



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
Las Malvinas son argentinas

Disposición

Número:

Referencia: 1-0047-3110-006884-22-0

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-006884-22-0 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones Biodiagnostico SA solicita autorización para la venta de Productos para diagnóstico in vitro denominado: Nombre descriptivo: Detección y cuantificación del ARN del virus de la Hepatitis C (VHC)

Que en el expediente de referencia consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización .

Que se ha dado cumplimiento a los términos que establecen la Ley N° 16.463, Resolución Ministerial N° 145/98 y Disposición ANMAT N° 2674/99.

Que el Instituto Nacional de Productos Médicos ha tomado la intervención de su competencia.

Que corresponde autorizar la inscripción en el RPPTM del producto médico objeto de la solicitud.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos N° 1490/92 y sus modificatorios

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL
DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

DISPONE:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) del producto médico para diagnóstico de uso in vitro, Nombre descriptivo: Detección y cuantificación del ARN del virus de la Hepatitis C (VHC) de acuerdo con lo solicitado por Biodiagnostico SA con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2º.- Autorízase los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2022-123624766-APN-INPM#ANMAT .

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 1201-369 ", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

ARTÍCULO 4º.- Extiéndase el Certificado de Autorización e Inscripción en el RPPTM con los datos característicos mencionados en esta disposición.

ARTÍCULO 5º.- Regístrese. Inscríbese en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica al nuevo producto. Por el Departamento de Mesa de Entrada, notifíquese al interesado, haciéndole entrega de la presente Disposición, conjuntamente con rótulos e instrucciones de uso autorizados y el Certificado mencionado en el artículo 4º. Gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a los fines de confeccionar el legajo correspondiente. Cumplido, archívese.

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre descriptivo: Detección y cuantificación del ARN del virus de la Hepatitis C (VHC)

Marca comercial: HCV ELITe MGB Kit

Indicación/es de uso:

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

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

El ensayo se ha validado con el sistema ELITe InGenius comenzando con muestras de plasma humano recogidas en EDTA o en citrato sódico y glucosa (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.

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.

Modelos:

HCV ELITe MGB Kit

Forma de presentación: El producto HCV ELITe MGB Kit es suficiente para 96 análisis cuando se utiliza el ELITe InGenius, está compuesto por los siguientes componentes:

- HCV ELITe MGB Mix, contiene:

4×600 µde HCV PCR Mix

2×20 µL de RT EnzymeMix

- HCV ELITe Standard, contiene:

1×160 µL de HCV Q-PCR Standard 105

1×160 µL de HCV Q-PCR Standard 104

1×160 µL de HCV Q-PCR Standard 103

1×160 µL de HCV Q-PCR Standard 102

- HCV - ELITe Positive Control, 2×160 µL

- HCV Internal Control, 8×160 µL

Período de vida útil y condición de conservación: 18 meses a una temperatura inferior a -20°C

Nombre del fabricante:

ELITechGroup S.p.A.

Lugar de elaboración:

Sede legal: Corso Italia, 22 20122 Milán (MI), Italia C.F.- P.I. 05239350969

Planta elaboradora: Corso Svizzera, 185 10149 Torino, Italia, C.F.- P.I. 05239350969

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Expediente N° 1-0047-3110-006884-22-0

N° Identificador Trámite: 43449

AM

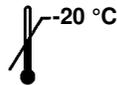
Digitally signed by GARAY Valéria Teresa
Date: 2022.11.23 06:52:09 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2022.11.23 06:52:15 -03:00

HCV ELITe MGB® Kit

Reactivos para la retrotranscriptasa de ARN y la amplificación en tiempo real de ADNc

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 4
ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES	página 5
MUESTRAS Y CONTROLES	página 7
PROCEDIMIENTO	página 8
CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO	página 16
BIBLIOGRAFÍA	página 27
LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO	página 28
PROBLEMAS Y SOLUCIONES	página 30
SÍMBOLOS	página 32
AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA	página 33
ANEXO	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 cuantificación del ARN** del virus de la hepatitis C (VHC) en muestras de ARN extraídas de muestras clínicas.

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

El ensayo se ha validado con el sistema «ELITe InGenius®» comenzando con muestras de plasma humano recogidas en EDTA o en citrato sódico y glucosa (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.

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.

HCV ELITe MGB® Kit

Reactivos para la retrotranscriptasa de ARN y la amplificación en tiempo real de ADNc

REF RTK601ING

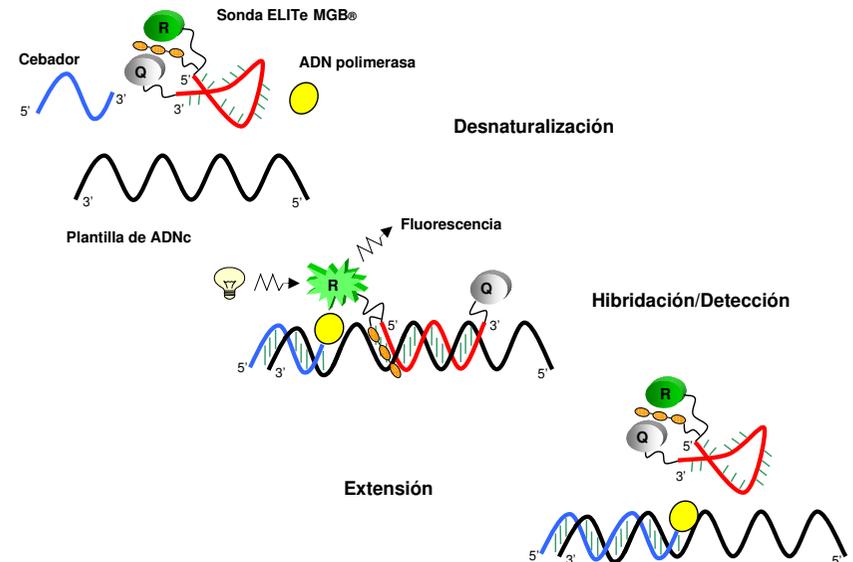
PRINCIPIO DEL ENSAYO

El ensayo consiste en la realización de una retrotranscriptasa y una reacción de amplificación en tiempo real (método de un solo paso) con el **ELITe InGenius®**, un sistema integrado y automatizado para la extracción, la retrotranscriptasa, la amplificación y la detección de ácidos nucleicos, así como para la interpretación de los resultados.

Comenzando con el ARN extraído con el sistema **ELITe InGenius®** de la muestra que va a analizarse, la mezcla completa de PCR de VHC lleva a cabo una reacción de retrotranscriptasa y de amplificación específica de la región 5' UTR del VHC y de una región del ARN genómico del bacteriófago MS2 (control interno 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 control interno. 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 del ARN del VHC en la muestra.

En la siguiente ilustración se muestra de manera esquemática el mecanismo de activación y emisión de fluorescencia de la sonda con tecnología **ELITe MGB®**.




 Bioq. Ladra Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Biodiagnóstico S.A.

HCV ELITe MGB® Kit
 Reactivos para la retrotranscriptasa de ARN
 y la amplificación en tiempo real de ADNc

REF RTK601ING

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 de PCR de VHC**, una mezcla optimizada y estabilizada de oligonucleótidos y reactivos para la retrotranscriptasa y la amplificación en tiempo real, dividida previamente en alícuotas 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 utiliza el sistema **ELITe InGenius®**.

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 (VHC) del sistema **ELITe InGenius®**.

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

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»).

- **Mezcla «RT EnzymeMix»**, una mezcla optimizada y estabilizada de enzimas para la retrotranscriptasa, dividida previamente en alícuotas 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 utiliza el sistema **ELITe InGenius®**.

Los dos subcomponentes son suficientes para **96 análisis cuando se utiliza el ELITe InGenius®**, utilizando 20 µL (de un componente) y 0,3 µL (del otro componente) para la reacción.

• **HCV ELITe Standard**

Este componente contiene los subcomponentes «HCV Q-PCR Standard», cuatro soluciones estabilizadas de ADN plasmídico a un **título conocido**, cada una 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 del VHC como resultado del análisis con el componente «HCV ELITe MGB Mix» y utilizando el instrumento **ELITe InGenius®** permite calcular la curva estándar del sistema (lote de producto e instrumento) para la cuantificación del VHC.

La concentración de ADN plasmídico en copias/mL se determinó midiendo la absorbencia con un espectrofotómetro. La concentración de 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 una concentración en unidades internacionales/mL (UI/mL).

El componente es suficiente para **2 sesiones de análisis independientes cuando se utiliza el «ELITe InGenius®»**, utilizando 20 µL para la reacción.

• **HCV - ELITe Positive Control**

Este componente incluye el subcomponente «HCV Positive Control», una solución estabilizada de ADN plasmídico a un **título conocido** distribuido 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 del ADN diana como resultado del análisis con el componente «HCV ELITe MGB Mix» y utilizando el instrumento **ELITe InGenius®** permite validar el sistema (lote de producto e instrumento) para la detección del VHC.

El componente es suficiente para **8 sesiones de análisis independientes cuando se utiliza el «ELITe InGenius®»**, utilizando 20 µL para la reacción.

• **Control interno del VHC**

Este componente incluye el subcomponente «HCV CPE», una solución estabilizada de ARN genómico del MS2 distribuida 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 control interno exógeno. La detección del ADNc del MS2 como resultado

HCV ELITe MGB® Kit
 Reactivos para la retrotranscriptasa de ARN
 y la amplificación en tiempo real de ADNc

REF RTK601ING

del análisis con el componente «HCV ELITe MGB Mix» y utilizando el instrumento **ELITe InGenius®** permite validar los resultados de las muestras negativas para el VHC.

El componente es suficiente para **96 análisis cuando se utiliza el «ELITe InGenius®»**, utilizando 10 µL para la extracción.

MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

Componente	Subcomponente	Descripción	Cantidad	Clasificación de peligros
Mezcla «HCV ELITe MGB Mix» código RTS601ING	Mezcla de PCR de VHC código RTS601ING	Mezcla de reactivos para la retrotranscriptasa y la amplificación en tiempo real en probeta con tapón blanco	4×600 µL	-
	Mezcla RT EnzymeMix código RTS003-RT	Retrotranscriptasa en probeta con tapón con inserto negro	2×20 µL	-
HCV ELITe Standard código STD601ING	Estándar Q-PCR de VHC 10 ⁵ código STD601ING-5	Solución plasmídica en probeta con tapón rojo	1×160 µL	-
	Estándar Q-PCR de VHC 10 ⁴ código STD601ING-4	Solución plasmídica en probeta con tapón azul	1×160 µL	
	Estándar Q-PCR de VHC 10 ³ código STD601ING-3	Solución plasmídica en probeta con tapón verde	1×160 µL	
	Estándar Q-PCR de VHC 10 ² código STD601ING-2	Solución plasmídica en probeta con tapón amarillo	1×160 µL	
HCV - ELITe Positive Control código CTR601ING	Control positivo del VHC código CTR601ING	Solución plasmídica en probeta con tapón negro	2×160 µL	-
Control interno del VHC código CPE601ING	CPE de VHC código CPE601ING	Solución de ADN plasmídicos y ARN genómico del MS2 en probeta con tapón neutro	8×160 µL	-

MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

- Campana de flujo laminar.
- Guantes sin talco desechables de nitrilo o de otro material similar.
- Agitadora vorticial.
- 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

Los reactivos para la extracción del ARN de las muestras que van a analizarse y los consumibles no están incluidos en el volumen de suministro de este producto.

Para la extracción automática de ácidos nucleicos, la retrotranscriptasa, la amplificación en tiempo real y la interpretación de las muestras que van a analizarse, es preciso utilizar el instrumento «ELITe InGenius» (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 control positivo «HCV ELITe_PC»,
- parámetros para la amplificación del control negativo «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».


 Bioq. Laura Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 BIODIAGNÓSTICO S.A.

HCV ELITe MGB® Kit

Reactivos para la retrotranscriptasa de ARN y la amplificación en tiempo real de ADNc

REF RTK601ING

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).

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Este producto está diseñado para uso *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 durante al menos 30 minutos con hipoclorito de sodio al 3 %, o tratarse en autoclave durante una hora a 121°C antes de su eliminación.

Manipular y eliminar todos los reactivos y materiales utilizados para realizar el ensayo como si fueran 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 combustible desechable debe incinerarse. Los residuos líquidos que contienen ácidos o bases deben neutralizarse antes de eliminarlos.

Usar 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 y herramientas expresamente destinados a la sesión de trabajo de que se trate.

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.

HCV ELITe MGB® Kit

Reactivos para la retrotranscriptasa de ARN y la amplificación en tiempo real de ADNc

REF RTK601ING

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 de PCR 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 de los componentes

• Mezcla «HCV ELITe MGB Mix»

La mezcla «HCV PCR Mix» se debe conservar a una temperatura inferior -20 °C en un lugar protegido de la luz.

La mezcla «HCV PCR Mix» se debe utilizar en el plazo de un mes desde la primera apertura del tubo.

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.

El «RT EnzymeMix» se debe conservar a una temperatura inferior a -20 °C.

El «RT EnzymeMix» se debe utilizar en el plazo de un mes desde la primera apertura del tubo.

El «RT EnzymeMix» no debe exponerse a temperaturas superiores a -20 °C durante más de 10 minutos por cada uso.

El «RT EnzymeMix» no debe exponerse a temperaturas superiores a -20 °C durante **más de 10 minutos**: un uso durante más tiempo puede reducir el rendimiento del producto.

• HCV ELITe Standard

El estándar «HCV Q-PCR Standard» se debe conservar a una temperatura inferior a -20 °C.

El estándar «HCV Q-PCR Standard» se debe utilizar en el plazo de un mes desde la primera apertura del tubo.

El estándar «HCV Q-PCR Standard» puede congelarse y descongelarse un máximo de **dos veces**: más ciclos de congelación/descongelación pueden provocar una reducción del título.

El estándar «HCV Q-PCR Standard» se puede conservar en el área de extracción durante un máximo de **dos sesiones de trabajo independientes de dos horas cada una** (modo de procesamiento «PCR Only»).

• HCV - ELITe Positive Control

El control positivo «HCV Positive Control» se debe conservar a una temperatura inferior a -20 °C.

El control positivo «HCV Positive Control» se debe utilizar en el plazo de un mes desde la primera apertura del tubo.

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

El control positivo «HCV Positive Control» puede mantenerse en el área de extracción durante un máximo de **cuatro sesiones de trabajo independientes de tres horas cada una** (modo de procesamiento «Extract + PCR Only»).

• Control interno del VHC

El control interno HCV CPE se debe conservar a una temperatura inferior a -20 °C.

El control interno HCV CPE se debe utilizar en el plazo de un mes desde la primera apertura del tubo.

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

El control interno HCV CPE puede mantenerse en el bloque refrigerado del área de inventario durante un máximo de **seis sesiones de trabajo independientes de tres horas cada una** (modo de procesamiento «Extract + PCR»).


Biq. Ladra Mercapide
Directora Técnica/ Apoderada
MP 6.108 - DNI 14.629.531
Biodiagnóstico S.A.

HCV ELITe MGB® Kit

Reactivos para la retrotranscriptasa de ARN y la amplificación en tiempo real de ADNc

REF RTK601ING

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 °C a +25 °C) durante un máximo de 24 horas, o bien a una temperatura comprendida entre +2 °C y +8 °C durante un máximo de 3 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 de las muestras de plasma recogidas en EDTA o ACD se realiza con el sistema **ELITe InGenius** y la versión 1.3 del **software ELITe InGenius** (o versiones posteriores equivalentes), así como con el protocolo de ensayo «HCV ELITe_PL_600_50», que procesa 600 µL de muestra comenzando a partir de la probeta secundaria, añade 10 µL por extracción del **CPE de VHC** (control interno) 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.

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 sistema **ELITe InGenius** y la versión 1.3 del **software ELITe InGenius** (o versiones posteriores equivalentes), así como con el protocolo de ensayo «HCV ELITe_Se_600_50», que procesa 600 µL de muestra, añade 10 µL por extracción del **CPE de VHC** (control interno) 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.

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 «Características de rendimiento».

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.

HCV ELITe MGB® Kit

Reactivos para la retrotranscriptasa de ARN y la amplificación en tiempo real de ADNc

REF RTK601ING

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 el volumen de suministro de este kit, junto con el protocolo de ensayo «**HCV ELITe STD**».
- Como control positivo de la amplificación, utilizar el componente «**HCV - ELITe Positive Control**», incluido en el volumen de suministro de este kit, junto con el protocolo de ensayo «**HCV ELITe PC**».
- Como control negativo de la amplificación, utilizar agua de calidad para biología molecular (no incluida en el volumen de suministro del kit) junto con el protocolo de ensayo «**HCV ELITe NC**».

Nota: El sistema **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 **después de 60 días**. Al llegar la fecha de caducidad, es necesario volver a procesar los estándares Q-PCR con el lote de reactivos de amplificación.

Los resultados de los controles de amplificación, aprobados y guardados en la base de datos, caducan después de **15 días**. Al llegar la fecha de caducidad, es necesario volver a procesar los controles positivo y negativo 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 sistema **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**».
- Comprobar que los calibradores (**estándar Q-PCR de VHC**) se han procesado y aprobado con el lote de reactivos de amplificación que va a utilizarse, así como que no han caducado («**Status**»). Si no se dispone de calibradores aprobados o válidos, procesarlos tal como se describe en los apartados siguientes.
- Comprobar que los controles de amplificación (**control positivo del VHC, control negativo del VHC**) se han procesado y aprobado con el lote de reactivos de amplificación, así como que no han caducado («**Status**»). Si no se dispone de controles de amplificación aprobados o válidos, procesarlos tal como se describe en los apartados siguientes.


Blq. Ladrà Mercapide
Directora Técnica/ Apoderada
MP 6.108 - DNI 14.629.531
Biodiagnòstico S.A.

HCV ELITe MGB® Kit
 Reactivos para la retrotranscriptasa de ARN
 y la amplificación en tiempo real de ADNc

REF RTK601ING

- Seleccionar el tipo de sesión siguiendo las instrucciones de la interfaz para configurar la sesión y utilizando los protocolos de ensayo proporcionados por ELITechGroup S. p. A. Estos protocolos para diagnóstico *in vitro* se han validado específicamente con los kits ELITe MGB, el instrumento ELITe InGenius y la matriz mencionada.

Los protocolos de ensayo 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/ U/mL/ Negativo	Volumen de entrada de extracción: 600 µL Volumen de elución de extracción: 50 µL Control interno: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1,7 Volumen de la mezcla de PCR: 20 µL Volumen de entrada de PCR de la muestra: 20 µL
HCV ELITe_Se_600_50	Suero	Positivo/ copias/mL/ U/mL/ Negativo	Volumen de entrada de extracción: 600 µL Volumen de elución de extracción: 50 µL Control interno: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1,7 Volumen de la mezcla de PCR: 20 µL Volumen de entrada de PCR de la muestra: 20 µL

Si el protocolo de ensayo 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 sistema **ELITe InGenius** para realizar las siguientes tareas:

- Sesión integrada (modo de procesamiento «Extract + PCR»).
- Sesión de amplificación (modo de procesamiento «PCR Only»).
- Sesión de calibración (modo de procesamiento «PCR Only»).
- Sesión de amplificación para el control positivo y el control negativo (modo de procesamiento «PCR Only»).

Todos los parámetros necesarios para la sesión están incluidos en el protocolo de ensayo disponible en el instrumento y se abren automáticamente al seleccionar el protocolo de ensayo.

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

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

1. Descongelar durante 30 minutos a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) las probetas de **mezcla de PCR de VHC** (tapón blanco) necesarias para la sesión, teniendo en cuenta que el contenido de cada una de ellas es suficiente para **24 análisis**. Mezclar en una agitadora vorticial durante 10 segundos tres veces, centrifugar las probetas durante 5 segundos para llevar el contenido al fondo y conservar en hielo.

Nota: Descongelar la **mezcla de PCR de VHC** en un lugar protegido de la luz, pues este reactivo es fotosensible.

2. Tomar las probetas de **RT EnzymeMix** (tapón con inserto negro) necesarias para la sesión teniendo en cuenta que el contenido de cada una de ellas es suficiente para configurar **48 análisis**

HCV ELITe MGB® Kit
 Reactivos para la retrotranscriptasa de ARN
 y la amplificación en tiempo real de ADNc

REF RTK601ING

Agitar suavemente las probetas, centrifugarlas durante 5 segundos para llevar el contenido al fondo y 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 siguiente tabla.

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)	Mezcla de PCR de VHC	Mezcla 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 una **agitadora vorticial a baja velocidad** tres veces durante 10 segundos, 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 de **CPE de VHC** para la sesión a temperatura ambiente (aproximadamente +25 °C). Cada probeta es suficiente para 12 extracciones. Mezclar suavemente y centrifugar el contenido durante 5 segundos.
 3. Seleccionar «Perform Run» en la pantalla «Home».
 4. Asegurarse de que «Extraction Input Volume» esté configurado en 1000 µL (incluso si van a utilizarse 600 µL de muestra), y «Extracted Elute Volume», en 50 µL.
 5. Para cada pista deseada, rellenar el ID de la muestra («SampleID» o SID) escribiendo o escaneando el código de barras de la muestra.
 6. En la columna «Assay», seleccionar el protocolo de ensayo que va a utilizarse (p. ej., HCV ELITe_PL_600_50).
- Asegurarse de que el protocolo que se muestra sea «Extract + PCR».

En la columna «Sample Position», seleccionar la posición de carga «Extraction Tube» para la muestra. Hacer clic en «Next» 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 probeta de extracción utilizando el sistema **ELITe InGenius**.

9. Cargar la **mezcla completa de reacción** y el **CEP de VHC** en el bloque de inventario seleccionado siguiendo las instrucciones de la interfaz y rellenar el número de lote y la fecha de caducidad de la **mezcla de PCR de VHC** y del **CPE de VHC**. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
10. Cargar y revisar las gradillas de puntas en el área de inventario seleccionada siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
11. Cargar los **cartuchos de PCR**, 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» para continuar.
12. Cerrar la puerta del instrumento.
13. Pulsar «Start» para iniciar la sesión.

Una vez finalizado el proceso, el sistema **ELITe InGenius** permite mostrar, aprobar y guardar los resultados, así como imprimir y guardar el informe.

Nota: Al finalizar la sesión, la muestra extraída que queda en la probeta de elución debe extraerse del instrumento, así como taparse, identificarse y conservarse a -20 °C durante un mes como máximo. Evitar cualquier derrame de la muestra extraída.

Nota: Al finalizar la sesión, los **cartuchos de PCR** 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 suavemente y 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, seguir las instrucciones de la interfaz que se indican a continuación:

1. Descongelar a temperatura ambiente (aproximadamente +25 °C) las probetas que van a analizarse y que contienen las muestras de ácido nucleico extraídas. Mezclar suavemente y centrifugar el contenido durante 5 segundos.
2. Seleccionar «Perform Run» en la pantalla «Home».
3. Aunque no vaya a realizarse ninguna extracción, asegurarse de que «Extraction Input Volume» esté configurado en 1000 µL (incluso si se han utilizado 600 µL de muestra), y «Extracted Eluate Volume», en 50 µL.
4. Para cada pista deseada, rellenar el SID escribiendo o escaneando el código de barras de la muestra.
5. En la columna «Assay», seleccionar el protocolo de ensayo que va a utilizarse (p. ej., HCV ELITe_PL_600_50).
6. En la columna «Protocol», seleccionar «PCR Only».
7. Asegurarse de que la posición de carga de la muestra en la columna «Sample Position» sea «Elution Tube» (fila inferior). Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
8. Cargar la **mezcla completa de reacción** en el bloque de inventario seleccionado siguiendo las instrucciones de la interfaz y rellenar el número de lote y la fecha de caducidad de la **mezcla de PCR de VHC**. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
9. Cargar y revisar las gradillas de puntas en el área de inventario seleccionada siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
10. Cargar los **cartuchos de PCR** y las muestras de ácido nucleico extraídas siguiendo las

instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» para continuar.

11. Cerrar la puerta del instrumento.
12. Pulsar «Start» para iniciar la sesión.

Una vez finalizado el proceso, el sistema **ELITe InGenius** permite mostrar, aprobar y guardar los resultados, así como imprimir y guardar el informe.

Nota: Al finalizar la sesión, la muestra extraída que queda en la probeta de elución debe extraerse del instrumento, así como taparse y conservarse a -20 °C durante un mes como máximo. Evitar cualquier derrame de la muestra extraída.

Nota: Al finalizar la sesión, los **cartuchos de PCR** 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 suavemente y centrifugar el contenido durante 5 segundos antes de iniciar la siguiente sesión.

C. Sesión de calibración

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

1. Descongelar las probetas de **estándar Q-PCR de VHC** (Cal1: estándares de Q-PCR de VHC 10², Cal2: estándares de Q-PCR de VHC 10³, Cal3: estándares de Q-PCR de VHC 10⁴, Cal4: estándares de Q-PCR de VHC 10⁵) a temperatura ambiente (aproximadamente +25°C) durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para preparar 4 reacciones. Mezclar suavemente y centrifugar el contenido durante 5 segundos.
2. Seleccionar «Perform Run» en la pantalla «Home».
3. Aunque no vaya a realizarse ninguna extracción, asegurarse de que «Extraction Input Volume» esté configurado en 1000 µL (incluso si van a utilizarse 600 µL de muestra), y «Extracted Eluate Volume», en 50 µL.
4. En la columna «Assay», seleccionar el protocolo de ensayo «HCV ELITe STD» y rellenar el número de lote y la fecha de caducidad del **estándar Q-PCR de VHC**. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
5. Cargar la **mezcla completa de reacción** en el bloque de inventario seleccionado siguiendo las instrucciones de la interfaz y rellenar el número de lote y la fecha de caducidad de la **mezcla de PCR de VHC**. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
6. Cargar y revisar las gradillas de puntas en el área de inventario seleccionada siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
7. Cargar los **cartuchos de PCR** y las probetas de **estándar Q-PCR de VHC** siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» para continuar.
8. Cerrar la puerta del instrumento.
9. Pulsar «Start» para iniciar la sesión.

Una vez finalizado el proceso, el sistema **ELITe InGenius** permite mostrar, aprobar y guardar los resultados, así como imprimir y guardar el informe.

Nota: Al finalizar la sesión, los **estándares de Q-PCR de VHC** que quedan deben extraerse del equipo, así como taparse y conservarse a -20 °C.

Nota: Los **estándares Q-PCR de VHC** pueden utilizarse en 2 sesiones de trabajo independientes de 2 horas cada una.

Nota: Al finalizar la sesión, los **cartuchos de PCR** 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 suavemente y centrifugar el contenido durante 5 segundos antes de iniciar la siguiente sesión.

D. Sesión de amplificación para el control positivo y el control negativo

Para configurar la sesión de amplificación para el control positivo y el control negativo, seguir las instrucciones de la interfaz que se indican a continuación:

- Descongelar las probetas de **control positivo de VHC** a temperatura ambiente (aproximadamente +25°C) durante 30 minutos para la sesión. Cada probeta es suficiente para preparar 4 reacciones. Mezclar suavemente y centrifugar el contenido durante 5 segundos.
- Como **control negativo**, transferir al menos 50 µL de agua de calidad para biología molecular a una probeta de elución, incluida en el volumen de suministro del producto «**ELITe InGenius SP 200 Consumable Set**».
- Seleccionar «Perform Run» en la pantalla «Home».
- Aunque no vaya a realizarse ninguna extracción, asegurarse de que «Extraction Input Volume» esté configurado en 1000 µL (incluso si van a utilizarse 600 µL de muestra), y «Extracted Eluate Volume», en 50 µL.
- En la pista deseada, seleccionar en la columna «Assay» el protocolo de ensayo que va a utilizarse.
- Para el control positivo, seleccionar en la columna «Assay» el protocolo de ensayo «HCV ELITe_PC» y rellenar el número de lote y la fecha de caducidad del **control positivo de VHC**.
- Para el control negativo, seleccionar en la columna «Assay» el protocolo de ensayo «HCV ELITe_NC» y rellenar el número de lote y la fecha de caducidad del agua de calidad para biología molecular. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
- Cargar la **mezcla completa de reacción** en el bloque de inventario seleccionado siguiendo las instrucciones de la interfaz y rellenar el número de lote y la fecha de caducidad de la **mezcla de PCR de VHC**. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
- Cargar y revisar las gradillas de puntas en el área de inventario seleccionada siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
- Cargar los **cartuchos de PCR**, la probeta de **control positivo de VHC** y la probeta de **control negativo** siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» para continuar.
- Cerrar la puerta del instrumento.
- Pulsar «Start» para iniciar la sesión.

Una vez finalizado el proceso, el sistema **ELITe InGenius** permite mostrar, aprobar y guardar los resultados, así como imprimir y guardar el informe.

Nota: Al finalizar la sesión, el **control positivo de VHC** que queda debe extraerse del instrumento, así como taparse y conservarse a -20 °C. El **control negativo** que queda debe eliminarse.

Nota: El **control positivo de VHC** puede utilizarse en 4 sesiones de trabajo independientes de 3 horas cada una.

Nota: Al finalizar la sesión, los **cartuchos de PCR** 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 suavemente y centrifugar el contenido durante 5 segundos antes de iniciar la siguiente sesión.

Revisión y aprobación de los resultados

Al finalizar la sesión, aparece automáticamente la pantalla «Results Display». En esta pantalla se muestran los resultados de la muestra, del estándar 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 el manual de instrucciones del equipo.

Nota: El sistema **ELITe InGenius** puede conectarse al sistema de información de laboratorios (LIS, «Laboratory Information System»), que permite enviar los resultados de la sesión de trabajo al centro de datos del laboratorio. Para obtener más información, consultar el manual de instrucciones del equipo.

El sistema **ELITe InGenius** genera los resultados con el producto «**HCV ELITe MGB Kit**» mediante el siguiente procedimiento:

- Validación de la curva de calibración
- Validación de los resultados de los controles positivo y negativo
- Validación de los resultados de las muestras
- Elaboración de los informes de resultados de las muestras.

A. Validación de la curva de calibración

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 calibrador utilizando los parámetros incluidos en el protocolo de ensayo «**HCV ELITe STD**».

La curva de calibración, específica del lote de reactivos de amplificación, se registra en la base de datos («Calibration»). El personal cualificado como administrador («Administrator») o analista («Analyst») puede consultarla y aprobarla siguiendo las instrucciones de la interfaz.

La curva de calibración, específica del lote de reactivos de amplificación, caduca **después de 60 días**.

Nota: Si la curva de calibración no cumple los criterios de aceptación, el instrumento muestra el mensaje «Failed» en la pantalla «Calibration» y no es posible aprobarla. En este caso, es necesario repetir las reacciones de amplificación del calibrador.

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 de los controles positivo y negativo de la amplificación

El software del instrumento analiza automáticamente e interpreta las señales de fluorescencia emitidas por la sonda del VHC (canal «HCV») en la reacción de amplificación de los controles positivo y negativo utilizando los parámetros incluidos en los protocolos de ensayo «**HCV ELITe_PC**» y «**HCV ELITe_NC**».

Los resultados de los controles positivo y negativo de la amplificación, específicos del lote de reactivos de amplificación utilizado, 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 de los controles positivo y negativo de la amplificación, específicos del lote de reactivos de amplificación, caducan **después de 15 días**.

El software del instrumento utiliza los resultados de las sesiones de amplificación de los controles positivo y negativo para calcular la configuración de los «gráficos de control». Se necesitan cuatro resultados de los controles positivo y negativo de cuatro sesiones diferentes para configurar el «gráfico de control». Después de esto, los resultados de los controles positivo y negativo se utilizan para controlar el rendimiento del paso de amplificación. Para obtener más información, consultar el manual de instrucciones.

Nota: Si el resultado de la amplificación de los controles positivo o negativo no cumple los criterios de aceptación, el instrumento muestra el mensaje «Failed» en la pantalla «Controls» y no es posible aprobarlo. En este caso, es necesario repetir la reacción de amplificación de los controles positivo o negativo.

Nota: Si el control positivo o el control negativo 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 las muestras

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 control interno (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 los informes generados por el instrumento («Result Display»). La sesión de la muestra puede aprobarse cuando se cumplen las tres condiciones que se indican en la siguiente tabla.

1) Curva de calibración	Estado
Estándares Q-PCR del VHC	APROBADO
2) Control positivo	Estado
Control positivo del VHC	APROBADO
3) Control negativo	Estado
Control negativo del VHC	APROBADO

Para cada muestra, el sistema interpreta automáticamente el resultado del ensayo según el algoritmo del **software ELITe InGenius** y los parámetros del protocolo de ensayo.

En la siguiente tabla, 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.	Se ha detectado ARN del VHC 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.	Se ha detectado ARN del VHC en la muestra por debajo del límite inferior de cuantificación del ensayo.
HCV: RNA Detected, quantity beyond ULoQ copies / mL or IU/mL.	Se ha detectado ARN del VHC 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.	No se ha detectado ARN del VHC en la muestra. La muestra es negativa para el ARN del VHC o su concentración se encuentra por debajo del límite de detección del ensayo.
Invalid - Retest Sample.	Resultado no válido del ensayo debido a un fallo en el control interno (extracción incorrecta o arrastre de inhibidores). Es necesario repetir el análisis.

Las muestras que el **software ELITe InGenius** indica como «Invalid - Retest Sample» no son aptas para la interpretación de los resultados. En este caso, el ARN del control interno 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 el volumen del eluido es suficiente, la muestra extraída puede volver a analizarse, tal cual o diluida, en una sesión de amplificación en el modo de procesamiento «PCR Only». Si se produce un segundo resultado no válido, la muestra debe volver a analizarse a partir del paso de la extracción de una nueva alícuota en el modo de procesamiento «Extract + PCR».

Las muestras que se indican como «HCV RNA Not Detected or below LoD» son aptas para el análisis, pero no ha sido posible detectar el ARN del VHC. En este caso, no puede descartarse que el ARN del VHC esté presente en una concentración inferior al límite de detección del ensayo (consultar el apartado «Características de rendimiento»).

Las muestras positivas para el VHC a una concentración inferior al LoD que se detectan en el ensayo se indican como «HCV: RNA Detected, quantity below LLoQ» (consultar el apartado «Características de rendimiento»).

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».

D. Elaboración de los informes de resultados de las muestras

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

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

El «Track Report» muestra los detalles de una sesión de trabajo ordenados por la pista seleccionada.

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

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Límite de detección (LoD)

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

El LoD se definió analizando un panel de muestras de plasma recogidas en ACD con resultado negativo para el VHC y enriquecidas con material de referencia certificado del 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 sistema ELITe InGenius en el modo de procesamiento «Extract + 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 siguiente tabla.

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

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

Límite de detección (copias/mL) para muestras de plasma recogidas en ACD con el sistema ELITe InGenius			
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 recogidas en ACD, 30 duplicados de muestras de plasma recogidas en EDTA y 30 duplicados de muestras de suero enriquecidas con material de referencia certificado del 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.

Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Verificación del límite de detección para muestras de plasma y suero y el ELITe InGenius					
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 del VHC se confirmó en 26 UI/mL en el caso de muestras de plasma recogidas en ACD, muestras de plasma recogidas en EDTA y muestras de suero.

HCV ELITe MGB® Kit
Reactivos para la retrotranscriptasa de ARN y la amplificación en tiempo real de ADNc

REF RTK601ING

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

La equivalencia de rendimientos del producto «HCV ELITe MGB Kit» se verificó utilizando muestras de plasma recogidas en ACD, muestras de plasma recogidas en EDTA y muestras de suero y empleando el sistema ELITe InGenius.

Se realizó un análisis con 30 muestras de plasma recogidas en EDTA y 30 muestras de plasma recogidas 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 sistema ELITe InGenius en el modo de procesamiento «Extract + PCR». Se evaluó el porcentaje de concordancia negativa. Se calculó el coeficiente de variabilidad porcentual (%CV) de los valores de Ct del control interno con el fin de evaluar la equivalencia de las dos matrices.

Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

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 %	0,89	0,95
Plasma recogido en ACD	30	0	30		1,02	

Se realizó el mismo análisis con 30 muestras de plasma recogidas 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.

Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

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 recogidas en EDTA y 30 muestras de plasma recogidas 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 estaban enriquecidas 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 sistema ELITe InGenius en el modo de procesamiento «Extract + PCR». Se evaluó el porcentaje de concordancia positiva. Se calculó el coeficiente de variabilidad porcentual (%CV) de los valores de Ct de la diana del VHC con el fin de evaluar la equivalencia de las dos matrices.

Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

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 recogidas 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 estaban enriquecidas 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).

HCV ELITe MGB® Kit
Reactivos para la retrotranscriptasa de ARN y la amplificación en tiempo real de ADNc

REF RTK601ING

Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

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 recogidas en EDTA y de plasma recogidas en ACD y las 30 muestras emparejadas de plasma recogidas en EDTA y de suero mostraron rendimientos equivalentes cuando se analizaron el producto «HCV ELITe MGB Kit» utilizando el sistema ELITe InGenius.

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

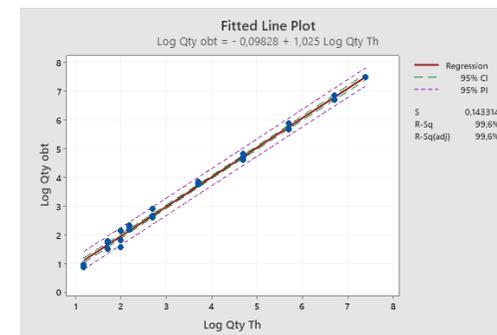
Rango de medición lineal

El rango de medición lineal del producto «HCV ELITe MGB Kit» se determinó utilizando muestras de plasma y el sistema 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 sistema ELITe InGenius en el modo de procesamiento «Extract + 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 (R²) 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 = 0,2787 log UI/mL) y exactos (sesgo = 0,3641 log UI/mL) en el rango 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 = 0,0089 log UI/mL) y exactos (sesgo = 0,0794 log UI/mL) en el rango 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).

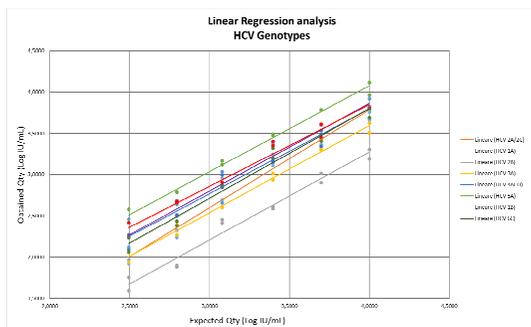
[Signature]
 Bioq. Laira Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Biodiagnóstico S.A.

Los resultados finales se resumen en la siguiente tabla.

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

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 sistema ELITe InGenius en el modo de procesamiento «Extract + PCR».

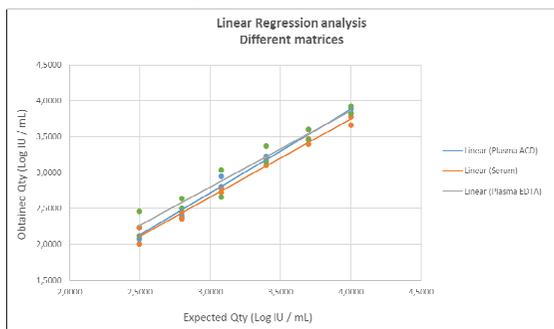
Los resultados se muestran en la siguiente figura.



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 recogidas en ACD y muestras de suero enriquecidas con material de referencia de la OMS para el VHC. Cada matriz se analizó en un panel de 6 niveles de dilución. Cada nivel de dilución se analizó en 2 duplicados utilizando el sistema ELITe InGenius en el modo de procesamiento «Extract + PCR». Los resultados correspondientes del análisis con muestras de plasma recogidas en EDTA se notificaron como referencia.

Los resultados se muestran en la siguiente figura.



[Signature]
 Bioq. Ladrá Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Biodiagnóstico S.A.

La linealidad del ensayo se confirmó para muestras de plasma recogidas en ACD y para muestras de suero que dieron resultados R2 de 0,9838 en el primer caso y 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 del VHC para técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (NIBSC).

Cada muestra del panel se diluyó a la concentración de 3 veces el LoD (aproximadamente 78 UI/mL) en muestras negativas de plasma recogidas en ACD y analizadas con el sistema ELITe InGenius en el modo de procesamiento «Extract + PCR».

Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Panel AccuTrak de rendimiento de genotipos del ARN del 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 del 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 6i	78	2/3	38,24	8

HCV ELITe MGB® Kit

Reactivos para la retrotranscriptasa de ARN y la amplificación en tiempo real de ADNc

REF RTK601ING

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 del 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 del 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 homología 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.

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

Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

ID de la muestra	Pos./Dup. de VHC	Resultado
VIH1	0/3	Sin reactividad cruzada
VIH2	0/3	Sin reactividad cruzada
HTLV1	0/3	Sin reactividad cruzada
HTLV2	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

ID de la muestra	Pos./Dup. de VHC	Resultado
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».


 Bioq. Ladrá Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Biodiagnóstico S.A.

HCV ELITe MGB® Kit

Reactivos para la retrotranscriptasa de ARN y la amplificación en tiempo real de ADNc

REF RTK601ING

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) se enriquecieron a alta concentración (al menos 10^5 copias/reacción) junto con material de referencia de ARN del VHC (6ª norma internacional de la OMS) a una concentración baja (aproximadamente 10 copias/reacción). Las muestras se analizaron en tres duplicados utilizando el sistema ELITe InGenius en el modo de procesamiento «PCR Only». Cada muestra se añadió con 80.000 copias de control interno por reacción con el fin de imitar la muestra clínica extraída.

Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

ID de la muestra	Pos./Dup. de VHC	Resultado
VIH1	3/3	Sin interferencia
VIH2	3/3	Sin interferencia
HTLV1	3/3	Sin interferencia
HTLV2	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 de 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 del 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 negativas para el VHC recogidas en ACD y enriquecidas con material de referencia certificado del VHC (NIBSC) a una concentración de 3 veces el LoD (aproximadamente 78 UI/mL).

Las muestras se procesaron en tres duplicados en el sistema ELITe InGenius utilizando el modo de procesamiento «Extract + PCR». Los valores de Ct (muestras de referencia y de análisis) de la diana del VHC y del control interno se usaron para calcular el coeficiente de variabilidad porcentual (%CV) con el fin de evaluar la posible interferencia.

Los resultados se muestran en las siguientes tablas.

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 con la amplificación del VHC o del control interno. 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 (3,4 – 4,6 g/dL) inhibían la amplificación del VHC; sin embargo, debido al corte del Ct del control interno (Ct del IC inferior a 31), las muestras obtuvieron los resultados «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 las muestras de plasma negativas para ARN del VHC se alternaron con muestras de plasma enriquecidas con material de referencia certificado del VHC (ZeptoMetrix) a una concentración de 1×10^6 UI/mL.

Se analizaron cinco series de muestras, alternando seis muestras positivas con seis muestras negativas, utilizando el sistema ELITe InGenius en el modo de procesamiento «Extract + PCR».

Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

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

Ninguna de las muestras negativas para el 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 analizando un panel de muestras enriquecidas con ARN del VHC a un título bajo.

100 muestras diferentes de plasma recogidas en EDTA, 30 muestras diferentes de plasma recogidas en ACD y 30 muestras diferentes de suero, que dieron un resultado negativo para ARN del 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 sistema ELITe InGenius en el modo de procesamiento «Extract + PCR».

Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

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 %.

Repetibilidad

La repetibilidad de los resultados obtenidos con el producto «HCV ELITe MGB Kit» junto con el sistema 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 del 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 en el sistema ELITe InGenius en el modo de procesamiento «Extract + PCR».

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

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

Repetibilidad dentro de las sesiones.								
Muestra	VHC				Control interno			
	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 veces el LoD	8/8	38,02	0,83	2,19				
10 veces el LoD	8/8	35,91	0,59	1,65				

Repetibilidad entre sesiones.								
Muestra	VHC				Control interno			
	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 veces el 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				Control interno			
	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 veces el 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 mostró un %CV bajo de valores de Ct que no superó el 2,19 % en el caso del VHC ni el 1,61 % en el caso del control interno.


 Bloq. Ladrá Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Biodiagnóstico S.A.

HCV ELITe MGB® Kit
Reactivos para la retrotranscriptasa de ARN y la amplificación en tiempo real de ADNc

REF RTK601ING

Reproducibilidad

La reproducibilidad de los resultados obtenidos con el producto «HCV ELITe MGB Kit» junto con el sistema 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 del 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 emplazamientos distintos, con tres instrumentos distintos y con tres operadores distintos. Las muestras se procesaron en posiciones aleatorias en el sistema ELITe InGenius en el modo de procesamiento «Extract + PCR».

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

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

Reproducibilidad entre sitios. Lotes C0321-012, C0421-012 y C0521-004								
Muestra	VHC				Control interno			
	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 veces el 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 mostró un %CV bajo de valores Ct que no superó el 1,6 % en el caso del VHC ni el 2,09 % en el caso del control interno.

Factor de conversión a unidades internacionales

El factor de conversión, para expresar 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 certificado de la «6ª norma internacional de la OMS para el VHC» (NIBSC) en muestras de plasma recogidas en EDTA que dieron un resultado negativo para el ARN del 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 en el sistema ELITe InGenius en el modo de procesamiento «Extract + 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 siguiente tabla se muestra un resumen de los resultados.

Factor de conversión a unidades internacionales, Fc = 2,4 UI/copia						
Muestra			Resultado			Diferencia logarítmica (referencia - prueba)
UI/mL	log UI/mL	N	Media de copias/mL	Media de UI/mL	Media de log UI/mL	
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 recogidas en EDTA, las muestras de plasma recogidas en ACD y las muestras de suero (consulte la equivalencia de matriz y el rango de medición lineal), el factor de conversión puede aplicarse a las tres matrices.

HCV ELITe MGB® Kit
Reactivos para la retrotranscriptasa de ARN y la amplificación en tiempo real de ADNc

REF RTK601ING

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 sistema ELITe InGenius en el modo de procesamiento «Extract + 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 siguiente tabla.

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 $\pm 0,5$ log UI/mL.

Sensibilidad diagnóstica: correlación de métodos

La sensibilidad diagnóstica del ensayo, como correlación de resultados obtenidos con diferentes métodos, se evaluó analizando a pacientes clínicos con resultado positivo para ARN del VHC que estaban siguiendo un tratamiento antivírico y dentro del rango de medición del producto «HCV ELITe MGB 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).

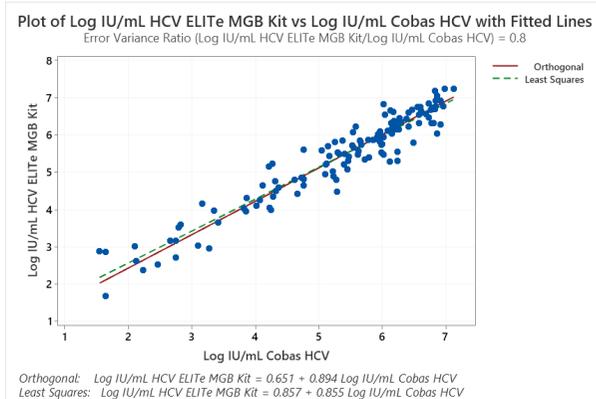
El estudio de correlación se realizó en dos centros distintos en las 128 muestras de plasma recogidas en EDTA que se indican a continuación:

- Centro 1: 96 muestras clínicas de plasma recogidas en EDTA y positivas para ARN del VHC.
- Centro 2: 32 muestras clínicas de plasma recogidas en EDTA y positivas para ARN del 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 MGB Kit» y los métodos de referencia se analizaron mediante regresión ortogonal y lineal con el fin de calcular la correlación entre los métodos.


 Bioq. Ladora Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Biodiagnóstico S.A.

Los resultados se resumen en la siguiente figura.



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, como porcentaje de concordancia negativa de los resultados obtenidos con diferentes métodos, se evaluó analizando muestras clínicas con resultado negativo para el ARN del 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).

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

- Centro 1: 100 muestras clínicas de plasma recogidas en EDTA y negativas para ARN del VHC.
- Centro 2: 35 muestras clínicas de plasma recogidas en EDTA y negativas para ARN del 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. 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 discrepante, se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	Positivas	Negativas	No válida	Especificidad diagnóstica
Plasma recogido en EDTA y negativo para ARN del 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 %.

BIBLIOGRAFÍA

P. Halfon et al. (2006) *J Clin Microbiology* Vol. 44: 2507–2511
 E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e30



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 recogidas 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 del 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.

Con el fin de evitar accidentes con consecuencias potencialmente graves para el usuario y otras personas, para utilizar este producto, 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 diana no se ha detectado en el ARN extraído de la muestra; si bien no puede descartarse que el ARN diana presente un título menor con respecto al límite de detección del producto (consultar el apartado «Características de las prestaciones»). En este caso, el resultado puede ser un falso negativo.

En ocasiones, los resultados obtenidos con este producto pueden no ser válidos debido a un fallo del control interno. En este caso, la muestra debe volver a analizarse a partir del paso de extracción, lo que puede provocar retrasos a la hora de obtener 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 puede eliminarse ni reducirse 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

Reacción no válida del estándar Q-PCR o del control positivo	
Curva estándar no válida	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la posición de la mezcla completa de reacción, así como de los estándares Q-PCR y del control positivo. Comprobar los volúmenes de la mezcla completa de reacción, así como de los estándares Q-PCR y del control positivo.
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 el área de inventario). No deje el 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 estándares Q-PCR o del control positivo.	No utilizar el estándar Q-PCR para más de 2 sesiones independientes (2 horas cada una en el área de extracción). No utilizar el control positivo para más de 4 sesiones independientes (3 horas cada una en el área de extracción). Usar nuevas alícuotas de los estándares Q-PCR o del control interno.
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Reacción no válida del control negativo	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la posición de la mezcla completa de reacción, así como del control negativo. Comprobar los volúmenes de la mezcla completa de reacción, así como del control negativo.
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 control negativo.	No utilizar el control negativo para más de 1 sesión. Utilizar una nueva alícuota de agua de calidad para biología molecular.
Contaminación del área de extracción, de las gradillas o del bloque de inventario.	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.


 Bioq. Ladrá Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Biodiagnóstico S.A.

Reacción no válida de la muestra	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la posición de la mezcla completa de reacción, así como 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 el área de 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 control interno	Utilizar una nueva alícuota de control interno.
Inhibición debido a sustancias interferentes con las muestras.	Repetir la amplificación con una dilución de 1:2 en agua de calidad para biología molecular de la muestra eluida en una sesión en el modo de procesamiento «PCR Only». Repetir la extracción con una dilución de 1:2 en agua de grado molecular para biología de la muestra extraída en una ejecución «Extract + PCR».
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Error 30103	
Posibles causas	Soluciones
Concentración demasiado alta de la diana en la muestra.	Si se observa una amplificación notable en el gráfico de PCR: - Seleccionar la pista relativa a la muestra y aprobar manualmente el resultado. Si se necesita un valor de Ct: - Repetir la amplificación con una dilución de 1:10 en agua de calidad para biología molecular de la muestra eluida en una sesión en el modo de procesamiento «PCR Only» o - Repetir la extracción con una dilución de 1:10 en agua de calidad para biología molecular de la muestra primaria en una sesión en el modo de procesamiento «Extract + PCR».

Error de TH, error SDM, error Ct	
Posibles causas	Soluciones
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 de calidad para biología molecular de la muestra eluida en una sesión en el modo de procesamiento «PCR Only» o - Repetir la extracción con una dilución de 1:10 en agua de calidad para biología molecular de la muestra primaria en una sesión en el modo de procesamiento «Extract + PCR».

SÍMBOLOS

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


 Bioq. Ladrá Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Biodiagnóstico S.A.

HCV ELITe MGB® Kit
Reactivos para la retrotranscriptasa de ARN
y la amplificación en tiempo real de ADNc

REF RTK601ING

AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA

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

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 ELITe InGenius® 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 licenciarios conceden ninguna otra licencia, expresa o implícita, para cualquier 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® y ELITe InGenius® son marcas registradas de ELITechGroup en la Unión Europea.

HCV ELITe MGB® Kit used in association with ELITe InGenius®
Ref: RTK601ING



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

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®" 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.

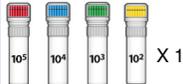
Amplified sequence

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
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 ⁵ , 10 ⁴ , 10 ³ , 10 ² 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

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	26 IU / mL 11 copies / mL	R² = 0.916 128 quantified samples	100% 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.


 Bioq. Ladrá Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Biodiagnóstico S.A.

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.

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

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

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

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

Procedure 2 - PCR only

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

Procedure 3 - Extraction only

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


Biq. Laura Mercapide
Directora Técnica/ Apoderada
MP 6.108 - DNI 14.629.531
Biodiagnóstico S.A.

PROYECTO DE RÓTULO EXTERNO

RÓTULO ORIGINAL DEL PRODUCTO

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

- **HCV ELITE MGB Mix**
- **HCV Internal Control**
- **HCV ELITE Standard**
- **HCV - ELITE Positive Control**

 <https://www.elitechgroup.com/documents?search=>

IFU REV.00 (Hellas: 0080016122057799)
00 800 135 79

 Per assistenza per il download
For assistance with downloading
Aide au téléchargement
Obtener ayuda para la descarga
Para ajuda no download
Hilfe für Download



REF **RTK601ING**

HCV ELITE MGB®
Kit

 96

 **2021-12** **LOT** **C0421-000**

CE **IVD**  -20°C 

CONT **0344**

RTS601ING	HCV ELITE MGB Kit
CPE601ING	HCV Internal Control
STD601ING	HCV ELITE Standard
CTR601ING	HCV ELITE Positive Control

RTK601ING-ET.0, REV.00

 **ELITE**[×]
M G B[®]

 **ELITEchGroup S.p.A.**
C.so Svizzera, 185 - 10149 Tonno - ITALY
Tel. +39 011 976191 - Fax +39 011 9367611

HCV ELITE Mix

IFU REV.00



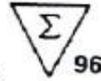
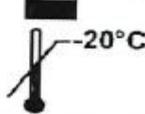
REF RTS601ING

HCV ELITE MGB® Mix

LOT D0421-000

2021-12

CE IVD
0344



CONT

RTS601ING	HCV PCR Mix	4 x 600 µL
RTS003-RT	RT EnzymeMix	2 x 20 µL

RTS601ING-ET.1, REV.00

ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185 - 10149 Torino - ITALY
Tel. +39 011 976191 - Fax +39 011 9367611



HCV CPE

IFU REV.00



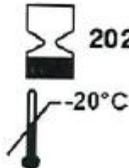
REF CPE601ING

HCV Internal Control

LOT D0421-000

2021-12

CE IVD
0344



CONT

CPE601ING	HCV CPE	8 x 160 µL
-----------	---------	------------

CPE601ING-ET.1, REV.00

ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185 - 10149 Torino - ITALY
Tel. +39 011 976191 - Fax +39 011 9367611




Biol. Laura Mercapide
Direttore Tecnica/Apoderada
MP 6.108 - DNI 14.629.531
Biodiagnostico S.A.

HCV ELITE STD

IFU REV.00



REF STD601ING

HCV ELITE Standard

LOT D0421-000

2021-12

CE **IVD**

0344

-20°C



CONT

STD601ING-2	HCV Q - PCR Standard 10 ²	1 x 160 µL
STD601ING-3	HCV Q - PCR Standard 10 ³	1 x 160 µL
STD601ING-4	HCV Q - PCR Standard 10 ⁴	1 x 160 µL
STD601ING-5	HCV Q - PCR Standard 10 ⁵	1 x 160 µL

STD601ING-ET.1, REV.00

ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185 - 10149 Torino - ITALY
Tel. +39 011 976191 - Fax +39 011 9367611



HCV ELITE CTR

IFU REV.00



REF CTR601ING

HCV - ELITE Positive Control

LOT D0421-000

2021-12

CE **IVD**

0344

-20°C



CONT

CTR601ING	HCV Positive Control	2 x 160 µL
-----------	----------------------	------------

CTR601ING-ET.1, REV.00

ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185 - 10149 Torino - ITALY
Tel. +39 011 976191 - Fax +39 011 9367611



SOBRERÓTULO

Biodiagnóstico SA.
Dirección completa: Av Ingeniero Huergo 1437 - PB I, CABA
Director Técnico: Laura Mercapide
USO PROFESIONAL EXCLUSIVO - VENTA EXCLUSIVA A LABORATORIOS DE ANÁLISIS CLÍNICOS”
Autorizado por ANMAT- PM 1201- 369

PROYECTO DE RÓTULO INTERNO



CTR601ING-ET.2, REV.05

ELITE[®]
MGB

REF CTR601ING

HCV Positive Control

LOT D0421-000

 2021-12

 ELITechGroup S.p.A.





República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
Las Malvinas son argentinas

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: BIODIAGNOSTICO S.A. rótulos e instrucciones de uso

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 23 pagina/s.

Digitally signed by Gestion Documental Electronica
Date: 2022.11.16 07:12:09 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2022.11.16 07:12:10 -03:00



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
Las Malvinas son argentinas

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: 1-0047-3110-006884-22-0

**CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN E INSCRIPCIÓN
PRODUCTO MÉDICO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO**

Expediente N° 1-0047-3110-006884-22-0

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que de acuerdo con lo solicitado por Biodiagnostico SA ; se autoriza la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM), de un nuevo producto con los siguientes datos identificatorios característicos:

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre Comercial: Detección y cuantificación del ARN del virus de la Hepatitis C (VHC)

Marca(s) de (los) producto(s) médico(s): HCV ELITe MGB Kit

Indicación/es de uso:

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

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

El ensayo se ha validado con el sistema ELITe InGenius comenzando con muestras de plasma humano recogidas en EDTA o en citrato sódico y glucosa (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.

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.

Forma de presentación: El producto HCV ELITE MGB Kit es suficiente para 96 análisis cuando se utiliza el ELITE InGenius, está compuesto por los siguientes componentes:

- HCV ELITE MGB Mix, contiene:

4×600 µde HCV PCR Mix

2×20 µ de RT EnzymeMix

- HCV ELITE Standard, contiene:

1×160 µ de HCV Q-PCR Standard 105

1×160 µ de HCV Q-PCR Standard 104

1×160 µ de HCV Q-PCR Standard 103

1×160 µ de HCV Q-PCR Standard 102

- HCV - ELITE Positive Control, 2×160 µ

- HCV Internal Control, 8×160 µ

Período de vida útil: 18 meses a una temperatura inferior a -20°C

Nombre del fabricante:

ELITechGroup S.p.A.

Lugar de elaboración:

Sede legal: Corso Italia, 22 20122 Milán (MI), Italia C.F.- P.I. 05239350969

Planta elaboradora: Corso Svizzera, 185 10149 Torino, Italia, C.F.- P.I. 05239350969

Grupo de Riesgo: Grupo C

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO PM 1201-369 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

Expediente N° 1-0047-3110-006884-22-0

N° Identificatorio Trámite: 43449

Digitally signed by Gestion Documental Electronica
Date: 2022.11.22 20:58:40 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2022.11.22 20:58:41 -03:00