



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

Uffici: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76 11
E-mail: emd.support@elitechgroup.com
Sito internet: www.elitechgroup.com

NOTICE of CHANGE dated 23/04/2024

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

« Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit» Ref. RTS401ING-48

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

- *Addition of UDI information*
- *Product Description: typo correction related to the alignment between targets and dyes*

Composition and use 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



DIESE FASSUNG DER GEBRAUCHSANLEITUNG IST KOMPATIBEL MIT DER VORHERIGEN VERSION DES TESTKITS



Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit
 Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTS401ING-48



UDI 08033891486686

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 CON EL ELITE InGenius
 PROCEDIMIENTO CON EL ELITE BeGenius
 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO
 BIBLIOGRAFÍA
 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO
 PROBLEMAS Y SOLUCIONES
 SÍMBOLOS
 AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA
 ANEXO: GUÍA RÁPIDA

página 1
 página 2
 página 2
 página 2
 página 2
 página 3
 página 3
 página 5
 página 6
 página 12
 página 16
 página 23
 página 24
 página 25
 página 28
 página 29
 página A

USO PREVISTO

El producto **Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit** es un producto sanitario para diagnóstico *in vitro* concebido para su uso por parte de profesionales sanitarios como ensayo cualitativo de ácidos nucleicos mediante PCR en tiempo real para la detección de ADN de *Mycoplasma genitalium* y para la identificación de las principales mutaciones asociadas a la resistencia a los macrólidos.

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 la primera orina de la mañana recogidas sin conservantes.

El producto se utiliza como ayuda en el diagnóstico de infecciones urinarias y genitales junto con los datos clínicos y otras pruebas analíticas del paciente.

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

Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit
 Reactivo para la amplificación de ADN en tiempo real

REF RTS401ING-48

PRINCIPIO DEL ENSAYO

Este es un ensayo cualitativo de PCR en tiempo real para la detección de ADN de *Mycoplasma genitalium* y de las principales mutaciones asociadas a la resistencia a los macrólidos, aisladas de muestras y amplificadas utilizando el reactivo del ensayo R/MG PCR Mix, que contiene cebadores y sondas con la tecnología ELITE MGB.

Las sondas ELITE MGB se activan cuando se hibridan con los productos de PCR relacionados. El **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius** controlan el aumento de fluorescencia y calculan los ciclos umbral (Ct) y las temperaturas de fusión (Tm).

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

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

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

- El gen ARNr 23S de *M. genitalium*, detectado en el canal **MG**; la sonda se estabiliza mediante la técnica MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher® y se marca con el colorante AquaPhluor® 525 (AP525).
- El Internal Control (**IC**), específico para la secuencia artificial IC2 y detectado en el canal **IC**; la sonda se estabiliza mediante la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher® y se marca con el colorante AquaPhluor® 680 (AP680).

La mezcla **R/MG PCR Mix** también contiene solución tampón, cloruro de magnesio, nucleótidos-trifosfatos y la enzima ADN polimerasa con activación térmica («hot-start»).

El producto **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** contiene suficientes reactivos para realizar **48 análisis** en el **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius (12 análisis con cada probeta)**, utilizando 20 µL en cada reacción.

El producto **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** también puede utilizarse con instrumentos equivalentes.

MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

Componente	Descripción	Cantidad	Clasificación de peligros
R/MG PCR Mix ref. RTS401ING-48	Mezcla de reactivos para la PCR en tiempo real Probeta con tapón BLANCO	4 x 280 µL	-

MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

- Campana de flujo laminar.
- Guantes sin talco desechables de nitrilo o de otro material similar.
- Agitador vórtex.
- Centrifugadora de sobremesa (aproximadamente 3000 rpm).
- Centrifugadora de sobremesa (aproximadamente 13.000 rpm).
- Micropipetas y puntas estériles con filtro para aerosoles o puntas estériles de desplazamiento positivo (0,5–10 µL, 2–20 µL, 5–50 µL, 50–200 µL, 200–1000 µL).
- Probetas estériles de 2,0 mL con tapón roscado (Sarstedt, Alemania, ref. 72.694.005).
- Agua para biología molecular.

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 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:

Instrumento y software	Productos y reactivos
<p>ELITe InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, ref. INT030).</p> <p>ELITe InGenius Software versión 1.3.0.17 (o posterior).</p> <p>R_MG ELITe_PC, protocolo de ensayo (Protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control.</p> <p>R_MG ELITe_NC, protocolo de ensayo (Assay Protocol) para el análisis del Negative Control.</p> <p>R_MG ELITe_U_200_100, protocolo de ensayo (Assay Protocol) con parámetros para el análisis de las muestras de la primera orina de la mañana.</p> <p>ELITe BeGenius (EG SpA, ref. INT040).</p> <p>ELITe BeGenius Software versión 2.1.0 (o posterior).</p> <p>R_MG ELITe_Be_PC, protocolo de ensayo (Assay Protocol) con parámetros para el análisis del Positive Control.</p> <p>R_MG ELITe_Be_NC, protocolo de ensayo (Assay Protocol) para el análisis del Negative Control.</p> <p>R_MG ELITe_Be_U_200_100, protocolo de ensayo (Assay Protocol) con parámetros para el análisis de las muestras de la primera orina de la mañana.</p>	<p>ELITe InGenius SP200 (EG SpA, ref. INT032SP200).</p> <p>ELITe InGenius SP 200 Consumable Set (EG SpA, ref. INT032CS).</p> <p>ELITe InGenius PCR Cassette (EG SpA, ref. INT035PCR).</p> <p>ELITe InGenius Waste Box (EG SpA, ref. F2102-000).</p> <p>300 µL Filter Tips Axygen (Corning Life Sciences Inc., ref. TF-350-L-R-S), solo con el ELITe InGenius.</p> <p>1000 µL Filter Tips Tecan (Tecan, Switzerland, ref. 30180118), solo con el ELITe BeGenius.</p> <p>CPE - Internal Control (EG SpA, ref. CTRCPE).</p> <p>Macrolide-R/MG - ELITe Positive Control (EG SpA, ref. CTR401ING).</p>

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

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

Advertencias y precauciones generales

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

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

Utilizar ropa de protección y guantes adecuados y protegerse los ojos y la cara.
 No pipetear ninguna solución con la boca.
 No comer, beber, fumar ni aplicarse cosméticos en el área de trabajo.
 Lavarse bien las manos después de manipular muestras y reactivos.
 Eliminar los reactivos sobrantes y los residuos conforme a las normas vigentes.
 Leer atentamente todas las instrucciones incluidas antes de realizar el ensayo.
 Durante la realización del ensayo, seguir las instrucciones proporcionadas con el producto.
 No utilizar el producto después de la fecha de caducidad indicada.
 Utilizar únicamente los reactivos incluidos en el producto y los recomendados por el fabricante.
 No utilizar reactivos procedentes de lotes diferentes.
 No utilizar reactivos de otros fabricantes.

Advertencias y precauciones para los procedimientos de biología molecular

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

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

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

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

Con el fin de evitar el riesgo de contaminación, los productos de extracción deben manipularse de manera que se reduzca al mínimo la dispersión hacia el entorno.

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)
R/MG PCR Mix	-20 °C o menos (protegido de la luz)	un mes	Siete como máximo	Hasta siete 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

Muestras

Este producto está concebido para utilizarlo en uno de los instrumentos **ELITE InGenius** o **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)*	de +2 °C a +8 °C	-20 °C ± 10 °C	-70 °C– ±15 °C
Primera orina de la mañana	recogidas sin conservantes	≤5 días	≤5 días	≤2 meses	≤2 años

* Referencia: G. L. Murray *et al*

La primera orina de la mañana puede utilizarse «tal cual» o después de concentrarla 10 veces mediante centrifugación a aproximadamente 1,125 RCF durante 10 minutos.

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.

Protocolos de ensayo para el producto Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit				
Muestra	Instrumento	Nombre del protocolo de ensayo	Informe	Características
Primera orina de la mañana recogida sin conservantes	ELITE InGenius	R_MG ELITE_U_200_100	Positivo/ Negativo	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución extraído: 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: 20 µL
	ELITE BeGenius	R_MG ELITE_Be_U_200_100		

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

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

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

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

Controles de PCR

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 **Macrolide-R/MG - ELITE Positive Control** (no incluido en este kit) con los protocolos de ensayo (Assay Protocols) **R_MG ELITE_PC** o **R_MG 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) **R_MG ELITE_NC** o **R_MG ELITE_Be_NC**.

Nota: el **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius** permiten generar y guardar la curva de calibración y la validación del control de PCR para cada lote de reactivos de PCR. Los resultados del control de PCR caducan **a los 15 días**, después de los cuales es necesario volver a procesar el Positive Control y el Negative Control. Los 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 el **ELITE InGenius** o el **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 **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** con el **ELITE InGenius** comprende tres pasos:

PASO 1	Verificación de la disponibilidad del sistema	
PASO 2	Configuración de la sesión	A) Sesión de la muestra: modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).
		B) Sesión con la muestra eluida, modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).
		C) Sesión para el Positive Control y el Negative Control: modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).
PASO 3	Evaluación y aprobación de los resultados	A) Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
		B) Validación de los resultados de las muestras
		C) Elaboración del informe 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 «Controls» (Controles) de la página «Home» (Inicio), verificar que los controles de PCR (**R/MG Positive Control** y **R/MG Negative Control**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de **R/MG PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de controles de PCR válidos para el lote de mezcla **R/MG 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.

PASO 2. Configuración de la sesión

El producto **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** puede utilizarse con el **ELITE InGenius** para realizar las siguientes tareas:

- A. Sesión de la muestra: modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).
- B. Sesión con la muestra eluida, modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).
- C. Sesión para el Positive Control y el Negative Control: modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).

Todos los parámetros necesarios están incluidos en los protocolos de ensayo (Assay Protocols) disponibles en el instrumento y se cargan automáticamente al seleccionar el protocolo de ensayo (Assay Protocol).

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

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

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

	A. Sesión de la muestra modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)	B. Sesión con la muestra eluida modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)	C. Sesión del Positive Control y del Negative Control modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).
1	Identificar las muestras y, en caso necesario, descongelarlas a temperatura ambiente. Para este ensayo, es necesario verter 200 µL de muestra en una «Extraction Tube» (Tubo de extracción) previamente etiquetada.	Descongelar las «Elution Tube» (probetas de elución) que contienen los ácidos nucleicos extraídos a temperatura ambiente. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.	Descongelar las probetas de Positive Control a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Cada probeta es suficiente para 4 reacciones.
2	Descongelar las probetas de CPE necesarias a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Cada probeta es suficiente para 12 extracciones.	No aplicable	Preparar el Negative Control vertiendo al menos 50 µL de agua para biología molecular en la «Elution Tube» (probeta de elución) que se incluye con el ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).
4	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.	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.
5	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.	No aplicable
6	Seleccionar el protocolo de ensayo (Assay Protocol) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».	Seleccionar el protocolo de ensayo (Assay Protocol) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».	Seleccionar el protocolo de ensayo (Assay Protocol) 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.
7	Asegurarse de que el protocolo que se muestra en el área «Protocol» (Protocolo) sea «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	Seleccionar «PCR Only» (Solo PCR) en la columna «Protocol» (Protocolo).	En la columna «Protocol» (Protocolo), asegurarse de que esté seleccionado «PCR Only» (Solo PCR).
8	En la columna «Sample Position» (Posición de la muestra), seleccionar la posición de carga «Extraction Tube» (Tubo de extracción) para la muestra.	Asegurarse de que la posición de carga de la muestra en la columna «Sample Position» (Posición de la muestra) sea «Elution Tube (bottom row)» (Tubo de elución [fila inferior]).	Asegurarse de que la posición de carga de la muestra en la columna «Sample Position» (Posición de la muestra) sea «Elution Tube (bottom row)» (Tubo de elución [fila inferior]).
9	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
10	Cargar el CPE y la PCR Mix en el «Inventory Block» (administrador de inventarios) en función de la «Load List» (Cargar Lista) y, después, introducir el número de lote del CPE y de la mezcla PCR Mix, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.	Cargar la PCR Mix en el «Inventory Block» (administrador de inventarios) en función de la «Load List» (Cargar Lista) y, después, introducir el número de lote de la PCR Mix, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.	Cargar la PCR Mix en el «Inventory Block» (administrador de inventarios) en función de la «Load List» (Cargar Lista) y, después, introducir el número de lote de la PCR Mix, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.

	A. Sesión de la muestra modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)	B. Sesión con la muestra eluida modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)	C. Sesión del Positive Control y del Negative Control modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).
11	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
12	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.	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.
13	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
14	Cargar el PCR Cassette, los cartuchos de extracción ELITE InGenius SP 200, así como todos los consumibles necesarios y las muestras que deben extraerse.	Cargar el PCR Cassette y las «Elution Tube» (probetas de elución) con las muestras extraídas.	Cargar el PCR Cassette y las probetas de Positive Control y de Negative Control.
15	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
16	Cerrar la puerta del equipo.	Cerrar la puerta del equipo.	Cerrar la puerta del equipo.
17	Pulsar «Start» (Inicio).	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**» (probeta de elución) debe extraerse del instrumento, taparse, identificarse y conservarse a $-20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 10\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante un máximo de un mes. Evitar derramar la muestra extraída.

Nota: al finalizar la sesión, la **PCR Mix** puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ o a una temperatura inferior, o bien mantenerse en el bloque refrigerado durante un máximo de 7 horas (2 sesiones de 3 horas cada una y el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión). Mezclar 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 **Positive Control** puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ o a una temperatura inferior. Evite derramar el **Positive Control**. La parte que queda del **Negative Control** debe eliminarse.

Nota: el **R/MG Positive Control** puede utilizarse para 4 sesiones independientes de 3 horas cada una.

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

PASO 3. Evaluación y aprobación de los resultados

El **ELITE InGenius** supervisa las señales de fluorescencia de la diana y del Internal Control para cada reacción y aplica automáticamente los parámetros del 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» (Presentación de resultados). En esta pantalla se muestran los resultados y la información de la sesión. Desde esta pantalla, es posible aprobar dichos resultados, así como imprimir o guardar los informes («Sample Report» o «Track Report»). Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

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

El **ELITE InGenius** genera los resultados con el producto **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** mediante el siguiente procedimiento:

- Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
- Validación de los resultados de las muestras.
- Generación del informe de resultados de la muestra

A. Validación de los resultados del Positive Control y 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) **R_MG ELITE_PC** y **R_MG ELITE_NC**. Los valores de Ct y Tm resultantes 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 registran en la base de datos («Controls»). Los usuarios cualificados como administrador («Administrator») o analista («Analyst») pueden consultar dichos resultados y aprobarlos siguiendo las instrucciones de la interfaz.

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

El **ELITE InGenius Software** utiliza los resultados de la amplificación del Positive Control y del Negative Control para configurar los gráficos de control («Control Charts»), lo que permite controlar el rendimiento del paso de amplificación. Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

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

B. Validación de los resultados de la muestra

El **ELITE InGenius Software** interpreta los resultados de la PCR para la diana (canal **MG**) y para el Internal Control (canal **IC**) con los parámetros del protocolo de ensayo (Assay Protocol) **R_MG ELITE_U_200_100**.

Los resultados se muestran en la pantalla «Results Display» (Presentación de resultados).

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

1) Positive Control	Estado
R/MG Positive Control	APROBADO
2) Negative Control	Estado
R/MG 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.

Resultado de la sesión de la muestra	Interpretación
MG:DNA detected. Macrolide Resistance Positive (MG:ADN Detectado. Resistencia a Macrólidos Positiva)	Se ha detectado ADN de <i>Mycoplasma genitalium</i> en la muestra. Se ha detectado una mutación en la región del gen analizado. La muestra podría ser resistente a los macrólidos .
MG:DNA detected. Macrolide Resistance Negative. MG:ADN Detectado. Resistencia a Macrólidos Negativa)	Se ha detectado ADN de <i>Mycoplasma genitalium</i> en la muestra. No se han detectado una mutaciones en la región del gen analizado. La muestra podría ser sensible a los macrólidos .
MG:DNA detected - Typing not feasible-Retest Sample (MG:ADN Detectado - Tipificación no factible-Vuelta a analizar la muestra)	Se ha detectado ADN de <i>Mycoplasma genitalium</i> en la muestra, pero no es suficiente para realizar el análisis de resistencia a los macrólidos. Es necesario repetir la prueba.
MG:DNA detected. Typing not determined (MG:ADN Detectado. Typing not determined)	Se ha detectado ADN de <i>Mycoplasma genitalium</i> DNA en la muestra, pero el análisis de la resistencia a los macrólidos no era viable.
MG:DNA not detected or below the LoD. (MG:ADN No detectado o por debajo del límite de detección)	No se ha detectado ADN de <i>Mycoplasma genitalium</i> en la muestra. Se trata de una muestra negativa válida o la concentración de la diana se encuentra por debajo del límite de detección del ensayo.
Invalid-Retest Sample (No válido-Volver a probar muestra)	Resultado no válido del ensayo debido a un fallo en el Internal Control (extracción incorrecta o arrastre de inhibidores). Es necesario repetir la prueba.

Las muestras que se notifican como «MG:DNA detected - Typing not feasible-Retest Sample» (MG:ADN Detectado - Tipificación no factible-Vuelta a analizar la muestra) no son aptas para el análisis de la resistencia a los macrólidos. En este caso, se ha detectado ADN de MG, pero no es suficiente para obtener resultados correctos relativos a la resistencia a los macrólidos de forma reproducible. Esto se debe a una concentración baja de *Mycoplasma genitalium* en la muestra o a problemas en la amplificación o en el paso de extracción (degradación o pérdida de ADN durante la extracción o presencia de inhibidores en el eluido). Es necesario repetir la prueba.

Nota: Cuando una muestra se notifica como «MG:DNA detected - Typing not feasible-Retest Sample» (MG:ADN Detectado - Tipificación no factible-Vuelta a analizar la muestra), el resultado no puede aprobarse, pero el operador puede comprobar el valor de la Tm. Si el valor de las Tm es inferior a 63,0 °C (límite inferior de Tm mutada), la muestra es «MG DNA Detected. Macrolide resistance positive». (MG:ADN Detectado. Resistencia a Macrólidos Positiva)

Las muestras que se notifican como «MG:DNA detected. Typing not determined» (MG:ADN Detectado. Typing not determined) sin ninguna indicación sobre el estado de resistencia a los macrólidos no son aptas para el genotipado. En este caso, el ADN diana se ha detectado en la muestra, pero no ha sido posible calcular una Tm, o el valor calculado para la Tm se encontraba fuera de los intervalos de Tm para el genotipado. Este último caso puede deberse a mutaciones diferentes de las previstas, a la recogida incorrecta de las muestras o a problemas en el paso de extracción (por ejemplo, arrastre de inhibidores en el eluido).

Las muestras que se notifican como «MG:DNA not detected or below the LoD» (MG:ADN No detectado o por debajo del límite de detección) son aptas para el análisis, pero no ha sido posible detectar ADN de MG. En este caso, no se puede descartar que el ADN de MG esté presente en una concentración por debajo del límite de detección del ensayo (ver «Características de rendimiento»).

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

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

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» (Presentación de resultados) permite imprimir y guardar los resultados de la sesión de la muestra como «Sample Report» y como «Track Report».

C. Generación del informe de los resultados de la muestra

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

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

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

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

PROCEDIMIENTO CON EL ELITE BeGenius

El procedimiento para utilizar el producto **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** con el **ELITE BeGenius** comprende tres pasos:

PASO 1	Verificación de la disponibilidad del sistema	
PASO 2	Configuración de la sesión	A) Sesión de la muestra: modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).
		B) Sesión con la muestra eluida, modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).
		C) Sesión para el Positive Control y el Negative Control: modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).
PASO 3	Evaluación y aprobación de los resultados	A) Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
		B) Validación de los resultados de las muestras
		C) Elaboración del informe 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 BeGenius** e iniciar sesión en el modo «**CLOSED**».
- En el menú «Controls» (Controles) de la página «Home» (Inicio), verificar que los controles de PCR (**R/MG Positive Control** y **R/MG Negative Control**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de **R/MG PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de controles de PCR válidos para el lote de **R/MG 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.

PASO 2. Configuración de la sesión

El producto **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** puede utilizarse con el **ELITE BeGenius** para realizar las siguientes tareas:

- A. Sesión de la muestra: modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).
- B. Sesión con la muestra eluida, modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).
- C. Sesión para el Positive Control y el Negative Control: modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).

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

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

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

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

	A. Sesión de la muestra modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)	B. Sesión con la muestra eluida modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)	C. Sesión del Positive Control y del Negative Control modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).
1	Identificar las muestras y, en caso necesario, descongelar a temperatura ambiente. Para este ensayo, es preciso verter 200 µL de muestra en una probeta Sarstedt de 2 mL previamente etiquetada.	En caso necesario, descongelar las «Elution Tube» (probetas de elución) que contienen los ácidos nucleicos extraídos a temperatura ambiente. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.	Descongelar las probetas de Positive Control a temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para 4 reacciones. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.
2	Descongelar las probetas de CPE necesarias a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Cada probeta es suficiente para 12 extracciones.	No aplicable	Preparar el Negative Control vertiendo al menos 50 µL de agua para biología molecular en la «Elution Tube» (probeta de elución) que se incluye con el ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla «Home» (Inicio).
4	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 mesa de preparación.	Extraer las racks de los «Lanes» 1, 2 y 3 (L1, L2, L3) de la «Cooler Unit» y colocarlas en la mesa de preparación.
5	Seleccionar el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR) .	Seleccionar el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR) .	Seleccionar el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR) .
6	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).	Cargar las probetas de Positive Control y de Negative Control en la «Elution Rack» (rejilla de elución).
7	Insertar la «Sample Rack» (rack	Insertar la «Elution Rack» (rejilla de	Insertar la «Elution Rack» (rejilla de

	A. Sesión de la muestra modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)	B. Sesión con la muestra eluida modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)	C. Sesión del Positive Control y del Negative Control modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).
	de muestras) en la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración), comenzando por el Lane 5 (L5). En caso necesario, insertar el «SID» (ID de la muestra) para posición utilizada (si las probetas secundarias están cargadas, marchar la probeta de 2 mL «2 mL Tube»). Si las probetas secundarias no tienen códigos de barras, introducir manualmente el ID de las muestras.	elución) 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).	elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). En caso necesario, para cada «Position» introducir el «Reagent name» (nombre del reactivo), el «S/N» (número de serie) el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones)
8	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
9	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.	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.
10	Seleccionar el protocolo de ensayo (Assay Protocol) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».	Seleccionar el protocolo de ensayo (Assay Protocol) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».	Seleccionar el protocolo de ensayo (Assay Protocol) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».
11	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
	Nota: si se procesan más de 12 muestras, repetir el procedimiento a partir del punto 6.		-
12	Cargar las «Elution Tube» (probetas 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	No aplicable
13	Insertar la «Elution Rack» (rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). Si se procesan más de 12 muestras, repetir el procedimiento utilizando el «Lane 2» (L2).	No aplicable	No aplicable
14	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	No aplicable	No aplicable
15	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).	Cargar la PCR Mix en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución).
16	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).	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).
17	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.

	A. Sesión de la muestra modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)	B. Sesión con la muestra eluida modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)	C. Sesión del Positive Control y del Negative Control modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).
18	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.	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.
19	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
20	Cargar la «PCR Rack» con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario).	Cargar la «PCR Rack» con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario).	Cargar la «PCR Rack» con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario).
21	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
22	Cargar la cesta de extracción «Extraction Rack» (gradilla de extracción) con los cartuchos de extracción ELITE InGenius SP 200 y los consumibles de extracción necesarios.	No aplicable	No aplicable
23	Cerrar la puerta del equipo.	Cerrar la puerta del equipo.	Cerrar la puerta del equipo.
24	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).

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

Nota: al finalizar la sesión, la parte que queda de la muestra extraída en la «**Elution Tube**» (probeta 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 a una temperatura inferior, o bien mantenerse en el bloque refrigerado durante un máximo de 7 horas (2 sesiones de 3 horas cada una y el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión). Mezclar con cuidado y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos antes de iniciar la siguiente sesión.

Nota: al finalizar la sesión, la parte que queda del **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 **R/MG Positive Control** puede utilizarse para 4 sesiones independientes de 3 horas cada una.

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

PASO 3. Evaluación y aprobación de los resultados

El **ELITE BeGenius** supervisa las señales de fluorescencia de la diana y del Internal Control para cada reacción y aplica automáticamente los parámetros del 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» (Presentación de resultados). En esta pantalla se muestran los resultados y la información de la sesión. Desde esta pantalla, es posible aprobar dichos resultados, así como imprimir o guardar los informes («Sample Report» o «Track Report»). Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

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

El **ELITE BeGenius** genera los resultados con el producto **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** mediante el siguiente procedimiento:

- Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
- Validación de los resultados de las muestras.
- Generación del informe de resultados de la muestra

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

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Límite de detección (LoD)

El límite de detección (LoD) del ensayo se determinó para el instrumento **ELITE InGenius** analizando muestras de la primera orina de la mañana recogidas sin conservantes y enriquecidas con material de referencia de *Mycoplasma genitalium* (Qnostics, Reino Unido, código MG1803023B).

Se realizó un análisis de regresión Probit en los resultados y el LoD se calculó como la concentración correspondiente al 95 % de probabilidad de un resultado positivo.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Límite de detección (microorganismos/mL) para muestras de la primera orina de la mañana y el sistema ELITE InGenius		
Límite de detección	Límites del intervalo de confianza del 95 %	
	Límite inferior	Límite superior
247	155	634

El valor calculado para el LoD se verificó utilizando el **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius** para analizar muestras de la primera orina de la mañana y muestras de orina concentrada enriquecida con material de referencia de *Mycoplasma genitalium* (DSMZ, DSM 19775) a la concentración declarada.

Los resultados obtenidos confirmaron la concentración declarada para la diana del producto **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** con las dos matrices, tanto con el **ELITE BeGenius** como con el **ELITE InGenius**.

Detección de la resistencia a los macrólidos

La detección de la resistencia a los macrólidos se evaluó para el ensayo analizando muestras certificadas para el ELITE InGenius (proporcionadas por un laboratorio externo) y ADN plasmídicos que contenían la región amplificada del gen ARNr 23S con las principales mutaciones relacionadas con la resistencia a los antibióticos que se mencionan en la tabla siguiente:

Mutación
A2058G
A2058C
A2058T
A2059G
A2059C
A2062G
A2062T

Nota: el ensayo permite detectar otras mutaciones en la misma región del gen ARNr 23S, como la A2062C, si bien dicha mutación no parece estar asociada a la resistencia a los macrólidos.

Los resultados de la prueba se indican en la siguiente sección, dedicada a la eficiencia de detección. Todos los aislados y los ADN plasmídicos analizados se detectaron como positivos para *Mycoplasma genitalium* y se clasificaron correctamente como posiblemente resistentes a los macrólidos cuando se utilizó el producto **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit**.

Inclusividad: eficacia de detección

La eficacia de detección del ensayo para *Mycoplasma genitalium*, inclusive las variantes resistentes a la azitromicina, se evaluó mediante un análisis informático de las secuencias disponibles en la base de datos de nucleótidos EBI-ENA.

El análisis demostró la conservación de las secuencias y la ausencia de mutaciones reseñables. Así, se espera una detección eficaz de las diferentes cepas o de los diferentes aislados.

La eficacia de detección también se verificó mediante un análisis de ADN genómico certificado procedente de muestras clínicas (proporcionadas por un laboratorio externo) y de ADN plasmídicos que contenían mutaciones para la resistencia a la azitromicina.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Muestra	Pos./Dup.	Mut. / Rep.
<i>M. genitalium</i> normal	3/3	0/3
pMG A2058G	3/3	3/3
pMG A2058C	3/3	3/3
pMG A2058T	3/3	3/3
pMG A2059G	3/3	3/3
pMG A2059C	3/3	3/3
pMG A2062G	12/12	12/12
pMG A2062T	12/12	12/12
MG 410 (A2058G)	1/1	1/1
MG 426 (A2058G)	1/1	1/1
MG 539 (A2059G)	1/1	1/1
MG 540 (A2058G)	1/1	1/1

Marcadores potencialmente interferentes

La reactividad cruzada potencial con otros microorganismos imprevistos del ensayo se evaluó mediante un análisis informático de las secuencias disponibles en la base de datos de nucleótidos EBI ENA.

Las regiones elegidas para la hibridación de los cebadores y las sondas fluorescentes se revisaron en la alineación de las secuencias de otras bacterias y otros virus. Las regiones de hibridación presentaron ausencia de homología importantes y no indicaron interferencias potenciales.

La ausencia de reactividad cruzada con otros microorganismos de las muestras clínicas de orina también se verificó analizando un panel de materiales certificados (ATCC y Vircell Microbiologist)..

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Reactividad cruzada potencial		
Microorganismo	Cepa	Resultado
<i>Chlamydia trachomatis</i>	LGV II	Sin reactividad cruzada
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	DSM 9188	Sin reactividad cruzada
<i>Trichomonas vaginalis</i>	Aislado clínico	Sin reactividad cruzada
<i>Mycoplasma hominis</i>	PG21	Sin reactividad cruzada
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	NCTC10177	Sin reactividad cruzada
<i>Escherichia coli</i>	CFT073	Sin reactividad cruzada
<i>Ureaplasma parvum</i>	NCTC 11736	Sin reactividad cruzada
<i>Treponema pallidum</i>	Nichols	Sin reactividad cruzada
<i>Gardnerella vaginalis</i>	594	Sin reactividad cruzada
<i>Mobiluncus mulieris</i>	BV 64-5	Sin reactividad cruzada
<i>Bacteroides fragilis</i>	NCTC 9343	Sin reactividad cruzada
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	MSHD	Sin reactividad cruzada
<i>Candida albicans</i>	3147	Sin reactividad cruzada
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Pak	Sin reactividad cruzada
VHS1	McIntyre	Sin reactividad cruzada
VHS2	G	Sin reactividad cruzada

Todos los microorganismos con reactividad cruzada potencial resultaron ser negativos para las dianas cuando se analizaron con el producto **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit**.

La ausencia de interferencia con otros microorganismos que pueden encontrarse en las muestras clínicas de orina se verificó analizando un panel de materiales certificados enriquecidos con ADN de *Mycoplasma genitalium* (Vircell Microbiologist) a una concentración baja.

Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit

Reactivo para la amplificación de ADN en tiempo real

REF RTS401ING-48

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Interferencia potencial		
Microorganismo	Cepa	Resultado
<i>Chlamydia trachomatis</i>	LGV II	Sin interferencia
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	DSM 9188	Sin interferencia
<i>Trichomonas vaginalis</i>	Aislado clínico	Sin interferencia
<i>Mycoplasma hominis</i>	PG21	Sin interferencia
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	NCTC10177	Sin interferencia
<i>Escherichia coli</i>	CFT073	Sin interferencia
<i>Ureaplasma parvum</i>	NCTC 11736	Sin interferencia
<i>Treponema pallidum</i>	Nichols	Sin interferencia
<i>Gardnerella vaginalis</i>	594	Sin interferencia
<i>Mobiluncus mulieris</i>	BV 64-5	Sin interferencia
<i>Bacteroides fragilis</i>	NCTC 9343	Sin interferencia
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	MSHD	Sin interferencia
<i>Candida albicans</i>	3147	Sin interferencia
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Pak	Sin interferencia
VHS1	McIntyre	Sin interferencia
VHS2	G	Sin interferencia

Ninguno de los microorganismos potencialmente interferentes interfirió en la amplificación de las dianas cuando se analizaron con el producto **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit**.

Sustancias interferentes

La reactividad cruzada provocada por las sustancias potencialmente interferentes (endógenas y exógenas) que pueden encontrarse en las muestras de la primera orina de la mañana se evaluó para el ensayo analizando un panel de sustancias a las concentraciones pertinentes.

Los valores de Ct de la diana y del Internal Control se usaron para calcular el coeficiente de variación porcentual (%CV) con el fin de evaluar la posible interferencia.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

%CV Ct (referencia + prueba)		
Sustancia	<i>M. genitalium</i>	CI
Sangre	1,06	1,12
Esperma	1,22	1,03
Mucina	2,36	1,23
Azitromicina	3,74	1,37

Todas las muestras resultaron ser positivas para la diana de interés. El coeficiente de variación porcentual (%CV) de los valores de Ct fue inferior al 4 %. Ninguna de las sustancias analizadas a las concentraciones correspondientes interfirió en la detección de la diana cuando se utilizó el producto **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit**.

Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit

Reactivo para la amplificación de ADN en tiempo real

REF RTS401ING-48

Repetibilidad

La repetibilidad del ensayo se evaluó en el **ELITE BeGenius** y el **ELITE InGenius** analizando un panel de muestras de la primera orina de la mañana, negativas o enriquecidas con *Mycoplasma genitalium* (DSMZ, DSM 19775).

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	Pos./Neg.	<i>Mycoplasma genitalium</i>			% de concordancia
		Ct medio	DE	%CV	
Negativas	0/8	N/A	N/A	N/A	100 %
3×LoD	8/8	34,59	0,69	1,98	100 %
10×LoD	8/8	32,51	0,41	1,25	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 InGenius.

Repetibilidad dentro de las sesiones con el ELITE InGenius					
Muestra	Pos./Neg.	<i>Mycoplasma genitalium</i>			% de concordancia
		Ct medio	DE	%CV	
Negativas	0/8	N/A	N/A	N/A	100 %
3×LoD	8/8	35,97	0,64	1,77	100 %
10×LoD	8/8	32,66	0,30	0,93	100 %

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

Repetibilidad entre sesiones con el ELITE BeGenius					
Muestra	Pos./Neg.	<i>Mycoplasma genitalium</i>			% de concordancia
		Ct medio	DE	%CV	
Negativas	0/16	N/A	N/A	N/A	100 %
3×LoD	16/16	35,18	0,98	2,78	100 %
10×LoD	16/16	32,79	0,45	1,37	100 %

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

Repetibilidad entre sesiones con el ELITE InGenius					
Muestra	Pos./Neg.	<i>Mycoplasma genitalium</i>			% de concordancia
		Ct medio	DE	%CV	
Negativas	0/16	N/A	N/A	N/A	100 %
3×LoD	16/16	36,13	0,80	2,21	100 %
10×LoD	16/16	32,91	0,57	1,73	100 %

En la prueba de repetibilidad, el producto **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** detectó todas las muestras tal como se esperaba y presentó una variación máxima de los valores de Ct de la diana como un %CV del 2.78 %.

Reproducibilidad

La reproducibilidad del ensayo se evaluó en el ELITE BeGenius y el ELITE InGenius analizando un panel de muestras de la primera orina de la mañana, negativas o enriquecidas con *Mycoplasma genitalium* (DSMZ, DSM 19775).

Los resultados de reproducibilidad entre lotes obtenidos con el ELITE BeGenius se muestran en la tabla siguiente.

Reproducibilidad entre lotes con el ELITE BeGenius					
Muestra	Pos./Dup.	Mycoplasma genitalium			% de concordancia
		Ct medio	DE	%CV	
Negativas	0/8	-	-	-	100 %
3×LoD	8/8	35,75	0,27	0,75	100 %
10×LoD	8/8	33,16	0,74	2,23	100 %

Los resultados de reproducibilidad entre lotes obtenidos con el ELITE InGenius se muestran en la tabla siguiente.

Reproducibilidad entre lotes con el ELITE InGenius					
Muestra	Pos./Dup.	Mycoplasma genitalium			% de concordancia
		Ct medio	DE	%CV	
Negativas	0/8	-	-	-	100 %
3×LoD	8/8	35,79	0,83	2,31	100 %
10×LoD	8/8	33,65	0,44	1,29	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	Pos./Dup.	Mycoplasma genitalium			% de concordancia
		Ct medio	DE	%CV	
Negativas	0/16	-	-	-	100 %
3×LoD	16/16	35,59	0,79	2,22	100 %
10×LoD	16/16	33,19	0,46	1,39	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	Pos./Dup.	Mycoplasma genitalium			% de concordancia
		Ct medio	DE	%CV	
Negativas	0/16	-	-	-	100 %
3×LoD	16/16	35,67	0,05	1,94	100 %
10×LoD	16/16	33,25	0,23	0,69	100 %

En la prueba de reproducibilidad, el producto Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit detectó todas las muestras tal como se esperaba y presentó una variación máxima de los valores de Ct de la diana como un %CV del 2,31 %.

Sensibilidad diagnóstica: confirmación de las 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 la primera orina de la mañana recogidas sin conservantes y enriquecidas con materiales de referencia.

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.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente.

Muestras	N	positivas	negativas	% de sensibilidad diagnóstica
M. genitalium positivo para la primera orina de la mañana	13	13	0	100 %
Primera orina de la mañana a la que se agregó M. genitalium	20	20	0	100 %

La sensibilidad diagnóstica del producto Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit cuando se utilizó con muestras de la primera orina de la mañana fue del 100 % para *Mycoplasma genitalium*.

Especificidad diagnóstica: confirmación de las muestras negativas

La especificidad diagnóstica del ensayo, expresada como confirmación de las muestras clínicas negativas, se evaluó en el ELITE InGenius analizando muestras clínicas de la primera orina de la mañana recogidas sin conservantes, certificadas negativas o supuestamente negativas.

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

Los resultados se resumen en la tabla siguiente.

Muestras	N	positivas	negativas	% de especificidad diagnóstica
M. genitalium negativo para la primera orina de la mañana	30	0	30	100 %

Todas las muestras de la primera orina de la mañana fueron válidas para el análisis. La especificidad diagnóstica del producto Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit cuando se utilizó con muestras de la primera orina de la mañana en este análisis fue del 100 % para *Mycoplasma genitalium*.

El valor de corte para el Ct del IC se ha establecido a 32.

Confirmación de las muestras resistentes a los antibióticos y positivas para MG

La sensibilidad diagnóstica del ensayo para la resistencia a los antibióticos, expresada como confirmación de las muestras clínicas resistentes a los antibióticos y positivas para la resistencia a *Mycoplasma genitalium*, se evaluó en el ELITE InGenius analizando muestras clínicas de la primera orina de la mañana recogidas sin conservantes, positivas y enriquecidas con materiales de referencia.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente.

Muestras	N	positivas	resistentes	sensibles
M. genitalium positivo resistente para la primera orina de la mañana	6	6	6	0
Primera orina de la mañana a la que se agregó M. genitalium resistente	24	24	24	0

Todas las muestras positivas para *Mycoplasma genitalium* y resistentes a los antibióticos resultaron ser positivas y posiblemente resistentes cuando se utilizó el producto Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit. En este análisis, la sensibilidad diagnóstica para la resistencia a los antibióticos del producto Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit fue del 100 %.

Confirmación de las muestras sensibles a los antibióticos y positivas para MG

La especificidad diagnóstica del ensayo para la sensibilidad a los antibióticos, expresada como confirmación de las muestras clínicas sensibles a los antibióticos y positivas para *Mycoplasma genitalium*, se evaluó en el **ELITE InGenius** analizando muestras clínicas de la primera orina de la mañana recogidas sin conservantes, positivas y enriquecidas con materiales de referencia.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente.

Muestras	N	positivas	resistentes	sensibles
Primera orina de la mañana sensible a <i>M. genitalium</i>	4	4	0	4
Primera orina de la mañana a la que se agregó <i>M. genitalium</i> sensible	20	20	0	20

Todas las muestras positivas para *Mycoplasma genitalium* y sensibles a los antibióticos resultaron se positivas y posiblemente sensibles cuando se utilizó el producto Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit. En este análisis, la especificidad diagnóstica para la sensibilidad a los antibióticos del producto Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit fue del 100 %.

Nota: Los datos y resultados completos de los análisis realizados para evaluar las características de rendimiento del producto con las matrices y el instrumento se incluyen en la documentación técnica del producto Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit, FTP RTS401ING-48.

BIBLIOGRAFÍA

- Twin J. *et al.* (2012) PLoS ONE Vol. 7, edición 4
 Nijhuis R.H.T. *et al.* J. Antimicrob. Chemother. (2015), 70: 2515-2518
 E. A. Lukhtanov *et al.* (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e30
 G. L. Murray *et al.* (2019) J. Appl. Microbiol. 127(4):1219-1223
 A. Guschin *et al.* (2015) BMC Infect Dis. 15:40.
 R. Palich *et al.* (2021) Sex. Transm. Dis. 48(11):e163-e164.
 K. Linnet *et al.* (2004) Clin. Chem. 50: 732-740.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Utilizar este producto únicamente con las siguientes muestras clínicas: primera orina de la mañana.

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

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 el caso de producirse una infección simultánea, la sensibilidad de una diana puede verse afectada por la amplificación de una segunda diana (consultar la sección «Características de rendimiento»).

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

Los resultados obtenidos con este producto en cuanto a la posible resistencia a los macrólidos de *Mycoplasma genitalium* se limitan a la detección de las principales mutaciones, tal como se describe en la sección «Características de rendimiento». Otras mutaciones no detectadas por este producto pueden estar asociadas a la resistencia a los macrólidos. Por otra parte, este producto puede detectar mutaciones sinónimas, si bien estas no están asociadas a la resistencia a los macrólidos. Por lo tanto, se necesita una prueba de susceptibilidad antimicrobiana fenotípica para confirmar la susceptibilidad o la resistencia a los macrólidos.

Del mismo modo, los posibles polimorfismos, así como las inserciones o supresiones existentes en la región del ADN diana al que se dirigen los cebadores y las sondas del producto, pueden afectar negativamente a la detección del ADN diana.

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

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

PROBLEMAS Y SOLUCIONES

Reacción no válida del Positive Control	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Revisar la posición de la mezcla de PCR y del Positive Control. Revisar los volúmenes de la mezcla de PCR y del Positive Control.
Degradación de la PCR Mix (mezcla de PCR).	No utilizar la PCR Mix durante más de 7 sesiones independientes: 3 horas en el bloque refrigerado de la «Inventory Area» (área del inventario) o en la «Cooler Unit». No utilizar la PCR Mix durante más de 3 sesiones consecutivas: 7 horas en el bloque refrigerado de la «Inventory Area» (área del inventario) o en la «Cooler Unit». No dejar la PCR Mix a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. Utilizar una nueva alícuota de la PCR Mix.
Degradación del Positive Control.	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 una nueva alícuota de Positive Control.
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

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

Reacción no válida de la muestra	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la posición de la PCR Mix, del Internal Control y de la muestra. Comprobar el volumen de la PCR Mix, el del Internal Control y el de la muestra.
Degradación de la PCR Mix (mezcla de PCR).	No utilizar la PCR Mix durante más de 7 sesiones independientes: 3 horas en el bloque refrigerado de la «Inventory Area» (área del inventario) o en la «Cooler Unit». No utilizar la PCR Mix durante más de 3 sesiones consecutivas: 7 horas en el bloque refrigerado de la «Inventory Area» (área del inventario) o en la «Cooler Unit». No dejar la PCR Mix a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. Usar nuevas alícuotas de la PCR Mix.
Degradación de la plantilla del Internal Control.	Utilizar una nueva alícuota del Internal Control.
Inhibición debida a la presencia de sustancias interferentes en la muestra.	Repetir la amplificación con una dilución de 1:3 en agua para biología molecular de la muestra eluida en una sesión en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR). Repetir la extracción con una dilución de 1:3 en agua para biología molecular de la muestra en una sesión realizada en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

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

Error en el cálculo del Ct	
Posibles causas	Soluciones
Concentración demasiado alta de la diana en la muestra o muestra con una señal de fluorescencia anómala.	<p>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.</p> <p>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.</p> <p>Si se requiere un valor Ct:</p> <ul style="list-style-type: none"> - 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» (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» (Extracción + PCR).

Tasa anormalmente alta de resultados positivos dentro de la misma sesión (reacciones con valores de Ct tardíos similares)	
Posibles causas	Soluciones
Contaminación entre muestras durante los pasos preanalíticos.	<p>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.</p> <p>No utilizar pipetas de Pasteur. Las pipetas deben ser del tipo de desplazamiento positivo o utilizarse con puntas con filtro para aerosoles.</p> <p>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.</p>
Contaminación medioambiental en el laboratorio	<p>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.</p> <p>Realizar un ciclo de descontaminación con radiación UV.</p> <p>Utilizar una nueva probeta de la PCR Mix o de CPE.</p>

SÍMBOLOS

-  Número de catálogo.
-  Límite superior de temperatura.
-  Código de lote.
-  Fecha de caducidad (último día del mes).
-  Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*.
-  Cumple los requisitos de la Directiva 98/79/CE del Parlamento Europeo y del Consejo sobre productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*.
-  Identificador único del producto
-  Contenido suficiente para «N» análisis.
-  Atención: Consultar las instrucciones de uso.
-  Contenido.
-  Manténgase fuera de la luz del sol
-  Fabricante.

Macrolide-R/MG ELITe MGB® Kit

Reactivo para la amplificación de ADN en tiempo real

REF RTS401ING-48

AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA

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

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

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

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

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

Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit

used in association with Genius series® platforms

Ref: RTS401ING-48



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

Intended use

The product **Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit** is an in vitro diagnostic medical device intended to be used by healthcare professionals as a qualitative nucleic acids Real-Time PCR assay for the detection of the DNA of *Mycoplasma genitalium* and for identification of main Macrolide resistance associated mutations.

The assay is validated in association with the **ELITE InGenius®** and **ELITE BeGenius®** instruments, automated and integrated systems for extraction, Real-Time PCR and results interpretation, using human specimens of first void urine collected without preservatives.

The product is intended for use as an aid in the diagnosis of uro-genital tract infections, in conjunction with other laboratory test results and clinical data.

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

Amplified sequence

Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
Target 1	23S rRNA	AP525	MG
Internal Control	IC2	AP680	IC

Validated matrix

- › first void urine collected without preservatives

Kit content and related products

Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit (RTS401ING-48)	Macrolide-R/MG – ELITE Positive Control (CTR401ING)
 X 4	 X 3
R/MG PCR Mix 4 tubes of 280 µL 12 reactions per tube 48 reactions per kit 7 freeze-thaw cycles per tube	R/MG Positive Control 3 tubes of 160 µL 4 reactions per tube 12 reactions per kit 4 freeze-thaw cycles
Maximum shelf-life: 24 months	Maximum shelf-life: 24 months
Storage temperature: ≤ -20°C	Storage temperature: ≤ -20°C

Other products required not provided in the kit

- | | |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> › ELITE InGenius instrument: INT030. › ELITE BeGenius instrument: INT040. › ELITE InGenius SP 200: INT032SP200. › ELITE InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS. › ELITE InGenius PCR Cassette: INT035PCR. | <ul style="list-style-type: none"> › ELITE InGenius Waste Box: F2102-000. › 300 µL Filter Tips Axigen: TF-350-L-R-S. › 1000 µL Filter Tips Tecan: 30180118. › CPE - Internal Control: CTCPE. |
|--|--|

ELITE InGenius and ELITE BeGenius protocol

› Sample volume	200 µL	› Eluate PCR input volume	20 µL
› CPE volume	10 µL	› R/MG PCR Mix volume	20 µL
› Total elution volume	100 µL	› Frequency of controls	15 days

ELITe InGenius and ELITe BeGenius Performances

Matrix	Target	Limit of Detection	antibiotic-resistant Sensitivity in MG positive samples	antibiotic-resistant Specificity in MG positive samples	Specificity
first void urine collected without preservatives	MG	247 organisms / mL	100% ^(30/30)	100% ^(24/24)	100% ^(30/30)

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
first void urine collected without preservatives	≤ 5 days	≤ 5 days	≤ 2 months	≤ 2 years

* Reference: G. L. Murray et al

ELITe InGenius Procedures

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

Before analysis

- Switch on ELITe InGenius. Log in with username and password. Select the mode "CLOSED".
- Verify controls: **R_MG Positive Control** and **R_MG Negative Control** in the "Controls" menu. *Note: Both must have been run, approved and not expired.*
- Thaw the **R/MG PCR Mix** and the **CTRPE** tubes. Vortex gently. Spin down 5 sec.

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", elution: "100 µL"	3. Scan the sample barcodes with hand-barcode reader or type the sample ID
4. Select the "Assay Protocol" of interest: R_MG ELITe_U_200_100	5. Select the method "Extract + PCR" and the sample position: Extraction Tube	6. Load the PCR Mix and the Internal Control in the Inventory Block
7. Load: PCR Cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip Cassette, Extraction Tube racks	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results

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

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: 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: R_MG ELITe_U_200_100 or R_MG ELITe_PC or R_MG ELITe_NC	5. Select the method "PCR Only" and 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. 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 modes are available: complete run (Extract+PCR) or PCR Only .

Before analysis

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

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «Extract +PCR»	2. Insert the Sample Rack with the barcoded samples in the Cooler Unit. The barcode scan is already active	3. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "100 µL"
4. Select the "Assay Protocol" of interest: R_MG ELITE_Be_U_200_100 Note: if a second extraction is performed repeat steps from 2 to 4	5. Print the labels to barcode the empty elution tubes. Load the tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit	6. Load the PCR Mix and the Internal Control in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit
7. Load "PCR Rack" with "PCR Cassette" and the "Extraction Rack" with the "ELITE InGenius SP 200" extraction cartridges and the required extraction consumables	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results

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

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «PCR Only»	2. Load the extracted nucleic acid or controls barcoded tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit"	3. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "100 µL"
4. Select the "Assay Protocol" of interest: R_MG ELITE_Be_U_200_100 or R_MG ELITE_Be_PC or R_MG ELITE_Be_NC	5. Load the PCR-Mix in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit	6. Load "PCR Rack" with "PCR Cassette"
7. Close the door. Start the run	8. View, approve and store the results	