.

8. Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 600 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de eluido extraído), a 50 µL.
9. En la columna «Assay» (Ensayo), seleccionar el protocolo de ensayo (Assay Protocol) que va a utilizarse (p. ej., «HCV ELITe\_Be\_PL\_600\_50»). Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
10. Si se utiliza la gradilla 4, repetir los pasos del 7 al 9 para ella.
11. Cargar las probetas de elución en las gradillas 3 y 2 (comenzando siempre por la gradilla 3).

**Nota:** las probetas de elución pueden etiquetarse para mejorar la rastreabilidad.

12. Insertar la gradilla en la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración). Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
13. Si se utiliza la gradilla 2, repetir los pasos del 11 al 12 para ella.
14. Cargar el **CPE** y la **mezcla completa de reacción** en la gradilla 1.
15. Insertar la gradilla 1 en la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración). Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
16. Cargar y revisar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
17. Cargar la cesta con el cartucho PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario) siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
18. Cargar la cesta con los cartuchos de extracción ELITe InGenius SP 1000 y los consumibles de extracción necesarios siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
19. Cerrar la puerta del equipo.
20. Pulsar «Start» (Inicio) para iniciar la sesión.

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 puede extraerse del instrumento, taparse, identificarse y conservarse a –20 °C. Evitar derramar la muestra extraída.

**Nota:** al finalizar la sesión, el cartucho PCR Cassette que contiene los productos de reacción y los consumibles debe extraerse del instrumento y eliminarse sin contaminar el medio ambiente. Evitar derramar los productos de reacción.

**Nota:** la **mezcla completa de reacción** puede conservarse en la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración) durante un máximo de 2 sesiones de trabajo de 3 horas cada una y durante el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión de trabajo (7 horas en total). Mezclar con cuidado y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos antes de iniciar la siguiente sesión.

### B. Sesión de amplificación

Para configurar la sesión de amplificación a partir del ARN extraído, llevar a cabo el procedimiento que se indica a continuación siguiendo las instrucciones de la interfaz:

1. Descongelar a temperatura ambiente (aproximadamente +25 °C) las probetas que contienen las muestras que van a analizarse de ácido nucleico extraído. Mezclar con cuidado y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos.
2. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).
3. Extraer las gradillas 1, 2, y 3 de la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración) y colocarlas en la mesa de preparación.
4. Seleccionar el modo de procesamiento («Run Mode») «PCR Only» (Solo PCR).
5. Cargar las muestras en las gradillas 3 y 2 (comenzando siempre por la gradilla 3).
6. Insertar la gradilla en la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración). Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
7. Aunque no vaya a realizarse ninguna extracción, asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 600 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de eluido extraído), a 50 µL.
8. En la columna «Assay» (Ensayo), seleccionar el protocolo de ensayo (Assay Protocol) que va a utilizarse (p. ej., «HCV ELITe\_Be\_PL\_600\_50»). Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
9. Si se utiliza la gradilla 2, repetir los pasos del 5 al 8 para ella.
10. Cargar la **mezcla completa de reacción** en la gradilla 1.
11. Insertar la gradilla 1 en la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración). Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
12. Cargar y revisar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
13. Cargar la cesta con el cartucho PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario) siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
14. Cerrar la puerta del equipo.
15. Pulsar «Start» (Inicio) para iniciar la sesión.

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 puede extraerse del instrumento, taparse, identificarse y conservarse a –20 °C. Evitar derramar la muestra extraída.

**Nota:** al finalizar la sesión, el cartucho PCR Cassette que contiene los productos de reacción debe extraerse del instrumento y eliminarse sin contaminar el medio ambiente. Evitar derramar los productos de reacción.

**Nota:** la **mezcla completa de reacción** puede conservarse en la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración) durante un máximo de 2 sesiones de trabajo de 3 horas cada una y durante el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión de trabajo (7 horas en total). Mezclar con cuidado y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos antes de iniciar la siguiente sesión.

### C. Sesión de calibración

Para configurar la sesión de calibración con los calibradores Q-PCR Standard, llevar a cabo el procedimiento que se indica a continuación siguiendo las instrucciones de la interfaz.

1. Descongelar las probetas de calibrador **HCV Q-PCR Standard** (Cal1: HCV Q-PCR Standard 10<sup>2</sup>, Cal2: HCV Q-PCR Standard 10<sup>3</sup>, Cal3: HCV Q-PCR Standard 10<sup>4</sup>, Cal4: HCV Q-PCR Standard 10<sup>5</sup>) a temperatura ambiente (aproximadamente +25 °C) durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para preparar 2 reacciones. Mezclar con cuidado y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos.
2. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).
3. Extraer las gradillas 1, 2, y 3 de la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración) y colocarlas en la mesa de preparación.
4. Seleccionar el modo de procesamiento («Run Mode») «PCR Only» (Solo PCR).
5. Cargar las probetas del calibrador en la gradilla 3.
6. En la columna «Assay» (Ensayo), seleccionar el protocolo de ensayo (Assay Protocol) que va a utilizarse (p. ej., «HCV ELITE\_Be\_STD»). Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
7. Cargar la **mezcla completa de reacción** en la gradilla 2.
8. Insertar la gradilla 2 en la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración). Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
9. Cargar y revisar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
10. Cargar la cesta con el cartucho PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario) siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
11. Cerrar la puerta del equipo.
12. Pulsar «Start» (Inicio) para iniciar la sesión.

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 los calibradores puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a -20 °C. Evitar derramar los calibradores Q-PCR Standard.

**Nota:** los calibradores **HCV Q-PCR Standard** pueden utilizarse en 2 sesiones de trabajo independientes de 2 horas cada una.

**Nota:** al finalizar la sesión, el cartucho PCR Cassette que contiene los productos de reacción debe extraerse del instrumento y eliminarse sin contaminar el medio ambiente. Evitar derramar los productos de reacción.

**Nota:** la **mezcla completa de reacción** puede conservarse en el bloque refrigerado durante un máximo de 2 sesiones de trabajo de 3 horas cada una y durante el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión de trabajo (7 horas en total). Mezclar con cuidado y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos antes de iniciar la siguiente sesión.

### D. Sesión del Positive Control y del Negative Control

Para configurar la sesión de amplificación con el Positive Control y el Negative Control, llevar a cabo el procedimiento que se indica a continuación siguiendo las instrucciones de la interfaz:

1. Descongelar las probetas de **HCV Positive Control** necesarias para la sesión a temperatura ambiente (aproximadamente +25 °C) durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para preparar 4 reacciones. Mezclar con cuidado y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos.
2. Verter al menos 50 µL de agua para biología molecular (como Negative Control) para las sesiones en una probeta de elución «Elution Tube», incluida en el componente «ELITE InGenius SP Consumable Set».
3. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).
4. Extraer las gradillas 1, 2, y 3 de la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración) y colocarlas en la mesa de preparación.
5. Seleccionar el modo de procesamiento («Run Mode») «PCR Only» (Solo PCR).
6. Cargar las probetas de Positive Control y Negative Control en la gradilla 3.
7. En la columna «Assay» (Ensayo), seleccionar el protocolo de ensayo (Assay Protocol) que se desea utilizar (por ejemplo, «HCV ELITE\_Be\_PC» y «HCV ELITE\_Be\_NC»). Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
8. Cargar la **mezcla completa de reacción** en la gradilla 2.
9. Insertar la gradilla 2 en la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración). Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
10. Cargar y revisar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
11. Cargar la cesta con el cartucho PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario) siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar con la configuración.
12. Cerrar la puerta del equipo.
13. Pulsar «Start» (Inicio) para iniciar la sesión.

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 del Positive Control puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a -20 °C. Evitar derramar el Positive Control. La parte que queda del Negative Control debe eliminarse.

**Nota:** el componente **HCV Positive Control** puede utilizarse en 4 sesiones de trabajo independientes de 3 horas cada una.

**Nota:** al finalizar la sesión, los cartuchos PCR Cassette que contienen los productos de reacción deben extraerse del instrumento y eliminarse sin contaminar el medio ambiente. Evitar derramar los productos de reacción.

**Nota:** la **mezcla completa de reacción** puede conservarse en el bloque refrigerado durante un máximo de 2 sesiones de trabajo de 3 horas cada una y durante el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión de trabajo (7 horas en total). Mezclar con cuidado y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos antes de iniciar la siguiente sesión.

**HCV ELITe MGB® Kit**  
**Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real**

REF RTK601ING

**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 protocolo de ensayo para generar curvas de PCR que, después, se convierten en resultados.

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

El instrumento **ELITe BeGenius** genera los resultados con el producto **HCV 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 de amplificación
- C. Validación de los resultados de las muestras
- D. Elaboración de los informes de resultados de las muestras

**Nota:** para obtener más información, consultar los mismos capítulos del manual del **ELITe InGenius**.

**CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL  
 ELITe InGenius y DEL ELITe BeGenius**

**Límite de detección (LoD)**

El límite de detección (LoD) del producto **HCV ELITe MGB Kit** se definió utilizando muestras de plasma y el instrumento ELITe InGenius.

El LoD se definió analizando un panel de muestras de plasma recogido en ACD negativas para VHC y enriquecidas con material de referencia certificado de VHC (6ª norma internacional de la OMS, NIBSC) a un título conocido. Se prepararon seis niveles de diluciones comenzando por 100 UI/mL y llegando hasta 6 UI/mL. Cada nivel de dilución se procesó en 24 duplicados utilizando el instrumento **ELITe InGenius** en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR). El límite de detección (LoD) se calculó mediante el análisis de regresión Probit de los datos como la concentración correspondiente al 95 % de probabilidad de un resultado positivo.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

<b>Límite de detección (UI/mL) para muestras de plasma recogido en ACD con el instrumento ELITe InGenius</b>			
Diana	Límite de detección	Intervalo de confianza del 95 %	
		Límite inferior	Límite superior
VHC	26	19	48

El límite de detección para las muestras de plasma recogido en ACD, expresado como copias/mL, se calculó aplicando el factor de conversión específico (2,4 UI/copia). La sensibilidad analítica expresada en copias/mL se indica a continuación.

<b>Límite de detección (copias/mL) para muestras de plasma recogido en ACD con el instrumento ELITe InGenius</b>			
Diana	Límite de detección	Intervalo de confianza del 95 %	
		Límite inferior	Límite superior
VHC	11	8	20

El valor del LoD calculado se verificó analizando 30 duplicados de muestras de plasma recogido en ACD, 30 duplicados de muestras de plasma recogido en EDTA y 30 duplicados de muestras de suero enriquecidas con material de referencia certificado de VHC (6ª norma internacional de la OMS, NIBSC) a la concentración declarada. El LoD se confirma si al menos 27 de 30 duplicados ofrecen un resultado positivo según la directiva EP17-A del CLSI.

**HCV ELITe MGB® Kit**  
**Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real**

REF RTK601ING

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

<b>Verificación del límite de detección para muestras de plasma y suero y el ELITe InGenius</b>					
Muestra	Título	Diana	N	Positivas	Negativas
Plasma recogido en ACD	26 UI/mL	VHC	30	29	1
Plasma recogido en EDTA	26 UI/mL	VHC	30	27	3
Suero	26 UI/mL	VHC	30	27	3

El valor del LoD para la diana de VHC se confirmó en 26 UI/mL en el caso de muestras de plasma recogido en ACD, muestras de plasma recogido en EDTA y muestras de suero.

El valor del LoD calculado se verificó en el **ELITe BeGenius** analizando 30 duplicados de muestras de plasma recogido en ACD, 30 duplicados de muestras de plasma recogido en EDTA y 30 duplicados de muestras de suero enriquecidas con material de referencia certificado de VHC (6ª norma internacional de la OMS, NIBSC) a la concentración declarada. El LoD se confirma si al menos 27 de 30 duplicados ofrecen un resultado positivo según K. Linnet *et al.* 2004.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

<b>Verificación del límite de detección para muestras de plasma y suero con el ELITe BeGenius</b>					
Muestra	Título	Diana	N	Positivas	Negativas
Plasma recogido en EDTA	26 UI/mL	VHC	30	30	0
Plasma recogido en ACD	26 UI/mL	VHC	30	27	3
Suero	26 UI/mL	VHC	30	27	3

El valor del LoD para la diana de VHC se confirmó en 26 UI/mL en el caso de muestras de plasma recogido en ACD, muestras de plasma recogido en EDTA y muestras de suero.

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

La equivalencia en cuanto a rendimiento del producto **HCV ELITe MGB Kit** se verificó utilizando muestras de plasma recogido en ACD, muestras de plasma recogido en EDTA y muestras de suero y empleando el instrumento **ELITe InGenius**.

Se realizó un análisis con 30 muestras de plasma recogido en EDTA y 30 muestras de plasma recogido en ACD de los mismos 30 donantes distintos (muestras emparejadas), que habían dado un resultado negativo para el VHC en un inmunoensayo para diagnóstico *in vitro* con marcado CE. Las muestras se analizaron en el instrumento **ELITe InGenius** en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR). Se evaluó el porcentaje de concordancia negativa. El coeficiente de variación porcentual (%CV) de los valores de Ct del Internal Control se calculó con el fin de evaluar la equivalencia de las dos matrices.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Muestra	N	Positiv s	Negativ s	% de concordanc ia negativa	%CV del Ct del IC	%CV total del Ct del IC
Plasma recogido en EDTA	30	0	30	100 %	0,89	0,95
Plasma recogido en ACD	30	0	30		1,02	

Se realizó el mismo análisis con 30 muestras de plasma recogido en EDTA y 30 muestras de suero de los mismos 30 donantes distintos (muestras emparejadas), que habían dado un resultado negativo para el VHC en un inmunoensayo para diagnóstico *in vitro* con marcado CE.

**HCV ELITE MGB® Kit**  
 Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTK601ING

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Muestra	N	Positivas	Negativas	% de concordancia negativa	%CV del Ct del IC	%CV total del Ct del IC
Plasma recogido en EDTA	30	0	30	100 %	0,90	1,11
Suero	30	0	30		1,28	

Se realizó un análisis con 30 muestras de plasma recogido en EDTA y 30 muestras de plasma recogido en ACD de los mismos 30 donantes distintos (muestras emparejadas), que habían dado un resultado negativo para el VHC en un inmunoensayo para diagnóstico *in vitro* con marcado CE y se habían enriquecido con material de referencia certificado (6ª norma internacional de la OMS para el VHC, NIBSC) a una concentración de 3 veces el LoD (aproximadamente 78 UI/mL). Las muestras se analizaron en el instrumento **ELITE InGenius** en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR). Se evaluó el porcentaje de concordancia positiva. El coeficiente de variación porcentual (%CV) de los valores de Ct de la diana del VHC se calculó con el fin de evaluar la equivalencia de las dos matrices.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Muestra	N	Positivas	Negativas	% de concordancia positiva	%CV del Ct del VHC	%CV total del Ct del HCV	Sesgo (Log UI/mL)
Plasma recogido en EDTA	30	30	0	100 %	1,96	1,79	0,0190
Plasma recogido en ACD	30	30	0		1,60		

Se realizó el mismo análisis con 30 muestras de plasma recogido en EDTA y 30 muestras de suero de los mismos 30 donantes distintos (muestras emparejadas), que habían dado un resultado negativo para el VHC en un inmunoensayo para diagnóstico *in vitro* con marcado CE y se habían enriquecido con material de referencia certificado (6ª norma internacional de la OMS para el VHC, NIBSC) a una concentración de 3 veces el LoD (aproximadamente 78 UI/mL).

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Muestra	N	Positivas	Negativas	% de concordancia positiva	%CV del Ct del VHC	%CV total del Ct del HCV	Sesgo (Log UI/mL)
Plasma recogido en EDTA	30	30	0	100 %	1,84	1,81	0,0636
Suero	30	30	0		1,77		

En estos análisis, las 30 muestras emparejadas de plasma recogido en EDTA y de plasma recogido en ACD y las 30 muestras emparejadas de plasma recogido en EDTA y de suero presentaron rendimientos equivalentes cuando se analizaron el producto **HCV ELITE MGB Kit** utilizando el instrumento **ELITE InGenius**.

Se realizaron más análisis de equivalencia de matrices durante el estudio del rango de medición lineal.

**Rango de medición lineal**

El rango de medición lineal del producto **HCV ELITE MGB Kit** se determinó utilizando muestras de plasma y el instrumento ELITE InGenius.

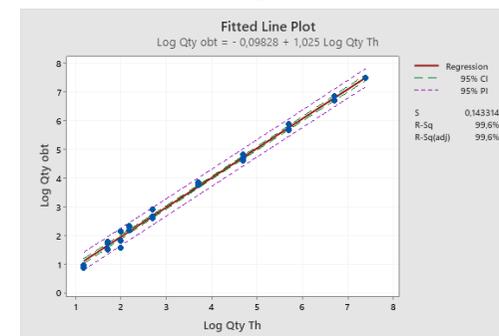
El rango de medición lineal se determinó utilizando un panel de material de referencia del VHC a un título conocido («AcroMetrix™ HCV-S Panel») en plasma recogido en EDTA. El panel constaba de diez puntos de dilución de  $2,5 \times 10^7$  UI/mL a  $1,5 \times 10^1$  UI/mL. Cada muestra del panel se analizó en 3 duplicados utilizando el instrumento **ELITE InGenius** en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).

**HCV ELITE MGB® Kit**  
 Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTK601ING

El análisis de los datos obtenidos, realizado mediante regresión polinómica y regresión lineal, demostró que el ensayo presentaba una respuesta lineal para todas las diluciones con un coeficiente de correlación cuadrática (R<sup>2</sup>) de 0,996.

Los resultados se muestran en la siguiente figura.



El límite inferior de cuantificación (LLoQ) se estableció a la concentración del LoD que daba resultados cuantitativos precisos (desviación estándar de 0,2787 log UI/mL) y exactos (sesgo de 0,3641 log UI/mL) en el margen de  $\pm 0,5$  log UI/mL: 26 UI/mL.

El límite superior de cuantificación (ULoQ) se estableció a la concentración más alta que daba resultados cuantitativos precisos (desviación estándar de 0,0089 log UI/mL) y exactos (sesgo de 0,0794 log UI/mL) en el margen de  $\pm 0,5$  log UI/mL: 25.000.001 UI/mL.

El rango de medición lineal como copias/mL para plasma recogido en EDTA se calculó aplicando el factor de conversión específico (2,4 UI/copia).

Los resultados finales se resumen en la tabla siguiente.

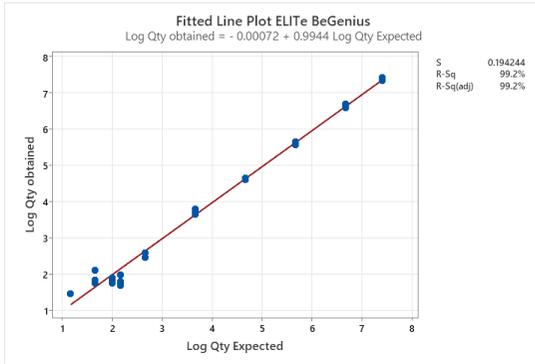
Rango de medición lineal para muestras de plasma y el ELITE InGenius	
Límite inferior	Límite superior
26 UI/mL	25.000.001 UI/mL
11 copias/mL	10.416.667 copias/mL

**Nota:** se demostró que el producto presentaba el mismo rendimiento independientemente de si se utilizaban muestras de plasma recogido en EDTA, muestras de plasma recogido en ACD o muestras de suero.

El rango de medición lineal del producto **HCV ELITE MGB Kit** se verificó con muestras de plasma y el instrumento **ELITE BeGenius** utilizando un panel de diluciones de VHC (AcroMetrix™ HCV-S Panel AcroMetrix) en muestras de plasma recogido en ACD negativas para VHC. El panel constaba de diez puntos de dilución que abarcaban de aproximadamente  $2,5 \times 10^7$  UI/mL a 15 UI/mL. Cada muestra del panel se analizó en 3 duplicados utilizando el instrumento **ELITE BeGenius** en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).

El análisis de los datos obtenidos, realizado mediante regresión polinómica y regresión lineal, demostró que el ensayo presentaba una respuesta lineal para todas las diluciones con un coeficiente de correlación cuadrática (R<sup>2</sup>) de 0,992.

Los resultados se muestran en la siguiente figura.



El límite inferior de cuantificación (LLOQ) se estableció a la concentración del LoD que daba resultados cuantitativos precisos (desviación estándar de 0,3762 log UI/mL) y exactos (sesgo de 0,3583 log UI/mL) en el margen de  $\pm 0,5$  log UI/mL: 26 UI/mL.

El límite superior de cuantificación (ULOQ) se estableció a la concentración más alta que daba resultados cuantitativos precisos (desviación estándar de 0,0405 log UI/mL) y exactos (sesgo de 0,0064 log UI/mL) en el margen de  $\pm 0,5$  log UI/mL:  $2,5 \times 10^7$  UI/mL.

El rango de medición lineal como copias/mL para plasma recogido en ACD se calculó aplicando el factor de conversión específico (2,4 UI/copia).

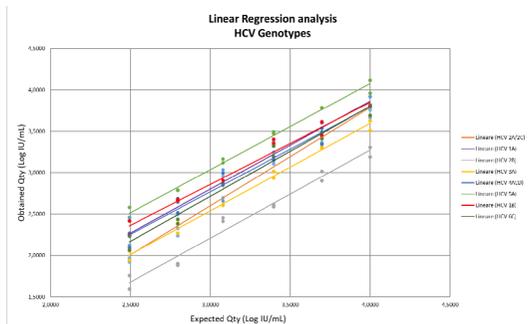
Los resultados finales se resumen en la tabla siguiente.

Rango de medición lineal para muestras de plasma y el ELiTe BeGenius	
Límite inferior	Límite superior
26 UI/mL	25.000.001 UI/mL
11 copias/mL	10.416.667 copias/mL

**Nota:** se demostró que el producto presentaba el mismo rendimiento independientemente de si se utilizaban muestras de plasma recogido en EDTA, muestras de plasma recogido en ACD o muestras de suero.

La linealidad de la cuantificación se verificó analizando muestras de plasma negativas recogidas en EDTA y enriquecidas con material de referencia del VHC (SeraCare) para los principales genotipos del VHC (1, 2, 3, 4, 5, 6). Cada genotipo del VHC se analizó en un panel de 6 niveles de dilución. Cada nivel de dilución se analizó en 2 duplicados utilizando el instrumento **ELiTe InGenius** en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).

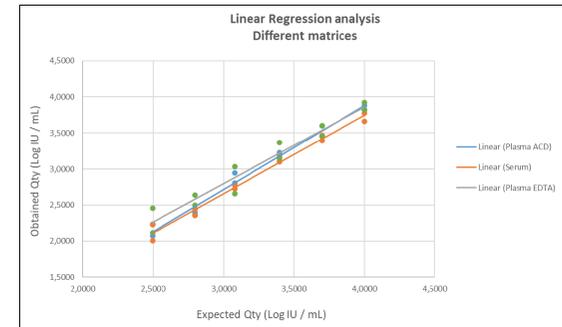
Los resultados se muestran en la siguiente figura.



La linealidad del ensayo se confirmó para los principales genotipos del VHC (1, 2, 3, 4, 5, 6); el valor R2 osciló entre 0,950 y 0,992 y los resultados cuantitativos se encontraron dentro del margen de  $\pm 0,5$  log UI/mL, con la excepción del genotipo 2b del VHC, que se infravaloró en aproximadamente 0,8 log UI/mL en comparación con el valor teórico. No obstante, esta muestra también se infravaloró con el producto «cobas® HCV for use on the 6800 Systems» (Roche Diagnostics).

La linealidad de la cuantificación se verificó analizando muestras negativas de plasma recogido en ACD y muestras de suero enriquecidas con material de referencia de VHC de la OMS. Cada matriz se analizó en un panel de 6 niveles de dilución. Cada nivel de dilución se analizó en 2 duplicados utilizando el instrumento **ELiTe InGenius** en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR). Los resultados correspondientes del análisis con muestras de plasma recogido en EDTA se notificaron como referencia.

Los resultados se muestran en la siguiente figura.



La linealidad del ensayo se confirmó para muestras de plasma recogido en ACD y para muestras de suero que dieron resultados R2 de 0,9838 en el primer caso y de 0,9870 en el segundo caso, y los resultados cuantitativos se encontraron en el margen de  $\pm 0,5$  log UI/mL.

**Inclusividad: Eficacia de detección y cuantificación en distintos genotipos**

La eficacia de detección de diferentes genotipos del VHC se evaluó mediante una comparación informática de las secuencias disponibles en las bases de datos de nucleótidos.

El análisis de las regiones elegidas para la hibridación de los cebadores y de la sonda en la alineación de las secuencias de la región 5' UTR del VHC disponibles en la base de datos demostró conservación de la secuencia y ausencia de discrepancias reseñables en los genotipos del VHC (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8). Así pues, cabe esperar una amplificación y una detección eficaces de todos los genotipos del VHC.

La inclusividad del ensayo, como eficacia de detección y cuantificación en distintos genotipos, se verificó analizando tres paneles de material de referencia:

- «AccuTrak HCV RNA Genotype Performance Panel» (Seracare), un panel de validación de 8 miembros de diversas recopilaciones de los genotipos 1, 2, 3, 4, 5 y 6 del VHC.
- Panel 01 de evaluación de genotipos del VHC (Qnostics).
- Material de referencia no de la OMS, 4º panel de genotipos del ARN de VHC para técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (NIBSC).

**HCV ELITe MGB® Kit**  
**Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real**

**REF** RTK601ING

Cada muestra del panel se diluyó a una concentración de 3 veces el LoD (aproximadamente 78 UI/mL) en muestras negativas de plasma recogido en ACD que se analizaron con el instrumento **ELITe InGenius** en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Panel AccuTrak de rendimiento de los genotipos del ARN de VHC				
Genotipo	UI/mL teóricas	Pos./Dup.	Ct medio	Media de UI/mL
VHC 1A	78	3/3	37,16	74
VHC 1B	78	3/3	37,74	48
VHC 2A/2C	78	3/3	37,64	56
VHC 2B	78	3/3	38,14	36
VHC 3A	78	3/3	39,70	14
VHC 4ACD	78	3/3	38,18	38
VHC 5A	78	3/3	37,20	67
VHC 6C	78	3/3	38,07	39

Panel de evaluación de genotipos del VHC				
Genotipo	UI/mL teóricas	Pos./Dup.	Ct medio	Media de UI/mL
VHC 1a	78	3/3	36,22	133
VHC 1b	78	3/3	34,11	615
VHC 2b	78	3/3	38,24	33
VHC 3a	78	3/3	35,46	225
VHC 4a	78	3/3	36,09	144
VHC 5a	78	3/3	37,22	69
VHC 6a	78	3/3	37,56	56

Material de referencia no de la OMS, 4º panel de genotipos del ARN de VHC				
Genotipo	UI/mL teóricas	Pos./Dup.	Ct medio	Media de UI/mL
VHC 1a	78	3/3	38,27	40
VHC 1b	78	3/3	37,12	160
VHC 2i	78	3/3	38,01	71
VHC 3a	78	3/3	39,49	19
VHC 4r	78	3/3	40,08	18
VHC 5a	78	3/3	38,92	39
VHC 6l	78	2/3	38,24	8

Todas las muestras de los tres paneles se detectaron correctamente. En el «Material de referencia no de la OMS, 4º panel de genotipos del ARN de VHC» (NIBSC), uno de tres duplicados del genotipo 6l del VHC no se detectó. Todas las muestras se cuantificaron dentro del título teórico de  $\pm 0,5 \log$  UI/mL (25–247 UI/mL) con el producto «HCV ELITe MGB® Kit» y utilizando el instrumento ELITe InGenius. En el material de referencia no de la OMS, 4º panel de genotipos del ARN de VHC, el genotipo 6l del VHC también se infravaloró. No obstante, este genotipo se detectó correctamente y se cuantificó en los otros dos paneles.

**Marcadores potencialmente interferentes: reactividad cruzada**

La reactividad cruzada potencial con otros microorganismos que puede encontrarse en muestras clínicas de plasma y suero se evaluó mediante una comparación informática de las secuencias disponibles en las bases de datos de nucleótidos.

Las regiones elegidas para la hibridación de los cebadores y de la sonda se revisaron en la alineación de las secuencias de otros microorganismos disponibles en las bases de datos. El análisis de las regiones de hibridación demostró ausencia de homologías reseñables con los microorganismos no intencionados.

La ausencia de reactividad cruzada con otros microorganismos que puede encontrarse en muestras clínicas de plasma y de suero también se verificó analizando un panel de materiales de referencia certificados.

**HCV ELITe MGB® Kit**  
**Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real**

**REF** RTK601ING

Se analizaron muestras de ADN o ARN genómicos de diferentes marcadores potencialmente interferentes (ATCC, NIBSC, ZeptoMetrix) a una alta concentración (al menos  $10^5$  copias/reacción) en tres duplicados utilizando el instrumento **ELITe InGenius** en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR). Los ADN o ARN genómicos de cada microorganismo se añadieron con 80.000 copias de Internal Control por reacción con el fin de imitar la muestra clínica extraída.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

ID de la muestra	Pos./Dup. de VHC	Resultado
VIH1	0/3	Sin reactividad cruzada
VIH2	0/3	Sin reactividad cruzada
VIH-1	0/3	Sin reactividad cruzada
VIH-2	0/3	Sin reactividad cruzada
CMV	0/3	Sin reactividad cruzada
VEB	0/3	Sin reactividad cruzada
VHA	0/3	Sin reactividad cruzada
VHB	0/3	Sin reactividad cruzada
VHE	0/3	Sin reactividad cruzada
VHS1	0/3	Sin reactividad cruzada
VHS2	0/3	Sin reactividad cruzada
VHH6	0/3	Sin reactividad cruzada
VVZ	0/3	Sin reactividad cruzada
Gripe A	0/3	Sin reactividad cruzada
Gripe B	0/3	Sin reactividad cruzada
VRS	0/3	Sin reactividad cruzada
ADV	0/3	Sin reactividad cruzada
WNV	0/3	Sin reactividad cruzada
DV3	0/3	Sin reactividad cruzada
EV	0/3	Sin reactividad cruzada
PVB19	0/3	Sin reactividad cruzada
<i>Staphylococcus aureus</i>	0/3	Sin reactividad cruzada
<i>Candida albicans</i>	0/3	Sin reactividad cruzada

Ninguno de los marcadores potencialmente interferentes analizados mostró reactividad cruzada para la diana del VHC utilizando el producto «HCV ELITe MGB® Kit».

**Marcadores potencialmente interferentes: Interferencia**

La ausencia de interferencia con otros microorganismos que puede encontrarse en muestras clínicas de plasma también se verificó analizando un panel de materiales de referencia certificados.

Las muestras de ADN o ARN genómicos de diferentes marcadores potencialmente interferentes (ATCC, NIBSC, ZeptoMetrix) a alta concentración (al menos  $10^5$  copias/reacción) se enriquecieron con material de referencia de ARN de VHC (de la 6ª norma internacional de la OMS) a una concentración baja (aproximadamente 10 copias/reacción). Las muestras se analizaron en tres duplicados utilizando el instrumento ELITe InGenius en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR). Cada muestra se añadió con 80.000 copias de Internal Control por reacción con el fin de imitar la muestra clínica extraída.

**HCV ELITe MGB® Kit**  
**Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real**

REF RTK601ING

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

ID de la muestra	Pos./Dup. de VHC	Resultado
VIH1	3/3	Sin interferencia
VIH2	3/3	Sin interferencia
VIH-1	3/3	Sin interferencia
VIH-2	3/3	Sin interferencia
CMV	3/3	Sin interferencia
VEB	3/3	Sin interferencia
VHA	3/3	Sin interferencia
VHB	3/3	Sin interferencia
VHE	3/3	Sin interferencia
VHS1	3/3	Sin interferencia
VHS2	3/3	Sin interferencia
VHH6	3/3	Sin interferencia
VVZ	3/3	Sin interferencia
Gripe A	3/3	Sin interferencia
Gripe B	3/3	Sin interferencia
VRS	3/3	Sin interferencia
ADV	3/3	Sin interferencia
WNV	3/3	Sin interferencia
DV3	3/3	Sin interferencia
EV	3/3	Sin interferencia
PVB19	3/3	Sin interferencia
<i>Staphylococcus aureus</i>	3/3	Sin interferencia
<i>Candida albicans</i>	3/3	Sin interferencia

La presencia microorganismos potencialmente interferentes analizados no mostró inhibición de la amplificación de la diana del VHC utilizando el producto «HCV ELITe MGB® Kit».

**Sustancias potencialmente interferentes**

El efecto de las sustancias potencialmente interferentes se evaluó analizando el panel «AcroMetrix® Inhibition Panel» (Thermo Fisher Scientific Inc.), que contenía sustancias endógenas, resultantes de hemólisis, ictericia y lipemia, así como sustancias exógenas, EDTA y heparina.

Las muestras del panel de inhibición se enriquecieron con material de referencia certificado de VHC (6ª norma internacional de la OMS para el VHC, NIBSC) a una concentración de 3 veces el LoD (aproximadamente 78 UI/mL).

Además, se analizaron otras 7 sustancias potencialmente interferentes a una concentración pertinente: ganciclovir, azitromicina, glecaprevir, ribavirina, sofosbuvir, pibrentasvir y vepatasvir.

Las sustancias se añadieron de forma individual a muestras de plasma recogido en ACD negativas para VHC y enriquecidas con material de referencia certificado de VHC (NIBSC) a una concentración de 3 veces el LoD (aproximadamente 78 UI/mL).

Las muestras se procesaron en tres duplicados en el instrumento **ELITE InGenius** utilizando el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR). Los valores de Ct (muestras de referencia y de análisis) de la diana del VHC y del Internal Control se utilizaron para calcular el coeficiente de variación porcentual (%CV) con el fin de evaluar la posible interferencia.

**HCV ELITe MGB® Kit**  
**Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real**

REF RTK601ING

Los resultados se muestran en las tablas siguientes.

Muestra	Pos./Dup. de VHC	%CV del Ct del VHC	%CV del Ct del IC	Resultado
Bilirrubina	3/3	1,12	0,91	Sin interferencia
Triglicéridos	3/3	2,20	0,83	Sin interferencia
Hemoglobina	1/3	N/A	10,80	Interferencia
Heparina	0/3	N/A	7,68	Interferencia
EDTA	3/3	1,36	1,28	Sin interferencia
Ganciclovir	3/3	1,94	0,94	Sin interferencia
Azitromicina	3/3	2,22	1,69	Sin interferencia
Sofosbuvir	3/3	2,03	0,93	Sin interferencia

Muestra	Pos./Dup. de VHC	%CV del Ct del VHC	%CV del Ct del IC	Resultado
Pibrentasvir	3/3	2,81	0,92	Sin interferencia
Glecaprevir	3/3	2,00	1,09	Sin interferencia
Ribavirina	3/3	1,72	1,03	Sin interferencia
Velpatasvir	3/3	2,01	0,84	Sin interferencia
Referencia	3/3	1,12	0,91	Sin interferencia

La mayoría de las sustancias analizadas no interfirieron en la amplificación del VHC o del Internal Control. El coeficiente de variación porcentual (%CV) de los valores de Ct fue inferior al 2,5 %.

Se confirmó que la heparina y la hemoglobina a altas concentraciones (de 3,4 a 4,6 g/dL) inhibían la amplificación del VHC; sin embargo, debido al valor de corte del Ct del Internal Control (Ct del IC inferior a 31), las muestras presentaron un resultado «no válido» y «falso negativo» en la mayoría de los casos.

**Ausencia de contaminación cruzada**

La ausencia de contaminación cruzada se evaluó analizando los resultados de cinco sesiones, en las que muestras de plasma negativas para ARN de VHC se alternaron con muestras de plasma enriquecidas con material de referencia certificado de VHC (ZeptoMetrix) a una concentración de  $1 \times 10^6$  UI/mL.

Se analizaron cinco series de muestras, alternando seis muestras positivas con seis muestras negativas, utilizando el instrumento **ELITE InGenius** en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Muestras	N	Negativas	Positivas
Positivas	30	0	30
Negativas	30	30	0

Ninguna de las muestras negativas para VHC analizadas dio resultados falsos positivos. En este análisis, no se detectó contaminación cruzada dentro de las sesiones individuales ni entre sesiones.

**Tasa total de fallos del sistema**

La tasa total de fallos del sistema que producía resultados falsos negativos se verificó con el instrumento **ELITE InGenius** analizando un panel de muestras enriquecidas con ARN de VHC a un título bajo.

100 muestras diferentes de plasma recogido en EDTA, 30 muestras diferentes de plasma recogido en ACD y 30 muestras diferentes de suero, que dieron un resultado negativo para ARN de VHC, se enriquecieron con material de referencia certificado (OMS) a una concentración de 3 veces el LoD (aproximadamente 78 UI/mL). Las muestras se analizaron en el instrumento **ELITE InGenius** en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).

**HCV ELITE MGB® Kit**  
**Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real**

REF **RTK601ING**

Los resultados se resumen en la tabla siguiente.

Muestras	N	Negativas	Positivas	Media de UI/mL de VHC
Plasma recogido en EDTA	100	0	100	55
Plasma recogido en ACD	30	0	30	62
Suero	30	0	30	52

Ninguna de las muestras positivas para el VHC analizadas dio resultados falsos negativos. En este análisis, la tasa total de fallos del sistema fue del 0 %.

La tasa total de fallos del sistema que producía resultados falsos negativos se verificó con el **ELITE BeGenius** analizando un panel de muestras enriquecidas con ARN de VHC a un título bajo.

100 muestras diferentes de plasma recogido en EDTA, que habían dado un resultado negativo para ARN de VHC, se enriquecieron con material de referencia certificado (WHO) a una concentración de 3 veces el LoD (aproximadamente 78 UI/mL). Las muestras se analizaron en el instrumento **ELITE BeGenius** en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).

Los resultados se resumen en la tabla siguiente.

Muestras	N	Negativas	Positivas	Media de UI/mL de VHC
Plasma recogido en EDTA enriquecido con VHC	100	0	100	77

Ninguna de las muestras positivas para el VHC analizadas dio resultados falsos negativos. En este análisis, la tasa total de fallos del sistema fue del 0 %.

**Repetibilidad**

La repetibilidad de los resultados obtenidos con el producto **HCV ELITE MGB Kit** junto con el instrumento **ELITE InGenius** se evaluó analizando un panel de muestras de plasma. El panel incluyó una muestra negativa y dos muestras enriquecidas con material de referencia certificado de VHC (OMS) a una concentración de 3 veces el LoD (aproximadamente 78 UI/mL) y de 10 veces el LoD (aproximadamente 260 UI/mL).

La repetibilidad se obtuvo analizando las muestras del panel en cuatro duplicados, en dos sesiones al día, con el mismo lote de producto, en dos días distintos. Se utilizaron tres lotes de producto con el mismo instrumento y con el mismo operador. Las muestras se procesaron en posiciones aleatorias con el instrumento **ELITE InGenius** en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).

Los valores de Ct de la diana y del Internal Control se utilizaron para calcular el %CV, con el fin de evaluar la repetibilidad como imprecisión.

En las tablas siguientes se muestra un resumen de los resultados.

Repetibilidad intrasiones								
Muestra	VHC				Internal Control			
	Pos./Dup.	Ct medio	DE	%CV	Pos./Dup.	Ct medio	DE	%CV
Negativas	0/8	Sin determinar	-	-	24/24	28,41	0,36	1,27
3×LoD	8/8	38,02	0,83	2,19				
10 veces el LoD	8/8	35,91	0,59	1,65				

**HCV ELITE MGB® Kit**  
**Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real**

REF **RTK601ING**

Repetibilidad entre sesiones								
Muestra	VHC				Internal Control			
	Pos./Dup.	Ct medio	DE	%CV	Pos./Dup.	Ct medio	DE	%CV
Negativas	0/16	Sin determinar	-	-	48/48	28,47	0,38	1,33
3×LoD	16/16	37,89	0,84	2,21				
10 veces el LoD	16/16	35,95	0,47	1,32				

Repetibilidad entre lotes								
Muestra	VHC				Internal Control			
	Pos./Dup.	Ct medio	DE	%CV	Pos./Dup.	Ct medio	DE	%CV
Negativas	0/48	Sin determinar	-	-	144/144	28,52	0,46	1,61
3×LoD	48/48	38,25	0,36	0,95				
10 veces el LoD	48/48	36,56	0,55	1,51				

En la prueba de repetibilidad, el ensayo detectó la diana del VHC tal como se esperaba y presentó valores de Ct con un %CV bajo que no superó el 2,19 % en el caso del VHC ni el 1,61 % en el caso del Internal Control.

La repetibilidad de los resultados obtenidos con el producto **HCV ELITE MGB Kit** junto con el instrumento **ELITE BeGenius** se evaluó analizando un panel de muestras de plasma. El panel incluyó una muestra negativa y dos muestras enriquecidas con material de referencia certificado de VHC (6ª norma internacional de la OMS, NIBSC) a una concentración de 3 veces el LoD (aproximadamente 78 UI/mL) y de 10 veces el LoD (aproximadamente 260 UI/mL).

La repetibilidad se obtuvo analizando las muestras del panel en cuatro duplicados, en dos sesiones al día, con el mismo lote de producto, en dos días distintos. Se utilizaron tres lotes de producto con el mismo instrumento y con el mismo operador. Las muestras se procesaron en posiciones aleatorias con el instrumento **ELITE InGenius** en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).

Los valores de Ct de la diana y del Internal Control se utilizaron para calcular el %CV, con el fin de evaluar la repetibilidad como imprecisión.

En las tablas siguientes se muestra un resumen de los resultados.

Repetibilidad intrasiones								
Muestra	VHC				Internal Control			
	Pos./Dup.	Ct medio	DE	%CV	Pos./Dup.	Ct medio	DE	%CV
Negativas	0/8	Sin determinar	-	-	24/24	28,09	0,28	0,99
3×LoD	8/8	37,65	0,50	1,33				
10 veces el LoD	8/8	35,97	0,43	1,19				

Repetibilidad entre sesiones								
Muestra	VHC				Internal Control			
	Pos./Dup.	Ct medio	DE	%CV	Pos./Dup.	Ct medio	DE	%CV
Negativas	0/16	Sin determinar	-	-	48/48	28,05	0,29	1,03
3×LoD	16/16	37,80	0,72	1,91				
10 veces el LoD	16/16	35,93	0,47	1,30				

En la prueba de repetibilidad, el ensayo detectó la diana de VHC tal como se esperaba y presentó valores de Ct con un %CV que no superó el 5 % en el caso del VHC ni en el caso del Internal Control.

**Reproducibilidad**

La reproducibilidad de los resultados obtenidos con el producto **HCV ELiTe MGB Kit** junto con el instrumento **ELiTe InGenius** se evaluó analizando un panel de muestras de plasma. El panel incluyó una muestra negativa y dos muestras enriquecidas con material de referencia certificado de VHC (OMS) a una concentración de 3 veces el LoD (aproximadamente 78 UI/mL) y de 10 veces el LoD (aproximadamente 260 UI/mL).

La reproducibilidad se obtuvo analizando las muestras del panel en cuatro duplicados, en una sesión al día, en dos días por centro. Se analizaron tres lotes diferentes de producto en tres centros distintos, con tres instrumentos distintos y con tres operadores distintos. Las muestras se procesaron en posiciones aleatorias con el instrumento **ELiTe InGenius** en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).

Los valores de Ct de la diana y del Internal Control se utilizaron para calcular el %CV, con el fin de evaluar la reproducibilidad como imprecisión.

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

Reproducibilidad entre centros								
Muestra	VHC				Internal Control			
	Pos./Dup.	Ct medio	DE	%CV	Pos./Dup.	Ct medio	DE	%CV
Negativas	0/24	Sin determinar	-	-	72/72	28,18	0,59	2,09
3×LoD	24/24	36,84	0,59	1,60				
10 veces el LoD	24/24	34,94	0,42	1,20				

En la prueba de reproducibilidad, el ensayo detectó la diana del VHC tal como se esperaba y presentó valores de Ct con un %CV bajo que no superó el 1,6 % en el caso del VHC ni el 2,09 % en el caso del Internal Control.

La reproducibilidad de los resultados obtenidos con el producto **HCV ELiTe MGB Kit** junto con el instrumento **ELiTe BeGenius** se evaluó analizando un panel de muestras de plasma. El panel incluyó una muestra negativa y dos muestras enriquecidas con material de referencia certificado de VHC (6ª norma internacional de la OMS, NIBSC) a una concentración de 3 veces el LoD (aproximadamente 78 UI/mL) y de 10 veces el LoD (aproximadamente 260 UI/mL).

La reproducibilidad se obtuvo analizando las muestras del panel en cuatro duplicados, en una sesión al día, en dos días por instrumento. Se analizaron tres lotes diferentes de producto, con tres instrumentos distintos y con tres operadores distintos. Las muestras se procesaron en posiciones aleatorias con el instrumento **ELiTe BeGenius®** en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).

Los valores de Ct de la diana y del Internal Control se utilizaron para calcular el %CV, con el fin de evaluar la reproducibilidad como imprecisión.

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

Reproducibilidad entre instrumentos								
Muestra	VHC				Internal Control			
	Pos./Dup.	Ct medio	DE	%CV	Pos./Dup.	Ct medio	DE	%CV
Negativas	0/24	Sin determinar	-	-	72/72	28,57	0,5529	1,94
3×LoD	23/23	37,99	0,6797	1,79				
10×LoD	24/24	36,54	0,6210	1,70				

Reproducibilidad entre lotes								
Muestra	VHC				Internal Control			
	Pos./Dup.	Ct medio	DE	%CV	Pos./Dup.	Ct medio	DE	%CV
Negativas	0/24	Sin determinar	-	-	72/72	28,43	0,41	1,45
3×LoD	24/24	37,95	0,75	1,97				
10 veces el LoD	24/24	36,35	0,62	1,71				

En la prueba de reproducibilidad, el ensayo detectó la diana de VHC tal como se esperaba y presentó valores de Ct con un %CV bajo que no superó el 5 % en el caso del VHC ni en el caso del Internal Control.

**Factor de conversión a unidades internacionales**

El factor de conversión, expresado como los resultados cuantitativos en unidades internacionales/mL comenzando a partir de copias/mL, se calculó utilizando un panel de cuatro diluciones (0,5 log entre diluciones) del material de referencia calibrado y certificado de la «6ª norma internacional de la OMS para el VHC» (NIBSC) en muestras de plasma recogido en EDTA que habían dado un resultado negativo para ARN de VHC.

Cada punto del panel se analizó en 27 duplicados, con tres lotes de producto distintos en tres instrumentos distintos y en tres días distintos. Las muestras se procesaron en posiciones aleatorias con el instrumento **ELiTe InGenius** en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).

El factor de conversión se calculó analizando la diferencia de concentración logarítmica entre el título de referencia en UI/mL y los resultados obtenidos en copias/mL y es de 2,4 UI/copia.

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

Factor de conversión a unidades internacionales, Fc = 2,4 UI/copia						
UI/mL	Muestra			Resultado		
	log UI/mL	N	Media de copias/mL	Media de UI/mL	Media de log UI/mL	Diferencia logarítmica (referencia - prueba)
31623	4,5000	27	13233	31254	4,4807	+0,0193
10000	4,0000	27	4482	10595	4,0133	-0,0133
3162	3,5000	27	1414	3342	3,5091	-0,0091
1000	3,0000	27	439	1036	2,9969	+0,0031

Como se demostró la equivalencia entre las muestras de plasma recogido en EDTA, las muestras de plasma recogido en ACD y las muestras de suero (consultar la equivalencia de matriz y el rango de medición lineal), el factor de conversión puede aplicarse a las tres matrices.

El factor de conversión, como expresión de los resultados cuantitativos en unidades internacionales/mL comenzando a partir de copias/mL, se verificó en los instrumentos **ELiTe BeGenius** y **ELiTe InGenius** utilizando un panel de diluciones (0,5 log entre diluciones) de material de referencia calibrado y certificado (6ª norma internacional de la OMS, NIBSC)

en muestras de plasma recogido en EDTA que dieron un resultado negativo para ARN de VHC. El panel constaba de cinco puntos de dilución que abarcaban de aproximadamente 4,5 log UI/mL a 2,5 log UI/mL. Cada punto del panel se analizó en 4 duplicados.

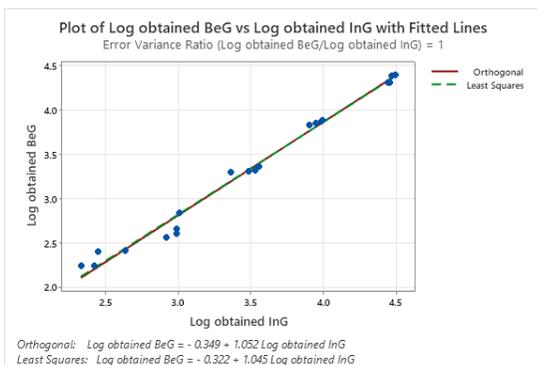
La precisión de cuantificación de la diana, expresada como desviación estándar de log UI/mL, fue inferior a 0,5 log.

La exactitud de cuantificación de la diana, expresada como diferencia entre las concentraciones teóricas y medidas en log UI/mL, fue inferior a 0,5 log.

Estos resultados confirmaron el factor de conversión calculado para muestras de plasma cuando se utilizó el **ELiTe InGenius**.

Los resultados obtenidos con el **ELiTe InGenius** y el **ELiTe BeGenius** se analizaron mediante 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 -0,3494 (IC del 95 %: 0,5546; 0,1442) y una pendiente de 1,0523 (IC del 95 %: 0,9943; 1,1103). El análisis de regresión lineal generó un R2 de 0,985.

**Reproducibilidad con material de referencia**

La reproducibilidad de los resultados del ensayo comparados con los resultados obtenidos utilizando otros métodos en laboratorios diferentes se verificó analizando el panel de eficacia «QCMD 2020 Hepatitis C Virus RNA EQA Programme» (Qnostics).

Cada punto del panel se analizó en el instrumento **ELITe InGenius** en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).

Los valores de cantidades del consenso de sistemas comerciales de amplificación en tiempo real se compararon con los resultados del ensayo para evaluar la precisión como sesgo.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Panel QCMD 2020 del VHC		Resultados del consenso	Resultados del análisis	Diferencia (consenso - prueba)
ID de la muestra	Contenido de la muestra	medido	medido	
HCVRNA101S-01	Genotipo 3a del VHC	3,3040	3,5794	-0,2754
HCVRNA101S-02	Genotipo 3a del VHC	2,3130	2,2375	0,0755
HCVRNA101S-03	Genotipo 1b del VHC	2,8600	3,0532	-0,1932
HCVRNA101S-04	Genotipo 1b del VHC	2,8370	2,7850	0,0520
HCVRNA101S-05	Negativo para VHC	No detectado	No detectado	N/A
HCVRNA101S-06	Genotipo 1b del VHC	3,8500	3,8352	0,0148
HCVRNA101S-07	Genotipo 1b del VHC	3,3730	3,4432	-0,0702
HCVRNA101S-08	Genotipo 1b del VHC	1,7880	1,6812	0,1068

En este análisis, el ensayo detectó correctamente todos los miembros del panel. Las siete muestras positivas se cuantificaron dentro del rango de consenso de ±0,5 log UI/mL.

**Sensibilidad diagnóstica: correlación de métodos**

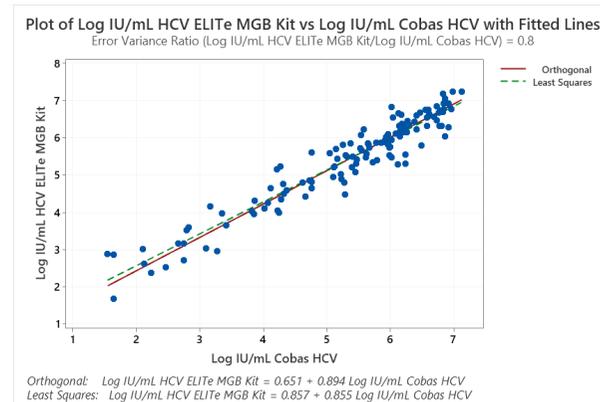
La sensibilidad diagnóstica del ensayo, expresada como la relación entre los resultados obtenidos con diferentes métodos, se evaluó analizando muestras clínicas de pacientes con resultado positivo para ARN de VHC que estaban siguiendo un tratamiento antivirico y dentro del rango de medición del producto **HCV ELITe MBG Kit** y de métodos de referencia de diagnóstico molecular *in vitro* con marcado CE («cobas® HCV for use on the 4800 Systems» y «cobas® HCV for use on the 6800 Systems», Roche Diagnostics, Cobas HCV). Como el **ELITe BeGenius** presenta un rendimiento analítico equivalente al del ELITe InGenius, el rendimiento diagnóstico del ensayo observado en los dos instrumentos también se considera equivalente. Por lo tanto, la sensibilidad diagnóstica del ensayo obtenida con el **ELITe InGenius** también es aplicable al **ELITe BeGenius**.

El estudio de relación se realizó en dos centros distintos en las 128 muestras de plasma recogido en EDTA que se indican a continuación:

- Centro 1: 96 muestras clínicas de plasma recogido en EDTA positivas para ARN de VHC.
- Centro 2: 32 muestras clínicas de plasma recogido en EDTA positivas para ARN de VHC.

Cada muestra se analizó realizando el procedimiento entero de análisis, extracción, retrotranscriptasa, amplificación, detección y e interpretación de los resultados utilizando productos de ELITechGroup S.p.A. y los métodos de referencia. Los resultados obtenidos con el producto «HCV ELITe MBG Kit» y los métodos de referencia se analizaron mediante regresión ortogonal y lineal con el fin de calcular la correlación entre los métodos.

Los resultados se resumen en la figura siguiente.



En este análisis, el análisis de regresión de Deming generó una pendiente de 0,894 (IC del 95 %: 0,846 a 0,941) y una intersección de 0,651 (IC del 95 %: 0,391 a 0,911). El análisis de regresión lineal generó un R2 de 0,916.

**Especificidad diagnóstica: confirmación de las muestras negativas**

La especificidad diagnóstica del ensayo, expresada como porcentaje de concordancia negativa de los resultados obtenidos con diferentes métodos, se evaluó analizando muestras clínicas con resultado negativo para ARN de VHC analizadas con métodos de referencia de diagnóstico molecular *in vitro* con marcado CE («cobas® HCV for use on the 4800 Systems» y «cobas® HCV for use on the 6800 Systems», Roche Diagnostics, Cobas HCV). 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**.

El estudio de especificidad diagnóstica se realizó en dos centros distintos en las 135 muestras de plasma recogido en EDTA que se indican a continuación:

- Centro 1: 100 muestras clínicas de plasma recogido en EDTA negativas para ARN de VHC.
- Centro 2: 35 muestras clínicas de plasma recogido en EDTA negativas para ARN de VHC.

Cada muestra se analizó realizando el procedimiento entero de análisis, extracción, retrotranscriptasa, amplificación, detección e interpretación de los resultados utilizando productos de ELITechGroup S.p.A. Los resultados obtenidos con el producto «HCV ELITe MBG Kit» se analizaron para calcular el porcentaje de concordancia negativa con los métodos de referencia.

Los resultados, después de un análisis diferente del resto, se resumen en la tabla siguiente.

Muestras	N	Positivas	Negativas	No válida	Especificidad diagnóstica
Plasma recogido en EDTA y negativo para ARN de VHC	135	0	135	0	100 %

En este análisis, todas las muestras se confirmaron como negativas. La especificidad diagnóstica del producto «HCV ELITe MBG Kit» fue del 100 %.

El valor de corte para el Ct de IC del Internal Control se ha establecido a 31.

**Nota:** los datos y resultados completos de los análisis realizados para evaluar las características de rendimiento del producto con las matrices y el instrumento se incluyen en la sección 7 de la documentación técnica del producto **HCV ELITe MGB Kit**, FTP 601ING.

**BIBLIOGRAFÍA**

P. Halfon *et al.* (2006) *J Clin Microbiology* **44**: 2507–2511  
 E. A. Lukhtanov *et al.* (2007) *Nucleic Acids Res.* **35**: e30  
 K. Linnet *et al.* (2004) *Clin. Chem.* **50**: 732-740.

**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 las muestras de suero pueden obtenerse a partir de sangre conservada a una temperatura comprendida entre +2 °C y +25 °C durante un máximo de 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.

No utilizar con este producto plasma hemolítico, pues la hemoglobina 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.

El producto no está concebido para su uso como prueba de cribado para detectar la presencia de VHC en la sangre o en hemoderivados, ni tampoco como prueba diagnóstica para confirmar la presencia de una infección por el VHC.

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 amplificación en tiempo real utilizado en este producto puede desarrollar contaminación cruzada con las muestras positivas, los controles positivos y los propios productos de amplificación. Una contaminación cruzada puede dar lugar a resultados falsos positivos. El formato del producto puede limitar la 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 ropa de trabajo 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 ropa de trabajo 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 amplificación y la detección de ácidos nucleicos.

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

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

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

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

Asimismo, la existencia de posibles polimorfismos, inserciones o eliminaciones en la región del ARN diana cubierto por los cebadores y las sondas del producto pueden afectar negativamente a la detección y la cuantificación del ARN diana.

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

Como en cualquier otro producto sanitario para diagnóstico, existe un riesgo residual de obtener con él resultados no válidos, falsos positivos y falsos negativos. 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.

**PROBLEMAS Y SOLUCIONES**

<b>Reacción no válida del calibrador Q-PCR Standard o del Positive Control</b> <b>Curva de calibración no válida</b>	
<b>Posibles causas</b>	<b>Soluciones</b>
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la posición de la mezcla completa de reacción, así como de los calibradores Q-PCR Standard y del Positive Control. Comprobar el volumen de la mezcla completa de reacción, así como el de los calibradores Q-PCR Standard y el del Positive Control.
Error en la preparación de la mezcla completa de reacción.	Comprobar los volúmenes de los reactivos utilizados durante la preparación de la mezcla completa de reacción.
Degradación de la mezcla completa de reacción o de sus subcomponentes.	No utilizar la mezcla completa de reacción durante más de tres sesiones: 7 horas en la «Inventory Area» (área del inventario). No exponer la mezcla RT EnzymeMix a temperaturas superiores a -20 °C durante más de 10 minutos. No dejar la mezcla completa de reacción a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. Utilizar una nueva alícuota de los subcomponentes.
Degradación de los calibradores Q-PCR-Standard o del Positive Control.	No utilizar el calibrador Q-PCR-Standard para más de 2 sesiones independientes (2 horas cada una en el área de extracción). No utilizar el Positive Control para más de 4 sesiones independientes (3 horas cada una en el área de extracción). Utilizar nuevas alícuotas de los calibradores Q-PCR-Standard o del Positive Control.
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

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

<b>Reacción no válida de la muestra</b>	
<b>Posibles causas</b>	<b>Soluciones</b>
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la posición de la mezcla completa de reacción, así como de la muestra. Comprobar los volúmenes de la mezcla completa de reacción, así como de la muestra.
Error en la preparación de la mezcla completa de reacción.	Comprobar los volúmenes de los reactivos utilizados durante la preparación de la mezcla completa de reacción.
Degradación de la mezcla completa de reacción o de sus subcomponentes.	No utilizar la mezcla completa de reacción durante más de tres sesiones: 7 horas en la «Inventory Area» (área del inventario). No dejar la mezcla completa de reacción a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. No exponer la mezcla RT EnzymeMix a temperaturas superiores a -20 °C durante más de 10 minutos. Volver a preparar la mezcla completa de reacción. Utilizar una nueva alícuota de los subcomponentes.
Degradación de la plantilla del Internal Control.	Utilizar una nueva alícuota del Internal Control.
Inhibición debido a sustancias interferentes con las muestras.	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 extraída realizando una sesión en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

<b>Error 30103</b>	
<b>Posibles causas</b>	<b>Soluciones</b>
Concentración demasiado alta de la diana en la muestra.	Si se observa una amplificación notable en el gráfico de PCR, proceder de la manera siguiente: - Seleccionar el carril relativo a la muestra y aprobar manualmente el resultado. Si se requiere un valor Ct: - Repetir la amplificación con una dilución de 1:10 en agua para biología molecular de la muestra eluida en una sesión en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR) o - Repetir la extracción con una dilución de 1:10 en agua para biología molecular de la muestra primaria en una sesión en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).

<b>Error TH, error SDM, error Ct</b>	
<b>Posibles causas</b>	<b>Soluciones</b>
Muestra con una forma anómala en el gráfico.	Si se observa una amplificación notable en el gráfico de PCR que genera el error: - Repetir la amplificación con una dilución de 1:10 en agua para biología molecular de la muestra eluida en una sesión en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR) o - Repetir la extracción con una dilución de 1:10 en agua para biología molecular de la muestra primaria en una sesión en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).

**SÍMBOLOS**

**AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA**

-  Número de catálogo.
-  Límite superior de temperatura.
-  Código de lote.
-  Fecha de caducidad (último día del mes).
-  Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*.
-  Cumple los requisitos de la Directiva 98/79/CE del Parlamento Europeo y del Consejo sobre productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*. Certificación emitida por DEKRA Certification B.V., Países Bajos.
-  Contenido suficiente para «N» análisis.
-  Atención: consultar las instrucciones de uso.
-  Contenido.
-  Manténgase fuera de la luz del sol
-  Fabricante.

Este producto contiene reactivos fabricados por ThermoFisher Scientific, que se venden conforme a acuerdos de licencia entre ELITechGroup S.p.A. 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](mailto:outlicensing@thermofisher.com).

Los reactivos de detección ELITe MGB® están cubiertos por una o varias patentes de EE. UU., 6,127,121, 6,485,906, 6,660,845, 6,699,975, 6,727,356, 6,790,945, 6,949,367, 6,972,328, 7,045,610, 7,319,022, 7,368,549, 7,381,818, 7,662,942, 7,671,218, 7,715,989, 7,723,038, 7,759,126, 7,767,834, 7,897,736, 8,008,522, 8,067,177, 8,163,910, 8,389,745, 8,969,003, 8,980,855, 9,056,887, 9,085,800, 9,169,256, así como por patentes europeas, 1068358, 1144429, 1232157, 1261616, 1430147, 1781675, 1789587, 1975256, 2714939 y por solicitudes de patentes actualmente pendientes.

La tecnología del ELITe InGenius y del ELITe BeGenius está cubierta por patentes y solicitudes de patentes.

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

TaqMan™ es una marca registrada de Thermo Fisher Scientific.  
cobas® es una marca comercial registrada de Roche Diagnostics.  
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. This document is available only in English.  
Please refer to the complete document before use: [www.elitechgroup.com](http://www.elitechgroup.com)

## Intended use

The “HCV ELITe MGB® Kit” product is quantitative nucleic acids reverse transcription and amplification assay for the detection and the quantification of the RNA of Hepatitis C Virus (HCV) in RNA samples extracted from clinical specimens.

The assay is able to detect the RNA of HCV belonging to 1, 2, 3, 4, 5 and 6 genotypes.

The assay is validated in association with “ELITe InGenius®” and “ELITe BeGenius®” system starting from human plasma collected in EDTA or in ACD and serum samples.

The product is intended for use as an aid in the management of HCV-infected individuals undergoing antiviral therapy, together with patient’s clinical data and other laboratory test results.

This product is not intended for use as a screening test for the presence of HCV in blood or blood products or as a diagnostic test to confirm the presence of HCV infection.

## Amplified sequence

Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
Target	HCV (5' UTR region)	FAM	HCV
Internal Control	MS2 phage	AP525	IC

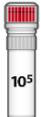
## Validated matrix

› Plasma EDTA

› Plasma ACD

› Serum

## Kit content

HCV ELITe MGB Mix		HCV ELITe Standard				HCV - ELITe Positive Control	HCV Internal Control
 X 4	 X 2				 X 1	 X 2	 X 8
HCV PCR Mix 4 tubes of 600 µL 96 reactions per kit 5 freeze-thaw cycles	RT Enzyme Mix 2 tubes of 20 µL 96 reactions per kit 10 freeze-thaw cycles	Ready-to-use Calibrators: 10 <sup>5</sup> , 10 <sup>4</sup> , 10 <sup>3</sup> , 10 <sup>2</sup> 1 set of 4 tubes of 160 µL 2 freeze-thaw cycles				Ready-to-use PC 2 tubes of 160 µL 8 reactions per kit 4 freeze-thaw cycles	Ready-to-use IC 8 tubes of 160 µL 96 extractions per kit 12 freeze-thaw cycles

Maximum shelf-life: **18 months**

Storage Temperature: **-20 °C**

## Material required not provided in the kit

- › ELITe InGenius instrument: INT030
- › ELITe InGenius SP 1000 Extraction Cartridge: INT033SP1000
- › ELITe InGenius PCR Cassette: INT035PCR
- › ELITe InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS
- › ELITe InGenius Waste Box: F2102-000
- › Filter Tips 300: TF-350-L-R-S
- › 1000 µL Filter Tips Tecan : 30180118

## ELITe InGenius protocol

› Sample volume	600 µL	› Unit of quantitative result	International Unit: IU/mL
› HCV CPE volume	10 µL	› Conversion factor to IU	2.4 IU/copy
› Total elution volume	50 µL	› Frequency of controls	15 days
› PCR elution input volume	20 µL	› Frequency of calibration	60 days
› HCV PCR Mix volume	20 µL		

## Performance

Matrix	Limit of Detection	Method Correlation	Diagnostic Specificity
Plasma / Serum	<b>26 IU / mL</b> 11 copies / mL	<b>R<sup>2</sup> = 0.916</b> 128 quantified samples	<b>100%</b> 135 confirmed samples / 135 tested samples

reference methods:

“cobas® HCV for use on the 4800 Systems” and

“cobas® HCV for use on the 6800 Systems”, Roche Diagnostics.

## Sample preparation

Plasma samples collected in EDTA or ACD and Serum samples must be identified according to laboratory guidelines, transported and stored at room temperature (~+25 °C) for a maximum of three days or at +2 / +8 °C for a maximum of five days. Otherwise, they must be frozen and stored at ~-20 °C for a maximum of one month or at ~-70 °C for six months. Do not use Plasma collected in heparin in order to prevent inhibition of amplification reaction and frequent invalid results.

## ELITE InGenius Procedures

The user is guided step-by-step by the ELITE InGenius software to prepare the run. All the steps: extraction, reverse transcription, amplification and result interpretation are automatically performed. Three operational mode are available: complete run, or extraction only, or PCR only.

### Before analysis

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

4. Prepare the complete reaction mixture

Sample Number (N)	HCV PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0.3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0.3 µL
N = 12	290 µL	4.4 µL

5. Vortex gently  
Spin down 5 sec  
Keep the complete reaction mixture in ice. Do not expose to direct light.

### Procedure 1 - Complete run: Extraction + PCR

- |   |  |  |
|---|--|--|
| <p>1. Select "Perform Run" on the touch screen</p>  | <p>2. Verify the extraction volumes: Input: "1000 µL", elution: "50 µL"</p>          | <p>3. Scan the sample barcodes with hand-held barcode reader or type the sample ID</p>       |
| <p>4. Select the "Assay protocol" of interest: HCV ELITE_PL_600_50 or HCV ELITE_Se_600_50</p>         | <p>5. Select the method "Extract + PCR" and the sample position: Extraction Tube</p> | <p>6. Load the complete reaction mixture and the Internal Control in the inventory block</p> |
| <p>7. Load: PCR cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip Cassette, Extraction Tube racks</p> | <p>8. Close the door<br/>Start the run</p>   | <p>9. View, approve and store the results</p>  |

### Procedure 2 - PCR only

- |   |   |   |
|---|---|---|
| <p>1 to 4: Follow the Complete Run procedure described above</p>                            | <p>5. Select the method "PCR only" and set the sample position "Elution Tube"</p> | <p>6. Load the complete reaction mixture in the inventory block</p> |
| <p>7. Load: PCR cassette rack and the Elution tube rack with the extracted nucleic acid</p> | <p>8. Close the door<br/>Start the run</p>  | <p>9. View, approve and store the results</p>                       |

### Procedure 3 - Extraction only

- |   |  |  |
|---|--|--|
| <p>1 to 4: Follow the Complete Run procedure described above</p>                        | <p>5. Select the method "Extraction Only" and set the sample position: Extraction Tube</p> | <p>6. Load the Internal Control in the inventory block</p> |
| <p>7. Load: Extraction cartridge, Elution tube, Tip cassette, Extraction Tube racks</p> | <p>8. Close the door<br/>Start the run</p>   | <p>9. Archive the eluate sample</p>                        |

## ELITE BeGenius Procedures

The user is guided step-by-step by the ELITE BeGenius software to prepare the run. All the steps: extraction, amplification and result interpretation are automatically performed. Three operational mode are available: complete run, or extraction only, or PCR only.

### Before analysis

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

#### 4. Prepare the complete reaction mixture

Sample Number (N)	HCV PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0.3 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0.3 \mu\text{L}$
$N = 12$	290 $\mu\text{L}$	4.4 $\mu\text{L}$

- 5.** Vortex gently  
Spin down 5 sec  
Keep the complete reaction mixture in ice. Do not expose to direct light.

Note: For more than 12 samples:

- prepare a first 2 mL tube with the complete reaction mixture for 12 samples;
- prepare a second 2 mL tube with the complete reaction mixture by calculating the volumes of the two sub-components on the basis of the number of samples remaining (N-12).

### Procedure 1 - Complete run: Extraction + PCR

- |   |   |  |
|---|---|--|
| <b>1.</b> Select "Perform Run" on the touch screen  | <b>2.</b> Verify the extraction volumes:<br>Input: "600 $\mu\text{L}$ ", elution: "50 $\mu\text{L}$ " | <b>3.</b> Scan the sample barcodes with hand-held barcode reader or type the sample ID       |
| <b>4.</b> Select the "Assay protocol" of interest: HCV ELITE_Be_PL_600_50 or HCV ELITE_Be_Se_600_50   | <b>5.</b> Select the method "Extract + PCR" and the sample position: Extraction Tube                  | <b>6.</b> Load the complete reaction mixture and the Internal Control in the inventory block |
| <b>7.</b> Load: PCR cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip Cassette, Extraction Tube racks | <b>8.</b> Close the door<br>Start the run   | <b>9.</b> View, approve and store the results  |

### Procedure 2 - PCR only

- |   |   |   |
|---|---|---|
| <b>1 to 4:</b> Follow the Complete Run procedure described above                            | <b>5.</b> Select the method "PCR only" and set the sample position "Elution Tube" | <b>6.</b> Load the complete reaction mixture in the inventory block |
| <b>7.</b> Load: PCR cassette rack and the Elution tube rack with the extracted nucleic acid | <b>8.</b> Close the door<br>Start the run   | <b>9.</b> View, approve and store the results                       |

### Procedure 3 - Extraction only

- |   |  |  |
|---|--|--|
| <b>1 to 4:</b> Follow the Complete Run procedure described above                        | <b>5.</b> Select the method "Extraction Only" and set the sample position: Extraction Tube | <b>6.</b> Load the Internal Control in the inventory block |
| <b>7.</b> Load: Extraction cartridge, Elution tube, Tip cassette, Extraction Tube racks | <b>8.</b> Close the door<br>Start the run  | <b>9.</b> Archive the eluate sample                        |