



ELITechGroup S.p.A.  
C.so Svizzera, 185  
10149 Torino ITALY

Offices: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76 11  
E. mail: [emd.support@elitechgroup.com](mailto:emd.support@elitechgroup.com)  
WEB site: [www.elitechgroup.com](http://www.elitechgroup.com)

## NOTICE of CHANGE dated 23/01/2024

### IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

# «HHV7 ELITe MGB<sup>®</sup> Kit» Ref. RTS037PLD

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

- *Extension of the use of the product in association with «ELITE BeGenius<sup>®</sup>» instrument (REF INT040) and whole blood and plasma matrices.*
- *Update of PERFORMANCE CHARACTERISTICS:*
  - o *LoD, LLoD and ULoD values confirmed on matrix*
  - o *Repeatability and Reproducibility calculated on matrix*
  - o *Internal Cut-off value changed from 36 to 35*

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

## PLEASE NOTE



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



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



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



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



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



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



## HHV7 ELITE MGB® Kit

Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTS037PLD



### ÍNDICE

USO PREVISTO	página 1
PRINCIPIO DEL ENSAYO	página 2
DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO	página 2
MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO	página 2
MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO	página 2
OTROS PRODUCTOS NECESARIOS	página 3
ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES	página 4
MUESTRAS Y CONTROLES PARA EL ELITE InGenius Y EL ELITE BeGenius	página 5
PROCEDIMIENTO CON EL ELITE InGenius	página 8
PROCEDIMIENTO CON EL ELITE BeGenius	página 13
CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ELITE InGenius y DEL ELITE BeGenius	página 18
MUESTRAS Y CONTROLES PARA OTROS SISTEMAS	página 24
PROCEDIMIENTOS CON OTROS SISTEMAS	página 25
CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO CON OTROS SISTEMAS	página 34
BIBLIOGRAFÍA	página 36
LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO	página 36
PROBLEMAS Y SOLUCIONES	página 38
SÍMBOLOS	página 41
AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA	página 42
ANEXO: GUÍA RÁPIDA	página A

### USO PREVISTO

El producto **HHV7 ELITE MGB® Kit** es un ensayo cualitativo y cuantitativo de amplificación de ácidos nucleicos para la **detección y la cuantificación de ADN de virus del herpes humano 7 (VHH-7)** en muestras de ADN extraídas de sangre recogida en EDTA, plasma recogido en EDTA y líquido cefalorraquídeo (LCR).

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

El ensayo se ha validado con el **7300 Real-Time PCR System** y el **7500 Real-Time PCR System** utilizando muestras humanas de sangre, plasma recogido en EDTA y líquido cefalorraquídeo (LCR).

El producto se utiliza para el diagnóstico y el seguimiento de infecciones por VHH-7 junto con los datos clínicos y los resultados de otras pruebas analíticas del paciente.

**HHV7 ELITE MGB® Kit**  
Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTS037PLD

### PRINCIPIO DEL ENSAYO

Este es un ensayo cuantitativo de PCR en tiempo real para la detección de ADN de VHH-7, aislado de muestras y amplificado utilizando el reactivo de ensayo **HHV7 Q PCR Mix**, que contiene cebadores y sondas con las tecnologías ELITE MGB y TaqMan™ MGB®.

Las sondas ELITE MGB y TaqMan MGB se activan cuando se hibridan con los productos de PCR relacionados. El **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius** controlan el aumento de fluorescencia y calculan el ciclo umbral (Ct) y las temperaturas de fusión (Tm). La cantidad de ADN de VHH-7 se calcula basándose en una curva de calibración almacenada.

Las sondas ELITE MGB y los fluoróforos se inactivan en el estado de espiral aleatoria («random-coiled») y monocatenario de la sonda. Los fluoróforos están activos en el dúplex de sonda/amplión, pues el inhibidor se encuentra separado espacialmente del fluoróforo. Cabe reseñar además que el fluoróforo no se escinde durante la PCR y puede utilizarse para el análisis de la disociación y para calcular la temperatura de fusión.

### DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

El producto **HHV7 ELITE MGB Kit** incluye el reactivo del ensayo **HHV7 Q - PCR Mix**, que es una mezcla de PCR optimizada y estabilizada que contiene los cebadores y las sondas específicos para:

- El VHH-7, región de un **gen** de la **proteína de cápside (U57)**, detectado en el canal **HHV7**; la sonda se estabiliza mediante la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher® y se marca con el colorante FAM.
- El Internal Control (IC), específico para la secuencia artificial IC2 de ADN, detectado en el canal **IC**; la sonda se estabiliza con la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher® y se marca con el colorante AquaPhluor® 525 (AP525).

La mezcla **HHV7 Q-PCR Mix** también contiene solución tampón, cloruro de magnesio, nucleótidos-trifosfatos, el fluoróforo AP593 (análogo a ROX o a Cy5) como referencia pasiva para la normalización de la fluorescencia, la enzima N-uracil glucosidasa (UNG) para inactivar la contaminación provocada por el producto de amplificación y la enzima ADN polimerasa con activación térmica («hot start»).

El producto **HHV7 ELITE MGB Kit** contiene suficientes reactivos para realizar **96 análisis** en el **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius**, cuando se utilizan 20 µL para cada reacción.

El producto **HHV7 ELITE MGB Kit** contiene suficientes reactivos para realizar **100 análisis** en **otros sistemas**, cuando se utilizan **20 µL** para cada reacción.

El producto **HHV7 ELITE MGB Kit** también puede utilizarse con instrumentos equivalentes.

### MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

Componente	Descripción	Cantidad	Clasificación de peligros
HHV7 Q - PCR Mix ref. RTS037PLD	Mezcla de reactivos para la PCR en tiempo real en una probeta con <b>tapón transparente</b>	4 x 540 µL	-

### MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

- Campana de flujo laminar.
- Guantes sin talco desechables de nitrilo o de otro material similar.
- Agitador vórtex.
- Centrifugadora de sobremesa (aproximadamente 3000 rpm).
- Centrifugadora de sobremesa (aproximadamente 13.000 rpm).
- Mezcladora térmica.

**HHV7 ELITE MGB® Kit**  
**Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real**

REF RTS037PLD

- Micropipetas y puntas estériles con filtro para aerosoles o puntas estériles de desplazamiento positivo (0,5–10 µL, 2–20 µL, 5–50 µL, 50–200 µL, 200–1000 µL).
- Probetas estériles de 2,0 mL con tapón roscado (Sarstedt, Alemania, ref. 72.694.005).
- Agua para biología molecular.
- Termostato programable con sistema óptico de detección de fluorescencia 7300 Real Time PCR System o 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument, calibrados conforme a las instrucciones del fabricante.

**OTROS PRODUCTOS NECESARIOS**

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

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

Instrumentos y software	Productos y reactivos
<p><b>ELITE InGenius</b> (ELITechGroup S.p.A., EG SpA ref. INT030)</p> <p><b>ELITE InGenius Software</b>, versión 1.3.0.17 (o posterior)</p> <p><b>HHV7 ELITE STD</b>, protocolo de ensayo (Assay Protocol) con parámetros para el análisis de los calibradores</p> <p><b>HHV7 ELITE PC</b>, protocolo de ensayo (Assay Protocol) con parámetros para el análisis del Positive Control</p> <p><b>HHV7 ELITE NC</b>, protocolo de ensayo (Assay Protocol) para el análisis del Negative Control</p> <p><b>HHV7 ELITE WB_200_100</b>, protocolo de ensayo (Assay Protocol) con parámetros para el análisis de las muestras de sangre</p> <p><b>HHV7 ELITE PL_200_100</b>, protocolo de ensayo (Assay Protocol) con parámetros para el análisis de las muestras de plasma</p>	<p><b>ELITE InGenius SP200</b> (EG SpA, ref. INT032SP200)</p> <p><b>ELITE InGenius SP 200 Consumable Set</b> (EG SpA, ref. INT032CS)</p> <p><b>ELITE InGenius PCR Cassette</b> (EG SpA, ref. INT035PCR),</p> <p><b>ELITE InGenius Waste Box</b> (EG SpA, ref. F2102-000)</p> <p>Puntas <b>300 µL Filter Tips Axygen</b> (Corning Life Sciences Inc., ref. TF-350-L-R-S), solo con el ELITE InGenius</p> <p><b>1000 µL Filter Tips Tecan</b> (Tecan, Suiza, ref. 30180118), solo con el ELITE BeGenius</p> <p><b>CPE – Internal Control</b> (EG SpA, ref. CTRCPE)</p> <p><b>HHV7 ELITE Standard</b> (EG SpA, ref. STD037PLD)</p> <p><b>HHV7 – ELITE Positive Control</b> (EG SpA, ref. CTR037PLD)</p>
<p><b>ELITE BeGenius</b> (EG SpA ref. INT040)</p> <p><b>ELITE BeGenius Software</b> versión 2.1.0. (o posterior)</p> <p><b>HHV7 ELITE Be STD</b>, protocolo de ensayo (Assay Protocol) con parámetros para el análisis de los calibradores</p> <p><b>HHV7 ELITE Be PC</b>, protocolo de ensayo (Assay Protocol) con parámetros para el análisis del Positive Control</p> <p><b>HHV7 ELITE Be NC</b>, protocolo de ensayo (Assay Protocol) para el análisis del Negative Control.</p> <p><b>HHV7 ELITE Be WB_200_100</b>, protocolo de ensayo (Assay Protocol) con parámetros para el análisis de las muestras de sangre</p> <p><b>HHV7 ELITE Be PL_200_100</b>, protocolo de ensayo (Assay Protocol) con parámetros para el análisis de las muestras de plasma</p>	<p><b>MicroAmp™ Optical 96-Well Reaction Plate</b> (LifeTechnologies, ref. N8010560)</p> <p><b>CPE – Internal Control</b> (EG SpA, ref. CTRCPE)</p> <p><b>HHV7 ELITE Standard</b> (EG SpA, ref. STD037PLD)</p> <p><b>HHV7 – ELITE Positive Control</b> (EG SpA, ref. CTR037PLD)</p> <p><b>QIASymphony® Midi kit</b> (QIAGEN GmbH, ref. 931236)</p> <p><b>NucliSENS® easyMAG® Reagents</b> (bioMérieux SA, ref. 280130, 280131, 280132, 280133, 280134, 280135)</p>
<p>7300 Real-Time PCR System (ThermoFisher Scientific, ref. 4351101)</p> <p><b>QIASymphony® SP/AS</b> (QIAGEN GmbH, ref. 9001297, 9001301)</p> <p><b>NucliSENS® easyMAG®</b> (bioMérieux SA, ref. 200111)</p>	<p><b>MicroAmp Fast Optical 96-Well Reaction Plate with Barcode, 0,1 mL</b> (Life Technologies, ref. 4346906)</p> <p><b>CPE – Internal Control</b> (EG SpA, ref. CTRCPE)</p> <p><b>HHV7 ELITE Standard</b> (EG SpA, ref. STD037PLD)</p> <p><b>HHV7 – ELITE Positive Control</b> (EG SpA, ref. CTR037PLD)</p> <p><b>QIASymphony Midi kit</b> (QIAGEN GmbH, ref. 931236)</p> <p><b>NucliSENS easyMAG Reagents</b> (bioMérieux SA, ref. 280130, 280131, 280132, 280133, 280134, 280135)</p>

**HHV7 ELITE MGB® Kit**  
**Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real**

REF RTS037PLD

Instrumentos y software	Productos y reactivos
<p>7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument (ThermoFisher Scientific, ref. 4406985)</p> <p><b>QIASymphony SP/AS</b> (QIAGEN GmbH, ref. 9001297, 9001301)</p> <p><b>NucliSENS easyMAG</b> (bioMérieux SA, ref. 200111)</p>	<p><b>MicroAmp Fast Optical 96-Well Reaction Plate with Barcode, 0,1 mL</b> (Life Technologies, ref. 4346906)</p> <p><b>CPE – Internal Control</b> (EG SpA, ref. CTRCPE)</p> <p><b>HHV7 ELITE Standard</b> (EG SpA, ref. STD037PLD)</p> <p><b>HHV7 – ELITE Positive Control</b> (EG SpA, ref. CTR037PLD)</p> <p><b>QIASymphony Midi kit</b> (QIAGEN GmbH, ref. 931236)</p> <p><b>NucliSENS easyMAG Reagents</b> (bioMérieux SA, ref. 280130, 280131, 280132, 280133, 280134, 280135)</p>

**ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES**

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

**Advertencias y precauciones generales**

Manipular y eliminar todas las muestras biológicas como si fueran infecciosas. Evitar el contacto directo con las muestras biológicas. Evitar salpicaduras o pulverizaciones. Las probetas, las puntas y el resto de materiales que entran en contacto con las muestras biológicas deben tratarse con hipoclorito de sodio (lejía) al 3 % durante al menos 30 minutos, o bien procesarse en autoclave durante una hora a 121 °C antes de su eliminación.

Manipular y eliminar todos los reactivos y materiales utilizados para realizar el ensayo como si fueran infecciosos. Evitar el contacto directo con los reactivos. Evitar salpicaduras o pulverizaciones. Los residuos deben tratarse y eliminarse conforme a las normas de seguridad aplicables. El material desechable combustible debe incinerarse. Los residuos líquidos que contienen ácidos o bases deben neutralizarse antes de eliminarlos. Evitar que los reactivos de extracción entren en contacto con hipoclorito de sodio (lejía).

Utilizar ropa de protección y guantes adecuados y protegerse los ojos y la cara.

No pipetear ninguna solución con la boca.

No comer, beber, fumar ni aplicarse cosméticos en el área de trabajo.

Lavarse bien las manos después de manipular muestras y reactivos.

Eliminar los reactivos sobrantes y los residuos conforme a las normas vigentes.

Leer atentamente todas las instrucciones incluidas antes de realizar el ensayo.

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

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

Utilizar únicamente los reactivos incluidos en el producto y los recomendados por el fabricante.

No utilizar reactivos procedentes de lotes diferentes.

No utilizar reactivos de otros fabricantes.

**Advertencias y precauciones para los procedimientos de biología molecular**

Con el fin de evitar el riesgo de resultados incorrectos, sobre todo debido a la degradación de los ácidos nucleicos de las muestras o a la contaminación de estas con productos de la PCR, para los procedimientos de biología molecular se requiere personal debidamente formado y cualificado.

Quando la sesión de amplificación se configura manualmente, es necesario disponer de áreas independientes para la extracción/preparación de las reacciones de amplificación y para la amplificación/detección de los productos de amplificación. No introducir nunca un producto de amplificación en el área asignada a la extracción/preparación de las reacciones de amplificación.

Quando la sesión de amplificación se configura manualmente, es necesario disponer de batas de laboratorio, guantes y herramientas que se empleen exclusivamente para la extracción/preparación de las reacciones de amplificación y para la amplificación/detección de los productos de amplificación.

No llevar nunca batas de laboratorio, guantes ni herramientas del área asignada a la amplificación/detección de productos de amplificación al área asignada a la extracción/preparación de las reacciones de amplificación.

Es necesario disponer de batas, guantes e instrumentos específicos para las sesiones de trabajo.

Las muestras deben ser aptas y, en la medida de lo posible, estar destinadas exclusivamente a este tipo de análisis. Las muestras deben manipularse bajo una campana de flujo laminar. Las pipetas utilizadas para manipular las muestras deben destinarse exclusivamente a dicho propósito. Las pipetas deben ser del tipo de desplazamiento positivo o utilizarse con puntas con filtro para aerosoles. Las puntas utilizadas deben ser estériles y no deben contener desoxirribonucleasas ni ribonucleasas, ni tampoco ADN ni ARN.

**HHV7 ELITE MGB® Kit**  
**Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real**

**REF** RTS037PLD

Los reactivos deben manipularse bajo una campana de flujo laminar. Las pipetas utilizadas para manipular los reactivos deben destinarse exclusivamente a dicho propósito. Las pipetas deben ser del tipo de desplazamiento positivo o utilizarse con puntas con filtro para aerosoles. Las puntas utilizadas deben ser estériles y no deben contener desoxirribonucleasas ni ribonucleasas, ni tampoco ADN ni ARN.

Con el fin de evitar el riesgo de contaminación, los productos de extracción deben manipularse de manera que se reduzca al mínimo la dispersión hacia el entorno. Los cartuchos PCR Cassette deben manipularse con cuidado y no deben abrirse nunca para evitar la dispersión del producto de PCR hacia el entorno, así como la contaminación de muestras y reactivos.

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

Componente	Temperatura de almacenamiento	Uso a partir de la primera apertura	Ciclos de congelación y descongelación	Estabilidad con carga (ELITE InGenius y ELITE BeGenius)
HHV7 Q - PCR Mix	-20 °C o menos (protegido de la luz)	un mes	máximo cinco	Hasta cinco sesiones independientes* de tres horas cada una o hasta 7 horas consecutivas (2 sesiones de 3 horas cada una y el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión)

\*Con congelación intermedia

**MUESTRAS Y CONTROLES PARA EL ELITE InGenius Y EL ELITE BeGenius**

**Muestras**

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

Muestra	Requisitos de obtención	Condiciones transporte/almacenamiento			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Sangre	EDTA	≤24 horas	≤72 horas	≤1 mes	>>1 mes
Plasma	EDTA	≤24 horas	≤72 horas	≤1 mes	>1 mes

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

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

**HHV7 ELITE MGB® Kit**  
**Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real**

**REF** RTS037PLD

Protocolos de ensayo para el producto HHV7 ELITE MGB Kit				
Muestra	Instrumento	Nombre del protocolo de ensayo	Informe	Características
Sangre	ELITE InGenius	HHV7 ELITE_WB_200_100	copias/mL	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución de extracción: 100 µL Internal Control: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen de carga de PCR de la muestra: 10 µL
	ELITE BeGenius	HHV7 ELITE_Be_WB_200_100	copias/mL	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución de extracción: 100 µL Internal Control: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen de carga de PCR de la muestra: 10 µL
Plasma	ELITE InGenius	HHV7 ELITE_PL_200_100	copias/mL	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución de extracción: 100 µL Internal Control: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen de carga de PCR de la muestra: 10 µL
	ELITE BeGenius	HHV7 ELITE_Be_PL_200_100	copias/mL	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución de extracción: 100 µL Internal Control: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen de carga de PCR de la muestra: 10 µL

Para todos los protocolos, verter la muestra en la probeta de extracción (en el caso del ELITE InGenius) o en una probeta Sarstedt de 2 mL (en el caso del ELITE BeGenius).

**Nota:** Cuando se utiliza la probeta primaria, el volumen de la muestra varía en función de la probeta que se haya cargado. Para obtener más información sobre cómo realizar la configuración y el procedimiento de extracción, consultar las instrucciones de uso del kit de extracción.

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

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

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

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

Una alta cantidad de ADN genómico humano en el ADN extraído de la muestra puede inhibir la reacción de amplificación.

No se dispone de datos sobre la inhibición provocada por antiviricos, antibióticos, antineoplásicos o inmunodepresores.

**Calibradores y controles de PCR**

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

- Para la curva de calibración, utilizar los cuatro niveles del producto **HHV7 ELITE Standard** (no incluido con este kit) con los protocolos de ensayo (Assay Protocols) **HHV7 ELITE\_STD** o **HHV7 ELITE\_Be\_STD**.

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

- Para el Positive Control, utilizar el producto **HHV7 - ELITE Positive Control** (no incluido con este kit) con los protocolos de ensayo (Assay Protocols) **HHV7 ELITE\_PC** o **HHV7 ELITE\_Be\_PC**.

- Para el Negative Control, utilizar agua para biología molecular (no incluida en este kit), junto con los protocolos de ensayo (Assay Protocols) **HHV7 ELITE\_NC** o **HHV7 ELITE\_Be\_NC**.

**Nota:** el **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius** permiten generar y guardar la curva de calibración y validar el control de PCR para cada lote de reactivos de PCR.

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

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

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

- Se utiliza un nuevo lote de reactivos.
- Los resultados del análisis de control de calidad (consultar el apartado siguiente) están fuera de las especificaciones.
- Se realiza una operación importante de servicio o mantenimiento en uno de los instrumentos **ELITE InGenius** o **ELITE BeGenius**.

**Controles de calidad**

Se recomienda verificar la extracción y el procedimiento de PCR. Se pueden utilizar muestras archivadas o material de referencia certificado. Deben realizarse controles externos de acuerdo con las disposiciones de los organismos de acreditación locales, estatales o federales, según proceda.

**PROCEDIMIENTO CON EL ELITE InGenius**

El procedimiento para utilizar el producto **HHV7 ELITE MGB Kit** con el instrumento **ELITE InGenius** comprende tres pasos:

PASO 1	Comprobación de la preparación del sistema	
PASO 2	Configuración de la sesión	A) Sesión de la muestra (Extract + PCR).
		B) Sesión con la muestra eluida (PCR Only).
		C) Sesión de calibración (PCR OnlyOnly).
		D) Sesión para el Positive Control y el Negative Control (PCR Only).
PASO 3	Evaluación y aprobación de los resultados	A) Validación de la curva de calibración
		B) Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
		C) Validación de los resultados de las muestras
		D) Elaboración de los informes de resultados de las muestras

**PASO 1. Verificación de la disponibilidad del sistema**

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

- Encender el **ELITE InGenius** e iniciar sesión en el modo «**CLOSED**».

En el menú «Calibration» de la «Home» (pantalla principal), verificar que los calibradores (**HHV7 Q - PCR Standard**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de PCR Mix que va a utilizarse. Si no se dispone de calibradores válidos para el lote de mezcla **PCR Mix**, realizar la calibración tal como se describe en los apartados siguientes.

- En el menú «Controls» de la «Home» (pantalla principal), verificar que los controles de la PCR (**HHV7 - Positive Control**, **HHV7 Negative Control**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de PCR Mix que va a utilizarse. Si no se dispone de controles de PCR válidos para el lote de **PCR Mix**, procesar los controles de la PCR tal como se describe en los apartados siguientes.

- Seleccionar el tipo de sesión siguiendo las instrucciones de la interfaz para configurar la sesión y utilizando los protocolos de ensayo (Assay Protocols) proporcionados por EG SpA (consultar la sección «Muestras y controles»).

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

Existen protocolos para el análisis cualitativo a petición.

**PASO 2. Configuración de la sesión**

El producto **HHV7 ELITE MGB Kit** puede utilizarse con el **ELITE InGenius** para realizar las siguientes tareas:

- A. Sesión de la muestra (Extract + PCR).
- B. Sesión con la muestra eluida (PCR Only).
- C. Sesión de calibración (PCR Only).
- D. Sesión para el Positive Control y el Negative Control (PCR Only).

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

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

Antes de configurar una sesión:

Descongelar las probetas necesarias de **HHV7 Q PCR Mix** a temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para **24 análisis** en condiciones óptimas de uso (es decir, realizando al menos 2 análisis por sesión). Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.

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

**HHV7 ELITE MGB® Kit**  
**Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real**

REF RTS037PLD

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

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

**HHV7 ELITE MGB® Kit**  
**Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real**

REF RTS037PLD

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

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

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

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

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

**Nota:** el calibrador **HHV7 Q-PCR Standard** puede utilizarse para 4 sesiones independientes de 2 horas cada una.

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

**Nota:** el componente **HHV7 Positive Control** puede utilizarse para 4 sesiones independientes de 3 horas cada una.

**Nota:** al finalizar la sesión, el cartucho **PCR Cassette** y los consumibles deben eliminarse siguiendo las normativas gubernamentales y medioambientales. Evitar cualquier derrame de los productos de reacción.

**PASO 3. Evaluación y aprobación de los resultados**

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

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

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

El instrumento **ELITE InGenius** genera los resultados con el producto **HHV7 ELITE MGB Kit** mediante el siguiente procedimiento:

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

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

El **ELITE InGenius Software** interpreta los resultados de la PCR para la diana de las reacciones del calibrador utilizando los parámetros del protocolo de ensayo (Assay Protocol) **HHV7 ELITE STD**. La relación Ct a concentración resultante da lugar a la curva de calibración.

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

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

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

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

El **ELITE InGenius Software** interpreta los resultados de la PCR para la diana de las reacciones del Positive Control y del Negative Control utilizando los parámetros de los protocolos de ensayo (Assay Protocols) **HHV7 ELITE\_PC** y **HHV7 ELITE\_NC**. Los valores de Ct resultantes se convierten en concentraciones y se utilizan para verificar el sistema (lote de reactivos e instrumento).

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

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

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

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

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

**C. Validación de los resultados de las muestras**

El **ELITE InGenius Software** interpreta los resultados de la PCR para la diana (canal **HHV7**) y el Internal Control (canal **IC**) con los parámetros de los protocolos de ensayo (Assay Protocols) **HHV7 ELITE\_WB\_200\_100** y **HHV7 ELITE\_PL\_200\_100**. Los valores resultantes del Ct de la diana se convierten en concentración.

Los resultados se muestran en la pantalla «Results Display».

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

<b>1) Curva de calibración</b>	<b>Estado</b>
HHV7 Q-PCR Standard	APROBADO
<b>2) Positive Control</b>	<b>Estado</b>
HHV7 Positive Control	APROBADO
<b>3) Negative Control</b>	<b>Estado</b>
HHV7 Negative Control	APROBADO

El **ELITE InGenius Software** interpreta automáticamente los resultados de las muestras utilizando los parámetros del protocolo de ensayo (Assay Protocol).

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

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

<b>Resultado de la sesión de la muestra</b>	<b>Interpretación</b>
HHV7: DNA Detected, quantity equal to "XXX" copies/mL	<b>Se ha detectado ADN de VHH-7</b> en la muestra dentro del rango de medición del ensayo y se indica su concentración.
HHV7: DNA Detected, quantity below "LLOQ" copies/mL	<b>Se ha detectado ADN de VHH-7</b> en la muestra, pero su concentración se encuentra por debajo del límite inferior de cuantificación del ensayo.
HHV7: DNA Detected, quantity beyond "ULOQ" copies/mL	<b>Se ha detectado ADN de VHH-7</b> en la muestra, pero su concentración se encuentra por encima del límite superior de cuantificación del ensayo.
HHV7: DNA Not detected or below the "LoD" copies/mL	<b>No se ha detectado ADN de VHH-7</b> en la muestra. La muestra es negativa para el ADN diana, o su concentración es inferior al <b>límite de detección</b> del ensayo.
Invalid-Retest Sample	<b>Resultado no válido del ensayo</b> causado por un fallo en el Internal Control (p. ej., debido a una extracción incorrecta o al arrastre de inhibidores). Es necesario repetir la prueba.

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

Si queda un volumen de eluido suficiente, dicho eluido puede volver a analizarse (tal cual o diluido) con una sesión de amplificación en el modo de procesamiento «PCR Only». Si se produce un segundo resultado no válido, la muestra debe volver a analizarse a partir del paso de la extracción de una nueva muestra utilizando el modo de procesamiento «Extract + PCR» (consultar «Problemas y soluciones»).

Las muestras que se notifican como «HHV7: DNA Not Detected or below LoD copies/mL» son aptas para el análisis, pero no ha sido posible detectar ADN de VHH-7. En este caso, puede que la muestra sea negativa para ADN de VHH-7, o que el ADN de VHH-7 presente una concentración inferior al límite de detección del ensayo (consultar la sección «Características de rendimiento»).

Si se detectan muestras positivas para ADN de VHH-7 a una concentración inferior al límite de detección (y al límite inferior de cuantificación) del ensayo, estas se notifican como «HHV7: DNA Detected, quantity below "LLoQ" copies/mL» (consultar la sección «Características de rendimiento»).

Las muestras positivas para ADN de VHH-7 dentro del rango de medición lineal (consultar «Características de rendimiento») se detectan y notifican como «HHV7: DNA Detected, quantity equal to "XXX" copies / mL».

Las muestras positivas para ADN de VHH-7 que se encuentran por encima del límite superior de cuantificación se notifican como «HHV7: DNA Detected, quantity beyond "ULoQ" copies/mL» y no son aptas para la cuantificación. En caso necesario, es posible diluir la muestra antes de la extracción o de la PCR y volver a analizarla para obtener resultados dentro del rango de medición lineal del ensayo.

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

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

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

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

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

**PROCEDIMIENTO CON EL ELITE BeGenius**

El procedimiento para utilizar el producto **HHV7 ELITE MGB Kit** con el instrumento **ELITE BeGenius** comprende tres pasos:

PASO 1	Comprobación de la preparación del sistema	
PASO 2	Configuración de la sesión	A) Sesión de la muestra (Extract + PCR).
		B) Sesión con la muestra eluida (PCR Only).
		C) Sesión de calibración (PCR Only).
		D) Sesión para el Positive Control y el Negative Control (PCR Only).
PASO 3	Evaluación y aprobación de los resultados	A) Validación de la curva de calibración
		B) Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
		C) Validación de los resultados de las muestras
		D) Elaboración de los informes de resultados de las muestras

**PASO 1. Verificación de la disponibilidad del sistema**

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

- Encender el **ELITE BeGenius** e iniciar sesión en el modo «**CLOSED**».
- En el menú «Calibration» de la «Home» (pantalla principal), verificar que los calibradores (**HHV7 Q - PCR Standard**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de mezcla **HHV7 PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de calibradores válidos para el lote de mezcla **HHV7 PCR Mix**, realizar la calibración tal como se describe en los apartados siguientes.
- En el menú «Controls» de la «Home» (pantalla principal), verificar que los controles de PCR (**HHV7 Positive Control, HHV7 Negative Control**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de **HHV7 PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de controles de PCR válidos para el lote de **HHV7 PCR Mix**, procesar los controles de PCR tal como se describe en los apartados siguientes.
- Seleccionar el tipo de sesión siguiendo las instrucciones de la interfaz para configurar la sesión y utilizando los protocolos de ensayo (Assay Protocols) proporcionados por EG SpA (consultar la sección «Muestras y controles»).

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

Existen protocolos para el análisis cualitativo a petición.

**PASO 2. Configuración de la sesión**

El producto **HHV7 ELITE MGB Kit** puede utilizarse con el **ELITE BeGenius** para realizar las siguientes tareas:

- A. Sesión de la muestra (Extract + PCR).
- B. Sesión con la muestra eluida (PCR Only).
- C. Sesión de calibración (PCR Only).
- D. Sesión para el Positive Control y el Negative Control (PCR Only).

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

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

Antes de configurar una sesión:

Descongelar las probetas necesarias de **HHV7 PCR Mix** a temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para **24 análisis** en condiciones óptimas de uso (es decir, realizando al menos 2 análisis por sesión). Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.

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

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

**HHV7 ELITE MGB® Kit**  
**Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real**

REF RTS037PLD

	A. Sesión de la muestra (Extract + PCR).	B. Sesión con la muestra eluida (PCR Only).
1	<p><b>Identificar las muestras</b> y, en caso necesario, descongelar a temperatura ambiente, mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.</p> <p><b>Descongelar las probetas de CPE</b> necesarias a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Cada tubo es suficiente para 12 extracciones.</p>	<p>En caso necesario, <b>descongelar los «Elution Tubes» (Tubo de elución)</b> que contienen los ácidos nucleicos extraídos a temperatura ambiente. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.</p>
2	Seleccionar «Perform Run» en la «Home» (Inicio).	Seleccionar «Perform Run» en la «Home» (Inicio).
3	Extraer todas las racks de la «Cooler Unit» y colocarlas en la mesa de preparación.	Extraer las racks de los «Lanes» 1, 2 y 3 (L1, L2, L3) de la «Cooler Unit» y colocarlas en la tabla de preparación.
4	Seleccionar el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	Seleccionar el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).
5	Cargar las muestras en la «Sample Rack» (rack de muestras). Cuando se cargan probetas secundarias «2 mL Tubes», utilizar los adaptadores azules para la «Sample Rack» (rack de muestras).	Cargar las muestras en la «Elution Rack» (rejilla de elución).
6	Insertar la «Sample Rack» (rack de muestras) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 5 (L5). En caso necesario, insertar el ID de la muestra para cada posición utilizada. Si se cargan probetas secundarias, marcar la probeta de 2 mL como «2 mL Tube». Si las probetas secundarias no tienen códigos de barras, introducir manualmente el ID de las muestras («Sample ID»).	Insertar la « <b>Elution Rack» (rejilla de elución)</b> en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). En caso necesario, para cada «Position», introducir el «SID» (ID de la muestra), la «Sample matrix» (matriz de la muestra), el «Extraction kit» (kit de extracción) y el «Extracted Eluate Volume» (volumen de elución extraído).
7	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
8	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.
9	Seleccionar el Assay Protocol en la columna «Assay» (Ensayo) (consultar la sección «Muestras y controles»).	Seleccionar el Assay Protocol en la columna «Assay» (Ensayo) (consultar la sección «Muestras y controles»).
10	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
11	si se procesan más de 12 muestras, repetir el procedimiento a partir del punto 6.	si se procesan más de 12 muestras, repetir el procedimiento a partir del punto 6.
12	Cargar las «Elution Tube» (tubo de elución) en la «Elution Rack» (rejilla de elución); las probetas de elución pueden etiquetarse con un código de barras para mejorar la rastreabilidad.	No aplicable
13	Insertar la Elution Rack en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). Si se procesan más de 12 muestras, repetir el procedimiento utilizando el «Lane 2» (L2).	No aplicable
15	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	No aplicable
16	Cargar el CPE y la PCR Mix en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución).	Cargar la PCR Mix en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución).
17	Insertar la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) en el Lane 2 (L2) de la «Cooler Unit» o, si está disponible, en el Lane 1 (L1). En caso necesario, para cada reactivo de la PCR Mix o cada CPE, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).	Insertar la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) en el Lane 2 (L2) de la «Cooler Unit» o, si está disponible, en el Lane 1 (L1). En caso necesario, para cada reactivo de la PCR Mix, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).
18	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
19	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de

**HHV7 ELITE MGB® Kit**  
**Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real**

REF RTS037PLD

	A. Sesión de la muestra (Extract + PCR).	B. Sesión con la muestra eluida (PCR Only).
	puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.	puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.
20	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
21	Cargar la PCR Basket con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario).	Cargar la PCR Basket con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario).
22	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
23	Cargar la «Extraction Basket» (contenedores de extracción) con los cartuchos de extracción «ELITE InGenius SP 200» y los consumibles de extracción necesarios.	No aplicable
24	Cerrar la puerta del equipo.	Cerrar la puerta del equipo.
25	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).

	C. Sesión de calibración (PCR Only).	D. Sesión del Positive Control y del Negative Control (PCR Only)
1	<p><b>Descongelar las probetas necesarias de Q-PCR Standard</b> (Cal1: Q-PCR Standard 10<sup>2</sup>, Cal2: Q-PCR Standard 10<sup>3</sup>, Cal3: Q-PCR Standard 10<sup>4</sup>, Cal4: Q-PCR Standard 10<sup>5</sup>) a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.</p>	<p><b>Descongelar las probetas de Positive Control</b> a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.</p> <p><b>Preparar el Negative Control</b> vertiendo al menos 50 µL de agua para biología molecular en la «Elution Tube» (Tubo de elución) que se incluye con el ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.</p>
2	Seleccionar «Perform Run» en la «Home» (Inicio).	Seleccionar «Perform Run» en la «Home» (Inicio).
3	Extraer las racks de los «Lanes» 1, 2 y 3 (L1, L2, L3) de la «Cooler Unit» y colocarlas en la tabla de preparación.	Extraer las racks de los «Lanes» 1, 2 y 3 (L1, L2, L3) de la «Cooler Unit» y colocarlas en la tabla de preparación.
4	Seleccionar el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).	Seleccionar el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).
5	<b>Cargar las probetas de Q-PCR Standard</b> en la «Elution Rack» (rejilla de elución).	<b>Cargar las probetas de Positive Control y de Negative Control</b> en la «Elution Rack» (rejilla de elución).
6	Insertar la « <b>Elution Rack» (rejilla de elución)</b> en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). En caso necesario, para cada «Position» introducir el «Reagent name» (nombre del reactivo), el «S/N» (número de serie) el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones)	Insertar la « <b>Elution Rack» (rejilla de elución)</b> en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). En caso necesario, para cada «Position» introducir el «Reagent name» (nombre del reactivo), el «S/N» (número de serie) el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones)
7	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
8	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 600 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 50 µL.	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 600 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 50 µL.
9	Seleccionar el <b>Assay Protocol</b> en la columna «Assay» (Ensayo) (consultar la sección «Muestras y controles»).	Seleccionar el <b>Assay Protocol</b> en la columna «Assay» (Ensayo) (consultar la sección «Muestras y controles»).
10	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
11	<b>Cargar la PCR Mix</b> en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución).	<b>Cargar la PCR Mix</b> en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución).
12	Insertar la « <b>Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución)</b> en la «Cooler Unit», en el Lane 2 (L2). En caso necesario, para cada PCR Mix, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp.	Insertar la « <b>Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución)</b> en la «Cooler Unit», en el Lane 2 (L2). En caso necesario, para cada PCR Mix, rellenar el

	C. Sesión de calibración (PCR Only).	D. Sesión del Positive Control y del Negative Control (PCR Only)
	Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).	«S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).
13	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
14	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.
15	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
16	Cargar la PCR Basket con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario).	Cargar la PCR Basket con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario).
17	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
18	Cerrar la puerta del equipo.	Cerrar la puerta del equipo.
19	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).

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

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

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

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

**Nota:** el calibrador **HHV7 Q-PCR Standard** puede utilizarse para 4 sesiones independientes de 2 horas cada una.

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

**Nota:** el componente **HHV7 Positive Control** puede utilizarse para 4 sesiones independientes de 3 horas cada una.

**Nota:** al finalizar la sesión, el **PCR Cassette** y los consumibles deben eliminarse siguiendo las normativas gubernamentales y medioambientales. Evitar cualquier derrame de los productos de reacción.

### PASO 3. Evaluación y aprobación de los resultados

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

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

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

El instrumento **ELITE BeGenius** genera los resultados con el producto **HHV7 ELITE MGB Kit** mediante el siguiente procedimiento:

- Validación de la curva de calibración
- Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
- Validación de los resultados de las muestras
- Elaboración de los informes de resultados de las muestras

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

### CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ELITE InGenius y DEL ELITE BeGenius

#### Sensibilidad analítica: Límite de blanco con sangre

Debido a la alta prevalencia del VHH-7 en la población (aproximadamente un 80 %) que se menciona en las publicaciones científicas (Michael Kidd *et al.*), se espera obtener un cierto porcentaje de resultados positivos bajos no significativos desde el punto de vista clínico a la hora de analizar muestras de sangre. Con el fin de obtener un resultado negativo en el ensayo con estas muestras, fue necesario evaluar un valor de corte del Ct del VHH-7 de 35 en el **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius**.

En la tabla siguiente se muestran los resultados obtenidos en el **ELITE InGenius**.

Límite de blanco con muestras de sangre recogida en EDTA y el ELITE InGenius			
Muestras	N	positivas	negativas
Sangre recogida en EDTA negativa para ADN de VHH-7	35	0	35

En la tabla siguiente se muestran los resultados obtenidos en el **ELITE BeGenius**.

Límite de blanco con muestras de sangre recogida en EDTA y el ELITE BeGenius			
Muestras	N	positivas	negativas
Sangre recogida en EDTA negativa para ADN de VHH-7	20	0	20

En la prueba del límite de blanco, el producto **HHV7 ELITE MGB Kit** detectó correctamente la muestra tal como se esperaba dentro del valor de corte del Ct establecido para la diana.

#### Sensibilidad analítica: Límite de detección (LoD)

El límite de detección (LoD) de la amplificación de ADN permite detectar la presencia de unas 10 copias en 20 µL de ADN añadidos a la reacción de amplificación.

El límite de detección de este ensayo se analizó en el **ELITE InGenius** utilizando ADN plasmídico que contenía el producto de amplificación en una concentración inicial medida con un espectrofotómetro. El ADN plasmídico se diluyó a un título de 10 copias/10 µL en presencia de ADN plasmídico que contenía el Internal Control a un título de 20.000 copias/10 µL.

Los resultados se muestran en las tabla siguiente.

Muestras	N	positivas	negativas
10 copias de ADN plasmídico de HHV7 + 20.000 copias de control interno	18	18	0

El valor teórico del LoD se verificó analizando en el **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius** un grupo de muestras de plasma recogido en EDTA y sangre recogida en EDTA enriquecidas con material de referencia de VHH-7 (ZeptoMetrix, ref. PINATHHV7-ST) a la concentración declarada.

Los resultados obtenidos confirmaron la concentración declarada para la diana del producto **HHV7 ELITE MGB Kit**, tanto en el **ELITE InGenius** como en el **ELITE BeGenius**.

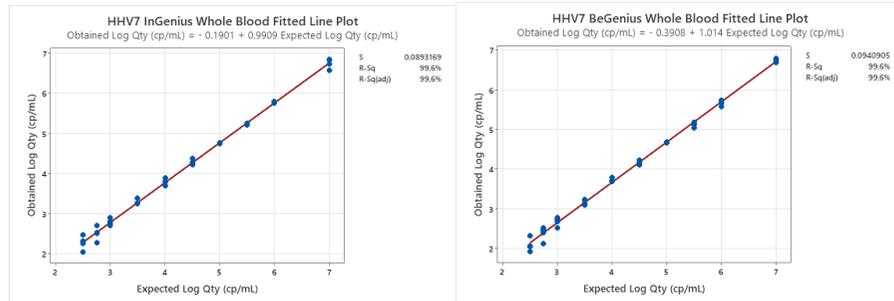
**Rango de medición lineal**

El rango de medición lineal del producto **HHV7 ELITE MGB Kit** se determinó con muestras de sangre y de plasma en el ELITE InGenius y el ELITE BeGenius.

Muestras de sangre:

El rango de medición lineal se determinó utilizando un panel de diluciones de plásmido que contenían la secuencia de la diana de VHH-7 en muestras negativas de sangre recogida en EDTA.

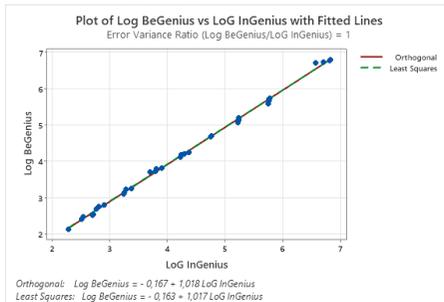
Los resultados se muestran en la siguiente figura.



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

Los resultados obtenidos con el ELITE InGenius y el ELITE BeGenius se analizaron mediante regresión ortogonal y lineal con el fin de calcular la relación entre los métodos.

Los resultados se resumen en la figura siguiente.

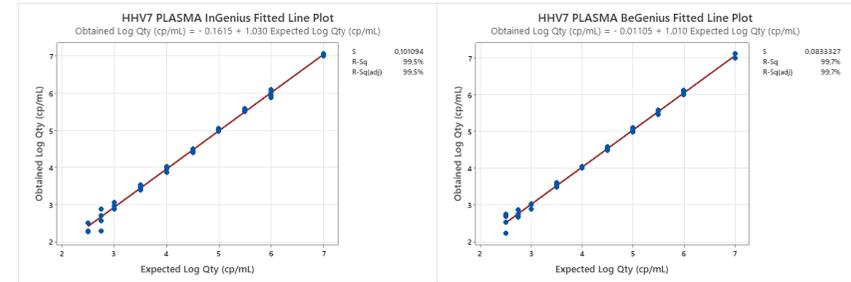


El análisis de regresión ortogonal generó una intersección de -0,167 (CI del 95 %: -0,2256; -0,1075) y una pendiente de 1,018 (IC del 95 %: 1,0048; 1,0307). El análisis de regresión lineal generó un R2 de 0,999.

Plasma recogido en EDTA.

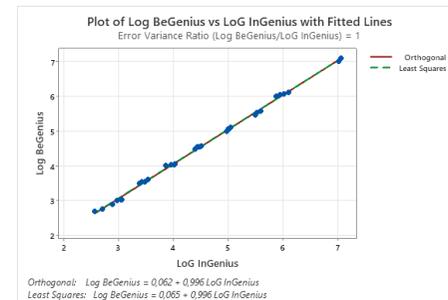
El rango de medición lineal se determinó utilizando un panel de diluciones de plásmido que contenían la secuencia de la diana de VHH-7 en muestras negativas de plasma recogido en EDTA.

Los resultados se muestran en la siguiente figura.



Los resultados obtenidos con el ELITE InGenius y el ELITE BeGenius se analizaron mediante regresión ortogonal y lineal con el fin de calcular la relación entre los métodos.

Los resultados se resumen en la figura siguiente.



El análisis de regresión ortogonal generó una intersección de 0,062 (CI del 95 %: 0,0053; 0,1194) y una pendiente de 0,996 (IC del 95 %: 0,9845; 1,0082). El análisis de regresión lineal generó un R2 de 0,999.

El rango de medición lineal para **muestras de sangre y de plasma** recogidos en EDTA abarca el rango de concentración que se muestra en la tabla siguiente:

Rango de medición lineal para el producto HHV7 ELITE MGB Kit y los instrumentos ELITE InGenius y ELITE BeGenius		
Matriz	Límite inferior	Límite superior
Sangre	500 copias/mL	10.000.000 copias/mL
Plasma	500 copias/mL	10.000.000 copias/mL

**HHV7 ELITE MGB® Kit**  
**Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real**

REF RTS037PLD

**Repetibilidad**

La repetibilidad del ensayo se evaluó en el ELITE BeGenius y el ELITE InGenius analizando un panel de muestras de sangre recogida en EDTA, negativas o enriquecidas con VHH-7 (ZeptoMetrix, ref. PINATHHV7-ST).

En la tabla siguiente se incluye un ejemplo de los resultados de repetibilidad dentro de las sesiones (en un día) obtenidos con el ELITE InGenius.

Repetibilidad dentro de las sesiones con el ELITE InGenius					
Muestra	HHV7				% de concordancia
	Pos./Neg.	Ct medio	DE	%CV	
Negativa	0/8	N/A	N/A	N/A	100 %
3×LoD	8/8	32,97	0,38	1,14	100 %
10×LoD	8/8	31,18	0,29	0,92	100 %

En la tabla siguiente se incluye un ejemplo de los resultados de repetibilidad dentro de las sesiones (en un día) obtenidos con el ELITE BeGenius.

Repetibilidad dentro de las sesiones con el ELITE BeGenius					
Muestra	HHV7				% de concordancia
	Pos./Neg.	Ct medio	DE	%CV	
Negativa	0/8	N/A	N/A	N/A	100 %
3×LoD	8/8	34,52	0,30	0,88	100 %
10×LoD	8/8	32,36	0,22	0,69	100 %

En la tabla siguiente se muestran los resultados de repetibilidad entre sesiones (en dos días) obtenidos con el ELITE InGenius.

Repetibilidad entre sesiones con el ELITE InGenius					
Muestra	HHV7				% de concordancia
	Pos./Neg.	Ct medio	DE	%CV	
Negativa	0/16	N/A	N/A	N/A	100 %
3×LoD	16/16	33,07	0,36	1,09	100 %
10×LoD	16/16	31,17	0,24	0,77	100 %

En las tablas siguientes se muestran los resultados de repetibilidad entre sesiones (en dos días) obtenidos con el ELITE BeGenius.

Repetibilidad entre sesiones con el ELITE BeGenius					
Muestra	HHV7				% de concordancia
	Pos./Neg.	Ct medio	DE	%CV	
Negativa	0/16	N/A	N/A	N/A	100 %
3×LoD	16/16	34,41	0,49	1,42	100 %
10×LoD	16/16	32,34	0,30	0,92	100 %

En la prueba de repetibilidad, el producto **HHV7 ELITE MGB Kit** detectó todas las muestras tal como se esperaba y presentó una variación máxima de los valores de Ct de la diana como un %CV del 1,42 %.

**Reproducibilidad**

La reproducibilidad del ensayo se evaluó en el ELITE BeGenius y el ELITE InGenius analizando muestras de sangre recogida en EDTA, negativas para ADN de VHH-7 o enriquecidas con VHH-7 (ZeptoMetrix, ref. PINATHHV7-ST).

En la tabla siguiente se muestran los resultados de reproducibilidad entre lotes (dos lotes) obtenidos con el ELITE InGenius.

Reproducibilidad entre lotes con el ELITE InGenius					
Muestra	HHV7				% de concordancia
	Pos./Dup.	Ct medio	DE	%CV	
Negativa	0/8	-	-	-	100 %
3×LoD	8/8	33,39	0,20	0,59	100 %
10×LoD	8/8	31,39	0,18	0,57	100 %

**HHV7 ELITE MGB® Kit**  
**Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real**

REF RTS037PLD

En la tabla siguiente se muestran los resultados de reproducibilidad entre lotes (dos lotes) obtenidos con el ELITE BeGenius.

Reproducibilidad entre lotes con el ELITE BeGenius					
Muestra	HHV7				% de concordancia
	Pos./Dup.	Ct medio	DE	%CV	
Negativa	0/8	-	-	-	100 %
3×LoD	8/8	34,58	0,14	0,42	100 %
10×LoD	8/8	32,66	0,24	0,75	100 %

Los resultados de reproducibilidad entre instrumentos (en dos días, dos lotes y dos instrumentos) obtenidos con el **ELITE InGenius** se muestran en la tabla siguiente.

Reproducibilidad entre instrumentos con el ELITE InGenius					
Muestra	HHV7				% de concordancia
	Pos./Dup.	Ct medio	DE	%CV	
Negativa	0/8	-	-	-	100 %
3×LoD	8/8	34,50	0,31	0,90	100 %
10×LoD	8/8	32,61	0,23	0,69	100 %

Los resultados de reproducibilidad entre instrumentos (en dos días, dos lotes y dos instrumentos) obtenidos con el **ELITE BeGenius** se muestran en la tabla siguiente.

Reproducibilidad entre instrumentos con el ELITE BeGenius					
Muestra	HHV7				% de concordancia
	Pos./Dup.	Ct medio	DE	%CV	
Negativa	0/8	-	-	-	100 %
3×LoD	8/8	33,25	0,26	0,79	100 %
10×LoD	8/8	31,26	0,21	0,66	100 %

En la prueba de reproducibilidad, el producto **HHV7 ELITE MGB Kit** detectó todas las muestras tal como se esperaba y presentó una variación máxima de los valores de Ct de la diana como un %CV del 0,90 %.

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

La especificidad diagnóstica del ensayo, expresada como confirmación de las muestras negativas, se evaluó en el **ELITE InGenius** analizando muestras clínicas de sangre y de plasma recogidos en EDTA.

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

Los resultados se resumen en la tabla siguiente:

Muestras	N	positivas	negativas	% de especificidad diagnóstica
Muestras de sangre recogida en EDTA	38	0	38	100 %
Muestras de plasma recogido en EDTA	33	0	33	100 %

Todas las muestras de sangre y de plasma fueron válidas para el análisis realizado. El valor de corte del Ct para la diana de VHH-7 se aplicó únicamente a las muestras de sangre.

La especificidad diagnóstica del producto **HHV7 ELITE MGB Kit** cuando se utilizaron muestras de sangre y de plasma recogidos en EDTA fue del 100 %.

El valor de corte del Ct del IC se estableció a 35 para muestras de sangre y de plasma recogidos en EDTA, tanto en el **InGenius** como en el **BeGenius**.

**Sensibilidad diagnóstica: confirmación de muestras positivas**

La sensibilidad diagnóstica del ensayo, expresada como confirmación de las muestras clínicas positivas, se evaluó en el **ELITE InGenius** analizando muestras clínicas de sangre y de plasma recogidos en EDTA.

Como el **ELITE BeGenius** presenta un rendimiento analítico equivalente al del **ELITE InGenius**, el rendimiento diagnóstico del ensayo observado en los dos instrumentos también se considera equivalente. Por lo tanto, la sensibilidad diagnóstica del ensayo obtenida con el **ELITE InGenius** también es aplicable al **ELITE BeGenius**.

La sensibilidad diagnóstica se evaluó utilizando muestras de sangre y de plasma recogidos en EDTA, negativas para VHH-7 y enriquecidas con «Human Herpes Virus Type 7 Stock (NATHHV7-ST)» (ZeptoMetrix Corporation) a una concentración de 1000 copias/mL.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente:

Muestras	N	positivas	negativas	% de sensibilidad diagnóstica
Sangre recogida en EDTA enriquecida con ADN de VHH-7	34	34	0	100 %
Plasma recogido en EDTA enriquecido con ADN de VHH-7	33	33	0	100 %

Todas las muestras se detectaron correctamente como positivas.

La sensibilidad diagnóstica del producto **HHV7 ELITE MGB Kit** cuando se utilizaron muestras de sangre y de plasma recogidos en EDTA fue del 100 %.

**Nota:** Los datos y resultados completos de las pruebas realizadas para evaluar las características de rendimiento del producto con las matrices y el instrumento se incluyen en la documentación técnica del producto «HHV7 ELITE MGB Kit», FTP037PLD.

**MUESTRAS Y CONTROLES PARA OTROS SISTEMAS**

**Muestras**

Este producto debe utilizarse con **ADN extraído** de las siguientes muestras clínicas: sangre recogida en EDTA y líquido cefalorraquídeo (LCR).

**Sangre recogida en EDTA**

Las muestras de sangre para la extracción de ADN deben recogerse en EDTA e identificarse de acuerdo con las directrices para laboratorios, así como transportarse y conservarse a temperatura ambiente (entre +16 °C y +26 °C) durante un máximo de 24 horas, o bien a una temperatura comprendida entre +2 °C y +8 °C durante un máximo de tres días; en caso contrario, deben congelarse y conservarse a -20 °C durante un máximo de 30 días, o a -70 °C durante períodos más largos.

Con el fin de evitar ciclos repetidos de congelación y descongelación, se recomienda dividir las muestras en alícuotas antes de congelarlas.

**Nota:** si la extracción de ADN a partir de muestras de sangre se realiza con el instrumento **NucliSENS® easyMAG®**, utilizar el protocolo de extracción **Generic 2.0.1** y seguir estas instrucciones: verter **100 µL** de muestra en la tira de 8 pocillos, cargar la tira en el instrumento y llevar a cabo la extracción sin incubación por lisis. Una vez que el instrumento ha añadido el producto **NucliSENS® easyMAG® Lysis Buffer**, sin retirar la tira, mezclar tres veces el contenido de la tira con la pipeta multicanal suministrada utilizando el programa número 3. Incubar durante 10 minutos, a continuación, añadir **5 µL** de **CPE** para el Internal Control y el producto **NucliSENS® easyMAG® Magnetic Silica** al contenido de la tira con la pipeta multicanal utilizando el programa número 3 y, después, llevar a cabo la extracción. Eluir los ácidos nucleicos en **50 µL** de solución tampón de elución.

**Nota:** si la extracción de ADN a partir de muestras de sangre se realiza con el instrumento **QIASymphony® SP/AS** y el **QIASymphony® DNA Mini kit** con la **versión 3.5 del software**, utilizar el protocolo de extracción **Virus Blood\_200\_V4\_default IC** y seguir estas instrucciones: el instrumento es capaz de utilizar una probeta primaria, el volumen de muestra necesario para la extracción es de **200 µL** y siempre se necesita un volumen muerto mínimo de 100 µL. Para cada muestra solicitada, añadir **5 µL** de **CPE** a la solución tampón de ATE. Cargar las probetas que contienen la solución en la ranura para el «Internal Control» del instrumento, tal como se indica en las instrucciones de uso del kit; indicar la posición en la que deben distribuirse los eluidos y especificar el volumen de elución de **60 µL**. Para obtener más información sobre el procedimiento de extracción, seguir las indicaciones de las instrucciones de uso del kit.

**Líquido cefalorraquídeo**

Las muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR) para la extracción de ácido nucleico deben obtenerse de acuerdo con las directrices para laboratorios, evitando su contaminación con sangre del paciente, así como transportarse a una temperatura comprendida entre +2 °C y +8 °C y conservarse de +2 °C a +8 °C durante un máximo de cuatro horas; en caso contrario, deben congelarse y conservarse a -20 °C durante un máximo de 30 días, o a -70 °C durante períodos más largos.

Con el fin de evitar ciclos repetidos de congelación y descongelación, se recomienda dividir las muestras en alícuotas antes de congelarlas.

**N.B.:** si la extracción de ADN a partir de muestras de líquido cefalorraquídeo se realiza con el instrumento **NucliSENS® easyMAG®**, utilizar el protocolo de extracción **Generic 2.0.1** y seguir las instrucciones siguientes: verter **500 µL** de muestra en la tira de 8 pocillos y llevar a cabo la extracción. Una vez transcurridos 10 minutos, añadir **5 µL** de **CPE** para el Internal Control antes de añadir el producto **NucliSENS® easyMAG® Magnetic Silica** y, después, llevar a cabo la extracción. Eluir los ácidos nucleicos en **100 µL** de solución tampón de elución.

**Sustancias interferentes**

Con el fin de evitar problemas de inhibición y el riesgo de obtener resultados no válidos con frecuencia, el ADN extraído de la muestra no debe contener heparina, hemoglobina, dextrano, Ficoll®, etanol ni 2-propanol.

Una alta cantidad de ADN genómico humano en el ADN extraído de la muestra puede inhibir la reacción de amplificación.

No se dispone de datos sobre la inhibición provocada por antiviricos, antibióticos, antineoplásicos o inmunodepresores.

**Controles de amplificación**

Cada sesión de amplificación debe validarse necesariamente con una reacción de control negativo y una de control positivo.

Para el control negativo, usar agua para biología molecular (no incluida en este kit), añadida a la reacción en lugar del ADN extraído de la muestra.

Para el Positive Control, utilizar el producto **HHV7 - ELITE Positive Control** o el producto **HHV7 ELITE Standard**.

**Controles de calidad**

Se recomienda validar el procedimiento entero de análisis de cada sesión de extracción y amplificación procesando una muestra con resultado negativo y una con resultado positivo o un material de referencia calibrado.

**PROCEDIMIENTO CON OTROS SISTEMAS**

**Configuración de la sesión de amplificación en tiempo real**

Debe realizarse en el área de amplificación/detección de los productos de amplificación.

Cuando se utiliza el instrumento **7300 Real-Time PCR System**.

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

- Encender el termociclador en tiempo real, encender el ordenador, ejecutar el software dedicado y abrir una sesión de cuantificación absoluta («Absolute quantification»).
- Configurar (administrador del detector) el «detector» para la sonda de VHH-7 con el marcador («reporter») = «FAM» y el inhibidor («quencher») = «none» (no fluorescente) y denominarlo «HHV7».
- Configurar («Detector Manager») el «detector» para la sonda de Internal Control con el marcador («reporter») = «VIC» (AP525 es análogo a VIC) y el inhibidor («quencher») = «none» (no fluorescente) y asignarle el nombre «IC».
- Para cada pocillo empleado en la microplaca, configurar (en «Well Inspector») el «detector» (tipo de fluorescencia que se debe medir), la referencia pasiva («passive reference») o «ROX» (AP593 se utiliza en lugar de ROX, normalización de la fluorescencia medida) y el tipo de reacción (muestra, control negativo de amplificación, control positivo de amplificación o calibrador en una cantidad conocida). Añadir esta información a la **hoja de trabajo** que se adjunta al final de estas instrucciones de uso o imprimir la configuración de la microplaca. La **hoja de trabajo** debe seguirse estrictamente al verter la mezcla de reacción y las muestras en los pocillos.

**Nota:** para determinar el título de ADN en la muestra inicial, configurar una serie de reacciones con los calibradores **Q-PCR Standard** (105 copias, 104 copias, 103 copias, 102 copias) con el fin de obtener la **curva de calibración**.

A continuación, se incluye un ejemplo de cómo organizar el análisis cuantitativo de 12 muestras.

S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12
NC	102	103	104	105							

**Leyenda:** S1 a S12: Muestras que deben analizarse. NC: Negative Control de amplificación; 102: copias de calibrador 102; 103: copias de calibrador 103; 104: copias de calibrador 104; 105: copias de calibrador 105.

Siguiendo las indicaciones de la documentación del instrumento, utilizar el software dedicado («Instrument > Thermal Cycler Protocol > Thermal Profile») para definir los parámetros del **ciclo térmico**:

- Añadir a la fase de amplificación el paso («Add Step») de **extensión a 72 °C**;

**Importante:** La adquisición de la fluorescencia (Instrument > Thermal Cycler Protocol > Settings > Data Collection) se debe configurar durante el paso de hibridación a 60 °C.

- Modificar la temporización como se indica en la tabla «Ciclo térmico».
- Configurar el número de ciclos en **45**.
- Configurar el volumen para la emulación del software de la transferencia térmica a la reacción («Sample volume») en **30 µL**.
- Opcional: añadir la fase de disociación («Add Dissociation Stage») y configurar la temperatura de **40 °C a 80 °C**.

Ciclo térmico		
Fase	Temperaturas	Tiempo
Descontaminación	50 °C	2 min
Desnaturalización inicial	94 °C	2 min
Amplificación y detección (45 ciclos)	94 °C	10 s
	60 °C (adquisición de fluorescencia)	30 s
	72 °C	20 s
Disociación (opcional)	95 °C	15 s
	40 °C	30 s
	80 °C	15 s

Cuando se utiliza un **7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument**.

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

- Encender el termociclador en tiempo real, encender el ordenador, ejecutar el software dedicado y abrir una sesión de cuantificación absoluta («Absolute quantification») y configurar «Run mode: Fast 7500».
- Configurar (administrador del detector) el «detector» para la sonda de VHH-7 con el marcador («reporter») = «FAM» y el inhibidor («quencher») = «none» (no fluorescente) y denominarlo «HHV7».
- Configurar («Detector Manager») el «detector» para la sonda de control interno con el marcador («reporter») = «VIC» (AP525 es similar al VIC) y el inhibidor («quencher») = «none» (no fluorescente) y denominarlo «IC».
- Para cada pocillo empleado en la microplaca, configurar (en «Well Inspector») el «detector» (tipo de fluorescencia que se debe medir), la referencia pasiva («passive reference») o «Cy5» (AP593 se utiliza en lugar de Cy5, normalización de la fluorescencia medida) y el tipo de reacción (muestra, control negativo de amplificación, control positivo de amplificación o calibrador en una cantidad conocida). Añadir esta información a la **hoja de trabajo** que se adjunta al final de estas instrucciones de uso o imprimir la configuración de la microplaca. La **hoja de trabajo** debe seguirse estrictamente al verter la mezcla de reacción y las muestras en los pocillos.

**Nota:** para determinar el título de ADN en la muestra inicial, configurar una serie de reacciones con los calibradores **Q-PCR Standard** (105 copias, 104 copias, 103 copias, 102 copias) con el fin de obtener la **curva de calibración**.

La configuración del análisis cuantitativo de 12 muestras se indica, a modo de ejemplo, en la sección anterior, donde se describe el procedimiento para el instrumento **7300 Real Time PCR System**.

Siguiendo las indicaciones de la documentación del instrumento, utilizar el software dedicado («Instrument > Thermal Cycler Protocol > Thermal Profile») para definir los parámetros del **ciclo térmico**:

- Añadir a la fase de amplificación el paso de **extensión a 72 °C** (opción «Add Step»).
- Nota:** La adquisición de la fluorescencia (Instrument > Thermal Cycler Protocol > Settings > Data Collection) se debe configurar durante el paso de hibridación a 60 °C.

- Modificar la temporización como se indica en la tabla «Ciclo térmico».
- Configurar el número de ciclos en **45**.
- Configurar el volumen para la emulación del software de la transferencia térmica a la reacción («Sample volume») en **30 µL**.
- Opcional: añadir la fase de disociación («Add Dissociation Stage») y configurar la temperatura de **40 °C a 80 °C**.

Ciclo térmico		
Fase	Temperaturas	Tiempo
Descontaminación	50 °C	2 min
Desnaturalización inicial	94 °C	2 min
Amplificación y detección (45 ciclos)	94 °C	10 s
	60 °C (adquisición de fluorescencia)	30 s
	72 °C	20 s
Disociación (opcional)	95 °C	15 s
	40 °C	1 min
	80 °C	15 s
	60 °C	15 s

**Configuración de la amplificación**

Esta tarea debe realizarse en la extracción/preparación del área de la reacción de amplificación.

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

- Tomar y descongelar las probetas que contienen las muestras que van a analizarse. Mezclar suavemente, centrifugar el contenido durante 5 segundos y conservarlo en hielo.
- Tomar y descongelar las probetas de **HHV7 Q - PCR Mix** necesarias para la sesión, teniendo en cuenta que cada una de ellas es suficiente para preparar **25 reacciones**. Mezclar suavemente, centrifugar el contenido durante 5 segundos y conservarlo en hielo.
- Tomar y descongelar las probetas de **HHV7 - Positive Control** o de **HHV7 Q - PCR Standard**. Mezclar suavemente, centrifugar el contenido durante 5 segundos y conservarlo en hielo.
- Tomar la **microplaca de amplificación** que se utilizará durante la sesión, manipulándola con guantes sin talco y teniendo cuidado de no dañar los pocillos.
- Tomar la **placa de sellado de amplificación** que se usará durante la sesión, manipulándola con guantes sin talco y teniendo cuidado de no dañarla.

1. Pipetear de forma exacta **20 µL** de mezcla **HHV7 Q - PCR Mix** en el fondo de los pocillos de la **placa de amplificación**, tal como se ha establecido anteriormente en la **hoja de trabajo**. Evitar la formación de burbujas.

**Nota:** si no se utiliza toda la mezcla de reacción, conservar el volumen que queda en un lugar protegido de la luz a -20 °C durante un máximo de un mes. Congelar y descongelar la mezcla de reacción un máximo de **5 veces**.

2. Pipetear de forma exacta, vertiendo en la mezcla de reacción **10 µL de extracto de ADN** de la primera muestra en el pocillo correspondiente de la **microplaca de amplificación**, tal como se ha establecido anteriormente en la **hoja de trabajo**. Mezclar bien la muestra pipeteando el **ADN extraído** tres veces en la mezcla de reacción. Evitar la formación de burbujas. Proceder de la misma forma con otras muestras del **ADN extraído**.

3. Pipetear de forma exacta, vertiendo en la mezcla de reacción 10 µL de agua para biología molecular (no incluida en este producto) en el pocillo de la microplaca de amplificación del **Negative Control** de amplificación, tal como se ha establecido anteriormente en la **hoja de trabajo**. Mezclar bien el control negativo pipeteando el agua para biología molecular tres veces en la mezcla de reacción. Evitar la formación de burbujas.

4. Según el resultado necesario (cualitativo o cuantitativo), es preciso seguir una de estas dos opciones:

- Si se necesita un resultado **cualitativo** (detección de ADN de HHV7), pipetear de forma exacta, vertiendo en la mezcla de reacción **10 µL de HHV7 - Positive Control** en el pocillo correspondiente de la **microplaca de amplificación**, tal como se ha establecido anteriormente en la **hoja de trabajo**. Mezclar bien el control positivo pipeteando el volumen de 10 µl tres veces en la mezcla de reacción. Evitar la formación de burbujas.

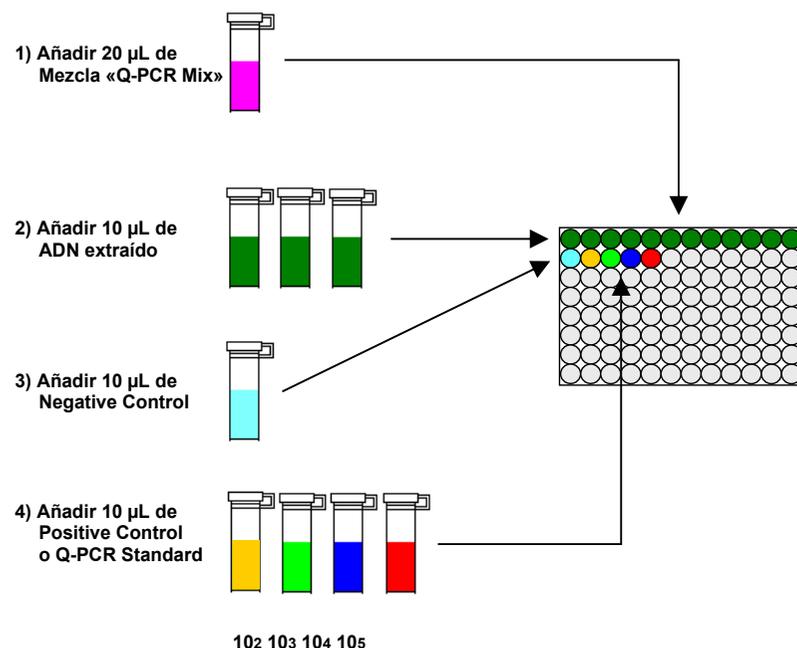
- Si se necesita un resultado **cuantitativo** (cuantificación de ADN de VHH-7), pipetear de forma exacta, vertiendo en la mezcla de reacción **10 µL de HHV7 - PCR Standard 102** en el pocillo correspondiente de la **microplaca de amplificación**, tal como se ha establecido anteriormente en la **hoja de trabajo**. Mezclar bien el calibrador pipeteando el volumen de 10 µl tres veces en la mezcla de reacción. Evitar la formación de burbujas. Proceder de la misma manera con los calibradores **HHV7 Q - PCR Standard 103, 104, 105**.

5. Sellar de forma exacta la **microplaca de amplificación** con la **placa de sellado de amplificación**.

6. Verter el contenido de la **microplaca de amplificación** en el termociclador en tiempo real (en el área de amplificación/detección de los productos de amplificación) y comenzar el ciclo térmico para la amplificación guardando la configuración de la sesión con un nombre de archivo único y reconocible (por ejemplo «año-mes-día-HHV7-ELITECHGROUP»).

**Nota:** al finalizar el ciclo térmico, la **microplaca de amplificación** que contiene los productos de reacción debe extraerse del instrumento y eliminarse sin contaminar el medio ambiente. Para evitar un derrame de los productos de reacción, la **placa de sellado de amplificación no debe retirarse de la microplaca de amplificación**.

La figura siguiente muestra de forma esquemática la preparación de la reacción de amplificación.



**Nota:** si la preparación de la amplificación se realiza con el instrumento **QIAasymphony® SP/AS**, introducir la microplaca que contiene los extractos, los reactivos y la microplaca de amplificación en las ranuras específicas, utilizando adaptadores especiales y, después, seguir las indicaciones de las instrucciones de uso para la configuración del módulo y los pasos indicados por el software.

**Análisis cualitativo de los resultados**

Los valores registrados de la fluorescencia emitida por la sonda específica del VHH-7 (detector FAM «HHV7») y por la sonda específica del Internal Control (detector VIC «IC») en las reacciones de amplificación deben analizarse con el software del instrumento.

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

- Configurar manualmente («Results > Amplification plot > delta Rn vs Cycle») el rango de cálculo para el **punto de referencia** (nivel de fondo de fluorescencia) del ciclo 6 al ciclo 15.

**Nota:** en el caso de una muestra positiva con un alto título de ADN de HHV7, la fluorescencia FAM de la sonda específica del HHV7 puede empezar a aumentar antes del ciclo 15. En este caso, el rango de cálculo para el **punto de referencia** debe adaptarse del ciclo 6 al ciclo en el que la fluorescencia FAM de la muestra empieza a aumentar, según ha detectado el software del instrumento («Results > Component»).

Si se utiliza un instrumento **7300 Real-Time PCR System**, proceder del modo siguiente:

- Configurar manualmente el **umbral** para el detector FAM «HHV7» en **0,1**.
- Configurar manualmente el **umbral** para el «IC» del detector VIC a **0,05**.

Si se utiliza un **7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument**, tener en cuenta lo siguiente:

- Configurar manualmente el **umbral** para el detector FAM «HHV7» en **0,2**.
- Configurar manualmente el **umbral** para el «IC» del detector VIC a **0,1**.

Los valores de fluorescencia emitidos por las sondas específicas en la reacción de amplificación y el valor **umbral** de fluorescencia permiten determinar el **ciclo umbral (Ct)**, es decir, el ciclo en el que la fluorescencia ha alcanzado el valor **umbral**.

En la reacción de amplificación del **Positive Control\***, el valor de **Ct** del VHH-7 («Results > Report») se utiliza para validar la amplificación y la detección, tal como se describe en la tabla siguiente:

Reacción del Positive Control detector FAM «HHV7»	Resultado del ensayo	Amplificación/Detección
Ct ≤25	POSITIVO	CORRECTA

Si el resultado de la reacción de amplificación de **control positivo** es **Ct > 25** o **Ct no determinado** para HHV7, el ADN diana no se ha detectado correctamente. Esto significa que se han producido problemas durante los pasos de amplificación o detección (dosificación incorrecta de la mezcla de reacción o del control positivo, degradación de la mezcla de reacción o del control positivo, configuración incorrecta de la posición del control positivo, configuración incorrecta del ciclo térmico), lo que puede dar lugar a resultados incorrectos. La sesión no es válida y debe repetirse a partir del paso de amplificación.

**\* IMPORTANTE:** Cuando este producto se utiliza para la cuantificación del ADN de VHH-7, se configuran las reacciones del **Q - PCR Standard** en lugar de la reacción del **Positive Control**. En este caso, es necesario validar la amplificación y la detección conforme a la reacción de amplificación del calibrador «**Q-PCR Standard 10s**» (Ct ≤25).

En la reacción de amplificación del **Negative Control**, el valor de **Ct** del VHH-7 («Results > Report») se utiliza para validar la amplificación y la detección tal como se describe en la tabla siguiente:

Reacción del Negative Control detector FAM «HHV7»	Resultado del ensayo	Amplificación/Detección
Ct Undetermined	NEGATIVO	CORRECTA

Si el resultado de la reacción de amplificación para el **control negativo** es diferente de **Ct no determinado (Undetermined)** para HHV7, quiere decir que se ha detectado el ADN diana. Esto significa que se han producido problemas durante el paso de amplificación (contaminación), lo que puede dar lugar a resultados incorrectos y falsos positivos. La sesión no es válida y debe repetirse a partir del paso de amplificación.

En la reacción de amplificación de cada **muestra**, el valor de **Ct** del VHH-7 se utiliza para detectar el ADN diana, mientras que el valor de **Ct** del Internal Control se utiliza para validar la extracción, la amplificación y la detección.

**Nota:** utilizar el software del instrumento («Results > Amplification plot > delta Rn vs Cycle») para verificar que el valor de **Ct** se haya determinado mediante un aumento rápido y uniforme de los valores de fluorescencia y no mediante picos o un aumento del fondo (fondo irregular o alto).

Este producto puede detectar una cantidad mínima de aproximadamente 10 copias de ADN de la región de un gen de la proteína de cápside (U57) del VHH-7 en la reacción de amplificación, que corresponde a los equivalentes genómicos por reacción (límite de detección para el producto, consultar la sección «Características de rendimiento»).

Los resultados, expresados como valor de **Ct** de las reacciones de amplificación de cada **muestra** («Results > Report»), se utilizan tal como se describe en la tabla siguiente:

Reacción de la muestra		Idoneidad de la muestra	Resultado del ensayo	ADN de VHH-7
detector FAM «HHV7»	detector VIC «IC»			
Ct Undetermined	Ct >35 o Ct Undetermined	No idónea	no válido	-
	Ct ≤35	idónea	Válido, negativo	NO DETECTADO
Ct Determined	Ct >35 o Ct Undetermined	idónea	Válido, positivo	DETECTADO
	Ct ≤35	idónea	Válido, positivo	DETECTADO

Si el resultado de la reacción de amplificación de una muestra es **Ct Undetermined** para HHV7 y **Ct > 35** o **Ct Undetermined** para el Internal Control, significa que ha sido imposible detectar correctamente el ADN para el Internal Control. En este caso, se han producido problemas durante el paso de amplificación (amplificación ineficaz o ausente) o durante el paso de extracción (degradación del ADN del Internal Control, muestra con un número demasiado bajo de células, reducción del título de ADN durante la extracción o la presencia de inhibidores en el ADN extraído), lo que puede dar lugar a resultados incorrectos y falsos negativos. La muestra no es idónea, el ensayo no es válido y debe repetirse a partir de la extracción de una nueva muestra.

Si el resultado de la reacción de amplificación de una muestra es **Ct Undetermined** para el VHH-7 y **Ct ≤ 35** para el Internal Control, significa que no se ha detectado ADN de VHH-7 en el ADN extraído de la muestra, si bien no puede descartarse que el ADN de VHH-7 presente un título inferior al límite de detección del producto (consultar la sección «Características de rendimiento»). En este caso, el resultado puede ser un falso negativo.

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

**Nota:** cuando en la reacción de amplificación de una muestra se detecta ADN de VHH-7, el Internal Control puede dar un resultado **Ct > 35** o **Ct Undetermined**. De hecho, la reacción de amplificación de baja eficiencia para el Internal Control puede reemplazarse con la reacción de amplificación de alta eficiencia para ADN de VHH-7. En este caso, la muestra es apta de todos modos y el resultado positivo del ensayo es válido.

#### Análisis cuantitativo de los resultados

Tras el procedimiento de análisis cualitativo de los resultados, se puede llevar a cabo el análisis cuantitativo de los resultados de las muestras positivas.

En las reacciones de amplificación de los cuatro calibradores **Q-PCR Standard**, los valores de **Ct** del VHH-7 se utilizan para calcular la **curva de calibración** («Results > Standard Curve») para la sesión de amplificación y para validar la amplificación y la detección tal como se describe en la tabla siguiente:

Curva de calibración detector FAM «HHV7»	Rango de aceptabilidad	Amplificación/Detección
Coefficiente de correlación (R2)	0,990 ≤ R2 ≤ 1,000	CORRECTA

Si el **coeficiente de correlación (R2)** no se encuentra dentro de los límites establecidos, significa que se han producido problemas durante los pasos de amplificación o detección (dosificación incorrecta de la mezcla de reacción o de los calibradores, degradación de la mezcla de reacción o de los calibradores, configuración incorrecta de la posición de los calibradores, configuración incorrecta del ciclo térmico), lo que puede dar lugar a resultados incorrectos. La sesión no es válida y debe repetirse a partir del paso de amplificación.

Los valores **Ct** del HHV7 en la reacción de amplificación de cada **muestra** y la **curva estándar** de la sesión de amplificación se utilizan para calcular la **cantidad** de ADN diana presente en las reacciones de amplificación de las muestras.

Este producto puede cuantificar de 1.000.000 a 10 copias de ADN para la región de un gen de la proteína de cápside (U57) del VHH-7 en la reacción de amplificación, que corresponden a los equivalentes genómicos por reacción (rango de medición lineal, consultar la sección «Características de rendimiento»), tal como se describe en la tabla siguiente:

Resultado de la muestra detector FAM «HHV7»	Equivalentes genómicos del VHH-7 por reacción
Cantidad >1 × 10 <sup>6</sup>	MÁS DE 1.000.000
1 × 10 <sup>1</sup> ≤ cantidad ≤ 1 × 10 <sup>6</sup>	= Cantidad
Cantidad <1 × 10 <sup>1</sup>	MENOS DE 10

Los resultados (**cantidad**) de cada **muestra** («Results > Report») se utilizan para calcular los equivalentes genómicos (**gEq**) de VHH-7 presentes en la muestra utilizada en la extracción (**Nc**) según la fórmula siguiente:

$$Nc \text{ (gEq/mL)} = \frac{Ve \times \text{Cantidad}}{Vc \times Va \times Ep}$$

Donde:

**Vc** es la cantidad de la muestra utilizada en la extracción con respecto a la unidad de medida necesaria.

**Ep** es la eficiencia del procedimiento, extracción y amplificación, **expresada en decimales**.

**Ve** es el volumen total del producto de extracción **expresado en µL**.

**Va** es el volumen del producto de extracción utilizado en la reacción de amplificación **expresado en µL**.

**Cantidad** es el resultado de la reacción de amplificación de la muestra **expresada en gEq por reacción**.

Si el sistema de extracción **NucliSENS® easyMAG®** se utiliza con muestras de sangre recogida en ETA y se necesita un resultado **expresado en gEq/mL**, la fórmula es la siguiente:

$$\text{Fórmula simplificada para sangre y el NucliSENS® easyMAG®}$$

$$Nc \text{ (gEq/mL)} = 100 \times \text{Cantidad}$$

Si el sistema de extracción **NucliSENS® easyMAG®** se utiliza con muestras de líquido cefalorraquídeo y se necesita un resultado **expresado en gEq/mL**, la fórmula es la siguiente:

$$\text{Fórmula simplificada para líquido cefalorraquídeo y el NucliSENS® easyMAG®}$$

$$Nc \text{ (gEq/mL)} = 20 \times \text{Cantidad}$$

Si el sistema de extracción **QIASymphony® SP/AS** se utiliza con muestras de sangre recogida en EDTA y se necesita un resultado **expresado en gEq/mL**, la fórmula es la siguiente:

$$\text{Fórmula simplificada para sangre y el QIASymphony® SP/AS}$$

$$Nc \text{ (gEq/mL)} = 45 \times \text{Cantidad}$$

**Cálculo de los límites del rango de medición lineal**

Cuando se utiliza un método de extracción determinado, los límites del rango de medición lineal, expresados en gEq/mL, pueden calcularse a partir del rango de medición lineal de la reacción de amplificación conforme a la siguiente fórmula:

$$\text{Límite inferior (gEq/mL)} = \frac{V_e \ 10 \ \text{gEq}}{V_c \times V_a \times E_p}$$

$$\text{Límite superior (gEq/mL)} = \frac{V_e \ 1.000.000 \ \text{gEq}}{V_c \times V_a \times E_p}$$

Si el sistema de extracción NucliSENS® easyMAG® se utiliza con muestras de sangre recogida en EDTA, la fórmula es la siguiente:

Limites del rango de medición lineal (gEq/mL) con el NucliSENS® easyMAG®
Límite inferior (gEq/mL) = 100 × 10 gEq
Límite superior (gEq/mL) = 100 × 1.000.000 gEq
de 1000 a 100,000,000 gEq/mL

Si el sistema de extracción NucliSENS® easyMAG® se utiliza con líquido cefalorraquídeo, la fórmula es la siguiente:

Limites del rango de medición lineal (gEq/mL) con el NucliSENS® easyMAG®
Límite inferior (gEq/mL) = 20 × 10 gEq
Límite superior (gEq/mL) = 20 × 1.000.000 gEq
de 200 a 20,000,000 gEq/mL

Si el sistema de extracción QIASymphony® SP/AS se utiliza con muestras de sangre recogida en EDTA, la fórmula es la siguiente:

Limites del rango de medición lineal (gEq/mL) con el QIASymphony® SP/AS
Límite inferior (gEq/mL) = 45 × 10 gEq
Límite superior (gEq/mL) = 45 × 1.000.000 gEq
de 450 a 45,000,000 gEq/mL

**CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO CON OTROS SISTEMAS**

**Sensibilidad analítica: límite de detección**

La sensibilidad analítica de este ensayo permite detectar la presencia de unas 10 moléculas de ADN diana en 10 µL de ADN añadido a la reacción de amplificación.

La sensibilidad analítica de este ensayo, definida como límite de detección, se evaluó utilizando ADN plasmídico que contenía el producto de amplificación en una concentración inicial medida con el espectrofotómetro. El ADN plasmídico se diluyó a un título de 10 copias/10 µL con ADN del IC, diluidas a un título de 20.000 copias/10 µL, en ADN genómico humano a un título de 500 ng/10 µL. Esta muestra se analizó en 50 duplicados realizando la amplificación con productos de ELITechGroup S.p.A.

Los resultados finales se resumen en la tabla siguiente.

Muestras	N.º	positivas	negativas
10 copias de ADN plasmídico + 20.000 copias de ADN de IC + 500 ng de ADN genómico humano	50	50	0

**Sensibilidad analítica: rango de medición lineal**

La sensibilidad analítica de este ensayo permite efectuar la cuantificación de 1.000.000 a 10 moléculas de ADN diana en los 10 µL de ADN añadidos a la reacción de amplificación.

La sensibilidad analítica de este ensayo se determinó utilizando un panel de diluciones (1 log<sub>10</sub> pasos de dilución) de un ADN plasmídico que contenía el producto de amplificación, cuya concentración inicial se midió con un espectrofotómetro. Las diluciones de 10<sup>7</sup> moléculas por reacción a 10<sup>1</sup> moléculas por reacción se analizaron en 9 duplicados, realizando la amplificación con productos de ELITechGroup S.p.A.

El análisis de los datos obtenidos, realizado mediante regresión lineal, demostró que el ensayo presenta una respuesta lineal para todas las diluciones (coeficiente de correlación cuadrática superior a 0,99).

El límite superior del rango de medición lineal se estableció a 10<sup>6</sup> moléculas por reacción, correspondientes a los equivalentes genómicos por reacción, dentro de un logaritmo a partir de la concentración más alta (10<sup>5</sup> moléculas/10 µL) del calibrador de amplificación «Q-PCR Standard».

El límite inferior del rango de medición lineal se estableció a 10 moléculas por reacción, correspondientes a los equivalentes genómicos por reacción, dentro de un logaritmo a partir de la concentración más baja (10<sup>2</sup> moléculas/10 µL) del calibrador de amplificación «Q-PCR Standard».

Los resultados finales se resumen en la tabla siguiente.

Rango de medición lineal (gEq/reacción)	
Límite superior	1.000.000 gEq de ADN/reacción
Límite inferior	10 gEq de ADN/reacción

Los límites del rango de medición lineal, como **gEq/ml**, que conciernen al kit de extracción empleado se calculan en la página 26.

**Sensibilidad analítica: Precisión y exactitud**

La precisión del ensayo, definida como la variabilidad de los resultados obtenidos con varios duplicados de una muestra analizada en la misma sesión, permitió obtener un coeficiente de variación porcentual (%CV) medio de un 25,9 % de las cantidades medidas, dentro del margen de 10<sup>6</sup> a 10<sup>1</sup> moléculas, en los 10 µL de ADN añadidos a la reacción de amplificación.

La exactitud del ensayo, definida como la diferencia entre la media de los resultados obtenidos con varios duplicados de una muestra analizada en la misma sesión y la concentración teórica de la muestra, permitieron obtener una inexactitud porcentual media (% de inexactitud) de un 9,0 % de las cantidades medidas, dentro del margen de 10<sup>6</sup> a 10 moléculas, en los 10 µL de ADN añadidos a la reacción de amplificación.

La precisión y la exactitud se calcularon utilizando los datos obtenidos para el estudio del rango de medición lineal.

**Sensibilidad analítica: eficiencia de detección y cuantificación en distintos genotipos/subtipos**

La sensibilidad analítica del ensayo, definida como la eficacia de detección y cuantificación en distintos genotipos/subtipos, se evaluó comparando secuencias con bases de datos de nucleótidos.

El análisis de las regiones elegidas para la hibridación de los cebadores y de la sonda fluorescente en la alineación de las secuencias disponibles en la base de datos para el gen **U57** del VHH-7 mostró conservación y ausencia de mutaciones reseñables.

**Sensibilidad diagnóstica: confirmación de las muestras positivas**

La sensibilidad diagnóstica del ensayo, definida como la confirmación de las muestras clínicas positivas, se evaluó analizando algunas muestras clínicas positivas para ADN de VHH-7.

La sensibilidad diagnóstica se evaluó utilizando como material de referencia 23 muestras negativas de sangre recogida en EDTA (analizadas con un producto de amplificación anidada para diagnóstico *in vitro* con marcado CE), que se enriquecieron a un título igual a tres veces el límite de detección para ADN de VHH-7 con la muestra de referencia certificada «HHV7 Culture Fluid» (ref. 0810071CF, ZeptoMetrix, EE. UU.). Cada muestra se analizó llevando a cabo el procedimiento entero de análisis, extracción y amplificación con productos ELITechGroup S.p.A.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente:

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre recogida en EDTA enriquecida con ADN de VHH-7	23	23	0

La sensibilidad diagnóstica del ensayo fue del 100 %.

La sensibilidad diagnóstica se evaluó utilizando como material de referencia 25 muestras de líquido cefalorraquídeo negativas para ADB de VHH-7 (analizadas con un producto de amplificación anidada para diagnóstico *in vitro* con marcado CE), que se enriquecieron a un título igual a tres veces el límite de detección para ADN de VHH-7 con la muestra de referencia certificada «HHV7 Culture Fluid» (ref. 0810071CF, ZeptoMetrix, EE. UU.). Cada muestra se analizó realizando el procedimiento entero de análisis: extracción con el sistema automático NucliSENS® easyMAG® y amplificación con productos de ELITechGroup S.p.A.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente:

Muestras	N	positivas	negativas
Líquido cefalorraquídeo enriquecido con ADN de VHH-7	25	25	0

La sensibilidad diagnóstica del ensayo fue del 100 %.

**Especificidad analítica: ausencia de reactividad cruzada con marcadores potencialmente interferentes**

La especificidad analítica del ensayo, expresada como ausencia de reactividad cruzada con otros marcadores potencialmente interferentes, se evaluó comparando las secuencias con las bases de datos de nucleótidos.

El análisis de la alineación de las secuencias de los cebadores y de la sonda fluorescente con las secuencias disponibles en las bases de datos de microorganismos diferentes del VHH-7, inclusive los genomas completos del CMV, del VEB y del VHH-6, los virus del herpes humano que son más similares al VHH-7, mostró especificidad y ausencia de homología reseñables.

La especificidad analítica del ensayo, expresada como ausencia de reactividad cruzada con otros marcadores potencialmente interferentes, se evaluó utilizando muestras clínicas negativas para ADN de VHH-7, pero positivas para otros patógenos.

La especificidad analítica se verificó utilizando como material de referencia 12 muestras de sangre recogida en EDTA que habían dado un resultado negativo para ADN de VHH-7 (analizadas con un producto de amplificación anidada para diagnóstico *in vitro*), pero positivo para ADN de otros patógenos (CMV, VEB y VHH-6). Cada muestra se analizó llevando a cabo el procedimiento entero de análisis, extracción y amplificación con productos de ELITechGroup S.p.A.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente:

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre recogida en EDTA positiva para CMV	4	0	4
Sangre recogida en EDTA positiva para EBV	6	0	6
Sangre recogida en EDTA positiva para VHH-6	1	0	1
Sangre recogida en EDTA positiva para VHH-6 y VEB	1	0	1

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

La especificidad diagnóstica del ensayo, definida como confirmación de las muestras negativas, se evaluó analizando algunas muestras clínicas negativas para ADN de VHH-7.

La especificidad diagnóstica se evaluó utilizando como material de referencia 23 muestras de sangre recogida en EDTA negativas para ADN de VHH-7 (analizadas con un producto de amplificación anidada para diagnóstico *in vitro* con marcado CE). Cada muestra se analizó llevando a cabo el procedimiento entero de análisis, extracción y amplificación con productos ELITechGroup S.p.A.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente:

Muestras	N	positivas	negativas
Sangre recogida EDTA negativa para ADN de VHH-7	23	0	23

La sensibilidad diagnóstica del ensayo en este análisis fue del 100 %.

La especificidad diagnóstica se evaluó utilizando como material de referencia 26 muestras de líquido cefalorraquídeo negativas para ADN de VHH-7, que se habían analizado con un producto de amplificación anidada para diagnóstico *in vitro* con marcado CE. Cada muestra se analizó realizando el procedimiento entero de análisis: extracción con el sistema automático NucliSENS® easyMAG® y amplificación con productos de ELITechGroup S.p.A.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente:

Muestras	N	positivas	negativas
Líquido cefalorraquídeo negativo para ADN de VHH-7	26	1	25

Una muestra dio un resultado positivo distinto del resto para el ADN de VHH-7, con un título inferior a 1 copia/reacción. Esta diferencia puede explicarse teniendo en cuenta que las muestras con títulos tan bajos pueden ofrecer resultados positivos y negativos de manera alterna y aleatoria.

La sensibilidad diagnóstica del ensayo en este análisis fue del 96,1 %.

**Nota:** los datos y resultados completos de las pruebas realizadas para evaluar las características de rendimiento del producto con las matrices y los instrumentos se incluyen en la documentación técnica del producto «HHV7 ELITE MGB® Kit», FTP RTS037PLD.

**BIBLIOGRAFÍA**

F. Drago *et al.* (1997) *Lancet* 349: 1367–1368 (Anexo n.º 1, 2 páginas);  
 E. A. Lukhtanov *et al.* (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e30  
 Michael Kidd *et al.* (1996) *The Journal of Infectious Diseases* 174: 396-401  
 K. Linnet *et al.* (2004) *Clin. Chem.* 50: 732-740.

**LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**

Utilizar este producto únicamente con las siguientes muestras humanas: sangre, plasma recogido en EDTA y líquido cefalorraquídeo (LCR).

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

**HHV7 ELITE MGB® Kit**  
**Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real**

**REF** RTS037PLD

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

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

No utilizar ADN extraído que esté contaminado con hemoglobina, dextrano, Ficoll®, etanol o 2-propanol, pues estas sustancias inhiben la reacción de amplificación de ácidos nucleicos y pueden dar lugar a resultados no válidos.

No utilizar con este producto ADN extraído que contenga altas cantidades de ADN genómico humano que pueda inhibir la reacción de amplificación de ácidos nucleicos.

No se dispone de datos sobre el rendimiento del producto con ADN extraído de las siguientes muestras clínicas: suspensiones de leucocitos o de granulocitos y líquido amniótico.

No se dispone de datos sobre la inhibición provocada por antiviricos, antibióticos, antineoplásicos o inmunodepresores.

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

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

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

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

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

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

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

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

En ocasiones, los resultados obtenidos con este producto pueden ser «no válidos» debido a un error en el Internal Control. Si esto ocurre, es necesario volver a analizar la muestra, empezando por el paso de extracción, lo que puede dar lugar a retrasos en la obtención de los resultados definitivos.

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

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

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

**HHV7 ELITE MGB® Kit**  
**Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real**

**REF** RTS037PLD

**PROBLEMAS Y SOLUCIONES**

**ELITE InGenius y ELITE BeGenius**

<b>Reacción no válida del calibrador Q-PCR-Standard o del Positive Control</b>	
<b>Posibles causas</b>	<b>Soluciones</b>
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la posición de la mezcla PCR Mix, así como la de los calibradores Q-PCR-Standard y la del Positive Control. Comprobar el volumen de la mezcla PCR Mix, así como el de los calibradores Q-PCR-Standard y el del Positive Control.
Degradación de la PCR Mix (mezcla de PCR).	No utilizar la PCR Mix durante más de 7 sesiones independientes: 3 horas en el bloque refrigerado de la «Inventory Area» (área de inventario) o en la «Cooler Unit». No utilizar la PCR Mix durante más de 3 sesiones consecutivas: 7 horas en el bloque refrigerado de la «Inventory Area» (área de inventario) o en la «Cooler Unit». No dejar la PCR Mix a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. Utilizar una nueva alícuota de la PCR Mix.
Degradación de los calibradores Q-PCR-Standard o del Positive Control.	No utilizar el Q-PCR Standard para más de 4 sesiones independientes: 2 horas cada una en el área de extracción o en la «Cooler Unit». No utilizar el Positive Control para más de 4 sesiones independientes: 3 horas cada una en el área de extracción o en la «Cooler Unit». Utilizar nuevas alícuotas de los calibradores Q-PCR-Standard o del Positive Control.
Error del equipo.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

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

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

**HHV7 ELITE MGB® Kit**  
**Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real**

**REF** RTS037PLD

<b>Reacción no válida de la muestra</b>	
<b>Posibles causas</b>	<b>Soluciones</b>
Degradación de la plantilla del Internal Control.	Utilizar una nueva alícuota del Internal Control.
Inhibición debida a la presencia de sustancias interferentes en la muestra.	Repetir la amplificación con una dilución de 1:2 en agua para biología molecular de la muestra eluida en una sesión en el modo de procesamiento «PCR Only». Repetir la extracción con una dilución de 1:2 en agua para biología molecular de la muestra en una sesión realizada en el modo de procesamiento «Extract + PCR».
Error del equipo.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

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

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

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

**HHV7 ELITE MGB® Kit**  
**Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real**

**REF** RTS037PLD

**Plataforma abierta:**

**No se ha detectado ADN diana en las reacciones del Positive Control o del calibrador Q-PCR Standard, o el coeficiente de correlación de la curva de calibración no es válido**

<b>Posibles causas</b>	<b>Soluciones</b>
Distribución incorrecta en los pocillos de la microplaca.	Distribuir con cuidado las reacciones en los pocillos de la microplaca y seguir las instrucciones de la hoja de trabajo. Comprobar los volúmenes de la mezcla de reacción distribuida. Revisar los volúmenes del Positive Control o del calibrador distribuido.
Degradación de la sonda.	Utilizar una nueva alícuota de la mezcla de reacción.
Degradación del Positive Control o del calibrador.	Utilizar una nueva porción de control positivo o de calibrador.
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la configuración de la posición del control positivo o las reacciones del calibrador en el instrumento. Comprobar la configuración del ciclo térmico en el instrumento.

**Se ha detectado ADN diana en la reacción del Negative Control**

<b>Posibles causas</b>	<b>Soluciones</b>
Distribución incorrecta en los pocillos de la microplaca.	Evitar derramar el contenido de la probeta de la muestra. Cambiar siempre las puntas entre una muestra y otra. Prestar atención al distribuir las muestras, los controles negativos, los controles positivos o los calibradores en los pocillos de la microplaca y seguir las instrucciones de la hoja de trabajo.
Error al configurar el instrumento	Comprobar la configuración de la posición de las muestras, de los controles negativos, de los controles positivos o de los calibradores en el instrumento.
Sellado incorrecto de la microplaca.	Proceder con cuidado al sellar la microplaca.
Contaminación del agua para biología molecular.	Utilizar una nueva alícuota de agua estéril.
Contaminación de la mezcla de reacción.	Utilizar una nueva alícuota de la mezcla de reacción.
Contaminación del área de extracción/preparación para las reacciones de amplificación.	Limpiar las superficies y los instrumentos con detergentes acuosos, lavar las batas de laboratorio y sustituir las probetas y las puntas utilizadas.

**Fluorescencia de fondo irregular o alto en las reacciones**

<b>Posibles causas</b>	<b>Soluciones</b>
Distribución incorrecta de la muestra.	Mezclar con cuidado las muestras, los controles negativos y los controles positivos o los calibradores en la mezcla de reacción, pipeteando tres veces. Evitar la formación de burbujas.
Error de configuración del punto de referencia.	Configurar el rango de cálculo de referencia entre los ciclos en los que la fluorescencia de fondo ya se ha estabilizado (comprobar los datos de «Results» o «Component») y la fluorescencia de la señal aún no ha empezado a aumentar, p. ej., del ciclo 6 al ciclo 15. Utilizar el cálculo automático del punto de referencia configurando la opción «Auto Baseline».

**Curva de disociación anómala**

<b>Posibles causas</b>	<b>Soluciones</b>
Ausencia de un pico definido. Pico definido, pero diferente del de otras muestras y del de los calibradores o del control positivo.	Verificar que el valor de Ct del detector FAM sea inferior a 30. Una alta cantidad de producto de amplificación al final de la reacción puede interferir con el análisis de la curva de fusión. Repetir la amplificación de la muestra para confirmar la presencia del ADN diana con una posible mutación. El ADN diana de la muestra debe secuenciarse para confirmar la mutación.

SÍMBOLOS

AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA  
LIMITADA

- REF** Número de catálogo.
-  Límite superior de temperatura.
- LOT** Código de lote.
-  Fecha de caducidad (último día del mes).
- IVD** 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*.
-  Contenido suficiente para «N» análisis.
-  Atención: Consultar las instrucciones de uso.
- CONT** Contenido.
-  Manténgase fuera de la luz del sol
-  Fabricante.

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

Los reactivos de detección ELITE MGB® están cubiertos por una o varias patentes de EE. UU., 6972339, 7112684, 7319022, 7348146, 7381818, 7541454, 7582739, 7601851, 7671218, 7718374, 7723038, 7759126, 7767834, 7851606, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8569516, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529, así como por patentes europeas 1430147, 1687609, 1781675, 1789587, 2689031, 2714939, 2736916, 2997161 y por solicitudes de patentes actualmente pendientes.

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

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

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

NucliSENS® easyMAG® son marcas registradas de bioMérieux SA.

QIASymphony® es una marca registrada de QIAGEN.

Ficoll® es una marca registrada de GE Healthcare Bio-Sciences AB.

# HHV7 ELITE MGB® kit used in association with Genius series® platforms



Ref: RTS037PLD

**Caution, this document is a simplified version of the official instruction for use. This document is available only in English. Please refer to the complete document before use: [www.elitechgroup.com](http://www.elitechgroup.com)**

## Intended use

The HHV7 ELITE MGB® Kit product is an *in vitro* diagnostic medical device intended to be used by healthcare professionals as quantitative nucleic acids Real-Time PCR assay for the detection and the quantification of the DNA of **Human Herpes Virus 7 (HHV7)**, extracted from clinical specimens.

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

The product is intended for use in the diagnosis and monitoring of HHV7 infections.

The results must be interpreted in combination with all relevant clinical observations and laboratory outcomes.

## Amplified sequence

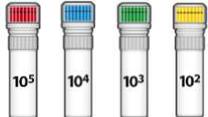
	Gene	Fluorophore	Channel
Target	capsid protein gene U57	FAM	HHV7
Internal Control	IC2	AP525 (VIC)	IC

## Validated matrix

› **Whole blood** EDTA

› **Plasma** EDTA

## Kit content and related products

HHV7 ELITE MGB KIT RTS037PLD	HHV7 ELITE Standard STD037PLD	HHV7 - ELITE Positive Control CTR037PLD
 X 4	 X 2	 X 1
Ready-to-use PCR Mix 4 tubes of 540 µL 96 reactions per kit 5 freeze-thaw cycles	Ready-to-use 4 levels: 10 <sup>5</sup> , 10 <sup>4</sup> , 10 <sup>3</sup> , 10 <sup>2</sup> 2 set of 4 tubes of 160 µL 4 freeze-thaw cycles each set (4 separate sessions on board)	Ready-to-use PC 1 tube of 160 µL 4 reactions per kit 4 freeze-thaw cycles (4 separate sessions on board)
Maximum shelf-life:	<b>24 months</b>	
Storage temperature	<b>≤ -20°C</b>	

## Other products required not provided in the kit

- |   |   |
|---|---|
| › <b>ELITE InGenius instrument:</b> INT030                      | › <b>HHV7 ELITE Standard:</b> STD037PLD           |
| › <b>ELITE BeGenius instrument:</b> INT040                      | › <b>HHV7 - ELITE Positive Control:</b> CTR037PLD |
| › <b>ELITE InGenius SP200 Extraction Cartridge:</b> INT032SP200 | › <b>ELITE InGenius Waste Box:</b> F2102-000      |
| › <b>ELITE InGenius PCR Cassette:</b> INT035PCR                 | › <b>300 µL Filter Tips Axygen:</b> TF-350-L-R-S  |
| › <b>ELITE InGenius SP200 Consumable Set:</b> INT032CS          | › <b>1000 µL Filter Tips Tecan:</b> 30180118      |
| › <b>CPE - Internal Control:</b> CTCRCPE                        |   |

## ELITE InGenius and ELITE BeGenius Protocol

- |                               |        |                               |         |
|-------------------------------|--------|-------------------------------|---------|
| › Sample volume               | 200 µL | › Unit of quantitative result | cp/mL   |
| › CPE Internal Control volume | 10 µL  | › Frequency of controls       | 15 days |
| › Total eluate volume         | 100 µL | › Frequency of calibration    | 60 days |
| › PCR eluate input volume     | 10 µL  |                               |         |
| › HHV7 Q-PCR Mix volume       | 20 µL  |                               |         |

## ELITE InGenius and ELITE BeGenius Performances

Matrix	Limit of Detection	Diagnostic Sensitivity	Diagnostic Specificity
Whole Blood	500 cp/mL	100% 34/34*	100% 38/38*
Plasma	500 cp/mL	100% 33/33*	100% 33/33*

\*confirmed samples/ tested samples

### Sample preparation

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

Sample type	Transport/Storage conditions			
	+16 / +26 °C (room temperature)	+2 / +8 °C	-20 ±10 °C	-70 ±15 °C
Whole Blood collected in EDTA	≤ 24 hours	≤ 72 hours	≤ 1 month	> 1 month
Plasma collected in EDTA	≤ 24 hours	≤ 72 hours	≤ 1 month	> 1 month

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

### ELITE InGenius Procedures

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

#### Before analysis

- |   |  |  |
|---|--|--|
| 1. Switch on ELITE InGenius.<br>Log in with username and password.<br>Select the mode "CLOSED". | 2. Verify calibrators: <b>HHV7 Q-PCR Standard</b> in the "Calibration menu" Verify controls: <b>HHV7 Positive Control</b> and <b>HHV7 Negative Control</b> in the "Control menu" <i>Note:</i> All must have been run, approved and not expired | 3. Thaw the <b>HHV7 PCR Mix</b> and the <b>CTRCPE</b> tubes<br>Vortex gently<br>Spin down 5 sec. |
|---|--|--|

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

- |   |  |  |
|---|--|--|
| 1. Select "Perform Run" on the touch screen   | 2. Verify the extraction volumes:<br>Input: "200 µL", elution: "100 µL"                          | 3. Scan the sample barcodes with hand-barcode reader or type the sample ID |
| 4. Select the "Assay protocol" of interest: HHV7 ELITE_PL_200_100 or HHV7 ELITE_WB_200_100                      | 5. Select the method "Extract + PCR" and the sample position:<br>Primary tube or Extraction Tube | 6. Load the PCR Mix and Internal Control in the Inventory Block            |
| 7. Load: PCR cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tips, Extraction Tube racks and primary sample racks | 8. Close the door<br>Start the run   | 9. View, approve and store the results                                     |

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

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

- |  |  |  |
|--|--|--|
| 1. Select "Perform Run" on the touch screen  | 2. Verify the extraction volumes:<br>Input: "200 µL", elution: "100 µL"    | 3. Scan the sample barcodes with hand-barcode reader or type the sample ID |
| 4. Select the "Assay protocol" of interest: HHV7 ELITE_PC and HHV7 ELITE_NC or HHV7 ELITE_STD) | 5. Select the method "PCR only" and set the sample position "Elution tube" | 6. Load the PCR Mix in the inventory block                                 |
| 7. Load: PCR cassette rack and the Elution tube rack with the extracted nucleic acid           | 8. Close the door<br>Start the run   | 9. View, approve and store the results                                     |

## ELITE BeGenius Procedures

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

### Before analysis

<p><b>1.</b> Switch on ELITE BeGenius. Log in with username and password. Select the mode "<b>CLOSED</b>".</p>	<p><b>2.</b> Verify calibrators: <b>HHV7 Q-PCR Standard</b> in the "Calibration" menu. Verify controls: <b>HHV7 Positive Control</b> and <b>HHV7 Negative Control</b> in the "Controls" menu. <i>Note:</i> All must have been run, approved and not expired.</p>	<p><b>3.</b> Thaw the <b>HHV7 PCR Mix</b> and the <b>CTRCPE</b> tubes. Vortex gently. Spin down 5 sec.</p>
--	--	--

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

<p><b>1.</b> Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «Extract + PCR»</p>	<p><b>2.</b> Insert the Sample Rack with the barcoded samples in the Cooler Unit. The barcode scan is already active</p>	<p><b>3.</b> Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Elution: "100 µL"</p>
<p><b>4.</b> Select the "Assay protocol" of interest (HHV7 ELITE_Be_PL_200_100 or HHV7 ELITE_Be_WB_200_100) <b>Note:</b> if a second extraction is performed repeat steps from 2 to 4</p>	<p><b>5.</b> Print the labels to barcode the empty elution tubes. Load the tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit</p>	<p><b>6.</b> Load the PCR-Mix and the Internal Control in Reagent Rack/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit</p>
<p><b>7</b> Load "PCR Basket" with "PCR Cassette" and the "Extraction Basket" with the "ELITE InGenius SP 200" extraction cartridges and the required extraction consumables</p>	<p><b>8.</b> Close the door. Start the run</p>	<p><b>9.</b> View, approve and store the results</p>

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

<p><b>1.</b> Select "Perform Run" on the touch screen and the click on the run mode «PCR Only»</p>	<p><b>2.</b> Load the extracted nucleic acid or controls or standards barcoded tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit</p>	<p><b>3.</b> Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "100 µL"</p>
<p><b>4</b>Select the "Assay protocol" of interest (HHV7 ELITE_Be_PC and HHV7 ELITE_Be_NC or HHV7 ELITE_Be_STD)</p>	<p><b>5.</b> Load the PCR-Mix in Reagent/ Elution Rack and insert it in the Cooler Unit</p>	<p><b>6.</b> Load "PCR Basket" with "PCR Cassette"</p>
<p><b>7.</b> Close the door. Start the run</p>	<p><b>8.</b> View, approve and store the results</p>	