



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 16/02/2023

### IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

# «HEV ELITe MGB<sup>®</sup> Kit» Ref. RTS130ING

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

- *Troubleshooting section: added the possibility of discriminating possible mutants by the presence of a defined peak of the Melting Temperature with a value different from that of the Positive Control*
- *New data of Inclusivity*

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



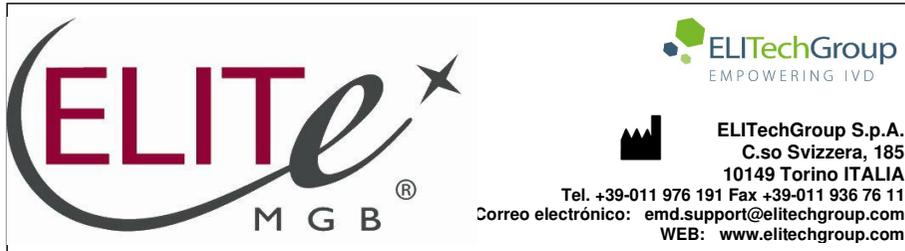
LA REVISIÓN DE ESTE IFU ES COMPATIBLE TAMBIÉN CON LA VERSIÓN ANTERIOR DEL KIT



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

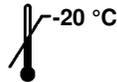


DIE REVIEW VON DIESER IFU IST KOMPATIBLE MIT DER VORIGE VERSION VON DEM TEST-KIT



**HEV ELITe MGB® Kit**  
 reactivos para la retrotranscriptasa de ARN y la  
 amplificación en tiempo real de ADNc

REF RTS130ING



**INDICE**

- USO PREVISTO
- PRINCIPIO DEL ENSAYO
- DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO
- MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO
- MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO
- OTROS PRODUCTOS NECESARIOS
- ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES
- MUESTRAS Y CONTROLES
- PROCEDIMIENTO
- CARACTERÍSTICAS DE LAS PRESTACIONES
- BIBLIOGRAFÍA
- LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO
- PROBLEMAS Y SOLUCIONES
- SÍMBOLOS
- AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA

- página 1
- página 2
- página 3
- página 3
- página 3
- página 3
- página 4
- página 5
- página 7
- página 15
- página 20
- página 21
- página 22
- página 24
- página 25

**USO PREVISTO**

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

El ensayo es capaz de detectar ARN del HEV perteneciente a los genotipos 1, 2, 3, 3a y 4.

El ensayo debe realizarse utilizando el sistema **ELITE InGenius®**, comenzando con plasma recogido en EDTA y sobrenadante de heces.

El producto se utiliza para fines de diagnóstico de hepatitis causada por el HEV junto con los datos clínicos del paciente y los resultados de otras pruebas analíticas.

**HEV ELITe MGB® Kit**  
 reactivos para la retrotranscriptasa de ARN y  
 la amplificación en tiempo real de ADNc

REF RTS130ING

**PRINCIPIO DEL ENSAYO**

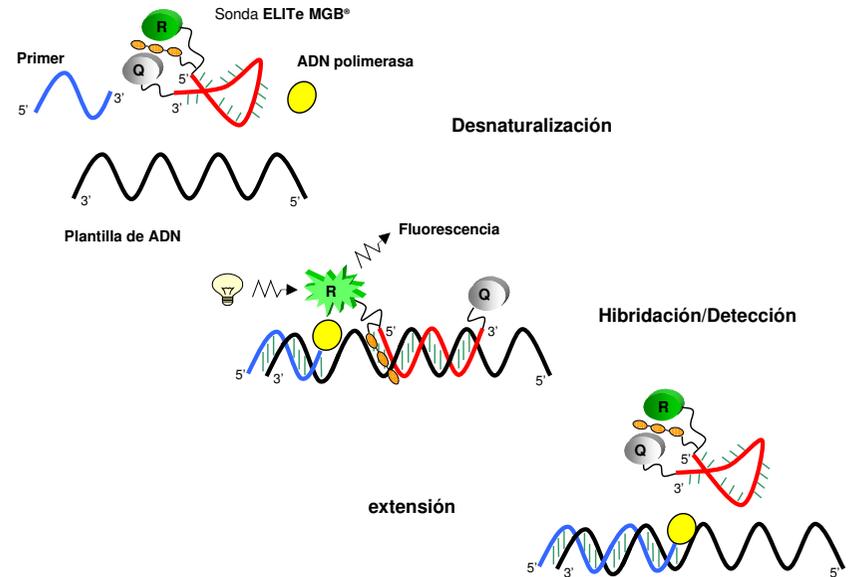
El ensayo consiste en una retrotranscriptasa y una reacción de amplificación en tiempo real (con un método de un solo paso).

Comenzando con el ARN extraído de la muestra que va a analizarse, en el cartucho de PCR se lleva a cabo una reacción de retrotranscriptasa y de amplificación específica de la región ORF-2 del HEV y de una región del ARN genómico del bacteriófago MS2 (control interno exógeno de extracción e inhibición).

La sonda específica del HEV con la tecnología ELITE MGB®, marcada con el fluoróforo FAM, se activa cuando se hibrida con el producto específico de la reacción de amplificación del HEV. La sonda específica del control interno con la tecnología ELITE MGB®, marcada con el fluoróforo AP525, se activa cuando se hibrida con el producto específico de la reacción de amplificación del control interno. A medida que aumenta el producto específico de la reacción de amplificación, la emisión de fluorescencia aumenta y el equipo la mide y la registra. El procesamiento de los datos permite detectar la presencia y el título del ARN del HEV en la muestra.

El ensayo se ha validado con **ELITE InGenius**, un sistema integrado y automatizado para la extracción, la amplificación y la detección de ácidos nucleicos, así como para la interpretación de resultados.

En la siguiente ilustración se muestra de forma esquemática el mecanismo de activación y la emisión de fluorescencia de la sonda de tecnología ELITE MGB®. Hay que tener en cuenta que la sonda no se hidroliza durante el ciclo de amplificación, por lo que puede utilizarse para analizar la curva de disociación y para calcular la temperatura de fusión.



**DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO**

El producto «HEV ELITE MGB® Kit» incluye los siguientes componentes:

• **Mezcla HEV PCR Mix**

Una mezcla optimizada y estabilizada de oligonucleótidos y reactivos para la retrotranscriptasa y la amplificación en tiempo real, **dosificada previamente en cuatro probetas** (tapón blanco, sin inserto). Cada probeta contiene **600 µL** de solución, suficiente para **24 pruebas** (procesando al menos 5 muestras por ejecución) cuando se usa el sistema **ELITE InGenius**.

Los primers y la sonda específica del HEV (estabilizada mediante el grupo MGB®, marcada con el fluoróforo FAM e inactivada con una molécula no fluorescente) son específicos de la región ORF-2 del HEV. La señal del HEV se detecta mediante el canal 1 del sistema **ELITE InGenius**.

Los primers y la sonda específica del control interno: (estabilizada mediante el grupo MGB®, marcada con el fluoróforo AP525 e inactivada con una molécula no fluorescente) son específicos de una región del ARN genómico del **bacteriófago MS2**. La señal del control interno (CI) se detecta mediante el canal 2 del sistema **ELITE InGenius**.

La mezcla de reacción incluye también el tampón, magnesio cloruro, los fosfatos de nucleótidos y el fluoróforo AP593, que pueden utilizarse como referencia pasiva para la normalización de la fluorescencia, y la enzima ADN polimerasa con capacidad arranque en caliente («hot-start»).

• **Mezcla RT EnzymeMix**

Una mezcla optimizada y estabilizada de enzimas para la retrotranscriptasa, **dosificadas previamente en dos probetas** (tapón con inserto negro). Cada probeta contiene **20 µL** de solución, suficiente para **48 pruebas** cuando se usa el **ELITE InGenius**.

La mezcla incluye la enzima para la retrotranscriptasa.

El producto permite efectuar **96 pruebas cuando se utiliza el sistema ELITE InGenius**, incluyendo los controles.

**MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO**

Componente	Descripción	Cantidad	Clasificación de peligros
HEV PCR Mix	mezcla de reactivos para la retrotranscriptasa y la amplificación en tiempo real <b>tapón blanco</b>	4 x 600 µL	-
RT EnzymeMix	Retrotranscriptasa <b>tapón con inserto negro</b>	2 x 20 µL	-

**MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO**

- Campana de flujo laminar.
- Guantes sin talco desechables de nitrilo o de otro material similar.
- Agitadora vorticial.
- Microcentrifugadora de mesa (12.000–14.000 rpm).
- Micropipetas y puntas estériles con filtro para aerosoles o puntas estériles de desplazamiento positivo (2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Tubo Sarstedt de 2,0 mL con base de apoyo y tapón roscado (Sarstedt ref. 72.694.005).
- Agua de grado molecular para biología.

**OTROS PRODUCTOS NECESARIOS**

Los reactivos para la extracción del ARN de las muestras que van a analizarse, la plantilla del control interno, el control positivo de amplificación, los estándares de ADN en cantidad conocida y los consumibles **no están** incluidos en el volumen de suministro de este producto.

Para la extracción automática de ácidos nucleicos, la amplificación en tiempo real y la interpretación de las muestras que van a analizarse, es preciso utilizar el equipo «**ELITE InGenius**» (ELITechGroup S.p.A., ref. INT030) y los protocolos de ensayo específicos (ELITechGroup S.p.A):

- parámetros para la amplificación de calibradores «**HEV ELITE STD**»,
  - parámetros para la amplificación del control positivo «**HEV ELITE PC**»,
  - parámetros para la amplificación del control negativo «**HEV ELITE NC**»,
  - parámetros para las muestras de plasma que van a analizarse «**HEV ELITE PL\_200\_100**»,
  - parámetros para las muestras de heces que van a analizarse «**HEV ELITE ST\_200\_100**».
- Con el equipo «**ELITE InGenius**» se requieren los siguientes productos genéricos:
- cartuchos de extracción «**ELITE InGenius® SP 200**» (ELITechGroup S.p.A., ref. INT032SP200),
  - consumibles para extracción «**ELITE InGenius® SP 200 Consumable Set**» (ELITechGroup S.p.A., ref. INT032CS),
  - cartuchos de amplificación «**ELITE InGenius® PCR Cassette**» (ELITechGroup S.p.A., ref. INT035PCR),
  - puntas «**300 µL Filter Tips Axygen**» (Axygen BioScience Inc., CA, EE. UU., ref. TF-350-L-R-S),
  - cajas «**ELITE InGenius® Waste Box**» (ELITechGroup S.p.A., ref. F2102-000).

Como plantilla de control interno de extracción e inhibición, se requiere el producto genérico «**CPE - Internal Control**» (ELITechGroup S.p.A., ref. CTRCPE). Se trata de una solución estabilizada que contiene ADN plasmídicos y el ARN genómico del bacteriófago MS2.

Si la detección del ADN del HEV se necesita para un análisis cualitativo, es preciso utilizar el producto «**HEV - ELITE Positive Control**» (ELITechGroup S.p.A., ref. CTR130ING). Este producto incluye una solución estabilizada de ADN plasmídico.

Si la detección y la cuantificación del ARN del HEV se necesitan para un análisis cuantitativo, es preciso utilizar el producto «**HEV ELITE Standard**» (ELITechGroup S.p.A., ref. STD130ING). El producto incluye cuatro diluciones estabilizadas de ADN plasmídico a una concentración conocida para obtener la curva estándar.

Un factor de conversión permite expresar los resultados del análisis cuantitativo en unidades internacionales del HEV del Primer estándar internacional de la Organización Mundial de la Salud para ensayos basados en técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (TAAN) del ARN del virus de la hepatitis E (PEI, Alemania, código 6329/10).

**ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES**

Este producto es para uso *in vitro*.

**Advertencias y precauciones generales**

Manipular y eliminar todas las muestras biológicas como si fueran potencialmente infecciosas. Evitar el contacto directo con las muestras biológicas. Evitar salpicaduras o pulverizaciones. Los materiales que entran en contacto con las muestras biológicas deben tratarse en autoclave durante por lo menos 30 minutos con el 3 % de hipoclorito de sodio, o en autoclave durante una hora a 121 °C antes de la eliminación.

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

## HEV ELITE MGB® Kit

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

REF RTS130ING

Usar ropa de protección y guantes adecuados y protegerse los ojos y la cara.  
No pipetear ninguna solución con la boca.  
No comer, beber, fumar ni aplicarse cosméticos en el área de trabajo.  
Lavarse bien las manos después de manipular muestras y reactivos.  
Eliminar los reactivos sobrantes y los residuos conforme a las normas vigentes.  
Antes de realizar el ensayo, leer atentamente todas las instrucciones facilitadas con el producto.  
Durante la realización del ensayo, respetar las instrucciones incluidas con el producto.  
Respetar la fecha de caducidad del producto.  
Utilizar únicamente los reactivos presentes 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 evitar el riesgo de resultados incorrectos, especialmente debido a la degradación de los ácidos nucleicos de las muestras o a la contaminación de las mismas con productos de amplificación, para los procedimientos de biología molecular se requiere personal cualificado.

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

Las muestras deben ser adecuadas y 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, libres de ADNasa y ARNasa, ADN y ARN.

Los reactivos deben manipularse bajo una campana de flujo laminar. Los reactivos necesarios para la retrotranscriptasa y la amplificación deben prepararse de forma que puedan utilizarse en una sola ejecución. 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.

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

### Advertencias y precauciones específicas de los componentes

#### Mezcla HEV PCR Mix

La mezcla **HEV PCR Mix** se debe conservar a -20 °C en un lugar oscuro.

La mezcla **HEV PCR Mix** se puede congelar y descongelar un máximo de **cinco veces**: más ciclos de congelación/descongelación pueden provocar una reducción de las prestaciones del producto.

#### Mezcla RT EnzymeMix

La mezcla **RT EnzymeMix** se debe conservar a -20 °C.

La mezcla **RT EnzymeMix** no se debe exponer a temperaturas superiores a -20 °C durante más de 10 minutos. Se puede congelar y descongelar un máximo de **diez veces**.

## MUESTRAS Y CONTROLES

Este producto debe utilizarse con las siguientes muestras clínicas:

### Plasma recogido en EDTA

Las muestras de plasma, concebidas para la extracción de ARN, deben recogerse en EDTA y transportarse y conservarse a temperatura ambiente (+18/+30 °C) durante un máximo de 24 horas o a +2/+8 °C durante un máximo de cinco días. De lo contrario, deben congelarse y conservarse a -20 °C durante un máximo de 30 días, o a -70 °C durante períodos más largos.

Se recomienda dividir las muestras en porciones antes de la congelación para evitar ciclos repetidos de congelación/descongelación. Al usar muestras congeladas, descongelarlas inmediatamente antes de la extracción para evitar una posible degradación de los ácidos nucleicos.

## HEV ELITE MGB® Kit

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

REF RTS130ING

**Nota:** Cuando la extracción del ARN del plasma recogido en EDTA se realiza con el sistema **ELITE InGenius** y la versión 1.3 del **software ELITE InGenius** (o versiones posteriores equivalentes), es preciso utilizar el protocolo de ensayo **HEV ELITE\_PL\_200\_100**. Este protocolo procesa 200 µL de muestra, añade el **CPE** (control interno) a 10 µL/extracción y eluye los ácidos nucleicos en 100 µL.

Los ácidos nucleicos purificados pueden conservarse a +2/+8 °C durante 16 horas, o a -20 °C durante un mes.

Si se utiliza el tubo primario, el volumen de la muestra varía de acuerdo con el tipo de tubo cargado; consultar las instrucciones de uso del kit de extracción para obtener más información sobre la configuración y realización del procedimiento de extracción.

### Heces

La muestra de heces, concebida para la extracción de ARN, debe recogerse e identificarse de acuerdo con las directrices del laboratorio, así como transportarse y conservarse a +2/+8 °C durante un máximo de 24 horas. De lo contrario, deben congelarse y conservarse a -20 °C durante un máximo de 30 días, o a -70 °C durante períodos más largos.

Se recomienda dividir las muestras en porciones antes de la congelación para evitar ciclos repetidos de congelación/descongelación. Al usar muestras congeladas, descongelarlas inmediatamente antes de la extracción para evitar una posible degradación de los ácidos nucleicos.

Antes de la extracción, se recomienda el siguiente tratamiento previo:

- transferir aproximadamente 3 mL de heces al tubo cónico de 50 mL (suficiente para llenar el fondo cónico),
- añadir 5 mL de agua de grado molecular para biología,
- mezclar en una agitadora vorticial hasta que la muestra sea homogénea,
- transferir 100 µL de la muestra de heces tratada con agua a 900 µL de agua de grado molecular para biología en el tubo de 1,5 mL,
- mezclar en una agitadora vorticial hasta que la muestra sea homogénea,
- centrifugar a 13.000 RCF durante un minuto,
- transferir con cuidado 200 µL del sobrenadante de heces a un «tubo ultrasónico» incluido en el volumen de suministro del «**ELITE InGenius SP 200 Consumable Set**», teniendo cuidado de no alterar el material de heces caprinas.

**Nota:** Cuando la extracción del ARN de las muestras de heces humanas se realiza con el **ELITE InGenius** y la versión 1.3 del **software ELITE InGenius**® (o versiones posteriores equivalentes), es preciso utilizar el protocolo de ensayo **HEV ELITE\_ST\_200\_100**. Este protocolo procesa 200 µL de muestra, añade el **CPE** (control interno) a 10 µL/extracción y eluye los ácidos nucleicos en 100 µL.

Los ácidos nucleicos purificados pueden conservarse a +2/+8 °C durante 16 horas, o a -20 °C durante un mes.

### Sustancias interferentes

Las cantidades de ADN y/o ARN genómico superiores a 1 µg extraídas de la muestra pueden inhibir la reacción de retrotranscriptasa y la amplificación en tiempo real.

Los datos disponibles relativos a la inhibición causada por medicamentos y otras sustancias se incluyen en la sección «Sustancias interferentes» del capítulo «Características de las prestaciones».

### Calibradores de amplificación y controles de amplificación

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

- con ajuste del calibrador, utilizar los cuatro niveles de concentración del **HEV ELITE Standard** (no incluidos en el volumen de suministro de este kit), junto con el protocolo **HEV ELITE STD**,
- como control positivo de la amplificación, utilizar el **HEV- ELITE Positive Control** (no incluido en el volumen de suministro de este kit) junto con el protocolo de ensayo **HEV ELITE\_PC**,
- como control negativo de la amplificación, usar agua de grado molecular para biología (no incluida en el volumen de suministro de este kit) junto con el protocolo **HEV ELITE\_NC**.

**Nota:** El sistema **ELITE InGenius** requiere resultados aprobados y válidos de la curva de calibración y de los controles de amplificación para cada lote de reactivos de amplificación guardado en su base de datos. Las curvas de calibración, aprobadas y guardadas en la base de datos, caducan **después de 60 días**. Al llegar la fecha de caducidad, es necesario volver a procesar los estándares Q-PCR junto con el lote de reactivos de amplificación.

Los resultados de los controles de amplificación, aprobados y guardados en la base de datos, caducan

**HEV ELITE MGB® Kit**  
 reactivos para la retrotranscriptasa de ARN y  
 la amplificación en tiempo real de ADNc

REF RTS130ING

después de 15 días. Al llegar a la fecha de caducidad, es necesario volver a procesar los controles positivos y negativos con el lote de reactivos de amplificación.

Además, los calibradores y los controles de amplificación deben volver a procesarse cuando:

- se utiliza un nuevo lote de reactivos de amplificación,
- los resultados del análisis de control de calidad (consultar el apartado siguiente) están por fuera de las especificaciones,
- se realiza una operación importante de mantenimiento en el equipo ELITE InGenius.

**Controles de calidad**

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

**PROCEDIMIENTO**

El procedimiento de uso del «HEV ELITE MGB® Kit» con el sistema ELITE InGenius comprende tres pasos:

- Verificación de la preparación del sistema
- Configuración de la sesión
- Evaluación y exportación de los resultados.

**Comprobación de la preparación del sistema**

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

- Encender el ELITE InGenius y seleccionar el modo de inicio de sesión «CLOSED»,
- Con el lote de reactivos de amplificación que va a utilizarse, comprobar que los calibradores (estándar Q-PCR de HEV) se han procesado y aprobado y no han caducado (estado). Si no hay calibradores aprobados o válidos, procesarlos tal como se describe en los siguientes apartados.
- Con el lote de reactivos de amplificación que va a utilizarse, comprobar que los controles (controles, control positivo del HEV, control negativo del HEV) se han procesado y aprobado y no han caducado (estado). Si no hay controles de amplificación aprobados o válidos, es necesario procesarlos tal como se describe en los siguientes apartados.
- Seleccionar el tipo de ciclo, siguiendo las instrucciones de la interfaz gráfica de usuario (GUI), para configurar la ejecución utilizando los protocolos de ensayo suministrados por ELITechGroup S.p.A. Estos protocolos para diagnóstico *in vitro* se han validado específicamente con los kits ELITE MGB®, el equipo ELITE InGenius y la matriz mencionada.

Los protocolos de ensayo disponibles para el análisis de muestras con el producto HEV ELITE MGB® Kit se describen en la tabla siguiente.

Protocolo de ensayo para el HEV ELITE MGB® kit			
Nombre	Matriz	Informe	Características
HEV ELITE_PL_200_100	Plasma	Positiva/ copias/mL / UI/mL / Negativa	Volumen de extracción de entrada: 200 µL Volumen de elución de extracción: 100 µL Control interno: 10 µL Ultrasonidos: NO Volumen de la mezcla de PCR: 20 µL Volumen de entrada de PCR de la muestra: 10 µL
HEV ELITE_ST_200_100	Sobrenadante de heces	Positiva/ copias/mL / Negativa	Volumen de extracción de entrada: 200 µL Volumen de elución de extracción: 100 µL Control interno: 10 µL Ultrasonidos: NO Volumen de la mezcla de PCR: 20 µL Volumen de entrada de PCR de la muestra: 10 µL

Si el protocolo de ensayo deseado no está cargado en el sistema, contactar con el Servicio de atención al cliente de ELITechGroup más cercano.

**HEV ELITE MGB® Kit**  
 reactivos para la retrotranscriptasa de ARN y  
 la amplificación en tiempo real de ADNc

REF RTS130ING

**Configuración de la ejecución**

El producto HEV ELITE MGB® Kit puede utilizarse con el sistema ELITE InGenius para realizar las siguientes tareas:

- A. Ciclo integrado (Extracción + PCR)
- B. Ciclo de amplificación (solo PCR)
- C. Ciclo de calibración (solo PCR),
- D. Ciclo de amplificación para el control positivo y el control negativo (solo PCR).

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

**Nota:** El sistema ELITE InGenius se puede conectar al «Location Information Server» (LIS), que permite cargar la información de la sesión de trabajo. Para obtener más información, consultar el manual de instrucciones del equipo.

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

1. En caso necesario, descongelar a temperatura ambiente (+18/25 °C) las probetas que contienen las muestras que van a analizarse. Mezclar en una agitadora vorticial durante 10 segundos, centrifugar las probetas durante 5 segundos para llevar el contenido al fondo y conservar en hielo.
2. Descongelar durante 30 minutos a temperatura ambiente (+18/25 °C) las probetas HEV PCR Mix (tapón blanco) necesarias para la ejecución, recordando que el contenido de cada una de ellas es suficiente para 24 pruebas. Mezclar en una agitadora vorticial durante 10 segundos tres veces y centrifugar las probetas durante 5 segundos para llevar el contenido al fondo y conservar en hielo.
3. Tomar las probetas RT EnzymeMix (tapón con inserto negro) necesarias para la ejecución recordando que el contenido de cada una de ellas es suficiente para configurar 48 pruebas. Agitar suavemente las probetas, centrifugarlas durante 5 segundos para llevar el contenido al fondo y conservar en hielo.

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

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

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

Número de muestra (N)	Mezcla HEV PCR Mix	Mezcla RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) × 20 µL	(N + 1) × 0,3 µL
6 ≤ N ≤ 12	(N + 2) × 20 µL	(N + 2) × 0,3 µL

6. Preparar la mezcla completa de reacción añadiendo en la probeta específica de 2 mL los volúmenes calculado de los dos componentes.
7. Mezclar en una agitadora vorticial a baja velocidad tres veces durante 10 segundos, centrifugar la probeta durante 5 segundos para llevar el contenido al fondo y conservar en hielo.

**Nota:** La mezcla completa de reacción debe utilizarse en el transcurso de 7 horas cuando se conserva en el bloque refrigerado. La mezcla completa de reacción no puede conservarse.

Los pasos principales para configurar los cuatro tipos de ciclo se describen a continuación.

#### A. Ciclo integrado

Para configurar un ciclo integrado con la extracción y amplificación de la muestra, seguir las instrucciones de la interfaz que se indican a continuación:

1. Descongelar los tubos de CPE para la ejecución. Cada probeta es suficiente para 12 extracciones. Agitar suavemente, centrifugar el contenido durante 5 segundos para llevarlo contenido al fondo y conservar en hielo.
2. Seleccionar «Perform Run» en la pantalla «Home».
3. Asegurarse de que «Extraction Input Volume» esté configurado en 200 µL, y «Extracted Elute Volume», en 100 µL.
4. Para cada «Track» deseado, completar el «SampleID» (SID) tecleando o escaneando el código de barras de la muestra.
5. Seleccionar el protocolo de ensayo que va a utilizarse en la columna «Assay» (por ejemplo, HEV ELITE\_PL\_200\_100).
6. Asegurarse de que el «Protocolo» que se muestra sea: «Extract + PCR».
7. Seleccionar la posición de carga de la muestra en la columna «Sample Position».
  - si se usa un tubo primario, seleccionar «Primary Tube»,
  - si se usa un tubo secundario, seleccionar «Sonication Tube».
 Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
8. Cargar la **mezcla completa de reacción** y el CPE en el «bloque de inventario» seleccionando siguiendo las instrucciones de la interfaz que se indican a continuación. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
9. Cargar y revisar los racks de puntas en el área de inventario («Inventory Area») seleccionada siguiendo las instrucciones de la interfaz que se indican a continuación. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
10. Cargar los cartuchos de PCR, los cartuchos de extracción «ELITE InGenius SP 200», todos los consumibles y las muestras que deben extraerse en las posiciones indicadas en el paso 8, siguiendo las instrucciones de la interfaz que se indican a continuación. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
11. Cerrar la puerta del equipo.
12. Presionar «Start» para iniciar el ciclo.

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

**Nota:** Al finalizar el ciclo, la muestra extraída que ha quedado en el «tubo de elución» debe sacarse del equipo, taparse, identificarse y guardarse a -20 °C durante un mes. Evitar cualquier derrame de la muestra extraída.

**Nota:** Al finalizar el ciclo, los cartuchos de PCR con los productos de reacción y los consumibles deben sacarse del equipo y eliminarse sin que se produzcan ningún tipo de contaminación ambiental. Evitar cualquier derrame de los productos de reacción.

**Nota:** La **mezcla completa de reacción** puede guardarse en el bloque refrigerado durante un máximo de 2 sesiones de trabajo de 3 horas cada una y durante el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión de trabajo.

#### B. Ciclo de amplificación

Para configurar el ciclo de amplificación a partir del ARN extraído, seguir las instrucciones de la interfaz que se indican a continuación:

1. Seleccionar «Perform Run» en la pantalla «Home».
2. Aunque no se vaya a realizar la extracción, asegurarse de que «Extraction Input Volume» esté configurado en 200 µL, y «Extracted Elute Volume», en 100 µL.
3. Para cada «Track» deseado, completar el SID tecleando o escaneando el código de barras de la muestra.
4. Seleccionar el protocolo de ensayo que va a utilizarse en la columna «Assay» (por ejemplo, HEV ELITE\_PL\_200\_100).
5. Seleccionar «PCR Only» en la columna «Protocol».
6. Asegurarse de que la posición de carga de la muestra en la columna «Sample Position» sea «Elution Tube (fila de abajo)». Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
7. Cargar la **mezcla completa de reacción** en el «bloque de inventario» seleccionado siguiendo las instrucciones de la interfaz que se indican a continuación. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
8. Cargar y revisar los racks de puntas en el área de inventario («Inventory Area») seleccionada siguiendo las instrucciones de la interfaz que se indican a continuación. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
9. Cargar los cartuchos de PCR y las muestras del ácido nucleico extraído siguiendo las instrucciones de la interfaz que se indican a continuación. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
10. Cerrar la puerta del equipo.
11. Presionar «Start» para iniciar el ciclo.

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

**Nota:** Al finalizar el ciclo, la muestra extraída que ha quedado en el «tubo de elución» debe sacarse del equipo, taparse y guardarse a -20 °C durante un mes. Evitar cualquier derrame de la muestra extraída.

**Nota:** Al finalizar el ciclo, los cartuchos de PCR con los productos de reacción y los consumibles deben sacarse del equipo y eliminarse sin que se produzcan ningún tipo de contaminación ambiental. Evitar cualquier derrame de los productos de reacción.

**Nota:** La **mezcla completa de reacción** puede guardarse en el bloque refrigerado durante un máximo de 2 sesiones de trabajo de 3 horas cada una y durante el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión de trabajo.

**C. Ciclo de calibración**

Para configurar el ciclo de calibración, seguir las instrucciones de la interfaz que se indican a continuación:

1. Descongelar las probetas del **HEV Q-PCR Standard** (Cal1: HEV Q-PCR Standards 10<sup>2</sup>, Cal2: HEV Q-PCR Standards 10<sup>3</sup>, Cal3: HEV Q-PCR Standards 10<sup>4</sup>, Cal4: HEV Q-PCR Standards 10<sup>5</sup>). Cada probeta es suficiente para preparar 4 reacciones. Mezclar suavemente y centrifugar el contenido durante 5 segundos.
2. Seleccionar «Perform Run» en la pantalla «Home».
3. Aunque no se vaya a realizar la extracción, asegurarse de que «Extraction Input Volume» esté configurado en 200 µL, y «Extracted Elute Volume», en 100 µL.
4. Seleccionar el protocolo de ensayo «HEV ELITE\_STD» en la columna «Assay» y rellenar el número de lote y la fecha de caducidad del **HEV Q-PCR Standard**.
5. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
6. Cargar la **mezcla completa de reacción** en el «bloque de inventario» seleccionado siguiendo las instrucciones de la interfaz que se indican a continuación. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
7. Cargar/revisar los racks de puntas en el área de inventario («Inventory Area») seleccionada siguiendo las instrucciones de la interfaz que se indican a continuación. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
8. Cargar los cartuchos de PCR y las probetas de **HEV Q-PCR Standard** siguiendo las instrucciones de la interfaz que se indican a continuación. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
9. Cerrar la puerta del equipo.
10. Presionar «Start» para iniciar el ciclo.

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

**Nota:** Los finalizar el ciclo, los HEV Q-PCR Standard restantes deben sacarse del equipo, taparse y conservarse a -20 °C.

**Nota:** Al finalizar el ciclo, los cartuchos de PCR con los productos de reacción y los consumibles deben sacarse del equipo y eliminarse sin que se produzca ningún tipo de contaminación ambiental. Evitar cualquier derrame de los productos de reacción.

**Nota:** La **mezcla completa de reacción** puede guardarse en el bloque refrigerado durante un máximo de 2 sesiones de trabajo de 3 horas cada una y durante el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión de trabajo.

**D. Ciclo de amplificación para los controles positivo y negativo**

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

1. Descongelar las probetas de **HEV Positive Control** para la ejecución. Cada probeta es suficiente para preparar 4 reacciones. Mezclar suavemente y centrifugar el contenido durante 5 segundos.
2. Verter al menos 50 µL de agua de grado molecular para biología en un tubo de elución suministrado con el ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.
3. Seleccionar «Perform Run» en la pantalla «Home».
4. Desde el «Track» en cuestión, seleccionar el protocolo de ensayo de la prueba que se va a utilizar en la columna «Assay».
5. Aunque no se vaya a realizar la extracción, asegurarse de que «Extraction Input Volume» esté configurado en 200 µL, y «Extracted Elute Volume», en 100 µL.
6. Para el control positivo, seleccionar el protocolo de ensayo «HEV ELITE\_PC» en la columna «Assay» y rellenar el número de lote y la fecha de caducidad del **HEV Positive Control**,
7. Para el control negativo, seleccionar el protocolo de ensayo «HEV ELITE\_NC» y rellenar el número de lote y la fecha de caducidad del agua de grado molecular para biología.
8. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
9. Cargar la **mezcla completa de reacción** en el «bloque de inventario» seleccionado siguiendo las instrucciones de la interfaz que se indican a continuación. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
10. Cargar/revisar los racks de puntas en el área de inventario («Inventory Area») seleccionada siguiendo las instrucciones de la interfaz que se indican a continuación. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
11. Cargar los cartuchos de PCR, la probeta de **HEV Positive Control** y la probeta de control negativo siguiendo las instrucciones de la interfaz que se indican a continuación. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
12. Cerrar la puerta del equipo.
13. Presionar «Start» para iniciar el ciclo.

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

**Nota:** Al finalizar el ciclo, el **HEV Positive Control** restante debe sacarse del equipo, taparse y conservarse a -20 °C. El control negativo restante debe eliminarse.

**Nota:** Al finalizar el ciclo, los cartuchos de PCR con los productos de reacción y los consumibles deben sacarse del equipo y eliminarse sin que se produzca ningún tipo de contaminación ambiental. Evitar cualquier derrame de los productos de reacción.

**Nota:** La **mezcla completa de reacción** puede guardarse en el bloque refrigerado durante un máximo de 2 sesiones de trabajo de 3 horas cada una y durante el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión de trabajo.

**Revisión y exportación de los resultados**

Al finalizar el ciclo, aparece automáticamente la pantalla «Results Display». En esta pantalla se muestran los resultados de la muestra/control y la información sobre el ciclo. Desde esta pantalla se puede aprobar el resultado, así como imprimir o guardar los informes («Sample Report» o «Track Report»). Para obtener más información, consultar el manual de instrucciones del equipo.

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

El sistema **ELITE InGenius** genera los resultados con el producto **HEV ELITE MGB® Kit** mediante el siguiente procedimiento:

- A. Validación de la curva de calibración
- B. Validación de los resultados de los controles positivo y negativo
- C. Validación de los resultados de la muestra
- D. Generación del informe de los resultados de la muestra.

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

Las señales de fluorescencia emitidas por la sonda del HEV (canal 1 «HEV») en las reacciones de amplificación del calibrador son analizadas automáticamente e interpretadas por el software del equipo con los parámetros incluidos en el protocolo de ensayo «HEV ELITE\_STD».

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

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

**Nota:** Si la curva de calibración no cumple los criterios de aceptación, aparece el mensaje «Failed» en el menú «Calibration» y no es posible aprobar la curva. En este caso, se tendrán que repetir las reacciones de amplificación del calibrador.

**Nota:** Si la curva de calibración se procesa junto con las muestras y el resultado no es válido, se invalida la ejecución entera. En este caso, también debe repetirse la amplificación de todas las muestras.

**B. Validación de los resultados de los controles positivo y negativo**

Las señales de fluorescencia emitidas por las sondas del HEV (canal 1 «HEV») en las reacciones de amplificación de los controles positivo y negativo son analizadas automáticamente e interpretadas por el software del equipo con los parámetros incluidos en los protocolos de ensayo «HEV ELITE\_PC» y «HEV ELITE\_NC».

Los resultados de la amplificación del control positivo y del control negativo, específicos para el lote de reactivos de amplificación, se guardan en la base de datos (Controls). El personal cualificado como administrador («Administrator») o analista («Analyst») puede ver dichos resultados y aprobarlos siguiendo las instrucciones de la interfaz que se indican a continuación.

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

El equipo utiliza los resultados de los ciclos de amplificación de los controles positivo y negativo para calcular la configuración de los «gráficos de control». Se necesitan cuatro resultados de los controles positivo y negativo de cuatro ciclos distintos para configurar el «gráfico de control». Después de esto, los resultados de los controles positivo y negativo se utilizan para monitorizar las prestaciones del paso de amplificación. Para obtener más información, consultar el manual de instrucciones.

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

**Nota:** Si el control positivo o el control negativo se procesan junto con las muestras que se van a analizar y el resultado no es válido, se invalida la ejecución entera. En este caso, también debe repetirse la amplificación de todas las muestras.

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

Las señales de fluorescencia emitidas por la sonda del HEV (canal 1 «HEV») y por la sonda del control interno (canal 2 «IC») en las reacciones de amplificación de la muestra son analizadas automáticamente e interpretadas por software del equipo con los parámetros incluidos en el protocolo de ensayo HEV ELITE\_PL\_200\_100 y HEV ELITE\_ST\_200\_100.

Los resultados se muestran en los informes generados por el equipo («Result Display»).

El ciclo de la muestra se puede aprobar cuando se cumplen las tres condiciones que se indican en la siguiente tabla.

1) Curva de calibración	Estado
HEV Q-PCR Standards	APROBADO
2) Control positivo	Estado
HEV Positive Control	APROBADO
3) Control negativo	Estado
HEV Negative Control	APROBADO

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

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

Resultado del ciclo de la muestra	Interpretación
HEV: ARN detectado, cantidad igual a XXX copias/mL o UI/mL.	<b>ARN del HEV detectado</b> en la muestra dentro del rango de medición del ensayo, cantidad mostrada.
HEV: ARN detectado, cantidad por debajo de LLoQ copias/mL o UI/mL.	<b>ARN del HEV detectado</b> en la muestra por debajo del límite inferior de cuantificación del ensayo
HEV: ARN detectado, cantidad más allá de ULoQ copias/mL o UI/mL.	<b>ARN del HEV detectado</b> más allá del límite superior de cuantificación del ensayo
HEV: ARN no detectado o por debajo de LoD copias/mL o UI/mL.	<b>ARN del HEV no detectado</b> en la muestra. La muestra es negativa para el ARN del HEV o su concentración se encuentra por debajo del límite de detección del ensayo.
Invalid - Retest Sample.	<b>Resultado del ensayo no válido</b> debido a un fallo en el control interno (extracción incorrecta o arrastre de inhibidores). Es necesario repetir la prueba.

**Nota:** Los resultados obtenidos con sobrenadante de heces deben considerarse semicuantitativos. Estos resultados se expresan solo en copias/mL.

Las muestras que el software ELITE InGenius indica como «Invalid - Retest Sample» no son aptas para la interpretación de resultados. En este caso, el ARN del control interno no pudo detectarse correctamente debido a problemas durante los pasos de retrotranscriptasa y de amplificación o extracción (degradación del ARN, reducción del título de este durante la extracción o arrastre de inhibidores en el eluido), lo que puede dar lugar a resultados incorrectos.

Si el volumen del eluido es suficiente, la muestra extraída puede volver a analizarse con un ciclo de amplificación en el modo «PCR Only». Si se produce un segundo resultado no válido, la muestra puede volver a analizarse a partir de la extracción de una nueva porción en el modo «Extract + PCR».

Las muestras que se indican como «HEV RNA Not Detected or below LoD» son aptas para el análisis, pero no ha sido posible detectar el ARN del HEV. En este caso, no se puede descartar que el ARN esté presente en una concentración por debajo del límite de detección del ensayo (consultar el apartado «Características de las prestaciones»).

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

Los resultados del ciclo de la muestra se guardan en la base de datos y, si son válidos, pueden ser aprobados (Result Display) por personal cualificado como administrador o analista siguiendo las instrucciones de la interfaz que se indican a continuación. Desde la ventana «Result Display» se pueden imprimir y guardar los resultados del ciclo de la muestra como «Sample Report» y «Track Report».

**D. Generación del informe de los resultados de la muestra**

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

En «Sample Report» se muestran los detalles de una sesión de trabajo clasificada según la muestra seleccionada (SID).

En «Track Report» se muestran los detalles de una sesión de trabajo mediante el Track seleccionado.

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

**CARACTERÍSTICAS DE LAS PRESTACIONES**

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

La sensibilidad analítica de este ensayo, como sensibilidad de la retrotranscriptasa y la reacción de amplificación, permite detectar aproximadamente 10 copias de ARN en 10 µL de muestra añadida a la reacción.

La sensibilidad analítica de este ensayo, como límite de detección (LoD), se definió en muestras de plasma recogido en EDTA y muestras de sobrenadante de heces utilizando el sistema ELITE InGenius.

El LoD se calculó analizando un panel de muestras negativas de plasma recogido en EDTA enriquecidas con material de referencia certificado del HEV (PEI) a un título conocido. Se prepararon seis niveles de dilución empezando por una concentración más alta que el valor esperado para el límite de detección. Cada nivel de dilución se procesó en 12 réplicas utilizando el sistema ELITE InGenius en el modo «Extract + PCR». El nivel de detección se obtuvo mediante el análisis de regresión Probit de los datos como la concentración correspondiente al 95 % de probabilidad de un resultado positivo. El valor del LoD se verificó analizando 20 réplicas de plasma recogido en EDTA y 20 réplicas de sobrenadante de heces enriquecidas con material de referencia certificado del HEV a la concentración solicitada.

Los resultados finales se indican en la siguiente tabla.

Límite de detección del HEV en plasma y sobrenadante de heces con el ELITE InGenius (UI/mL)		
Límite de detección	Intervalo de confianza del 95 %	
	límite inferior	límite superior
288 UI/mL	183 UI/mL	768 UI/mL

El límite de detección como copias/mL para plasma recogido en EDTA se calculó aplicando el factor de conversión específico indicado en la página 17. La sensibilidad analítica expresada en copias/mL se indica a continuación.

Límite de detección del HEV en plasma con el ELITE InGenius (copias/mL)		
Límite de detección	Intervalo de confianza del 95 %	
	límite inferior	límite superior
153 copias/mL	97 copias/mL	409 copias/mL

**Rango de medición lineal**

La sensibilidad analítica de este ensayo, como rango de medición lineal, permite la cuantificación de 10.000.000 a aproximadamente 100 copias por mL. El rango de medición lineal se determinó utilizando un panel de muestras artificiales enriquecidas con material de referencia certificado del HEV.

La linealidad de este usado con el ELITE InGenius se verificó con un panel de diluciones de ARN del HEV. El panel se preparó diluyendo el «Quantitative Synthetic Hepatitis E virus RNA» (código ATCC VR-3258SD) en un tampón estabilizador. El panel constaba de seis puntos de dilución (1 log de pasos de dilución) de 10<sup>7</sup> copias/mL a 10<sup>2</sup> copias/mL. Cada muestra del panel se analizó en 12 réplicas realizando el procedimiento entero de análisis con el ELITE InGenius en el modo «Extract + PCR» y con productos de ELITechGroup S.p.A. El análisis de los datos obtenidos, realizados mediante regresión polinómica, demostró que el ensayo muestra una respuesta lineal para todas las diluciones.

El límite inferior del rango de medición lineal se configuró en la concentración más baja que da un 100 % de posibilidades de positividad y resultados cuantitativos exactos y precisos dentro de ±0,5 log.

El límite superior del rango de medición lineal se configuró en la concentración más alta que da resultados cuantitativos exactos y precisos dentro de ±0,5 log.

El rango de medición lineal como UI/mL para plasma recogido en EDTA se calculó aplicando el factor de conversión específico indicado en la página 17.

Los resultados finales se indican en la siguiente tabla.

Rango de medición lineal analizado en el HEV en plasma utilizando el ELITE InGenius	
Límite inferior	Límite superior
288 UI/mL	18.800.000 UI/mL
153 copias/mL	10.000.000 copias/mL

Rango de medición lineal analizado en el HEV en sobrenadante de heces utilizando el ELITE InGenius	
Límite inferior	Límite superior
500 copias/mL	10.000.000 copias/mL

**Inclusividad: Eficiencia de detección y de cuantificación en distintos genotipos/subtipos**

La eficiencia de detección para distintos genotipos se evaluó comparando secuencias disponibles en la base de datos de nucleótidos EBI ENA.

El análisis de las regiones elegidas para la hibridación de los primers y de las sondas fluorescentes en la alineación de las secuencias disponibles en la base de datos para la región ORF-2 del HEV de los genotipos 1, 2, 3, 3a y 4 demostró la conservación y la ausencia de mutaciones significativas.

Un reciente estudio de secuencias en la base de datos de nucleótidos EBI ENA identificó dos grupos de mutaciones significativas (por ejemplo, MW355395 y MH37727) en la región de hibridación de la sonda. Se verificó el efecto de estas mutaciones y la eficacia de detección/cuantificación de estas variantes, aunque menor, está dentro del rango de ± 0,5 Log. Es posible identificar la presencia de estas variantes mediante el análisis de la temperatura de fusión (Tm) por el operador (véase "Problemas y soluciones").

La inclusividad del ensayo, como eficiencia de detección y cuantificación en distintos genotipos/subtipos, se evaluó utilizando el Primer panel de referencia internacional de la Organización de la Salud para genotipos del virus de la hepatitis E (HEV) para ensayos basados en técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (TAAN) (Paul Enrich Institut, código 8578/13).

Cada muestra del panel se analizó realizando el procedimiento entero de análisis utilizando el sistema ELITE InGenius en el modo «Extract + PCR».

Los resultados se incluyen en la siguiente tabla.

Muestra	Genotipo	Log UI/mL media global	Desv. est.	Log UI/mL medido
8567/13	1a	2,64	0,60	2,61
8568/13s	1a	4,25	0,43	4,37
8569/13	1e	3,25	0,51	3,13
8570/13	3b	4,20	0,18	4,45
8571/13	3c	3,40	0,22	3,46
8572/13	3e	3,50	0,22	3,66
8573/13	3f	3,84	0,41	3,61
8574/13s	3 (tipo conejo)	4,98	0,38	4,78
8575/13	4c	4,07	0,38	3,85
8576/13	4g	3,77	0,38	3,36
8577/13s	2a	5,42	0,49	4,96

Todas las muestras se detectaron correctamente. Las muestras se cuantificaron en el rango definido por el estudio colaborativo de la OMS ± 1 SD, a excepción de las 8570/13, 8576/13 y 8577/13s que, sin embargo, se encontraban dentro de ± 0,5 log.

**Marcadores potencialmente interferentes**

La reactividad cruzada potencial con otros microorganismos no intencionados se evaluó mediante un análisis informático de las secuencias disponibles en la base de datos de nucleótidos de EBI ENA.

Las regiones elegidas para la hibridación de los primers y las sondas fluorescentes se revisaron en la alineación de las secuencias de otros virus y bacterias. Las regiones de hibridación demostraron ausencia de homología significativas y no indicaron ninguna interferencia potencial.

**HEV ELITE MGB® Kit**  
 reactivos para la retrotranscriptasa de ARN y  
 la amplificación en tiempo real de ADNc

REF RTS130ING

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

Las muestras de ADN o ARN genómico de diferentes microorganismos con reactividad cruzada potencial (ATCC, NIBSC y Qnostics) se analizaron en tres réplicas con el sistema ELITE InGenius en el modo «PCR Only».

Los resultados finales se indican en la siguiente tabla.

Microorganismos con reactividad cruzada potencial		
Microorganismo	Cepa	Resultado
CMV	AD-169	Sin reactividad cruzada
HSV-1	McIntyre	Sin reactividad cruzada
HSV-2	G	Sin reactividad cruzada
EV	Enterovirus 71	Sin reactividad cruzada
EBV	B95-8	Sin reactividad cruzada
BKV	1b-2	Sin reactividad cruzada
JCV	1A	Sin reactividad cruzada
WNV	NY99	Sin reactividad cruzada

Todos los microorganismos con reactividad cruzada potencial resultaron ser negativos para la diana cuando se analizaron con el HEV ELITE MGB® Kit.

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

Las muestras de ADN o ARN genómico de diferentes microorganismos con reactividad cruzada potencial (ATCC, NIBSC y Qnostics) se enriquecieron con material de referencia certificado del HEV (ATCC) a baja concentración (aproximadamente 10 copias/reacción). Las muestras se analizaron en tres réplicas con el sistema ELITE InGenius en el modo «PCR Only».

Los resultados finales se indican en la siguiente tabla.

Microorganismos potencialmente interferentes		
Microorganismo	Cepa	Resultado
CMV	AD-169	Sin interferencia
HSV-1	McIntyre	Sin interferencia
HSV-2	G	Sin interferencia
EV	Enterovirus 71	Sin interferencia
EBV	B95-8	Sin interferencia
BKV	1b-2	Sin interferencia
JCV	1A	Sin interferencia
WNV	NY99	Sin interferencia

Ninguno de los microorganismos potencialmente interferentes interfirió en la amplificación de la diana cuando se analizó con el HEV ELITE MGB® Kit.

**Sustancias potencialmente interferentes**

El posible efecto de las sustancias interferentes se evaluó analizando el panel «AcroMatrix® Inhibition Panel» (Life Technologies Inc.), que contenía sustancias endógenas, resultantes de hemólisis, ictericia y lipemia, así como sustancias exógenas y coagulantes con EDTA y heparina.

Las muestras del panel de inhibición se enriquecieron con material de referencia certificado del HEV (PEI) a una concentración equivalente a aproximadamente 3 veces el LoD. Las muestras se procesaron en tres réplicas con el sistema ELITE InGenius utilizando el «Extract + PCR» mode.

**HEV ELITE MGB® Kit**  
 reactivos para la retrotranscriptasa de ARN y  
 la amplificación en tiempo real de ADNc

REF RTS130ING

Los valores Ct de la diana y del control interno (muestras de referencia y de prueba) se utilizaron para calcular el porcentaje del coeficiente de variabilidad (%CV) para evaluar la posible interferencia.

Los resultados se incluyen en la siguiente tabla.

Sustancias potencialmente interferentes			
Muestra	Pos. / Rep.	%CV HEV Ct	%CV IC Ct
Plasma recogido en EDTA	3/3	2,092	3,434
Sangre hemolítica baja	3/3	1,134	0,842
Sangre hemolítica media	3/3	1,209	0,590
Sangre hemolítica alta	3/3	1,768	0,983
Plasma heparinizado	3/3	1,775	3,731
Plasma lipémico	3/3	1,070	2,653
Plasma icterico	3/3	1,313	0,797

Todas las muestras resultaron ser positivas para la diana de interés, tal como se esperaba. El coeficiente de coeficiente de variación %CV de los valores inferior al 4 %. Ninguna de las sustancias analizadas a las concentraciones analizadas interfirieron en la detección diana mediante el HEV ELITE MGB® Kit.

**Repetibilidad**

La repetibilidad de los resultados del ensayo al utilizar el sistema ELITE InGenius se analizó analizando un panel de muestras de plasma recogido en EDTA. El panel incluyó una muestra negativa y tres muestras enriquecidas con material de referencia certificado del HEV (PEI) a una concentración de 0,5 veces el LoD (aproximadamente 144 UI/mL), 1,5 veces el LoD (aproximadamente 431 UI/mL) y 3 veces el LoD (aproximadamente 861 UI/mL).

La repetibilidad se obtuvo mediante el análisis de muestras del panel en tres réplicas, en dos ciclos al día, con el mismo lote de producto. Se utilizaron tres lotes de producto en tres días distintos con el mismo equipo y con el mismo operador. Las muestras se procesaron en el sistema ELITE InGenius en el modo «Extract + PCR».

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

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

Repetibilidad dentro de ejecuciones							
Muestra	Pos./Neg.	HEV			Control interno		
		Ct medio	SD	%CV	Ct medio	SD	%CV
Negativo	0/6	NA	NA	NA			
0,5 veces el límite de detección	5/6	39,80	0,57	1,42	30,27	0,27	0,90
1,5 veces el límite de detección	6/6	38,77	0,89	2,28			
3 veces el límite de detección	6/6	37,75	0,82	2,17			

Repetibilidad entre lotes							
Muestra	Pos./Neg.	HEV			Control interno		
		Ct medio	SD	%CV	Ct medio	SD	%CV
Negativo	0/18	NA	NA	NA	29,95	0,37	1,23
0,5 veces el límite de detección	16/18	39,62	0,71	1,80			
1,5 veces el límite de detección	18/18	38,46	0,95	2,47			
3 veces el límite de detección	18/18	37,55	0,75	2,01			

En la prueba de repetibilidad, el ensayo detectó el HEV diana tal como se esperaba y mostró un %CV bajo de valores Ct y no superó el 3 % en el caso del HEV ni el 2% en el caso del control interno.

#### Reproducibilidad

La reproducibilidad de los resultados del ensayo al utilizar el sistema ELITE InGenius se analizó analizando un panel de muestras de plasma recogido en EDTA. El panel incluyó una muestra negativa y tres muestras enriquecidas con material de referencia certificado del HEV (PEI) a una concentración de 0,5 veces el LoD (aproximadamente 144 UI/mL), 1,5 veces el LoD (aproximadamente 431 UI/mL) y 3 veces el LoD (aproximadamente 861 UI/mL).

La reproducibilidad se obtuvo a través del análisis de muestras del panel en tres réplicas, en dos ciclos al día. Se utilizaron tres lotes distintos de producto en tres días distintos, con tres equipos distintos y tres operadores diferentes. Las muestras se procesaron en el sistema ELITE InGenius en el modo «Extract + PCR».

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

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

Reproducibilidad							
Muestra	Pos./Neg.	HEV			Control interno		
		Ct medio	SD	%CV	Ct medio	SD	%CV
Negativo	0/18	NA	NA	NA	30,04	0,33	1,10
0,5 veces el límite de detección	14/18	39,43	0,66	1,68			
1,5 veces el límite de detección	18/18	38,24	0,60	1,58			
3 veces el límite de detección	18/18	36,90	0,40	1,07			

En la prueba de reproducibilidad, el ensayo detectó el HEV diana tal como se esperaba y mostró un %CV bajo de valores Ct y no superó el 2 % en el caso del HEV ni en el caso del control interno.

#### Factor de conversión a las unidades internacionales

El factor de conversión, para expresar los resultados cuantitativos en unidades internacionales/mL, se calculó utilizando un panel de cuatro diluciones (0,5 log entre diluciones) del material de referencia calibrado Primer estándar internacional de la Organización Mundial de la Salud para ensayos basados en técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (TAAN) del ARN del virus de la hepatitis E" (PEI, Alemania, código 6329/10) en plasma recogido en EDTA que resultó ser negativo para el ARN del HEV.

Cada punto del panel se analizó en 9 réplicas, con tres lotes de producto distintos en tres equipos distintos y en tres días distintos. Las muestras se procesaron en el sistema ELITE InGenius en el modo «Extract + PCR».

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

Factor de conversión a unidades internacionales con el ELITE InGenius	
Plasma recogido en EDTA	Fc = 1,88 UI/copia

El factor de conversión se calculó solo para muestras de plasma. Como los resultados con sobrenadante de heces son solo semicuantitativos, no se calculó ningún factor de conversión para esta matriz.

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

La especificidad diagnóstica del ensayo, para confirmar las muestras negativas, se evaluó analizando 30 muestras de plasma y 30 muestras de sobrenadante de heces.

Las muestras eran supuestamente negativas y se analizaron con el ensayo utilizando el sistema ELITE InGenius en el modo «Extract + PCR».

Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas	no válida
Plasma recogido en EDTA negativo para el HEV	30	0	30	0
Sobrenadante de heces negativo para el HEV	30	0	30	0

En esta prueba todas las muestras se confirmaron como válidas y negativas. En esta prueba, la especificidad del ensayo fue del 100 %.

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

La sensibilidad diagnóstica del ensayo, para confirmar las muestras positivas, se evaluó analizando 30 muestras de plasma y 30 muestras de sobrenadante de heces, enriquecidas con material de referencia del HEV.

Las muestras negativas utilizadas en la prueba de especificidad diagnóstica se enriquecieron con material de referencia del HEV a tres concentraciones distintas (3 veces el LoD, 10 veces el LoD y 30 veces el LoD). Las muestras enriquecidas se analizaron con el ensayo utilizando el sistema ELITE InGenius en el modo «Extract + PCR».

Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestras	N	positivas	negativas	no válida
Plasma recogido en EDTA enriquecido con HEV	30	30	0	0
Sobrenadante de heces enriquecido con HEV	30	29	1	0

En la prueba, 30 de 30 muestras enriquecidas de plasma y 29 de 30 muestras enriquecidas de sobrenadante de heces se confirmaron como positivas- Una muestra enriquecida a 3 veces el LoD dio un resultado negativo, diferente del resto.

En esta prueba, la sensibilidad diagnóstica del ensayo fue igual al 100 % en el caso de las muestras de plasma y del 96,7 % en el caso de las muestras de sobrenadante de heces.

**Nota:** Los datos y resultados completos de las pruebas realizadas para evaluar las características de las prestaciones del producto con las matrices y el equipo se incluyen en la documentación técnica del producto «HEV ELITE MGB® Kit», FTP RTS130ING

#### BIBLIOGRAFÍA

J. J. Germer et al. (2017) *J Clin Microbiology* 55 (5): 1478 – 1487

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

**LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**

Utilizar este producto únicamente con las siguientes muestras clínicas: plasma recogido en EDTA y sobrenadante de heces.

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

No utilizar este producto con muestras que contengan una cantidad excesiva de matriz fecal, pues las muestras con una alta turbidez inhiben la reacción de amplificación de ácidos nucleicos y pueden dar lugar a resultados no válidos.

No utilizar este producto con una cantidad de ADN o ARN extraído superior a 1 µg, pues una alta cantidad de ácidos nucleicos puede inhibir las reacciones de retrotranscriptasa y de amplificación y dar lugar a resultados no válidos.

En la actualidad, no se dispone de datos de las prestaciones de este producto con las siguientes muestras clínicas: sangre entera recogida en EDTA.

Los resultados obtenidos con este producto dependen de que las muestras se identifiquen, recojan, transporten, conserven y procesen correctamente. Por tanto, para evitar resultados incorrectos, es necesario prestar especial atención durante estos pasos y seguir las instrucciones facilitadas con los productos para la extracción de los ácidos nucleicos.

Debido a su alta sensibilidad analítica, el método de amplificación en tiempo real utilizado en este producto es propenso a desarrollar contaminaciones cruzadas con las muestras clínicas positivas, los controles positivos y los propios productos de la amplificación. Las contaminaciones cruzadas dan lugar a resultados falsos positivos. El formato del producto puede limitar las contaminaciones cruzadas. Sin embargo, las contaminaciones cruzadas solo pueden evitarse procediendo conforme a las prácticas correctas de laboratorio y siguiendo estas instrucciones de uso.

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

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

Este producto requiere el uso de ropa de trabajo y equipos adecuados para la configuración de la sesión de trabajo a fin de evitar resultados incorrectos.

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

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

Los resultados obtenidos con este producto a veces pueden ser no válidos debido a un fallo del control interno. En este caso la muestra debe volver a analizarse, a partir de la extracción, lo que puede conllevar retrasos en la obtención de los resultados finales.

Los posibles polimorfismos en la región del ARN diana cubierto por los primers y las sondas del producto pueden afectar negativamente a la detección y la cuantificación del ARN diana.

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

Como para cualquier otro producto sanitario de diagnóstico, existe un riesgo residual de que con este producto se consigan resultados no válidos, falsos positivos y falsos negativos. Este riesgo residual no se puede eliminar ni reducir aún más. En determinadas situaciones, el riesgo residual puede hacer que se tomen decisiones incorrectas, con consecuencias potencialmente graves para el paciente.

**PROBLEMAS Y SOLUCIONES**

<b>Reacción no válida del estándar Q-PCR o del control positivo</b>	
<b>Curva estándar no válida</b>	
<b>Posibles causas</b>	<b>Soluciones</b>
Error de configuración del equipo.	Comprobar la posición de la mezcla completa de reacción, así como de los estándares Q-PCR y del control positivo. Comprobar los volúmenes de la mezcla completa de reacción, así como de los estándar Q-PCR y del control positivo.
Error en la preparación de la mezcla completa de reacción.	Comprobar los volúmenes de los reactivos utilizados durante la preparación de la mezcla completa de reacción.
Degradación de la mezcla completa de reacción o de sus componentes.	No utilizar la mezcla completa de reacción durante más de tres ejecuciones (7 horas en el área de inventario). No dejar la mezcla completa de reacción a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. Volver a preparar la mezcla completa de reacción. Utilizar una nueva porción de los componentes.
Degradación de los estándares Q-PCR o del control positivo.	Usar nuevas porciones de los estándares Q-PCR o del control interno.
Error del equipo.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

<b>Reacción no válida del control negativo</b>	
<b>Posibles causas</b>	<b>Soluciones</b>
Error de configuración del equipo.	Comprobar la posición de la mezcla completa de reacción, así como del control negativo. Comprobar los volúmenes de la mezcla completa de reacción, así como del control negativo.
Contaminación de la mezcla completa de reacción o de sus componentes.	Volver a preparar la mezcla completa de reacción. Utilizar una nueva porción de los componentes.
Contaminación del control negativo.	Usar una nueva porción de agua de grado molecular para biología.
Contaminación del área de extracción, de los «racks» o del «inventory block».	Limpiar las superficies con detergentes acuosos, lavar las batas, reemplazar las probetas y las puntas utilizadas.
Error del equipo.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

<b>Reacción de la muestra no válida</b>	
<b>Posibles causas</b>	<b>Soluciones</b>
Error de configuración del equipo.	Comprobar la posición de la mezcla completa de reacción, así como de la muestra. Comprobar los volúmenes de la mezcla completa de reacción, así como de la muestra.
Error en la preparación de la mezcla completa de reacción.	Comprobar los volúmenes de los reactivos utilizados durante la preparación de la mezcla completa de reacción.
Degradación de la mezcla completa de reacción o de sus componentes.	No utilizar la mezcla completa de reacción durante más de tres ejecuciones (7 horas en el área de inventario). No dejar la mezcla completa de reacción a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. No exponer la mezcla RT EnzymeMix a temperaturas superiores a -20 °C durante más de 10 minutos. Volver a preparar la mezcla completa de reacción. Utilizar una nueva porción de los componentes.
Degradación de la plantilla del control interno.	Usar una nueva porción del control interno.
Inhibición debido a sustancias interferentes con las muestras.	Repetir la amplificación con una dilución de 1:2 en agua de grado molecular para biología de la muestra extraída en una ejecución en el modo «PCR Only». Repetir la extracción con una dilución 1:2 en agua de grado molecular para biología de la muestra primaria en una ejecución «Extract + PCR».
Degradación de la muestra.	Repetir la extracción con una nueva porción de la muestra.
Error del equipo.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

<b>Presencia de curva de disociación anormal</b>	
<b>Posibles causas</b>	<b>Soluciones</b>
Ausencia de un pico definido. Pico definido pero diferente de otras muestras y estándares o control positivo.	Compruebe que el Ct del detector FAM es inferior a 30. Las grandes cantidades de producto de amplificación presentes al final de la reacción pueden interferir con el análisis de la curva de disociación. Repita la amplificación de la muestra para confirmar la presencia de un ADN diana con una posible mutación. Para confirmar la presencia de una mutación, debe secuenciarse el ADN diana presente en la muestra.

<b>Error 30103</b>	
<b>Posibles causas</b>	<b>Soluciones</b>
Muestra con una concentración demasiado alta de la diana.	Si se observa una amplificación notable en el gráfico de PCR: - seleccionar el track relativo a la muestra y aprobar manualmente el resultado. Si se requiere un valor Ct: - repetir la amplificación con una dilución de 1:10 en agua de grado molecular para biología de la muestra extraída en una ejecución en el modo «PCR Only» o - repetir la extracción con una dilución de 1:10 en agua de grado molecular para biología de la muestra extraída en una ejecución «Extract + PCR».

<b>Error de TH</b>	
<b>Posibles causas</b>	<b>Soluciones</b>
Muestra con una concentración demasiado alta de la diana.	Si se observa una amplificación notable en el punto de referencia negativo: - repetir la amplificación con una dilución de 1:10 en agua de grado molecular para biología de la muestra extraída en una ejecución en el modo «PCR Only» o - repetir la extracción con una dilución de 1:10 en agua de grado molecular para biología de la muestra extraída en una ejecución «Extract + PCR».

**SÍMBOLOS**

-  Número de catálogo.
-  Límite superior de temperatura.
-  Código de lote.
-  Fecha de caducidad (último día del mes).
-  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» pruebas.
-  Atención: Consúltense las instrucciones de uso.
-  Contenido.
-  Proteger de la luz solar.
-  Fabricante.

**HEV ELITE MGB® Kit**

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

**REF** RTS130ING

**AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA  
LIMITADA**

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

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