

Instructions for use

HPV PLUS ELITe MGB® Kit

Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real



REF RTS402ING

UDI 08033891487393

CE
0123

IVD

HISTORIAL DE CAMBIOS

Rev.	Información del cambio	Fecha (dd/mm/aaaa)
00	Desarrollo de un nuevo producto	20/09/2024

INDICE

1	USO PREVISTO	4
2	PRINCIPIO DEL ENSAYO	4
3	DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO.....	4
4	MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO.....	5
5	MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO	5
6	OTROS PRODUCTOS NECESARIOS	5
7	ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES.....	6
8	MUESTRAS Y CONTROLES	7
9	PROCEDIMIENTO CON EL ELITe InGenius.....	9
10	PROCEDIMIENTO CON EL ELITe BeGenius	15
11	CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO	19
12	BIBLIOGRAFÍA	34
13	LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO	35
14	PROBLEMAS Y SOLUCIONES	36
15	SÍMBOLOS.....	38
16	NOTA PARA LOS USUARIOS	39
17	AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA.....	40
	Appendix A QUICK START GUIDE.....	41

1 USO PREVISTO

El producto **HPV PLUS ELITE MGB® Kit** es un producto sanitario para diagnóstico *in vitro* concebido para uso por parte de profesionales sanitarios como ensayo cualitativo múltiple de ácidos nucleicos mediante PCR en tiempo real para la detección y la identificación de **ADN genómico** de 14 genotipos de alto riesgo de **virus del papiloma humano (VPH)** de la manera siguiente: detección y tipificación de los genotipos de alto riesgo VPH16, VPH18, VPH31 y VPH45, detección del grupo de alto riesgo VPH HR1 (VPH33, VPH52 y VPH58) y detección grupo genotipo de alto riesgo VPH HR2 y de los genotipos no vacunales (VPH35, VPH39, VPH51, VPH56, VPH59, VPH66 y VPH68), extraídos de muestras clínicas.

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 cervicouterinas humanas suspendidas en un fijador con base alcohólica para citología.

El producto se utiliza como ayuda en el diagnóstico de infecciones por VPH, así como en pacientes que han presentado un resultado positivo para VPH en una citología o una prueba molecular. Los resultados deben interpretarse en combinación con todas las observaciones clínicas pertinentes del paciente así como los resultados de otras pruebas de laboratorio.

2 PRINCIPIO DEL ENSAYO

Este es un ensayo cualitativo de PCR en tiempo real para la detección de ADN de VPH, aislado de muestras y amplificado utilizando el reactivo de ensayo **HPV PLUS PCR Mix**, que contiene cebadores y sondas con las tecnologías ELITE MGB y TaqMan™ MGB®.

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

En las sondas, 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, en el caso de las sondas ELITE MGB, el fluoróforo no se escinde durante la PCR y puede utilizarse para el análisis de la disociación y para calcular la temperatura de fusión.

3 DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

El producto **HPV PLUS ELITE MGB Kit** incluye el reactivo de ensayo **HPV PLUS PCR Mix**, que es una mezcla PCR Mix que contiene los cebadores y las sondas específicos para:

- La región genómica **E6/E7** de VPH16 y de VPH31, que se detecta en el canal 1 (**HPV16_31**) y se distingue mediante la temperatura de fusión. Las sondas se estabilizan mediante la tecnología MGB®, se inactivan mediante el Eclipse Dark Quencher® y se marcan con el colorante FAM.
- La región genómica **E6/E7** de VPH18 y de VPH45, que se detecta en el canal 6 (**HPV18_45**) y se distingue mediante la temperatura de fusión. Las sondas se estabilizan mediante la tecnología MGB®, se inactivan mediante el Eclipse Dark Quencher y se marcan con el colorante AquaPhluor® 690 (AP690).
- Región genómica **E6/E7** del grupo VPH HR1 (VPH33, VPH52 y VPH58), que se detecta en el canal 5 (**HPV_HR1**). Las sondas se estabilizan mediante la tecnología MGB®, se inactivan mediante el Eclipse Dark Quencher y se marcan con el colorante AquaPhluor 639 (AP639).
- Región genómica **E6/E7** del grupo VPH HR2 (VPH35, VPH39, VPH51, VPH56, VPH59, VPH66 y VPH68), que se detecta en el canal 4 (**HPV_HR2**). Las sondas se estabilizan mediante la tecnología MGB®, se inactivan mediante el Eclipse Dark Quencher y se marcan con el colorante AquaPhluor 593 (AP593).
- Internal Control endógeno, específico para el gen de la **beta globina** humana, que se detecta en el canal 2 (**IC**). La sonda se estabiliza mediante la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher y se marca con el colorante AquaPhluor 525 (AP525).

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

El Internal Control endógeno controla la celularidad de la muestra, así como el proceso de extracción y la eficacia del procedimiento de PCR.

El producto **HPV PLUS ELITE MGB Kit** contiene suficientes reactivos para **96 análisis** en el **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius (12 análisis en cada probeta)**, cuando se utilizan 20 µL en cada reacción.

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

4 MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

Tabla 1

Componente	Descripción	Cantidad	Clasificación de peligros
HPV PLUS PCR Mix ref. RTS402ING	Mezcla de reactivos para PCR en tiempo real en probeta con tapón blanco	8 × 280 µL	-

5 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 5000 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.

6 OTROS PRODUCTOS NECESARIOS

Este producto **no** incluye los reactivos para la extracción de la muestra, ni tampoco 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:

Tabla 2

Instrumentos y software	Productos y reactivos
ELITE InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, ref. INT030) ELITE InGenius Software versión 1.3.0.19 (o posterior) HPV PLUS ELITE_PC , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control HPV PLUS ELITE_NC , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Negative Control HPV PLUS ELITE_Cyt_Sense_200_100 , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras cervicouterinas	ELITE InGenius SP200 (EG SpA, ref. INT032SP200) ELITE InGenius SP 200 Consumable Set (EG SpA, ref. INT032CS) ELITE InGeniusPCR Cassette (EG SpA, ref. INT035PCR), ELITE InGenius Waste Box (EG SpA, ref. F2102-000) 300 µL Filter Tips Axygen (Corning Life Sciences Inc., ref. TF-350-L-R-S), solo con el ELITE InGenius 1000 µL Filter Tips Tecan (Tecan, Switzerland, ref. 30180118), solo con el ELITE BeGenius HPV PLUS- ELITE Positive Control (EG SpA, ref. CTR402ING) ThinPrep® Pap Test PreservCyt® Solution (Hologic, Inc., código 70098-002, 20 mL de PreservCyt® Solution). BD SurePath™ Collection Vial 10 mL (Becton, Dickinson and Company, códigos 491439/491438/491440, 10 mL de líquido conservante SurePath® Preservative Fluid).
ELITE BeGenius (EG SpA, ref. INT040) ELITE BeGenius Software versión 2.2.1 (o posterior) HPV PLUS ELITE_Be_PC , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control HPV PLUS ELITE_Be_NC , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis del Negative Control HPV PLUS ELITE_Be_Cyt_Sense_200_100 , Assay Protocol (protocolo de ensayo) con parámetros para el análisis de muestras cervicouterinas.	

7 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Este producto está diseñado exclusivamente para uso in vitro.

7.1 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.

7.2 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.

Con el fin de evitar la dispersión del producto de PCR hacia el entorno, así como la contaminación de muestras y reactivos, los cartuchos PCR Cassette deben manipularse con cuidado y no deben abrirse nunca.

7.3 Advertencias y precauciones específicas para los componentes:

Tabla 3

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

*Con congelación intermedia

8 MUESTRAS Y CONTROLES

8.1 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:

Tabla 4

Muestra	Requisitos de obtención	Condiciones transporte/almacenamiento			
		de +16 °C a +26 °C (temperatura ambiente)	de +2 °C a +8 °C	-20 °C ±10 °C	-70 °C ±15 °C
Muestra cervicouterina para citología líquida	ThinPrep® Pap Test PreservCyt® Solution (Hologic, Inc.)	≤6 meses	≤6 meses	NR	NR
	BD SurePath™ Collection Vial 10 mL (Becton, Dickinson and C.)	≤3 meses	≤6 meses	NR	NR

NR: no recomendado.

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

Tabla 5

Protocolos de ensayo para HPV PLUS ELITE MGB Kit				
Muestra	Instrumento	Nombre del protocolo de ensayo	Informe	Características
Muestra cervicouterina para citología líquida	ELITE InGenius	HPV PLUS ELITE_Cyt_Sense_200_100	Positivo/ Negativo	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución de extracción: 100 µL Internal Control: NO Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1 Volumen de PCR Mix: 20 µL Volumen de carga de PCR de la muestra: 20 µL
	ELITE BeGenius	HPV PLUS ELITE_Be_Cyt_Sense_200_100	Positivo/ Negativo	

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

NOTA!

El pipeteado de las muestras en la **Extraction tube** (probeta 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 «7 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES page 6».

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 «[11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO page 19](#)» para comprobar los datos relativos a tales sustancias.

8.2 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 **HPV PLUS - ELITE Positive Control** (no incluido con este kit) con los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **HPV PLUS ELITE_PC** o **HPV PLUS ELITE_Be_PC**.

- Para el Negative Control, utilizar agua para biología molecular (no incluida en este kit), junto con los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **HPV PLUS ELITE_NC** o **HPV PLUS ELITE_Be_NC**.

NOTA!

El **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius** permiten generar y guardar la validación del control de PCR para cada lote de reactivos de PCR. Los resultados del control de la PCR caducan **a los 15 días**, transcurridos 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 en el **ELITE BeGenius**.

8.3 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.

9 PROCEDIMIENTO CON EL ELITE InGenius

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

Tabla 6

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 del Positive Control y del Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
PASO 3	Evaluación y aprobación de los resultados	1) Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
		2) Validación de los resultados de las muestras
		3) Generación del informe de los resultados de la muestra

9.1 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 (**Positive Control**, **Negative Control**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de mezcla **PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de controles de PCR válidos para el lote de **PCR Mix**, procesar los controles de la PCR tal como se describe en los apartados siguientes.
- Seleccionar el tipo de sesión siguiendo las instrucciones de la interfaz para configurar la sesión y utilizando los Assay Protocols (protocolos de ensayo) proporcionados por EG SpA (consultar la sección «Muestras y controles»).

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

9.2 PASO 2. Configuración de la sesión

El producto **HPV PLUS 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 el protocolo de ensayo disponible en el instrumento y se cargan automáticamente al seleccionar el protocolo de ensayo.

NOTA!

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

Antes de configurar una sesión:

Descongelar las probetas necesarias de **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 **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:

Tabla 7

	A. Sesión de la muestra «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	B. Sesión con la muestra eluida «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 los «Elution Tubes» (Tubos 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. Preparar el Negative Control vertiendo al menos 50 µL de agua para biología molecular en una «Elution Tube» (probeta de elución), que se incluye en el producto ELITe InGenius SP 200 Consumable Set.
2	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).
3	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.	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.

Tabla 7 (continued)

	A. Sesión de la muestra «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	B. Sesión con la muestra eluida «PCR Only» (Solo PCR)	C. Sesión del Positive Control y del Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
4	Para cada muestra, asignar un carril e introducir el «SampleID» o SID (ID de la muestra), ya sea rellenándolo directamente o escaneando su código de barras.	Para cada muestra, asignar un carril e introducir el «SampleID» o SID (ID de la muestra), ya sea rellenándolo directamente o escaneando su código de barras.	No aplicable
5	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «8 MUESTRAS Y CONTROLES page 7».	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «8 MUESTRAS Y CONTROLES page 7».	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «8 MUESTRAS Y CONTROLES page 7». Introducir el número de lote y la fecha de caducidad del Positive Control y del agua para biología molecular.
6	Asegurarse de que el protocolo que se muestra en el área «Protocol» (Protocolo) sea «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	Seleccionar «PCR Only» en la columna «Protocol» (Protocolo).	En la columna «Protocol» (Protocolo), asegurarse de que esté seleccionado «PCR Only» (Solo PCR).
7	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]).
8	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
9	Cargar la PCR Mix en el «Inventory Block» (bloque de inventario) en función de la «Load List» (lista de carga) 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» (bloque de inventario) en función de la «Load List» (lista de carga) 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» (bloque de inventario) en función de la «Load List» (lista de carga) y, después, introducir el número de lote de la PCR Mix, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.
10	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
11	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) de la «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.
12	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
13	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 «Elution Tube» (Tubo de elución) con las muestras extraídas.	Cargar el PCR Cassette y las probetas de Positive Control y de Negative Control.
14	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
15	Cerrar la puerta del equipo.	Cerrar la puerta del equipo.	Cerrar la puerta del equipo.
16	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 ± 10 °C durante un máximo de un mes. Evitar derramar la muestra extraída.

NOTA!

Al finalizar la sesión, la **PCR Mix** puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a -20 °C o 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 producto **Positive Control** puede utilizarse para 4 sesiones independientes de 3 horas cada una.

NOTA!

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

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

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

NOTA!

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

El instrumento **ELiTe InGenius** genera los resultados con el producto **HPV PLUS ELiTe MGB Kit** mediante el siguiente procedimiento:

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

9.3.1 Validación de los resultados de la amplificación del Positive Control y del Negative Control

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 Assay Protocols (protocolos de ensayo) **ELiTe_PC** y **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 guardan en la base de datos («Calibration»), por lo que el personal cualificado como administrador («Administrator») o analista («Analyst») puede verlas siguiendo las instrucciones de la interfaz.

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

El **ELiTe InGenius Software** 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 o 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 reacciones del Positive Control o del Negative Control.

NOTA!

Si el resultado del Positive Control o del Negative Control no es válido y se han incluido 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.

9.3.2 B. Validación de los resultados de las muestras

El **ELiTe InGenius software** interpreta los resultados de la PCR para las dianas (canales **HPV16-31**, **HPV18-45**, **HPV HR1** y **HPV HR2**) y del Internal Control (canal **IC**) con los parámetros del Assay Protocol (protocolo de ensayo) **HPV PLUS ELiTe_Cyt_Sense_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.

Tabla 8

1) Positive Control	Estado
Positive Control de HPV PLUS	APROBADO
2) Negative Control	Estado
Negative Control de HPV PLUS	APROBADO

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

Tabla 9

Resultado de la sesión de la muestra	Interpretación
HPV16_31:DNA Detected Type HPV16 (VPH16_31:ADN Detectado Tipo VPH16)	Se ha detectado ADN de VPH16-31 en la muestra. El genotipo es VPH16 .
HPV16_31:DNA Detected Type HPV31 (VPH16_31:ADN Detectado Tipo VPH31)	Se ha detectado ADN de VPH16-31 en la muestra. El genotipo es VPH31 .
HPV16_31: DNA Detected Typing not determined (VPH16_31:ADN Detectado Typing not determined)	Se ha detectado ADN de VPH16-31 en la muestra, pero el análisis para la tipificación de VPH16-31 no era viable.

Tabla 9 (continued)

Resultado de la sesión de la muestra	Interpretación
HPV18_45:DNA Detected Type HPV18 (VPH18_45:ADN Detectado Tipo VPH18)	Se ha detectado ADN de VPH18-45 en la muestra. El genotipo es VPH18 .
HPV18_45:DNA Detected Type HPV45 (VPH18_45:ADN Detectado Tipo VPH45)	Se ha detectado ADN de VPH18-45 en la muestra. El genotipo es VPH45 .
HPV18_45: DNA Detected Typing not determined (VPH18_45:ADN Detectado Typing not determined)	Se ha detectado ADN de VPH18-45 en la muestra, pero el análisis para la tipificación de VPH18-45 no era viable.
HPV_HR1:DNA Detected (HPV_HR1:ADN Detectado)	Se ha detectado ADN del grupo VPH HR1 (VPH33, VPH52 o VPH58) en la muestra.
HPV_HR2:DNA Detected (HPV_HR2:ADN Detectado)	Se ha detectado ADN del grupo VPH HR2 (VPH35, VPH39, VPH51, VPH56, VPH59, VPH66 o VPH68) en la muestra.
HPV16_31: DNA Not detected or below the LoD (VPH16_31:ADN No detectado o por debajo del límite de detección)	No se ha detectado ADN de VPH16-31 en la muestra. La muestra es negativa para ADN de VPH16 y de VPH31, o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
HPV18_45: DNA Not detected or below the LoD (VPH18_45:ADN No detectado o por debajo del límite de detección)	No se ha detectado ADN de VPH18-45 en la muestra. La muestra es negativa para ADN de VPH18 y de VPH45 o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
HPV-HR1:DNA Not detected or below the LoD (VPH_HR1:ADN No detectado o por debajo del límite de detección)	No se ha detectado ADN del grupo VPH HR1 en la muestra. La muestra es negativa para ADN de VPH33, VPH52 y VPH58, o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
HPV-HR2:DNA Not detected or below the LoD (VPH_HR2:ADN No detectado o por debajo del límite de detección)	No se ha detectado ADN del grupo VPH HR2 en la muestra. La muestra es negativa para ADN de VPH35, VPH39, VPH51, VPH56, VPH59, VPH66 y VPH68, o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
Invalid-Retest Sample (No válido-Volver a probar muestra)	Resultado no válido del ensayo causado por un fallo en el Internal Control (p. ej., debido a una extracción incorrecta o al arrastre de inhibidores). Es necesario repetir la prueba.

Las muestras que se notifican como «Invalid: Retest Sample» (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 (tal cual o diluido) 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 «[14 PROBLEMAS Y SOLUCIONES page 36](#)»).

Las muestras que se notifican como «HPV16-31: DNA Not detected or below LoD» (VPH16-31: ADN no detectado o por debajo del límite de detección), «HPV18-45:DNA Not detected or below LoD» (VPH18-45: ADN no detectado o por debajo del límite de detección), «HPV_HR1:DNA Not detected or below LoD» (VPH_HR1: ADN no detectado o por debajo del límite de detección) o «HPV_HR2:DNA Not detected or below LoD» (VPH_HR2:ADN no detectado o por debajo del límite de detección) son aptas para el análisis, pero no se ha detectado ADN de VPH. En este caso, puede que la muestra sea negativa para ADN de VPH, o que el ADN de VPH presente una concentración inferior al límite de detección del ensayo (consultar la sección «[11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO page 19](#)»).

Las muestras que se notifican como «HPV16_31: DNA Detected Typing not determined» (VPH16_31: ADN Detectado, Typing not determined) y «HPV18_45: DNA Detected Typing not determined» (VPH18_45: ADN Detectado, Typing not determined) son aptas para el ensayo y se ha Detectado ADN de VPH, pero el análisis de tipificación no era viable. En este caso, la muestra es positiva para una o ambas dianas de ese canal.

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 pantalla «Results Display» (Presentación de resultados) por personal cualificado como administrador («Administrator») o analista («Analyst»), siguiendo las instrucciones de la interfaz. La pantalla «Results Display» (Presentación de resultados) permite imprimir y guardar los resultados de la sesión de la muestra como «Sample Report» y como «Track Report».

9.3.3 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».

10 PROCEDIMIENTO CON EL ELITe BeGenius

El procedimiento para utilizar el producto **HPV PLUS ELITe MGB Kit** con el **ELITe BeGenius** comprende tres pasos:

Tabla 10

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	1) Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
		2) Validación de los resultados de las muestras
		3) Generación del informe de los resultados de la muestra

10.1 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 (**Positive Control y Negative Control**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de **PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de controles de PCR válidos para el lote de **PCR Mix**, procesar los controles de la PCR tal como se describe en los apartados siguientes.
- Seleccionar el tipo de sesión siguiendo las instrucciones de la interfaz para configurar la sesión y utilizando los Assay Protocols (protocolos de ensayo) proporcionados por EG SpA (consultar la sección «Muestras y controles»).

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

10.2 PASO 2. Configuración de la sesión

El producto **HPV PLUS ELiTe MGB Kit** puede utilizarse con el instrumento **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 del Positive Control y del Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)

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

NOTA!

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

Antes de configurar una sesión:

Descongelar las probetas necesarias de **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 **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:

Tabla 11

	A. Sesión de la muestra «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	B. Sesión con la muestra eluida «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.	Descongelar el «Elution Tube» (Tubo de elución) que contiene 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. Preparar el Negative Control vertiendo al menos 50 µL de agua para biología molecular en el «Elution Tube» (Tubo de elución) que se incluye con el producto ELiTe InGenius SP 200 Consumable Set.
2	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).
3	Extraer todas las gradillas 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.
4	Seleccionar el «Run Mode»: «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	Seleccionar el «Run Mode»: «PCR Only» (Solo PCR).	Seleccionar el «Run Mode»: «PCR Only» (Solo PCR).

Tabla 11 (continued)

	A. Sesión de la muestra «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	B. Sesión con la muestra eluida «PCR Only» (Solo PCR)	C. Sesión del Positive Control y del Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
5	Cargar las muestras en la «Sample Rack» (rack de muestras). Cuando se cargan probetas secundarias «2 mL Tubes», utilizar los adaptadores azules para la «Sample Rack» (rack de muestras).	Cargar las muestras en la «Elution Rack» (rejilla de elución).	Cargar las probetas de Positive Control y de Negative Control en la «Elution Rack» (rejilla de elución).
6	Insertar la «Sample Rack» (rack de muestras) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 5 (L5). En caso necesario, insertar el «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.	Insertar la «Elution Rack» (rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). En caso necesario, para cada «Position» (Posición), 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).	Insertar la «Elution Rack» (rejilla de 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).
7	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
8	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.
9	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «8 MUESTRAS Y CONTROLES page 7».	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «8 MUESTRAS Y CONTROLES page 7».	Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «8 MUESTRAS Y CONTROLES page 7».
10	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.		No aplicable
11	Cargar los «Elution Tubes» (Tubos 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
12	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

Tabla 11 (continued)

	A. Sesión de la muestra «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	B. Sesión con la muestra eluida «PCR Only» (Solo PCR)	C. Sesión del Positive Control y del Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
13	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	No aplicable	No aplicable
14	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).	Cargar la PCR Mix en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución).
15	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 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 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 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).
16	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
17	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.
18	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
19	Cargar la «PCR Rack» (gradilla de PCR) con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario).	Cargar la «PCR Rack» (gradilla de PCR) con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario).	Cargar la «PCR Rack» (gradilla de PCR) con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario).
20	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
21	Cargar la «Extraction Rack» (gradilla de extracción) con los cartuchos de extracción «ELITE InGenius SP 200» y los consumibles de extracción necesarios.	No aplicable	No aplicable
22	Cerrar la puerta del equipo.	Cerrar la puerta del equipo.	Cerrar la puerta del equipo.
23	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 eliminarse.

NOTA!

El producto **Positive Control** puede utilizarse para 4 sesiones independientes de 3 horas cada una.

NOTA!

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

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

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

NOTA!

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

El instrumento **ELiTe BeGenius** genera los resultados con el producto **HPV PLUS ELiTe MGB Kit** mediante el siguiente procedimiento:

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

NOTA!

Consultar el mismo apartado del **procedimiento con el ELiTe InGenius** para obtener más información.

11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

11.1 Límite de detección (LoD)

El límite de detección (LoD) del ensayo se determinó para el instrumento **ELiTe BeGenius**, analizando un panel de muestras cervicouterinas negativas recogidas en ThinPrep y enriquecidas con materiales de referencia de células SiHa (VPH16) y células HeLa (VPH18) juntos.

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.

Tabla 12 Límite de detección con el ELITE BeGenius para muestras cervicouterinas recogidas en ThinPrep

Línea celular	LoD (células/mL)	Límites del intervalo de confianza del 95 %	
		Límite inferior	Límite superior
SiHa (VPH16)	202	142	368
HeLa (VPH18)	56	40	98

El valor del LoD calculado se verificó en los instrumentos ELITE BeGenius y ELITE InGenius analizando paneles de muestras cervicouterinas negativas recogidas en ThinPrep y en SurePath y enriquecidas con estándares internacionales de la OMS de los genotipos VPH16, VPH18, VPH31, VPH33 y VPH45, así como con un ADN plasmídico del genotipo VPH35, a un título correspondiente al valor de LoD calculado para las células HeLa.

Los resultados de la confirmación del LoD se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 13 Confirmación del LoD con muestras cervicouterinas recogidas en ThinPrep y en SurePath en los instrumentos ELITE BeGenius y ELITE InGenius

Muestra	Confirmación del LoD					
	VPH16	VPH18	VPH31	VPH33	VPH45	VPH35
Título diana en UI/ mL (o *copias/mL)	1.700	1.700	1.700	2.000	1.700	1.700*
Duplicados (N)	24	24	24	24	24	24
% de resultados positivos	>87 %	>87 %	>87 %	>87 %	>87 %	>87 %

11.2 Inclusividad: Eficacia de la detección de diferentes genotipos de alto riesgo de VPH

La inclusividad del ensayo, expresada como eficacia de la detección de los principales genotipos de alto riesgo de VPH (VPH16, VPH18, VPH31, VPH33, VPH35, VPH39, VPH45, VPH51, VPH52, VPH56, VPH58, VPH59, VPH66 y VPH68) se evaluó mediante un análisis informático. El análisis demostró la conservación de la secuencia y la ausencia de mutaciones significativas. Así, se espera una detección eficaz de las diferentes cepas y los diferentes aislados.

La inclusividad también se verificó mediante el análisis de los 14 principales genotipos de alto riesgo de VPH, utilizando materiales de referencia certificados de diferentes proveedores (ATCC, Viracell, Seracare, Acrometrix, NIBSC y Microbix), o bien ADN plasmídicos (EG SpA) cuando no se disponía de material de referencia.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 14 Resultados de la prueba de inclusividad en el ELITE BeGenius

Diana	Panel	Pos/Dup	Resultado
VPH16	UI de la OMS, NIBSC	6/6	HPV16_31:DNA Detected Type HPV16 (VPH16_31:ADN Detectado Tipo VPH16)
	Acrometrix	6/6	HPV16_31:DNA Detected Type HPV16 (VPH16_31:ADN Detectado Tipo VPH16)
	Microbix	6/6	HPV16_31:DNA Detected Type HPV16 (VPH16_31:ADN Detectado Tipo VPH16)
	ATCC	6/6	HPV16_31:DNA Detected Type HPV16 (HPV16_31:ADN Detectado Tipo VPH16)
	SeraCare	6/6	HPV16_31:DNA Detected Type HPV16 (VPH16_31:ADN Detectado Tipo VPH16)
	Vircell	6/6	HPV16_31:DNA Detected Type HPV16 (VPH16_31:ADN Detectado Tipo VPH16)
VPH18	UI de la OMS, NIBSC	6/6	HPV18_45:DNA Detected Type HPV18 (VPH18_45:ADN Detectado Tipo VPH18)
	Acrometrix	6/6	HPV18_45:DNA Detected Type HPV18 (VPH18_45:ADN Detectado Tipo VPH18)
	Microbix	6/6	HPV18_45:DNA Detected Type HPV18 (VPH18_45:ADN Detectado Tipo VPH18)
	ATCC	6/6	HPV18_45:DNA Detected Type HPV18 (VPH18_45:ADN Detectado Tipo VPH18)
	SeraCare	6/6	HPV18_45:DNA Detected Type HPV18 (VPH18_45:ADN Detectado Tipo VPH18)
	Vircell	6/6	HPV18_45:DNA Detected Type HPV18 (VPH18_45:ADN Detectado Tipo VPH18)
VPH31	UI de la OMS, NIBSC	6/6	HPV16_31:DNA Detected Type HPV31 (VPH16_31:ADN Detectado Tipo VPH31)
	Microbix	6/6	HPV16_31:DNA Detected Type HPV31 (VPH16_31:ADN Detectado Tipo VPH31)
	ATCC	6/6	HPV16_31:DNA Detected Type HPV31 (VPH16_31:ADN Detectado Tipo VPH31)
VPH45	UI de la OMS, NIBSC	6/6	HPV18_45:DNA Detected Type HPV45 (VPH18_45:DNA Detectado Tipo VPH45)
	Microbix	6/6	HPV18_45:DNA Detected Type HPV45 (VPH18_45:DNA Detectado Tipo VPH45)
VPH33	UI de la OMS, NIBSC	6/6	HPV_HR1:DNA Detected (HPV_HR1:ADN Detectado)
	Microbix	6/6	HPV_HR1:DNA Detected (HPV_HR1:ADN Detectado)
VPH52	UI de la OMS, NIBSC	6/6	HPV_HR1:DNA Detected (HPV_HR1:ADN Detectado)
VPH58	UI de la OMS, NIBSC	6/6	HPV_HR2:DNA Detected (HPV_HR2:ADN Detectado)

Tabla 14 Resultados de la prueba de inclusividad en el ELITE BeGenius (continued)

Diana	Panel	Pos/Dup	Resultado
VPH68	Acrometrix	6/6	HPV_HR2:DNA Detected (HPV_HR2:ADN Detectado)
VPH39	Microbix	6/6	HPV_HR2:DNA Detected (HPV_HR2:ADN Detectado)
VPH51	SeraCare	6/6	HPV_HR2:DNA Detected (HPV_HR2:ADN Detectado)
VPH35	ADN plasmídico	6/6	HPV_HR2:DNA Detected (HPV_HR2:ADN Detectado)
VPH56	ADN plasmídico	6/6	HPV_HR2:DNA Detected (HPV_HR2:ADN Detectado)
VPH59	ADN plasmídico	6/6	HPV_HR2:DNA Detected (HPV_HR2:ADN Detectado)
VPH66	ADN plasmídico	6/6	HPV_HR2:DNA Detected (HPV_HR2:ADN Detectado)
Negativas	Acrometrix	0/6	All targets:DNA Not detected
	Microbix	0/6	All targets:DNA Not detected
	SeraCare	0/6	All targets:DNA Not detected

Todas las muestras se detectaron correctamente con el producto HPV PLUS ELITE MGB Kit

11.3 Infecciones simultáneas

La posible interferencia entre dianas del ensayo en los casos en los que existe una infección simultánea se evaluó mediante una prueba de coamplificación de dos dianas de interés en las muestras utilizando ADN plasmídicos de VPH16, VPH18, VPH31, VPH33 y VPH35 y VPH45.

En la tabla siguiente se indica la concentración más baja detectable para cada diana en todos los duplicados (5/5).

Tabla 15 Resumen de la prueba de infecciones simultáneas en el ELITE BeGenius

Diana a alta concentración	Diana a baja concentración
VPH16, 100 000 copias/reacción	VPH18, 1000 copias/reacción
	VPH31, 10 000 copias/reacción
	VPH33, 3000 copias/reacción
	VPH35, 2000 copias/reacción
	VPH45, 500 copias/reacción
VPH31, 100 000 copias/reacción	VPH16, 5000 copias/reacción
	VPH18, 1000 copias/reacción
	VPH33, 4000 copias/reacción
	VPH35, 500 copias/reacción
	VPH45, 1000 copias/reacción

Tabla 15 Resumen de la prueba de infecciones simultáneas en el ELITe BeGenius (continued)

Diana a alta concentración	Diana a baja concentración
VPH18, 100 000 copias/reacción	VPH16, 750 copias/reacción
	VPH31, 500 copias/reacción
	VPH33, 3000 copias/reacción
	VPH35, 500 copias/reacción
	VPH45, 15000 copias/reacción
VPH45, 100 000 copias/reacción	VPH16, 750 copias/reacción
	VPH18, 5000 copias/reacción
	VPH31, 500 copias/reacción
	VPH33, 5000 copias/reacción
	VPH35, 500 copias/reacción
VPH33, 100 000 copias/reacción	VPH16, 1000 copias/reacción
	VPH18, 1000 copias/reacción
	VPH31, 500 copias/reacción
	VPH35, 500 copias/reacción
	VPH45, 1000 copias/reacción
VPH35, 100 000 copias/reacción	VPH16, 2000 copias/reacción
	VPH18, 500 copias/reacción
	VPH31, 500 copias/reacción
	VPH33, 4000 copias/reacción
	VPH45, 1000 copias/reacción

El producto HPV PLUS ELITe MGB Kit muestra una interferencia mínima entre dianas cuando existe una infección simultánea.

11.4 Microorganismos potencialmente interferentes: reactividad cruzada

La reactividad cruzada potencial de los microorganismos imprevistos y de otros genotipos de VPH no incluidos en el uso previsto del producto que pueden encontrarse en muestras clínicas se evaluó para el ensayo mediante un análisis informático. El análisis no presentó ninguna homología reseñable con otros microorganismos imprevistos (virus, bacterias, protozoos y hongos) ni con la mayoría de los genotipos de VPH no incluidos en el uso previsto.

La ausencia de reactividad cruzada también se verificó analizando un panel de materiales de referencia certificados de microorganismos imprevistos (ATCC, Vircell, DSMZ, NIBSC), así como materiales de referencia (NIBSC) y ADN plasmídicos (EG SpA) que contenían la región de los genes E6/E7 de genotipos de VPH no incluidos en el uso previsto del producto (a una concentración de aproximadamente 10^5 copias/reacción).

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 16 Resultados de la prueba de reactividad cruzada con microorganismos potencialmente interferentes en el ELITE BeGenius

Muestra	Positivas/Duplicados					Resultado
	VPH 16-31	VPH HR2	VPH HR1	VPH 18-45	IC	
<i>Virus del herpes común 1</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
<i>Virus del herpes común 2</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
<i>Mycoplasma hominis</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
<i>Ureaplasma parvum</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
<i>Treponema pallidum</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
<i>Gardnerella vaginalis</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
<i>Mobiluncus mulieri</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
<i>Bacteroides fragilis</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
<i>Candida albicans</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
<i>Chlamydia trachomatis</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
<i>Mycoplasma genitalium</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
<i>Trichomonas vaginalis</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
VPH6	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
VPH11	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
VPH42	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
VPH43	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
VPH44	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
VPH26	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
VPH30	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
VPH34	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
VPH40	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
VPH53	0/5	5/5	0/5	0/5	5/5	reactividad cruzada
VPH54	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
VPH61	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
VPH67	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
VPH69	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
VPH70	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada

Tabla 16 Resultados de la prueba de reactividad cruzada con microorganismos potencialmente interferentes en el ELITE BeGenius (continued)

Muestra	Positivas/Duplicados					Resultado
	VPH 16-31	VPH HR2	VPH HR1	VPH 18-45	IC	
VPH72_a	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
VPH72_b	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
VPH73	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
VPH82	0/5	5/5	0/5	0/5	5/5	reactividad cruzada

Se observó reactividad cruzada con los genotipos VPH53 y VPH82 para la diana del grupo VPH HR2 cuando se utilizó el producto HPV PLUS ELITE MGB Kit.

El genotipo VPH82 se detectó con alta eficacia como diana del grupo VPH HR2 ($\geq 1 \times 10^3$ copias/mL).

El genotipo VPH53 se detectó con baja eficacia como diana del grupo VPH HR2 ($\geq 1 \times 10^6$ copias/mL).

Los dos genotipos se clasifican como posiblemente cancerígenos (grupo 2B, clasificación IARC) en estudios epidemiológicos, filogenéticos y funcionales.

11.5 Microorganismos potencialmente interferentes: inhibición

La inhibición potencial de microorganismos imprevistos y de otros genotipos de VPH no incluidos en el uso previsto del producto que pueden encontrarse en muestras clínicas se evaluó para el ensayo analizando un panel de materiales de referencia certificados de microorganismos imprevistos (ATCC, Vircell, DSMZ, NIBSC), así como materiales de referencia (NIBSC) y de ADN plasmídicos (EG SpA) que contenían la región de los genes E6/E7 de genotipos de VPH no incluidos en el uso previsto del producto (a una concentración de aproximadamente 10^5 copias/reacción), que se enriquecieron con el producto HPV PLUS - ELITE Positive Control a una dilución de 1:10 (100 copias/reacción de ADN plasmídicos de VPH16, VPH18, VPH33 y VPH35).

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 17 Resultados de la prueba de inhibición con microorganismos potencialmente interferentes en el ELITE BeGenius

Muestra enriquecida con PC 1:10	Muestras positivas/Duplicados					Resultado
	VPH 16-31	VPH HR2	VPH HR1	VPH 18-45	IC	
<i>Virus del herpes común 1</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
<i>Virus del herpes común 2</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
<i>Mycoplasma hominis</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
<i>Ureaplasma parvum</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
<i>Treponema pallidum</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
<i>Gardnerella vaginalis</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
<i>Mobiluncus mulieri</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
<i>Bacteroides fragilis</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición

Tabla 17 Resultados de la prueba de inhibición con microorganismos potencialmente interferentes en el ELITe BeGenius (continued)

Muestra enriquecida con PC 1:10	Muestras positivas/Duplicados					Resultado
	VPH 16-31	VPH HR2	VPH HR1	VPH 18-45	IC	
<i>Candida albicans</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
<i>Chlamydia trachomatis</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
<i>Mycoplasma genitalium</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
<i>Trichomonas vaginalis</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
VPH6	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
VPH11	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
VPH42	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
VPH43	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
VPH44	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
VPH26	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
VPH30	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
VPH34	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
VPH40	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
VPH53	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
VPH54	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
VPH61	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
VPH67	3/5	5/5	0/5	5/5	5/5	Inhibición
VPH69	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
VPH70	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
VPH72_a	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
VPH72_b	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
VPH73	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
VPH82	0/5	5/5	0/5	0/5	5/5	Inhibición

Se observó inhibición con los genotipos VPH67 y VPH82 cuando se utilizó el producto **HPV PLUS ELITe MGB Kit**.

Se definió la concentración más baja detectable de las dianas en presencia de estos dos genotipos de VPH, tal como se muestra en la tabla siguiente.

Tabla 18

Genotipo de VPH	Diana analizada	Concentración de la diana analizada	Pos/Dup	Resultado
VPH67 (100 000 copias/reacción)	VPH16	200 copias/reacción	5/5	Ligera inhibición
	VPH18	100 copias/reacción	5/5	Sin inhibición
	VPH33	1000 copias/reacción	5/5	Inhibición parcial
	VPH35	100 copias/reacción	5/5	Sin inhibición
VPH82 (100 000 copias/reacción)	VPH16	1000 copias/reacción	5/5	Inhibición parcial
	VPH18	1000 copias/reacción	5/5	Inhibición parcial
	VPH33	4000 copias/reacción	5/5	Inhibición parcial

Nota: El VPH82 se amplifica como diana del grupo VPH HR2, por lo que cabe esperar una inhibición parcial de la amplificación de otras dianas a baja concentración.

Los dos genotipos se clasifican como posiblemente cancerígenos (grupo 2B, clasificación IARC) en estudios epidemiológicos, filogenéticos y funcionales.

11.6 Sustancias potencialmente interferentes: reactividad cruzada

La reactividad cruzada provocada por las sustancias potencialmente interferentes (endógenas y exógenas) que pueden encontrarse en las muestras clínicas se evaluó para el ensayo analizando un panel de sustancias a la concentración pertinente en un panel de muestras cervicouterinas negativas recogidas en ThinPrep.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 19 Resultados de la prueba de reactividad cruzada con sustancias potencialmente interferentes en el ELITe BeGenius

Muestra	Pos/Dup				IC	Resultado
	VPH 16-31	VPH HR2	VPH HR1	VPH 18-45		
Mucina	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
Leucocitos de sangre periférica (LSP)	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
Sangre	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
Aciclovir	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
Clotrimazol	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
Metronidazol	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
Nonoxinol 9	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
Progesterona	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
Vaselina	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada

Tabla 19 Resultados de la prueba de reactividad cruzada con sustancias potencialmente interferentes en el ELITE BeGenius (continued)

Muestra	Pos/Dup				IC	Resultado
	VPH 16-31	VPH HR2	VPH HR1	VPH 18-45		
Desodorante Vagisil	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada
Gel Vagisil	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	Sin reactividad cruzada

El análisis demostró que ninguna de las sustancias analizadas presenta una reacción cruzada con las dianas cuando se utiliza el producto HPV PLUS ELITE MGB Kit.

11.7 Sustancias potencialmente interferentes: inhibición

La inhibición potencial de sustancias interferentes (endógenas y exógenas) que pueden encontrarse en muestras clínicas se evaluó para el ensayo analizando un panel de sustancias a la concentración pertinente en un panel de muestras cervicouterinas negativas recogidas en ThinPrep y enriquecidas con materiales de referencia (células SiHa de VPH16, células HeLa de VPH18 y ADN plasmídicos de VPH33p y de VPH35p) a una concentración de 3 veces el LoD.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 20 Resultados de la prueba de inhibición con sustancias potencialmente interferentes en el ELITE BeGenius

Muestra enriquecida con materiales de referencia	Pos/Dup					Resultado
	VPH 16-31	VPH HR2	VPH HR1	VPH 18-45	IC	
Mucina	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
Leucocitos de sangre periférica (LSP)	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
Sangre	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
Aciclovir	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
Clotrimazol	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
Metronidazol	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
Nonoxinol 9	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
Progesterona	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
Vaselina	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
Desodorante Vagisil	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición
Gel Vagisil 1 %	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin inhibición

El análisis demostró que ninguna de las sustancias analizadas interfiere en la amplificación de la diana cuando se utiliza el producto HPV PLUS ELITE MGB Kit

Nota: Se observó inhibición con el uso de hidratante vaginal (gel Vagisil) a alta concentración (>1 % m/v).

11.8 Repetibilidad

La repetibilidad del ensayo se evaluó en el ELiTe BeGenius y el ELiTe InGenius analizando un panel de muestras cervicouterinas negativas recogidas en ThinPrep, tal cual o enriquecidas con materiales de referencia (células SiHa de VPH16, células HeLa de VPH18 y ADN plasmídicos de VPH33p y de VPH35p).

En la tabla siguiente se incluye un ejemplo de la prueba de repetibilidad dentro de las sesiones (en un día).

Tabla 21 Prueba de repetibilidad dentro de las sesiones. Resultados del Ct (un día, un lote)

Muestra	Diana	N	ELiTe BeGenius				ELiTe InGenius			
			Ct medio	DE	%CV	% de concordancia	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia
Neg	VPH16-31	6	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
VPH16 +VPH18 3xLoD		6	33,13	0,31	0,93	100 %	32,68	0,48	1,47	100 %
33+35 3xLoD		6	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
10xLoD		6	31,33	0,30	0,95	100 %	30,86	0,33	1,07	100 %
Neg	VPH18-45	6	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
VPH16 +VPH18 3xLoD		6	35,22	0,49	1,38	100 %	33,11	0,32	0,95	100 %
33+35 3xLoD		6	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
10xLoD		6	33,69	0,57	1,68	100 %	31,46	0,14	0,43	100 %
Neg	VPH-HR1	6	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
VPH16 +VPH18 3xLoD		6	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
33+35 3xLoD		6	34,72	0,43	1,23	100 %	33,51	0,10	0,31	100 %
10xLoD		6	31,52	0,58	1,83	100 %	30,54	0,12	0,38	100 %
Neg	VPH-HR2	6	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
VPH16 +VPH18 3xLoD		6	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
33+35 3xLoD		6	33,38	0,39	1,18	100 %	33,17	0,18	0,54	100 %
10xLoD		6	31,48	0,39	1,23	100 %	31,16	0,15	0,48	100 %

En la tabla siguiente se incluye un ejemplo de los resultados del Ct de la prueba de repetibilidad entre sesiones (en dos días).

Tabla 22 Prueba de repetibilidad entre sesiones. Resultados del Ct (dos días, un lote)

Muestra	Diana	N	ELITE BeGenius				ELITE InGenius			
			Ct medio	DE	%CV	% de concordancia	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia
Neg	VPH16-31	12	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
VPH16 +VPH18 3xLoD		12	33,11	0,44	1,33	100 %	32,57	0,45	1,39	100 %
33+35 3xLoD		12	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
10xLoD		12	31,21	0,37	1,19	100 %	30,72	0,33	1,08	100 %
Neg	VPH18-45	12	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
VPH16 +VPH18 3xLoD		12	35,49	0,58	1,62	100 %	33,12	0,37	1,11	100 %
33+35 3xLoD		12	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
10xLoD		12	34,19	0,73	2,12	100 %	31,82	0,50	1,56	100 %
Neg	VPH-HR1	12	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
VPH16 +VPH18 3xLoD		12	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
33+35 3xLoD		12	34,07	0,77	2,26	100 %	32,65	0,91	2,80	100 %
10xLoD		12	31,27	0,56	1,78	100 %	30,23	0,35	1,15	100 %
Neg	VPH-HR2	12	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
VPH16 +VPH18 3xLoD		12	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
33+35 3xLoD		12	33,32	0,31	0,92	100 %	32,84	0,37	1,13	100 %
10xLoD		12	31,42	0,30	0,94	100 %	31,07	0,18	0,59	100 %

En la prueba de repetibilidad, el producto HPV PLUS 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 2,80 % (y una variación máxima de los valores de Tm de la diana como un %CV del 0,58 %).

11.9 Reproducibilidad

La reproducibilidad ensayo se evaluó en el ELITE BeGenius y el ELITE InGenius analizando un panel de muestras cervicouterinas negativas recogidas en ThinPrep y enriquecidas con materiales de referencia (células SiHa de VPH16, células HeLa de VPH18 y ADN plasmídicos de VPH33p y de VPH35p).

En la tabla siguiente se incluyen los resultados del Ct de la prueba de reproducibilidad entre lotes (en tres lotes).

Tabla 23 Prueba de reproducibilidad entre lotes. Resultados del Ct (seis días, tres lotes)

Muestra	Diana	N	ELiTe BeGenius				ELiTe InGenius			
			Ct medio	DE	%CV	% de concordancia	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia
Neg	VPH16-31	36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
VPH16 +VPH18 3×LoD		36	32,88	0,55	1,68	100 %	32,24	0,46	1,44	100 %
33+35 3×LoD		36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
10xLoD		36	30,81	0,52	1,68	100 %	30,22	0,54	1,79	100 %
Neg	VPH18-45	36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
VPH16 +VPH18 3×LoD		36	35,30	0,64	1,82	100 %	33,39	0,41	1,24	100 %
33+35 3×LoD		36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
10xLoD		36	33,92	0,69	2,04	100 %	31,94	0,48	1,51	100 %
Neg	VPH-HR1	36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
VPH16 +VPH18 3×LoD		36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
33+35 3×LoD		36	33,55	0,74	2,21	100 %	32,49	0,67	2,08	100 %
10xLoD		36	31,01	0,54	1,74	100 %	30,12	0,33	1,10	100 %
Neg	VPH-HR2	36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
VPH16 +VPH18 3×LoD		36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
33+35 3×LoD		36	33,07	0,49	1,47	100 %	32,71	0,33	1,02	100 %
10xLoD		36	31,18	0,36	1,15	100 %	30,97	0,21	0,66	100 %

En la tabla siguiente se incluyen los resultados de la prueba de reproducibilidad entre instrumentos (en tres instrumentos).

Tabla 24 Prueba de reproducibilidad entre instrumentos. Resultados del Ct (seis días, tres lotes, tres instrumentos)

Muestra	Diana	N	ELITE BeGenius				ELITE InGenius			
			Ct medio	DE	%CV	% de concordancia	Ct medio	DE	%CV	% de concordancia
Neg	VPH16-31	36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
VPH16 +VPH18 3xLoD		36	32,47	0,46	1,42	100 %	31,67	0,87	2,74	100 %
33+35 3xLoD		36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
10xLoD		36	30,35	0,45	1,50	100 %	29,64	0,71	2,40	100 %
Neg	VPH18-45	36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
VPH16 +VPH18 3xLoD		36	34,37	0,45	1,30	100 %	33,21	0,42	1,28	100 %
33+35 3xLoD		36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
10xLoD		36	33,06	0,46	1,38	100 %	31,80	0,37	1,18	100 %
Neg	VPH-HR1	36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
VPH16 +VPH18 3xLoD		36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
33+35 3xLoD		36	32,90	0,39	1,18	100 %	32,73	0,41	1,26	100 %
10xLoD		36	30,35	0,25	0,83	100 %	30,09	0,30	1,01	100 %
Neg	VPH-HR2	36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
VPH16 +VPH18 3xLoD		36	-	-	-	100 %	-	-	-	100 %
33+35 3xLoD		36	32,82	0,32	0,98	100 %	32,72	0,25	0,76	100 %
10xLoD		36	30,85	0,27	0,88	100 %	30,79	0,24	0,77	100 %

En la prueba de reproducibilidad, el producto HPV PLUS 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 2,74 % (y una variación máxima de los valores de Tm de la diana como un %CV del 0,41 %).

11.10 Contaminación cruzada

La posible contaminación cruzada durante el análisis se evaluó para el ensayo analizando 60 duplicados de un panel de muestras cervicouterinas negativas recogidas en ThinPrep, que se alternaron con 60 duplicados del mismo panel enriquecidos con ADN plasmídico de VPH16p (EG SpA) a una concentración de aproximadamente 1×10^7 copias /mL en 5 sesiones.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 25 Resultados de la prueba de contaminación cruzada en el ELITE BeGenius

Muestras	N	Positivas	Negativas	% de concordancia
Positivas	60	60	0	100 %
Negativas	60	0	60	100 %

No se detectó contaminación cruzada ni dentro de las sesiones ni entre sesiones cuando se utilizó el producto HPV PLUS ELITE MGB Kit.

11.11 Fallo total del sistema

La tasa total de fallos del sistema para el ensayo se evaluó analizando un panel de 100 muestras cervicouterinas recogidas en ThinPrep y enriquecidas a 3 veces el LoD con el Estándar Internacional de la OMS para VPH16 (NIBSC).

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 26 Resultados de la prueba de la tasa total de fallos del sistema en el ELITE BeGenius

Muestras	N	Positivas	Negativas	Tasa total de fallos del sistema
Muestras cervicouterinas enriquecidas a 3 veces el LoD	100	100	0	0 %

Ninguna de las muestras positivas para VPH16 dio resultados falsos negativos cuando se utilizó el producto HPV PLUS ELITE MGB Kit. La tasa total de fallos del sistema fue del 0 %.

11.12 Rendimiento clínico

Teniendo en cuenta la sensibilidad diagnóstica y la especificidad diagnóstica, se evaluó el rendimiento clínico analizando en el ELITE BeGenius muestras cervicouterinas humanas suspendidas en un fijador con base alcohólica para citología.

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

Las muestras clínicas incluidas en el estudio procedían de mujeres de edades comprendidas entre 17 y 89 años que habían presentado un resultado positivo para VPH en una citología o una prueba molecular. Las muestras se certificaron como negativas o positivas con un método de referencia validado por un laboratorio de referencia de VPH.

El rendimiento clínico, expresado como concordancia con el método de referencia, se evaluó mediante el coeficiente kappa de Cohen y los resultados se resumen en las tablas siguientes para cada canal de VPH de alto riesgo.

Tabla 27 Rendimiento clínico del VPH16-31

		Método de referencia			AUC	Coeficiente kappa de Cohen
		Positivas	Negativas	Total		
HPV PLUS ELITE MGB Kit	Positivas	56	0	56	98,4 %	0,967
	Negativas	2	65	67		
	Total	58	65	123		

Tabla 28 Rendimiento clínico del grupo VPH HR2

		Método de referencia			AUC	Coeficiente kappa de Cohen
		Positivas	Negativas	Total		
HPV PLUS ELITe MGB Kit	Positivas	54	3	57	94,2 %	0,885
	Negativas	4	59	63		
	Total	58	62	120		

Tabla 29 Rendimiento clínico del grupo VPH HR1

		Método de referencia			AUC	Coeficiente kappa de Cohen
		Positivas	Negativas	Total		
HPV PLUS ELITe MGB Kit	Positivas	49	0	49	96,6 %	0,931
	Negativas	4	65	69		
	Total	53	65	118		

Tabla 30 Rendimiento clínico del VPH18-45

		Método de referencia			AUC	Coeficiente kappa de Cohen
		Positivas	Negativas	Total		
HPV PLUS ELITe MGB Kit	Positivas	53	1	54	97,5 %	0,950
	Negativas	2	64	66		
	Total	55	65	120		

En este análisis, el producto HPV PLUS ELITe MGB Kit generó un área bajo la curva (AUC) y coeficiente kappa de Cohen correspondiente a una concordancia casi perfecta con los resultados obtenidos con el método de referencia para todos los canales de VPH de alto riesgo.

12 BIBLIOGRAFÍA

- K. Linnet et al. (2004) *Clin. Chem.* 50: 732-740.
- E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e30.
- G. Anderson and M. Scott (1991) *Clin. Chem.* 37: 398-402.
- A. Marrone and J. Ballantyne (2010) *Forensic Sci. Intern. Genetics* 4: 168-177.
- A. Pal and R. Kundu (2020) *Front. Microbiol.* 10: 3116
- J. Rotondo and F. Martini (2020) *Front. Microbiol.* 11: 591452.
- N. Muñoz et al. (2003) *The New England Journal of Medicine* 348: 518-527.
- C. J. L. M. Meijer et al. (2009) *Int J Cancer* 124: 516-520.
- IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans (2012). Volume 100 B.

13 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Utilizar este producto únicamente con las muestras clínicas siguientes: muestras cervicouterinas suspendidas en un fijador con base alcohólica para citología (ThinPrep o Surepath).

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

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.

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

Se observó reactividad cruzada con VPH53 y VPH82, dos genotipos de VPH posiblemente cancerígenos (grupo 2B) no incluidos en el uso previsto del producto (consultar la sección [11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO](#) page 19).

Se observó inhibición parcial con VPH67 y VPH82, dos genotipos de VPH posiblemente cancerígenos (grupo 2B) no incluidos en el uso previsto del producto (consultar la sección [11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO](#) page 19).

Se observó inhibición con el uso de hidratante vaginal (gel Vagisil) a alta concentración (>1 % m/v; consultar la sección [11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO](#) page 19).

Este producto no se ha validado conforme a las directrices de Meijer para la detección de ADN de VPH.

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.

14 PROBLEMAS Y SOLUCIONES

Tabla 31

Reacción no válida del Positive Control	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Revisar la posición de la PCR Mix y del Positive Control. Comprobar los volúmenes de la PCR Mix y del Positive Control.
Degradación de la PCR Mix.	No utilizar la PCR Mix para más de 7 sesiones independientes: aproximadamente 3 horas cada una en el bloque refrigerado de la «Inventory Area» (área del inventario) o en la «Cooler Unit». No utilizar la PCR Mix para 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 de la Positive Control.	No utilizar el Positive Control para más de 4 sesiones independientes: aproximadamente 3 horas cada una en el área de extracción o en la «Cooler Unit». Utilizar una nueva alícuota de la Positive Control.
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Tabla 32

Reacción no válida del Negative Control	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Revisar la posición de la PCR Mix y del Negative Control. Comprobar los volúmenes de la PCR Mix y del Negative Control.
Contaminación del Negative Control.	No utilizar el Negative Control para más de una sesión. Utilizar una nueva alícuota de agua para biología molecular.
Contaminación del PCR Mix.	Utilizar una nueva alícuota de la PCR Mix.
Contaminación del área de extracción, de las gradillas, del «Inventory Block» (administrador de inventarios) o de la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración).	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.

Tabla 33

Reacción no válida de la muestra	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la posición de la PCR Mix, la del Internal Control y la de la muestra. Comprobar el volumen de la PCR Mix, el del Internal Control y el de la muestra.
Degradación de la PCR Mix.	No utilizar la PCR Mix para más de 7 sesiones independientes: aproximadamente 3 horas cada una en la «Inventory Area» (área del inventario) o en la «Cooler Unit». No utilizar la PCR Mix para 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. Preparar una nueva alícuota de la PCR Mix.
Inhibición debida a la presencia de sustancias interferentes en la muestra.	Repetir la amplificación con una dilución de 1:2 en agua para biología molecular de la muestra eluida en una sesión en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR). Repetir la extracción con una dilución de 1:2 en agua para biología molecular de la muestra en una sesión realizada en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Tabla 34

Curva de disociación anómala	
Posibles causas	Soluciones
Ausencia de un valor máximo 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.

Tabla 35

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.	Si se observa una amplificación importante en el gráfico de la PCR, seleccionar el carril relativo a la muestra y aprobar manualmente el resultado como positivo. Si no se observa ninguna amplificación en el gráfico de la PCR, seleccionar el carril («Track») relativo a la muestra y aprobar manualmente el resultado como negativo, o bien dejarlo como no válido. Si se requiere un valor Ct: - Repetir la amplificación de la muestra eluida con una dilución de 1:10 en agua para biología molecular de la muestra en una sesión realizada en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR). - 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).

Tabla 36

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.	Limpiar la micropipeta con una solución reciente de hipoclorito de sodio (lejía) al 3 % o un limpiador de ADN/ARN después de pipetear cada muestra. No utilizar pipetas de Pasteur. Las pipetas deben ser del tipo de desplazamiento positivo o utilizarse con puntas con filtro para aerosoles. Introducir las muestras en las últimas posiciones de los instrumentos, tal como se indica en la interfaz. Seguir la secuencia de carga indicada por el software.
Contaminación medioambiental en el laboratorio	Limpiar todas las superficies que están en contacto con el operador y las muestras (inclusive las pipetas) con solución de hipoclorito de sodio (lejía) al 3 % reciente o limpiador de ADN/ARN. Realizar un ciclo de descontaminación con radiación UV. Utilizar una nueva probeta de PCR Mix.

15 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 del Reglamento (UE) 2017/746 del Parlamento Europeo y del Consejo sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro. Certificación emitida por la TÜV SÜD Product Service GmbH, Alemania.



Identificador único del producto



Contenido suficiente para «N» análisis.



Atención: Consultar las instrucciones de uso.



Contenido.



Manténgase fuera de la luz del sol



Fabricante.

16 NOTA PARA LOS USUARIOS

Cualquier incidente grave que se produzca en relación con el producto deberá comunicarse al fabricante y a las autoridades competentes del Estado miembro en el que resida el usuario o el paciente. En el momento de la revisión actual de las instrucciones de uso, no se había producido ningún incidente grave ni ninguna retirada relacionada con el rendimiento del producto o la seguridad del dispositivo.

No obstante, cuando este sistema informático se encuentre en funcionamiento, se proporcionará un «Resumen de seguridad y rendimiento» a través de la base de datos europea sobre productos sanitarios (Eudamed). Antes de que se publique la declaración de plena funcionalidad de Eudamed, el «Resumen de seguridad y rendimiento» se pondrá a disposición del público sin retrasos indebidos cuando se solicite escribiendo un correo electrónico a la dirección emd.support@elitechgroup.com.

17 AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA

Este producto contiene reactivos fabricados por Thermo Fisher Scientific, que se venden conforme a acuerdos de licencia entre ELITechGroup S.p.A. y sus afiliadas y Thermo Fisher Scientific. 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.

ELITe InGenius® y las tecnologías ELITe BeGenius® están cubiertos por patentes y solicitudes de patentes.

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

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

ThinPrep® Pap Test PreservCyt® es una marca comercial registrada de Hologic Inc.; BD SurePath™ es una marca comercial registrada de Benton, Dickinson and Company.

Appendix A HPV PLUS ELITE MGB Kit utilizado junto con las plataformas de la serie Genius®



ATENCIÓN

Este documento es una versión simplificada de las instrucciones de uso oficiales. Consulte el documento completo antes de utilizar el producto visitando el enlace www.elitechgroup.com.

USO PREVISTO

El producto **HPV PLUS ELITE MGB® Kit** es un producto sanitario para diagnóstico *in vitro* concebido para uso por parte de profesionales sanitarios como ensayo cualitativo múltiple de ácidos nucleicos mediante PCR en tiempo real para la detección y la identificación de **ADN genómico** de 14 genotipos de alto riesgo de **virus del papiloma humano (VPH)** de la manera siguiente: detección y tipificación de los genotipos de alto riesgo VPH16, VPH18, VPH31 y VPH45, detección del grupo de alto riesgo VPH HR1 (VPH33, VPH52 y VPH58) y detección grupo genotipo de alto riesgo VPH HR2 y de los genotipos no vacunales (VPH35, VPH39, VPH51, VPH56, VPH59, VPH66 y VPH68), extraídos de muestras clínicas.

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 cervicouterinas humanas suspendidas en un fijador con base alcohólica para citología.

El producto se utiliza como ayuda en el diagnóstico de infecciones por VPH, así como en pacientes que han presentado un resultado positivo para VPH en una citología o una prueba molecular. Los resultados deben interpretarse en combinación con todas las observaciones clínicas pertinentes del paciente así como los resultados de otras pruebas de laboratorio.

Secuencia amplificada

Secuencia	Gen	Fluoróforo	Canal
Diana 1	E6/E7	FAM	VPH16-31
Diana 2	E6/E7	AP690	VPH18-45
Diana 3	E6/E7	AP639	VPH HR1
Diana 4	E6/E7	AP593	VPH HR2
Internal Control	beta globina	AP525	IC

Matriz validada

Muestra cervicouterina para citología líquida, recogida en ThinPrep® Pap Test PreservCyt® Solution (Hologic, Inc.)
Muestra cervicouterina para citología líquida, recogida en BD SurePath™ Collection Vial 10 mL (Becton, Dickinson and C.)

Contenido del kit y productos relacionados

HPV PLUS ELITE MGB Kit (RTS402ING)		HPV PLUS - ELITE Positive Control (CTR402ING)	
 X 8		 X 3	
HPV PLUS PCR Mix 8 probetas de 280 µL 12 reacciones por probeta 96 reacciones por kit 7 ciclos de congelación/descongelación por cada probeta		Positive Control de HPV PLUS 3 probetas de 160 µL 4 reacciones por probeta 12 reacciones por kit 4 ciclos de congelación/descongelación	
Período de estabilidad máximo:	24 meses	Período de estabilidad máximo:	24 meses
Temperatura de almacenamiento	≤ -20 °C	Temperatura de almacenamiento	≤ -20 °C

Otros productos necesarios no proporcionados con el kit

› Instrumento ELITE InGenius: INT030. › Instrumento ELITE BeGenius: INT040. › ELITE InGenius SP 200: INT032SP200. › ELITE InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS. › ELITE InGenius PCR Cassette: INT035PCR. › ELITE InGenius Waste Box: F2102-000. › 300 µL Filter Tips Axigen: TF-350-L-R-S. › 1000 µL Filter Tips Tecan: 30180118.	ThinPrep® Pap Test PreservCyt® Solution (Hologic, Inc., código 70098-002, 20 mL de PreservCyt® Solution). BD SurePath™ Collection Vial 10 mL (Becton, Dickinson and Company, códigos 491439/491438/491440, 10 mL de líquido conservante SurePath® Preservative Fluid).
--	---

Protocolo del ELITE InGenius y del ELITE BeGenius

› Volumen de la muestra › Volumen total de elución:	200 µL 100 µL	› Volumen inicial de PCR del eluido › Volumen de la PCR Mix › Frecuencia de los controles	20 µL 20 µL 15 días
--	------------------	---	---------------------------

Rendimiento del ELITE InGenius y de ELITE BeGenius

Matriz	Diana	Rendimiento clínico	
		AUC	Coefficiente kappa de Cohen
Muestras cervicouterinas para citología líquida	VPH16-31	98,4 %	0,967
	VPH HR2	94,2 %	0,885
	VPH HR1	96,6 %	0,931
	VPH18-45	97,5 %	0,950

Matriz	Diana	Límite de detección
Muestras cervicouterinas recogidas en ThinPrep y Sure Path en el ELITe BeGenius y el ELITe InGenius	VPH16	1700 (UI/mL)
	VPH18	1700 (UI/mL)
	VPH31	1700 (UI/mL)
	VPH33	2000 (UI/mL)
	VPH45	1700 (UI/mL)
	VPH35	1700 copias/mL

Preparación de la muestra

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

Tipo de muestra	Requisitos de obtención	Condiciones transporte/almacenamiento			
		de +16 °C a +26 °C (temperatura ambiente)	de +2 °C a +8 °C	-20 °C ±10 °C	-70 °C ±15 °C
Muestras cervicouterinas para citología líquida	ThinPrep® Pap Test PreservCyt® Solution (Hologic, Inc.)	≤6 meses	≤6 meses	NR	NR
	BD SurePath™ Collection Vial 10 mL (Becton, Dickinson and C.)	≤3 meses	≤6 meses	NR	NR

NR: no recomendado.

Procedimientos con el ELITe InGenius

La interfaz del ELITe InGenius guía al usuario paso a paso durante la configuración de la sesión. Todos los pasos, a saber, la extracción, la PCR en tiempo real y la interpretación de los resultados, se realizan automáticamente. Existen dos modos operativos, a saber, sesión completa «Extract + PCR» (Extracción + PCR) y «PCR Only» (Solo PCR).

Antes del análisis

1. Encender el ELITe InGenius. Iniciar sesión con el nombre de usuario y la contraseña correspondientes. Seleccionar el modo « CLOSED »	2. Verificar los controles: Positive Control y Negative Control en el menú «Controls» (Controles). Nota: los dos tienen que haberse procesado y aprobado y no deben estar caducados.	3. Descongelar las probetas de PCR Mix . Agitar suavemente en un vórtex. Centrifugar durante 5 segundos.
---	--	--

Procedimiento 1. Serie completa: «Extract + PCR» (Extracción + PCR); p. ej., muestras

1. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil.	2. Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL»; «Elution» (Elución): «100 µL»	3. Escanear los códigos de barras de las muestras con el lector de códigos de barras manual, o bien introducir directamente el ID de la muestra.
4. Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo): HPV PLUS ELITE_Cyt_Sense_200_100.	5. Seleccionar el método «Extract + PCR» (Extracción + PCR) y la posición de la muestra: «Extraction Tube» (Tubo de extracción)	6. Cargar la PCR Mix en el «Inventory Block» (administrador de inventarios).
7. Cargar el PCR Cassette, los cartuchos de extracción ELITE InGenius SP 200, así como todos los consumibles necesarios y las muestras que deben extraerse.	8. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	9. Consultar, aprobar y almacenar los resultados.

NOTA!

si necesita utilizar el modo de procesamiento «Extract Only» (Solo extracción) consulte las instrucciones de uso del instrumento para saber cómo realizar el procedimiento.

Procedimiento 2. «PCR Only» (Solo PCR); p. ej., eluidos, controles

1. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil.	2. Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL»; «Elution» (Elución): «100 µL»	3. Escanear los códigos de barras de las muestras con el lector de códigos de barras manual, o bien introducir directamente el ID de la muestra.
4. Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo): HPV PLUS ELITE_Cyt_Sense_200_100 o HPV PLUS ELITE_PC o HPV PLUS ELITE_NC	5. Seleccionar el método «PCR Only» (Solo PCR) y establecer la posición de la muestra «Elution Tube» (Tubo de elución).	6. Cargar la PCR Mix en el «Inventory Block» (administrador de inventarios).
7. Cargar el PCR Cassette, el cartucho de extracción, la «Elution Tube» (Tubo de elución), el cartucho de puntas y las gradillas de «Extraction Tube» (Tubo de extracción).	8. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	9. Consultar, aprobar y almacenar los resultados.

Procedimientos con el ELITE BeGenius

La interfaz del ELITE BeGenius guía al usuario paso a paso durante la configuración de la sesión. Todos los pasos, a saber, la extracción, la PCR en tiempo real y la interpretación de los resultados, se realizan automáticamente. Existen dos modos operativos, a saber, sesión completa «Extract + PCR» (Extracción + PCR) y «PCR Only» (Solo PCR).

Antes del análisis

1. Encender el ELITE BeGenius. Iniciar sesión con el nombre de usuario y la contraseña correspondientes. Seleccionar el modo «CLOSED»	2. Verificar los controles: Positive Control y Negative Control en el menú «Controls» (Controles). <u>Nota:</u> los dos tienen que haberse procesado y aprobado y no deben estar caducados.	3. Descongelar las probetas de PCR Mix . Agitar suavemente en un vórtex. Centrifugar durante 5 segundos.
---	---	---

Procedimiento 1. Serie completa: «Extract + PCR» (Extracción + PCR); p. ej., muestras

1. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil y, a continuación, hacer clic en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	2. Insertar la «Sample Rack» (Rack de muestras) con las muestras dotadas de códigos de barras en la «Cooling Unit» (unidad de refrigeración). El escaneo de códigos de barras ya está activo.	3. Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL», «Eluate» (Eluido): «100 µL»
4. Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo): HPV PLUS ELITE_Be_Cyt_Sense_200_100 <u>Nota:</u> si se realiza una segunda extracción, repetir los pasos del 2 al 4.	5. Imprimir las etiquetas para incluir el código de barras correspondiente en las probetas de elución vacías. Cargar las probetas en la «Elution Rack» (rejilla de elución) e insertarla en la «Cooler Unit».	6. Cargar la PCR Mix en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) e insertarla en la «Cooler Unit».
7. Cargar la «PCR Rack» (gradilla de PCR) el PCR Cassette y la «Extraction Rack» (rejilla de extracción) con los cartuchos de extracción ELITE InGenius SP 200 y los consumibles que se necesitan para la extracción.	8. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	9. Consultar, aprobar y almacenar los resultados.

NOTA!

si necesita utilizar el modo de procesamiento «Extract Only» (Solo extracción) consulte las instrucciones de uso del instrumento para saber cómo realizar el procedimiento.

Procedimiento 2. «PCR Only» (Solo PCR); p. ej., eluidos, controles

1. Seleccione «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil y, a continuación, hacer clic en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).	2. Cargar el ácido nucleico extraído o las probetas con códigos de barras de los controles en la «Elution Rack» (rejilla de elución) e insertarla en la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración).	3. Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL», «Eluate» (Eluido): «100 µL»
4. Seleccionar el protocolo deseado en «Assay Protocol» (Protocolo de ensayo): HPV PLUS ELITE_Be_Cyt_Sense_200_100 o HPV PLUS ELITE_Be_PC o HPV PLUS ELITE_Be_NC.	5. Cargar la mezcla PCR Mix en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) e insertarla en la «Cooler Unit».	6. Cargar la «PCR Rack» (rejilla de PCR) con el PCR Cassette.
7. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	8. Consultar, aprobar y almacenar los resultados.	

ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185, 10149 Turín, Italia
Teléfono: +39-011 976 191
Fax: +39-011 936 76 11
Correo electrónico: emd.support@elitechgroup.com
Página web: www.elitechgroup.com

