



GI Norovirus PLUS ELITE MGB® Kit

Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTS500ING



UDI 08033891487591

INDICE

USO PREVISTO

PRINCIPIO DEL ENSAYO

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

OTROS PRODUCTOS NECESARIOS

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

MUESTRAS Y CONTROLES

PROCEDIMIENTO CON EL ELITE InGenius

PROCEDIMIENTO CON EL ELITE BeGenius

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

BIBLIOGRAFÍA

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

PROBLEMAS Y SOLUCIONES

SÍMBOLOS

NOTA PARA LOS USUARIOS

AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA

ANEXO: GUÍA RÁPIDA

página 1
página 2
página 2
página 2
página 2
página 3
página 3
página 4
página 6
página 11
página 15
página 21
página 21
página 22
página 25
página 26
página 26
página A

USO PREVISTO

El producto **GI Norovirus 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 retrotranscriptasa y PCR en tiempo real para la **detección y la identificación** del ARN genómico de **norovirus** extraído de muestras clínicas.

El ensayo puede detectar el ADN de los genogrupos **GI** y **GII** de norovirus (tipificados mediante el análisis de fusión).

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

El producto se utiliza como ayuda en el diagnóstico de infección por norovirus en pacientes en los que se sospecha la presencia de alguna infección vírica gastrointestinal.

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

GI Norovirus PLUS ELITE MGB® Kit

Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTS500ING

PRINCIPIO DEL ENSAYO

Este es un ensayo cualitativo en un solo paso de retrotranscriptasa y PCR en tiempo real para la detección de ARN de norovirus en muestras sometidas a retrotranscriptasa y amplificadas a continuación utilizando una mezcla completa de reacción que contiene cebadores y sondas con la tecnología ELITE MGB.

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

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

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

El producto **GI Norovirus PLUS ELITE MGB Kit** incluye los siguientes componentes:

- **GI-NV PCR Mix**, una mezcla de PCR optimizada y estabilizada que contiene los cebadores y las sondas específicos para:
 - El gen de la poliproteína de los genogrupos GI y GII de norovirus, detectado en el canal **NV**; las sondas se estabilizan mediante la tecnología MGB, se inactivan mediante el Eclipse Dark Quencher® y se marcan con el colorante FAM.
 - El Internal Control (**IC**), específico para una región del ARN genómico del bacteriófago MS2, detectado en el canal **IC**; la sonda se estabiliza con la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher, y se marca con el colorante AquaPhluor® 525 (AP525).

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

- **RT EnzymeMix**, una mezcla optimizada y estabilizada de enzimas para la retrotranscriptasa.

El producto **GI Norovirus PLUS ELITE MGB Kit** contiene suficientes reactivos para utilizar **96 análisis** en el **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius** cuando se utilizan 20 µL de **GI-NV PCR Mix** 0,3 µL de **RT EnzymeMix** en cada reacción.

El **GI Norovirus PLUS ELITE MGB Kit** también puede utilizarse con instrumentos equivalentes.

MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

Componente	Descripción	Cantidad	Clasificación de peligros
GI-NV PCR Mix ref. RTS500ING	Mezcla de reactivos para retrotranscriptasa y PCR en tiempo real en una probeta con tapón blanco	4 × 600 µL	-
RT EnzymeMix ref. RTS003-RT	Enzimas de retrotranscriptasa en una probeta con tapón con inserto negro	2 × 20 µL	-

MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

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

OTROS PRODUCTOS NECESARIOS

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

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

Instrumentos y software	Productos y reactivos
<p>ELITe InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, ref. INT030)</p> <p>ELITe InGenius Software, versión 1.3.0.19 (o posterior)</p> <p>GI Norovirus PLUS ELITe_PC, protocolo de ensayo (Assay Protocol) para el análisis del Positive Control.</p> <p>GI Norovirus PLUS ELITe_NC, protocolo de ensayo (Assay Protocol) para el análisis del Positive Control.</p> <p>GI Norovirus PLUS ELITe_ST_200_100, protocolo de ensayo (Assay Protocol) con parámetros para el análisis de muestras de heces.</p>	<p>ELITe InGenius SP200 (EG SpA, ref. INT032SP200)</p> <p>ELITe InGenius SP 200 Consumable Set (EG SpA, ref. INT032CS)</p> <p>ELITe InGenius PCR Cassette (EG SpA, ref. INT035PCR),</p> <p>ELITe InGenius Waste Box (EG SpA, ref. F2102-000)</p> <p>Puntas 300 µL Filter Tips Axygen (Coming Life Sciences Inc., ref. TF-350-L-R-S), solo con el ELITe InGenius</p> <p>1000 µL Filter Tips Tecan (Tecan, Suiza, ref. 30180118), solo con el ELITe BeGenius</p> <p>CPE - Internal Control (EG SpA, ref. CTRCPE),</p> <p>GI Norovirus PLUS - ELITe Positive Control (EG SpA, ref. CTR500ING)</p> <p>Solución tampón InhibitEX Buffer (QIAGEN GmbH, Alemania, ref. 19593) o un producto equivalente.</p> <p>Minitip Flocked Swab® (COPAN Italia S.p.A., Italia, ref. 518CS01) o un producto equivalente.</p> <p>FecalSwab™ (COPAN Italia S.p.A., Italia, ref. 470CE,) o un producto equivalente con medio Cary Blair.</p>
<p>ELITe BeGenius (EG SpA, ref. INT040)</p> <p>ELITe BeGenius Software versión 2.2.1 (o posterior)</p> <p>GI Norovirus PLUS ELITe_Be_PC, protocolo de ensayo (Assay Protocol) con parámetros para el análisis del Positive Control.</p> <p>GI Norovirus PLUS ELITe_Be_NC, protocolo de ensayo (Assay Protocol) con parámetros para el análisis del Negative Control.</p> <p>GI Norovirus PLUS ELITe_Be_ST_200_100, protocolo de ensayo (Assay Protocol) con parámetros para el análisis de muestras de heces.</p>	

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

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

Advertencias y precauciones generales

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

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

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

Advertencias y precauciones para los procedimientos de biología molecular

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

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 dispensación positiva o ser utilizadas 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 ser destinadas exclusivamente a dicho propósito. Las pipetas deben ser del tipo de dispensación positiva o ser utilizadas con puntas con filtro para aerosoles. Las puntas utilizadas deben ser estériles y no deben contener desoxirribonucleasas ni ribonucleasas, ni tampoco ADN ni ARN.

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

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

Advertencias y precauciones específicas para los componentes:

Componente	Temperatura de almacenamiento	Uso a partir de la primera apertura	Ciclos de congelación y descongelación
GI-NV PCR Mix	-20 °C o menos (protegido de la luz)	un mes	máximo cinco
RT EnzymeMix	-20 °C o menos	un mes	máximo diez veces, durante un máximo de diez minutos a una temperatura comprendida entre +2 °C y +8 °C

MUESTRAS Y CONTROLES

Muestras

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

Muestra	Requisitos de obtención	Condiciones transporte/almacenamiento			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 °C ± 10 °C	-70 °C ± 15 °C
Heces naturales	recogidas sin conservantes	≤2 horas	≤48 horas	≤1 mes	>1 mes
Heces	recogidas en FecalSwab	≤48 horas	≤5 días	≤1 mes	>1 mes

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

Seguir las instrucciones que se describen a continuación para el pretratamiento de la muestra.

Procedimiento de pretratamiento comenzando a partir de las heces naturales recogidas sin conservantes:

- Verter 1 mL de solución tampón «InhibitEX Buffer» en una probeta Sarstedt de 2 mL.
- Obtener una muestra de heces con un hisopo «Minitip Flocked Swab» con punto rotura a 80 mm (Copan), recoger la muestra de diferentes porciones de heces y desechar el exceso apoyándolo contra la pared del recipiente.
- Insertar el hisopo en la probeta Sarstedt de 2 mL que contiene la solución tampón «InhibitEX Buffer»

GI Norovirus PLUS ELITE MGB® Kit
Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTS500ING

- y girarlo al menos 10 veces, apoyándolo contra la pared.
- Desechar el hisopo y cerrar la probeta con el tapón.
- Mezclar mediante vórtex durante aproximadamente 60 segundos.
- Incubar en una mezcladora térmica a aproximadamente +80 °C y aproximadamente 800 rpm durante 10 minutos.
- Centrifugar a 10.000x RCF durante 15 segundos.
- Verter con cuidado 200 µL de sobrenadante de heces clarificadas en una probeta de extracción «Extraction Tube» (en el caso del instrumento ELITE InGenius) o en una probeta Sarstedt de 2 mL (en el caso del instrumento ELITE BeGenius), teniendo cuidado de no alterar el material fecal granulado.

Procedimiento de pretratamiento comenzando a partir de las heces recogidas en FecalSwab:

- Verter 500 mL de solución tampón «InhibitEX Buffer» en una probeta Sarstedt de 2 mL.
- Verter 500 µL de suspensión de la muestra desde el FecalSwab hasta la probeta Sarstedt de 2 mL que contiene la solución tampón «InhibitEX Buffer».
- Acoplar el tapón en la probeta de forma segura y mezclar mediante vórtex durante unos 60 segundos.
- Incubar en una mezcladora térmica a aproximadamente +80 °C y aproximadamente 800 rpm durante 10 minutos.
- Centrifugar a 10.000x RCF durante 15 segundos.
- Verter con cuidado 200 µL de sobrenadante de heces clarificadas en una probeta de extracción «Extraction Tube» (en el caso del instrumento ELITE InGenius) o en una probeta Sarstedt de 2 mL (en el caso del instrumento ELITE BeGenius), teniendo cuidado de no alterar el material fecal granulado.

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

Protocolos de ensayo (Assay Protocols) para el producto GI Norovirus PLUS ELITE MGB Kit				
Muestra	Instrumento	Nombre del protocolo de ensayo	Informe	Características
Heces naturales o heces recogidas en FecalSwab	ELITE InGenius	GI Norovirus PLUS ELITE_ST_200_100	Positivo/ Negativas	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución de extracción: 100 µL Internal Control: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen de carga de PCR de la muestra: 10 µL
	ELITE BeGenius	GI Norovirus PLUS ELITE_Be_ST_200_100		

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

Nota: el pipeteado de las muestras en la **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 «Advertencias y precauciones».

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

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

Controles de PCR

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

Para el Positive Control, utilizar el producto **GI Norovirus PLUS - ELITE Positive Control** (no incluido en este kit) con los protocolos de ensayo (Assay Protocols) **GI Norovirus PLUS ELITE_PC** o **GI Norovirus PLUS ELITE_Be_PC**.

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

GI Norovirus PLUS ELITE MGB® Kit
Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTS500ING

Nota: el **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius** permiten generar y guardar la curva de calibración y la validación del control de PCR para cada lote de reactivos de PCR. Los resultados del control de PCR caducan **a los 15 días**, después de los cuales es necesario volver a procesar los controles positivo y negativo. Los controles de PCR deben volver a procesarse si se produce alguna de las siguientes circunstancias:

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

Controles de calidad

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

PROCEDIMIENTO CON EL ELITE InGenius

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

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

PASO 1. Verificación de la disponibilidad del sistema

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

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

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

PASO 2. Configuración de la sesión

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

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

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

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

Antes de configurar una sesión:

1. Descongelar las probetas necesarias de **GI-NV PCR Mix** a temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para **24 análisis** en condiciones óptimas de uso (es decir,

realizando al menos 2 análisis por sesión). Mezclar mediante vórtex a baja velocidad tres veces durante 10 segundos, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservar en hielo o en un bloque refrigerado.

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

- Tomar las probetas de **RT EnzymeMix** que se necesiten. Cada probeta es suficiente para **48 análisis**. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.

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

- Preparar una probeta de 2 mL (Sarstedt Ref. 72.694.005, no incluida en el kit) para la **mezcla completa de reacción** y etiquetarla con un rotulador permanente.
- Calcular los volúmenes necesarios de **GI-NV PCR Mix** y de **RT EnzymeMix** para preparar la **mezcla completa de reacción** en función del número de muestras (N) que vayan a analizarse, tal como se describe en la tabla siguiente.

Número de muestras (N)	GI-NV PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) × 20 µL	(N + 1) × 0,3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) × 20 µL	(N + 2) × 0,3 µL
N = 12	290 µL	4,4 µL

- Preparar la **mezcla completa de reacción** vertiendo los volúmenes calculados de los dos componentes en la probeta de 2 mL etiquetada. Mezclar mediante vórtex a baja velocidad tres veces durante 10 segundos, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservar en hielo o en un bloque refrigerado.

Nota: la **mezcla completa de reacción** puede utilizarse en el transcurso de 7 horas si se conserva en un bloque refrigerado (para dos sesiones de 3 horas cada una durante el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión). La mezcla completa de reacción **no puede** conservarse para reutilizarla.

Nota: la **mezcla completa de reacción** es fotosensible, por lo que no debe exponerse a la luz directa.

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

	A. Sesión de la muestra (Extract + PCR).	B. Sesión con la muestra eluida (PCR Only).	C. Sesión del Positive Control y del Negative Control (PCR Only).
1	Identificar las muestras y, en caso necesario, descongelarlas a temperatura ambiente. Pretratar las muestras de acuerdo con el procedimiento descrito en la sección «Muestras y controles». Para este ensayo, es necesario verter 200 µL de muestra pretratada en una «Extraction Tube» (probeta de extracción) previamente etiquetada.	Descongelar las probetas de elución que contienen los ácidos nucleicos extraídos a temperatura ambiente. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.	Descongelar las probetas de Positive Control a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Cada probeta es suficiente para 4 reacciones.
2	Descongelar las probetas de CPE necesarias a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Cada tubo es suficiente para 12 extracciones.	No aplicable.	Preparar el Negative Control vertiendo al menos 50 µL de agua para biología molecular en la probeta de elución («Elution Tube») que se incluye con el ELITE InGenius SP 200 Consumable Set .
3	Seleccionar «Perform Run» en la «Home» (pantalla principal).	Seleccionar «Perform Run» en la «Home» (pantalla principal).	Seleccionar «Perform Run» en la «Home» (pantalla principal).

	A. Sesión de la muestra (Extract + PCR).	B. Sesión con la muestra eluida (PCR Only).	C. Sesión del Positive Control y del Negative Control (PCR Only).
4	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (volumen de elución de extracción), 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 de extracción), 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 de extracción), a 100 µL.
5	Para cada muestra, asignar un carril e introducir el «SampleID» o SID (ID de la muestra), ya sea rellenándolo directamente o escaneando su código de barras.	Para cada muestra, asignar un carril e introducir el «SampleID» o SID (ID de la muestra), ya sea rellenándolo directamente o escaneando su código de barras.	No aplicable.
6	Seleccionar el Assay Protocol en la columna «Assay» (consultar la sección «Muestras y controles»).	Seleccionar el Assay Protocol en la columna «Assay» (consultar la sección «Muestras y controles»).	Seleccionar el Assay Protocol en la columna «Assay» (consultar la sección «Muestras y controles»). Introducir el número de lote y la fecha de caducidad del Positive Control y del agua para biología molecular.
7	Asegurarse de que el protocolo que se muestra en el área «Protocol» sea «Extract + PCR».	Seleccionar «PCR Only» en la columna «Protocol».	En la columna «Protocol», asegurarse de que esté seleccionado «PCR Only».
8	En la columna «Sample Position», seleccionar la posición de carga «Extraction Tube» para la muestra.	Asegurarse de que la posición de carga de la muestra en la columna «Sample Position» sea «Elution Tube» (fila inferior).	Asegurarse de que la posición de carga de la muestra en la columna «Sample Position» sea «Elution Tube» (fila inferior).
9	Hacer clic en «Next» para continuar.	Hacer clic en «Next» para continuar.	Hacer clic en «Next» para continuar.
10	Cargar el CPE y la mezcla completa de reacción en el «Inventory Block» (bloque de inventario) en función de la lista de carga («Load List») y, después, introducir el número de lote del CPE y de la mezcla PCR Mix, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.	Cargar la mezcla mezcla completa de reacción en el «Inventory Block» (bloque de inventario), en función de la lista de carga («Load List») y, después, introducir el número de lote de la mezcla de PCR, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.	Cargar la mezcla mezcla completa de reacción en el «Inventory Block» (bloque de inventario), en función de la lista de carga («Load List») y, después, introducir el número de lote de la mezcla de PCR, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.
11	Hacer clic en «Next» para continuar.	Hacer clic en «Next» para continuar.	Hacer clic en «Next» para continuar.
12	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (gradillas de puntas) del «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (gradillas de puntas) del «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (gradillas de puntas) del «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.
13	Hacer clic en «Next» para continuar.	Hacer clic en «Next» para continuar.	Hacer clic en «Next» para continuar.
14	Cargar el PCR Cassette , los cartuchos de extracción ELITE InGenius SP 200, así como todos los consumibles necesario y las muestras que deben extraerse.	Cargar el PCR Cassette y la probeta de elución con las muestras extraídas.	Cargar el PCR Cassette y las probetas de Positive Control y de Negative Control.
15	Hacer clic en «Next» para continuar.	Hacer clic en «Next» para continuar.	Hacer clic en «Next» para continuar.
16	Cerrar la puerta del equipo.	Cerrar la puerta del equipo.	Cerrar la puerta del equipo.
17	Pulsar «Start».	Pulsar «Start».	Pulsar «Start».

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 muestra extraída que queda en la **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: la **mezcla completa de reacción** puede guardarse en el bloque refrigerado durante un máximo de 7 horas (para dos sesiones de 3 horas cada una y durante el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión). Mezclar suavemente y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos antes de iniciar la siguiente sesión. La mezcla completa de reacción **no puede** conservarse para reutilizarla.

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

Nota: el **GI-NV Positive Control** puede utilizarse para 4 sesiones independientes de 3 horas cada una.

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

PASO 3. Evaluación y aprobación de los resultados

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

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

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

El **ELITe InGenius** genera resultados con el producto **GI Norovirus PLUS ELITe MGB Kit** mediante el siguiente procedimiento:

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

A. Validación de los resultados del Positive Control y Negative Control de la amplificación

El **ELITe InGenius software** interpreta los resultados de la PCR para las dianas de las reacciones del Positive Control y del Negative Control con los parámetros de los protocolos de ensayo (Assay Protocols) **GI Norovirus PLUS_ELITe_PC** y **GI Norovirus PLUS_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 del lote de reactivos de PCR, se registran en la base de datos («Controls»). Los usuarios cualificados como administrador («Administrator») o analista («Analyst») pueden consultar dichos resultados y aprobarlos siguiendo las instrucciones de la interfaz.

Los resultados del Positive Control y del Negative Control caducan **después de 15 días**.

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

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

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

B. Validación de los resultados de la muestra

El **ELITe InGenius software** interpreta los resultados de la PCR para la diana (canal **NV**) y para el Internal Control (canal **IC**) con los parámetros del protocolo de ensayo (Assay Protocol) **GI Norovirus PLUS ELITe_ST_200_100**.

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

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

1) Positive Control	Estado
GI-NV Positive Control	APROBADO
2) Negative Control	Estado
GI-NV Negative Control	APROBADO

El **ELITe InGenius software** interpreta automáticamente los resultados de las muestras utilizando los parámetros del protocolo de ensayo. En la siguiente tabla se indican los posibles mensajes de los resultados.

Para cada muestra, el sistema muestra una combinación de los siguientes mensajes y especifica si los ARN de los patógenos se han detectado o no.

Resultado de la sesión de la muestra	Interpretación
NV: RNA detected Genogroup I	Se ha detectado ARN de norovirus en la muestras y se ha tipificado como genogrupo I.
NV:RNA detected Genogroup II	Se ha detectado ARN de norovirus en la muestras y se ha tipificado como genogrupo II.
NV: RNA detected Typing not determined	Se ha detectado ARN de norovirus en la muestra, pero el análisis para la tipificación del genogrupo no era viable. Es necesario repetir la prueba.
NV:RNA not detected or below the LoD	No se ha detectado ARN de norovirus en la muestra. La muestra es negativa para el ADN diana, o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
Invalid-Retest Sample	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 notificadas como «Invalid: Retest Sample» indican que el ARN del Internal Control no ha podido detectarse correctamente, probablemente debido a problemas en los pasos de recogida de la muestra, pretratamiento, extracción, retrotranscriptasa o PCR (p. ej., obtención incorrecta de la muestra, degradación o pérdida de ARN durante la extracción o presencia de inhibidores en el eluido), lo que puede dar lugar a resultados incorrectos.

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

Las muestras notificadas como «NV:RNA not detected or below the LoD» son aptas para el análisis, pero no ha sido posible detectar ARN de la diana. En este caso, puede que la muestra sea negativa para ARN de las dianas, o que haya ARN de las dianas a una concentración inferior al límite de detección del ensayo (ver sección «Características de rendimiento»).

Las muestras notificadas como «NV:RNA detected Typing not determined» no son aptas para la tipificación de los genogrupos I o II de norovirus. No obstante, las muestras son positivas par ARN de norovirus.

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

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

C. Generación del informe de los resultados de la muestra

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

El «Sample Report» muestra los detalles de los resultados ordenados por la muestra seleccionada

(SID).

El «Track Report» muestra los detalles de los resultados ordenados por el carril seleccionado. El personal autorizado puede imprimir y firmar el «Sample Report» y el «Track Report».

PROCEDIMIENTO CON EL ELITe BeGenius

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

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

PASO 1. Verificación de la disponibilidad del sistema

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

- Encender el **ELITe BeGenius** e iniciar sesión en el modo «CLOSED».
- En el menú «Controls» de la página principal, verificar que los controles de PCR (**GI-NV Positive Control**, **GI-NV Negative Control**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de **GI-NV PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de controles de PCR válidos para el lote de **GI-NV PCR Mix**, procesar los controles de PCR tal como se describe en los apartados siguientes.

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

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

PASO 2. Configuración de la sesión

El producto **GI Norovirus PLUS ELITe MGB Kit** puede utilizarse con el **ELITe BeGenius** para realizar las siguientes tareas:

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

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

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 **GI-NV PCR Mix** a temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para **24 análisis** en condiciones óptimas de uso (es decir, realizando al menos 2 análisis por sesión). Mezclar mediante vórtex a baja velocidad tres veces durante 10 segundos, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservar en hielo o en un bloque refrigerado.

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

- Tomar las probetas de **RT EnzymeMix** que se necesiten. Cada probeta es suficiente para **48 análisis**. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.

Nota: la mezcla «**RT EnzymeMix**» no debe exponerse a temperaturas superiores a -20 °C durante más de

10 minutos.

- Preparar una probeta de 2 mL (Sarstedt Ref. 72.694.005, no incluida en el kit) para la **mezcla completa de reacción** y etiquetarla con un rotulador permanente.
- Calcular los volúmenes necesarios de **GI-NV PCR Mix** y de **RT EnzymeMix** para preparar la **mezcla completa de reacción** en función del número de muestras (N) que vayan a analizarse, tal como se describe en la tabla siguiente.

Número de muestra (N)	GI -NV PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) × 20 µL	(N + 1) × 0,3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) × 20 µL	(N + 2) × 0,3 µL
N = 12	290 µL	4,4 µL
13 ≤ N ≤ 18	(N + 3) × 20 µL	(N + 3) × 0,3 µL
19 ≤ N ≤ 23	(N + 4) × 20 µL	(N + 4) × 0,3 µL
N = 24	580 µL	8,7 µL

- Preparar la **mezcla completa de reacción** vertiendo los volúmenes calculados de los dos componentes en la probeta de 2 mL etiquetada. Mezclar mediante vórtex a baja velocidad tres veces durante 10 segundos, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservar en hielo o en un bloque refrigerado.

Nota: la **mezcla completa de reacción** puede utilizarse en el transcurso de 7 horas si se conserva en un bloque refrigerado (para dos sesiones de 3 horas cada una durante el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión). La mezcla completa de reacción **no puede** conservarse para reutilizarla.

Nota: la **mezcla completa de reacción** es fotosensible, por lo que no debe exponerse a la luz directa.

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

	A. Sesión de la muestra (Extract + PCR).	B. Sesión con la muestra eluida (PCR Only).	C. Sesión del Positive Control y del Negative Control (PCR Only).
1	Identificar las muestras y, en caso necesario, descongelarlas a temperatura ambiente. Pretratar las muestras de acuerdo con el procedimiento descrito en la sección «Muestras y controles». Para este ensayo, es preciso verter 200 µL de muestra en una probeta Sarstedt de 2 mL previamente etiquetada.	En caso necesario, descongelar a temperatura ambiente las probetas de elución («Elution tube») que contienen los ácidos nucleicos extraídos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.	Descongelar las probetas de Positive Control a temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para 4 reacciones. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.
2	Descongelar las probetas de CPE necesarias a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Cada tubo es suficiente para 12 extracciones.	No aplicable.	Preparar el Negative Control vertiendo al menos 50 µL de agua para biología molecular en la probeta de elución («Elution Tube») que se incluye con el ELITe InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Seleccionar « Perform Run » en la «Home» (pantalla principal).	Seleccionar « Perform Run » en la «Home» (pantalla principal).	Seleccionar « Perform Run » en la «Home» (pantalla principal).
4	Extraer todas las gradillas de la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración) y colocarlas en la mesa de preparación.	Extraer las gradillas de los carriles 1, 2 y 3 (L1, L2, L3) de la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración) y colocarlas en la tabla de preparación.	Extraer las gradillas de los carriles 1, 2 y 3 (L1, L2, L3) de la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración) y colocarlas en la tabla de preparación.
5	Seleccionar el modo de procesamiento « Extract + PCR ».	Seleccionar el modo de procesamiento « PCR Only ».	Seleccionar el modo de procesamiento « PCR Only ».

	A. Sesión de la muestra (Extract + PCR).	B. Sesión con la muestra eluida (PCR Only).	C. Sesión del Positive Control y del Negative Control (PCR Only).
6	Cargar las muestras en la «Sample Rack» (gradilla de muestras). Cuando se cargan probetas secundarias «2 mL Tubes», utilizar los adaptadores azules para la «Sample Rack».	Cargar las muestras en la «Elution Rack» (gradilla de elución).	Cargar las probetas de Positive Control y de Negative Control en la «Elution Rack» (gradilla de elución).
7	Insertar la Sample Rack en la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración), comenzando por el carril 5 (L5). Insertar el «SID» (ID de la muestra) para cada posición utilizada (si las probetas secundarias están cargadas, marcar 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 en la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración), comenzando por el carril 3 (L3). 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 eluido).	Insertar la Elution Rack en la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración), comenzando por el carril 3 (L3). Para cada «Position» (posición), introducir el «Reagent name» (nombre del reactivo), el «S/N» (número de serie) el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).
8	Hacer clic en «Next» para continuar.	Hacer clic en «Next» para continuar.	Hacer clic en «Next» para continuar.
9	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume», a 100 µL.	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume», a 100 µL.	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume», a 100 µL.
10	Seleccionar el Assay Protocol en la columna «Assay» (consultar la sección «Muestras y controles»).	Seleccionar el Assay Protocol en la columna «Assay» (consultar la sección «Muestras y controles»).	Seleccionar el Assay Protocol en la columna «Assay» (consultar la sección «Muestras y controles»).
11	Hacer clic en «Next» para continuar.	Hacer clic en «Next» para continuar.	Hacer clic en «Next» para continuar.
	Nota: si se procesan más de 12 muestras, repetir el procedimiento a partir del punto 6.		-
12	Cargar las «Elution Tube» (probetas de elución) en la «Elution Rack» (gradilla de elución); las probetas de elución pueden etiquetarse con un código de barras para mejorar la rastreabilidad.	No aplicable.	No aplicable.
13	Insertar la Elution Rack en la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración), comenzando por el carril 3 (L3). Si se procesan más de 12 muestras, repetir el procedimiento utilizando el «carril 2» (L2).	No aplicable.	No aplicable.
14	Hacer clic en «Next» para continuar.	No aplicable.	No aplicable.
15	Cargar el CPE y la mezcla completa de reacción en la «Reagent/Elution Rack» (gradilla de reactivos/elución).	Cargar la mezcla completa de reacción en la «Reagent/Elution Rack» (gradilla de reactivos/elución).	Cargar la mezcla completa de reacción en la «Reagent/Elution Rack» (gradilla de reactivos/elución).
16	Insertar la «Reagent/Elution Rack» (gradilla de reactivos/elución) en el carril 2 (L2) de la unidad de refrigeración «Cooler Unit» o, si está disponible, en el carril 1 (L1). Para cada reactivo de la PCR Mix o cada CPE, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).	Insertar la «Reagent/Elution Rack» (gradilla de reactivos/elución) en el carril 2 (L2) de la unidad de refrigeración «Cooler Unit» o, si está disponible, en el carril 1 (L1). Para cada reactivo de la PCR Mix, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).	Insertar la «Reagent/Elution Rack» (gradilla de reactivos/elución) en el carril 2 (L2) de la unidad de refrigeración «Cooler Unit» o, si está disponible, en el carril 1 (L1). Para cada reactivo de la PCR Mix, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).
17	Hacer clic en «Next» para continuar.	Hacer clic en «Next» para continuar.	Hacer clic en «Next» para continuar.

Continúa en la página siguiente

18	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (gradillas de puntas) del «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (gradillas de puntas) del «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (gradillas de puntas) del «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.
19	Hacer clic en «Next» para continuar.	Hacer clic en «Next» para continuar.	Hacer clic en «Next» para continuar.
20	Cargar la PCR Basket con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área de inventario).	Cargar la PCR Basket con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área de inventario).	Cargar la PCR Basket con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área de inventario).
21	Hacer clic en «Next» para continuar.	Hacer clic en «Next» para continuar.	Hacer clic en «Next» para continuar.
22	Cargar la cesta de extracción «Extraction Basket» (cesta de extracción) con los cartuchos de extracción «ELITE InGenius SP 200» y los consumibles de extracción necesarios.	No aplicable.	No aplicable.
23	Cerrar la puerta del equipo.	Cerrar la puerta del equipo.	Cerrar la puerta del equipo.
24	Pulsar «Start».	Pulsar «Start».	Pulsar «Start».

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 muestra extraída que queda 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: la mezcla completa de reacción puede guardarse en el bloque refrigerado durante un máximo de 7 horas (para dos sesiones de 3 horas cada una y durante el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión). Mezclar suavemente y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos antes de iniciar la siguiente sesión. La mezcla completa de reacción **no puede** conservarse para reutilizarla.

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

Nota: el **GI-NV Positive Control** puede utilizarse para 4 sesiones independientes de 3 horas cada una.

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

PASO 3. Evaluación y aprobación de los resultados

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

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

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

El **ELITE BeGenius** genera resultados con el producto **GI Norovirus PLUS ELITE MGB Kit** mediante el siguiente procedimiento:

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

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

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Límite de detección (LoD)

El límite de detección (LoD) del ensayo se determinó para los instrumentos ELITE BeGenius y ELITE InGenius analizando muestras de heces naturales enriquecidas con material de referencia recombinante de los genogrupos GI y GII de norovirus (ZeptoMetrix).

El análisis de regresión Probit se realizó 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 las tablas siguientes.

Patógeno	Límite de detección	Límites del intervalo de confianza del 95 %	
		Límite inferior	Límite superior
Norovirus GI	8 TCID ₅₀ / mL	5,5 TCID ₅₀ / mL	14,7 TCID ₅₀ / mL
	686 copias/mL	-	-
Norovirus GII	942 TCID ₅₀ / mL	707 TCID ₅₀ / mL	1518 TCID ₅₀ / mL
	809 copias/mL	-	-

El valor del LoD calculado se verificó analizando en el ELITE BeGenius y en el ELITE InGenius muestras de heces naturales y muestras de heces recogidas en FecalSwab y enriquecidas con material de referencia de los genogrupos GI y GII de norovirus a la concentración declarada.

Los resultados obtenidos confirmaron la concentración declarada para todas las dianas del producto **GI Norovirus PLUS MGB Kit** con las dos matrices, tanto en el ELITE BeGenius como en el ELITE InGenius.

Inclusividad: Eficacia de la detección en diferentes cepas o aislados

La inclusividad del ensayo, expresado como ineficacia de la detección de diferentes genotipos o aislados de los genogrupos GI y GII de norovirus se evaluó mediante un análisis informático. El análisis demostró la variabilidad de la secuencia incluso en la región RdRp conservada y elegida como la diana de la PCR. De este modo, se esperan diferentes eficacias en la detección para algunos genotipos o aislados.

La inclusividad también se verificó mediante el análisis de 15 materiales de referencia sintéticos (ADN plasmídicos) que representaban las variantes genómicas principales de los genogrupos GI y GII de norovirus.

Los resultados se muestran en las tablas siguientes.

Muestra	Copias/reacción	Positivas/Duplicados	Resultado
Plásmido de genogrupo GI de norovirus (ID de sec. MN938461)	1×10 ²	6/6	NV: RNA detected Genogroup I
Plásmido de genogrupo GI de norovirus (ID de sec. KF429761)	1×10 ²	6/6	NV: RNA detected Genogroup I
Plásmido de genogrupo GI de norovirus (ID de sec. MW362461)	1×10 ²	6/6	NV: RNA detected Genogroup I
Plásmido de genogrupo GI de norovirus (ID de sec. OK147886)	5×10 ²	6/6	NV: RNA detected Genogroup I
Plásmido de genogrupo GI de norovirus (ID de sec. OK562729)	5×10 ²	6/6	NV: RNA detected Genogroup I
Plásmido de genogrupo GI de norovirus (ID de sec. MZ470608)	2×10 ³	6/6	NV: RNA detected Genogroup I
Plásmido de genogrupo GI de norovirus (ID de sec. KP027330)	1×10 ²	6/6	NV: RNA detected Genogroup I
Plásmido de genogrupo GI de norovirus (ID de sec. EU085525)	1×10 ²	6/6	NV: RNA detected Genogroup I
Plásmido de genogrupo GI de norovirus (ID de sec. MN421562)	2×10 ⁴	6/6	NV:RNA detected Genogroup II
Plásmido de genogrupo GI de norovirus (ID de sec. MW647681)	1×10 ²	6/6	NV: RNA detected Genogroup I
Plásmido de genogrupo GI de norovirus (ID de sec. LC378987)	5×10 ⁴	6/6	NV: RNA detected Genogroup I
Plásmido de genogrupo GII de norovirus (ID de sec. MK328934)	1×10 ²	6/6	NV:RNA detected Genogroup II
Plásmido de genogrupo GII de norovirus (ID de sec. KC464491)	1×10 ²	6/6	NV:RNA detected Genogroup II

Muestra	Copias/reacción	Positivas/Duplicados	Resultado
Plásmido de genogrupo GI de norovirus (ID de sec. MG495078)	1×10 ²	6/6	NV: RNA detected Genogroup I
Plásmido de genogrupo GI de norovirus (ID de sec. MG674721)	1×10 ²	6/6	NV: RNA detected Genogroup I

Con algunas variantes del genogrupo GI de norovirus, la sensibilidad del producto puede cambiar hasta 500 veces.

Con el genotipo 9 del genogrupo GI de norovirus, el producto dará un tipificación incorrecta como «genogrupo GII de norovirus».

Con los genotipos 6 y 7 del genogrupo GII de norovirus, el producto dará un tipificación incorrecta como «genogrupo GI de norovirus».

Microorganismos potencialmente interferentes: Reactividad cruzada

La reactividad cruzada potencial de los microorganismos imprevistos que pueden encontrarse en muestras clínicas de heces 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) y, por lo tanto, no cabe esperar reactividad cruzada.

La ausencia de reactividad cruzada con los microorganismos potencialmente interferentes también se verificó analizando un panel de microorganismos imprevistos (ATCC, ZeptoMetrix y DSMZ).

Los resultados se muestran en las tablas siguientes.

Microorganismo	Positivas/Duplicados	Resultado
<i>Aeromonas hydrophila</i>	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Bacteroides fragilis</i>	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Helicobacter pylori</i>	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Escherichia coli</i>	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Serratia Marcescens</i>	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Candida albicans</i>	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Citrobacter freundii</i>	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Clostridium difficile</i>	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Proteus mirabilis</i>	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Enterobacter cloacae</i>	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Giardia lamblia</i>	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Cryptosporidium parvum</i>	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Entamoeba histolytica</i>	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Adenovirus</i>	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Salmonella enterica</i>	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Shigella flexneri</i>	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Vibrio cholerae</i>	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Rotavirus</i>	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Campylobacter jejuni</i>	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Astrovirus</i>	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Sapovirus</i>	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Virus ECHO humano 4</i>	0/5	Sin reactividad cruzada

Ninguno de los microorganismos potencialmente interferentes analizados presentó reactividad cruzada para la amplificación de la diana cuando se utilizó el producto **GI Norovirus PLUS ELITE MGB Kit**.

Microorganismos potencialmente interferentes: Inhibición

GI Norovirus PLUS ELITe MGB® Kit
 Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTS500ING

La inhibición potencial de microorganismos imprevistos que pueden encontrarse en las muestras clínicas de heces se evaluó para el ensayo analizando un panel de microorganismos imprevistos (ATCC, ZeptoMetrix y DSMZ), enriquecidos con material de referencia recombinante de los genogrupos GI y GII de norovirus (ZeptoMetrix).

Los resultados se muestran en las tablas siguientes.

Microorganismo	Positivas/Duplicados		Resultado
	NV1	NV2	
<i>Aeromonas hydrophila</i>	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Bacteroides fragilis</i>	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Helicobacter pylori</i>	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Escherichia coli</i>	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Serratia Marcescens</i>	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Acinetobacter baumannii</i>	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Candida albicans</i>	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Citrobacter freundii</i>	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Clostridium difficile</i>	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Proteus mirabilis</i>	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Enterobacter cloacae</i>	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Giardia lamblia</i>	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Cryptosporidium parvum</i>	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Entamoeba histolytica</i>	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Adenovirus</i>	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Salmonella enterica</i>	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Shigella flexneri</i>	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Vibrio cholerae</i>	5/5	5/5	Sin interferencia
Rotavirus	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Campylobacter jejuni</i>	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Yersinia enterocolitica</i>	5/5	5/5	Sin interferencia
Astrovirus	5/5	5/5	Sin interferencia
Sapovirus	5/5	5/5	Sin interferencia
Virus ECHO humano 4	5/5	5/5	Sin interferencia

Ninguno de los microorganismos potencialmente interferentes analizados presentó inhibición de la amplificación de las dianas cuando se utilizó el producto **GI Norovirus PLUS ELITe MGB Kit**.

Sustancias potencialmente interferentes: Reactividad cruzada

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

Los resultados se muestran en las tablas siguientes.

Sustancia	Positivas/Duplicados	Resultado
Aceite de vaselina	0/5	Sin reactividad cruzada
Nonoxinol -9	0/5	Sin reactividad cruzada
Subsalicilato de bismuto	0/5	Sin reactividad cruzada
Hidrocloruro de loperamida	0/5	Sin reactividad cruzada
Bisacodilo	0/5	Sin reactividad cruzada
Azitromicina	0/5	Sin reactividad cruzada
Vancomicina	0/5	Sin reactividad cruzada
Metronidazol	0/5	Sin reactividad cruzada
Ampicilina	0/5	Sin reactividad cruzada
Cefpodoxima	0/5	Sin reactividad cruzada
Ciprofloxacino	0/5	Sin reactividad cruzada
Hidrocortisona	0/5	Sin reactividad cruzada
Carbonato cálcico	0/5	Sin reactividad cruzada
Ácido algínico	0/5	Sin reactividad cruzada
Hidróxido de aluminio	0/5	Sin reactividad cruzada

GI Norovirus PLUS ELITe MGB® Kit
 Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTS500ING

Sustancia	Positivas/Duplicados	Resultado
Trisilicato de magnesio	0/5	Sin reactividad cruzada
Sangre	0/5	Sin reactividad cruzada
Mucina	0/5	Sin reactividad cruzada
Ácido palmítico	0/5	Sin reactividad cruzada
Ácido esteárico	0/5	Sin reactividad cruzada

El análisis demostró que ninguna de las sustancias analizadas presentan una reacción cruzada con las dianas cuando se utiliza el producto **GI Norovirus PLUS ELITe MGB Kit**.

Sustancias potencialmente interferentes: Inhibición

La inhibición potencial de sustancias interferentes (endógenas y exógenas) que puede encontrarse en muestras clínicas de heces se evaluó para el ensayo analizando un panel de sustancias a la concentración pertinente en muestras enriquecidas con material de referencia recombinante de los genogrupos GI y GII de norovirus (ZeptoMetrix).

Los resultados se muestran en las tablas siguientes.

Sustancia	Positivas/Duplicados		Resultado
	NV1	NV2	
Aceite de vaselina	5/5	5/5	Sin interferencia
Nonoxinol -9	5/5	5/5	Sin interferencia
Subsalicilato de bismuto	5/5	5/5	Sin interferencia
Hidrocloruro de loperamida	5/5	5/5	Sin interferencia
Bisacodilo	5/5	5/5	Sin interferencia
Azitromicina	5/5	5/5	Sin interferencia
Vancomicina	5/5	5/5	Sin interferencia
Metronidazol	5/5	5/5	Sin interferencia
Ampicilina	5/5	5/5	Sin interferencia
Cefpodoxima	5/5	5/5	Sin interferencia
Ciprofloxacino	5/5	5/5	Sin interferencia
Hidrocortisona	5/5	5/5	Sin interferencia
Carbonato cálcico	5/5	5/5	Sin interferencia
Ácido algínico	5/5	5/5	Sin interferencia
Hidróxido de aluminio	5/5	5/5	Sin interferencia
Trisilicato de magnesio	5/5	5/5	Sin interferencia
Sangre	5/5	5/5	Sin interferencia
Mucina	5/5	5/5	Sin interferencia
Ácido palmítico	5/5	5/5	Sin interferencia
Ácido esteárico	5/5	5/5	Sin interferencia

El análisis demostró que las sustancias analizadas no inhiben la detección de las dianas cuando se utiliza el producto **GI Norovirus PLUS ELITe MGB Kit**.

Contaminación cruzada

La posible contaminación cruzada durante el análisis se evaluó para el ensayo analizando 60 duplicados de una muestra de heces negativa que se alternó con 60 duplicados de la misma muestra enriquecidos con material de referencia recombinante de los genogrupos GI y GII de norovirus (ZeptoMetrix) a una concentración aproximada de 3×10⁶ copias/mL.

Los resultados se muestran en las tablas siguientes.

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

Ninguna de las muestras negativas analizadas dio resultados falsos positivos. En este análisis con el producto **GI Norovirus PLUS ELITe MGB Kit**, no se detectó contaminación cruzada dentro de las propias sesiones ni entre las sesiones.

Fallo total del sistema

La tasa de fallo total del sistema para el ensayo se evaluó analizando 50 muestras de heces naturales negativas diferentes y 30 muestras de heces recogidas en FecalSwab y enriquecidas con material de

GI Norovirus PLUS ELITE MGB® Kit
Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTS500ING

referencia recombinante del genogrupo GII de norovirus (Zeptomatrix) a una concentración de 3 veces el LoD.

Los resultados se muestran en las tablas siguientes.

Muestras	N	Positivas	Negativas	Tasa total de fallos del sistema
Heces naturales enriquecidas a 3 veces el LoD	50	50	0	0 %
Heces recogidas en FecalSwab y enriquecidas a 3 veces el LoD	30	30	0	0 %

En este análisis con el producto **GI Norovirus PLUS ELITE MGB Kit**, el 100 % de las muestras de heces naturales y el 100 % de las muestras de heces recogidas en FecalSwab se confirmaron como positivas. En este análisis, la tasa de fallo total del sistema fue del 0 % para las muestras de heces naturales y del 0 % para las muestras de heces recogidas en FecalSwab.

Repetibilidad

La repetibilidad del ensayo se evaluó en el **ELITE BeGenius** y el **ELITE InGenius** analizando un panel de muestras de heces naturales o enriquecidas con materiales de referencia recombinantes de los genogrupos GI y GII de norovirus (Zeptomatrix).

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

Muestra	N	Media Ct	DE Ct	%CV Ct	Media Tm	DE Tm	%CV Tm	% de concordancia
Negativas	6	-	-	-	-	-	-	100 %
3xLoD NV1	6	34,03	0,36	1,05	61,67	0,05	0,08	100 %
3xLoD NV2	6	34,06	0,12	0,35	67,57	0,15	0,22	100 %

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

Muestra	N	Media Ct	DE Ct	%CV Ct	Media Tm	DE Tm	%CV Tm	% de concordancia
Negativas	6	-	-	-	-	-	-	100 %
3xLoD NV1	6	34,32	1,02	2,98	62,35	0,14	0,22	100 %
3xLoD NV2	6	34,55	1,00	2,90	68,68	0,10	0,14	100 %

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

Muestra	N	Media Ct	DE Ct	%CV Ct	Media Tm	DE Tm	%CV Tm	% de concordancia
Negativas	12	-	-	-	-	-	-	100 %
3xLoD NV1	12	34,32	0,44	1,28	61,70	0,10	0,17	100 %
3xLoD NV2	12	34,24	0,55	1,61	67,62	0,17	0,26	100 %

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

Muestra	N	Media Ct	DE Ct	%CV Ct	Media Tm	DE Tm	%CV Tm	% de concordancia
Negativas	12	-	-	-	-	-	-	100 %
3xLoD NV1	12	34,32	0,72	2,11	62,46	0,17	0,27	100 %
3xLoD NV2	12	34,13	0,84	2,45	68,67	0,10	0,14	100 %

En el ensayo de repetibilidad, el producto **GI Norovirus PLUS ELITE MGB Kit** detectó todas las muestras tal como se esperaba y presentó una variabilidad máxima de los valores Ct de la diana inferior al 5 %.

Reproducibilidad

La reproducibilidad del ensayo se evaluó en el **ELITE BeGenius** y el **ELITE InGenius** analizando un panel de muestras heces naturales negativas o enriquecidas con material de referencia recombinante de los genogrupos GI GII de norovirus (Zeptomatrix).

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

GI Norovirus PLUS ELITE MGB® Kit
Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTS500ING

Muestra	N	Media Ct	DE Ct	%CV Ct	Media Tm	DE Tm	%CV Tm	% de concordancia
Negativas	36	-	-	-	-	-	-	100 %
3xLoD NV1	36	34,50	0,49	1,43	61,59	0,13	0,21	100 %
3xLoD NV2	36	34,06	0,56	1,65	67,43	0,30	0,44	100 %

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

Muestra	N	Media Ct	DE Ct	%CV Ct	Media Tm	DE Tm	%CV Tm	% de concordancia
Negativas	36	-	-	-	-	-	-	100 %
3xLoD NV1	36	34,26	0,49	1,43	62,19	0,24	0,38	100 %
3xLoD NV2	36	33,84	0,61	1,81	68,30	0,47	0,69	100 %

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

Muestra	N	Media Ct	DE Ct	%CV Ct	Media Tm	DE Tm	%CV Tm	% de concordancia
Negativas	36	-	-	-	-	-	-	100 %
3xLoD NV1	36	34,70	0,43	1,24	61,49	0,21	0,34	100 %
3xLoD NV2	36	34,10	0,53	1,57	67,33	0,37	0,55	100 %

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

Muestra	N	Media Ct	DE Ct	%CV Ct	Media Tm	DE Tm	%CV Tm	% de concordancia
Negativas	36	-	-	-	-	-	-	100 %
3xLoD NV1	36	33,48	0,47	1,41	62,10	0,24	0,39	100 %
3xLoD NV2	36	33,00	0,53	1,59	68,13	0,61	0,89	100 %

En el ensayo de reproducibilidad, el producto **GI Norovirus PLUS ELITE MGB Kit** detectó todas las muestras tal como se esperaba y presentó una variabilidad máxima de los valores Ct de la diana inferior al 5 %.

Especificidad diagnóstica: Confirmación de las muestras negativas

La especificidad diagnóstica del ensayo, expresada como confirmación de las muestras clínicas negativas, se evaluó utilizando el **ELITE InGenius** y analizando muestras clínicas de heces recogidas sin conservantes, que se certificaron como negativas para la diana. Como el **ELITE BeGenius** presenta un rendimiento analítico equivalente al del **ELITE InGenius**, el rendimiento diagnóstico del ensayo observado en los dos instrumentos también se considera equivalente. Así pues, la especificidad diagnóstica del ensayo obtenida con el **ELITE InGenius** también es aplicable al **ELITE BeGenius**.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente.

Heces negativas	N	Positivas	Negativas	% de especificidad diagnóstica
Genogrupos GI/GII de norovirus	50	0	50	100 %

Todas las muestras de heces fueron negativas y válidas para el análisis.

La especificidad diagnóstica del producto **GI Norovirus PLUS ELITE MGB Kit** cuando se utilizó con muestras de heces en este análisis fue del 100 %.

El valor de corte para el Ct del IC se ha establecido a 35.

Sensibilidad diagnóstica: confirmación de muestras positivas

La sensibilidad diagnóstica del ensayo, expresada como confirmación de las muestras clínicas positivas, se evaluó utilizando el ELITe InGenius y analizando muestras clínicas de heces recogidas sin conservantes, que se certificaron como positivas para la diana. Como el ELITe BeGenius presenta un rendimiento analítico equivalente al del ELITe InGenius, el rendimiento diagnóstico del ensayo observado en los dos instrumentos también se considera equivalente. Por lo tanto, la sensibilidad diagnóstica del ensayo obtenida con el ELITe InGenius también es aplicable al ELITe BeGenius.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente.

Heces positivas	N	Positivas	Negativas	% de sensibilidad diagnóstica
<i>Norovirus GI</i>	20	16	4	94,4 %
<i>Norovirus GII</i>	70	69	1	

La sensibilidad diagnóstica del producto **GI Norovirus PLUS ELITe MGB Kit** cuando se utilizó con muestras de heces en este análisis fue del 94,4 %.

Nota: los datos y resultados completos de los análisis realizados para la evaluación de las características de rendimiento del producto con las matrices y el instrumento se recogen en la documentación técnica del producto **GI Norovirus PLUS ELITe MGB Kit**, FTP 500ING.

BIBLIOGRAFÍA

V. P. Ramanam *et al.* (2017) *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 87: 325-327
 E. Lukhtanov *et al.* (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e 30
 K. Linnet *et al.* (2004) *Clin. Chem.* 50: 732-740.
 P. Chhabra *et al.* (2019) *J. Gen. Virol.* 100: 1393 - 1406
 K. Kumthip *et al.* (2019) *Ann Res Hosp* 3: 1 - 3
 B. Lopman *et al.* (2015) *CDC Review*: 1-44

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Utilizar este producto únicamente con las muestras clínicas siguientes: heces naturales o heces recogidas en FecalSwab.

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

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

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 retrotranscriptasa, la PCR y la detección de ácidos nucleicos.

Es necesario tener áreas separadas para la preparación de la mezcla de reacción completa y la extracción/amplificación/detección de los productos de amplificación.

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

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

En ocasiones, los resultados obtenidos con este producto pueden no ser válidos debido a un fallo 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 ARN diana cubierto por los cebadores y las sondas del producto, pueden afectar negativamente a la detección y a la tipificación del ARN diana.

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

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

PROBLEMAS Y SOLUCIONES

Reacción no válida del Positive Control	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la posición de la mezcla completa de reacción, así como la del Positive Control. Comprobar los volúmenes de la mezcla completa de reacción, así como los del Positive Control.
Error en la preparación de la mezcla completa de reacción.	Comprobar los volúmenes de los reactivos utilizados durante la preparación de la mezcla completa de reacción.
Degradación de la mezcla completa de reacción o de sus componentes.	No utilizar la mezcla completa de reacción durante más de 3 sesiones consecutivas: 7 horas en el bloque refrigerado de la «Inventory Area» (área de inventario) o en la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración). No dejar la mezcla completa de reacción a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. No exponer la mezcla «RT EnzymeMix» a temperaturas superiores a -20 °C durante más de 10 minutos. Volver a preparar la mezcla completa de reacción. Utilizar una nueva alícuota de los componentes.
Degradación del Positive Control.	No utilizar el Positive Control para más de 4 sesiones independientes: 3 horas cada una en el área de extracción o en la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración). Utilizar una nueva alícuota de Positive Control.
Error del equipo.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Reacción no válida del Negative Control	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la posición de la mezcla completa de reacción, así como del Negative Control. Comprobar el volumen de la mezcla completa de reacción, así como el del Negative Control.
Contaminación del Negative Control.	No utilizar el Negative Control para más de 1 sesión. Utilizar una nueva alícuota de agua para biología molecular.
Contaminación de la mezcla completa de reacción o de sus componentes.	Volver a preparar la mezcla completa de reacción. Utilizar una nueva alícuota de los componentes.
Contaminación del área de extracción, de las gradillas, del «Inventory Block» (bloque de inventario) 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 equipo.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Reacción no válida de la muestra	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la posición de la mezcla completa de reacción, así como del Internal Control y la de la muestra. Comprobar los volúmenes de la mezcla completa de reacción, así como la del Internal Control y la de la muestra.
Error en la preparación de la mezcla completa de reacción.	Comprobar los volúmenes de los reactivos utilizados durante la preparación de la mezcla completa de reacción.

Reacción no válida de la muestra	
Posibles causas	Soluciones
Degradación de la mezcla completa de reacción o de sus componentes.	No utilizar la mezcla completa de reacción durante más de 3 sesiones consecutivas: 7 horas en el bloque refrigerado de la «Inventory Area» (área de inventario) o en la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración). No dejar la mezcla completa de reacción a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. No exponer la mezcla «RT EnzymeMix» a temperaturas superiores a -20 °C durante más de 10 minutos. Volver a preparar la mezcla completa de reacción. Utilizar una nueva alícuota de los componentes.
Degradación de la plantilla del Internal Control.	Utilizar una nueva alícuota del Internal Control.
Inhibición debida a la presencia de sustancias interferentes en la muestra.	Repetir la amplificación con una dilución de 1:2 en agua para biología molecular de la muestra eluida en una sesión en el modo de procesamiento «PCR Only». Repetir la extracción con una dilución de 1:2 en agua para biología molecular de la muestra pretratada en una sesión realizada en el modo de procesamiento «Extract + PCR».
Error del equipo.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

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

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

Tasa anormalmente alta de resultados positivos dentro de la misma sesión (reacciones con valores de Ct tardíos similares)	
Posibles causas	Soluciones
Contaminación entre muestras durante los pasos preanalíticos.	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. Volver a preparar la mezcla completa de reacción o utilizar una nueva alícuota de CPE.

SÍMBOLOS

REF

Número de catálogo.



Límite superior de temperatura.

LOT

Código de lote.



Fecha de caducidad (último día del mes).

IVD

Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*



Cumple los requisitos de la Directiva 2017/746/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*. Certificación emitida por la TÜV SÜD Product Service GmbH, Alemania.

UDI

Identificador único del producto



Contenido suficiente para «N» análisis.



Atención: Consultar las instrucciones de uso.

CONT

Contenido



Manténgase fuera de la luz del sol



Fabricante.

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.

AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA

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

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

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

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

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

Minutip Flocked Swab® es una marca registrada de COPAN Italia S.p.A.; FecalSwab™ es una marca comercial de COPAN Italia S.p.A.

GI Norovirus PLUS ELITE MGB® Kit

used in association with Genius series® platforms

Ref: RTS500ING



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

Intended use

The product **GI Norovirus PLUS ELITE MGB® Kit** is an *in vitro* diagnostic medical device intended to be used by healthcare professionals as qualitative multiplex nucleic acids reverse transcription and Real-Time PCR assay for the detection and identification of the genomic RNA of Norovirus, extracted from clinical specimens.

The assay is able to detect the RNA of Norovirus to genogroup GI and GII (typed by melting analysis).

The assay is validated in association with the **ELITE InGenius®** and **ELITE BeGenius®** instruments, automated and integrated systems for extraction, reverse transcription, Real-Time PCR and results interpretation, using human stool specimens.

The product is intended for use as an aid in the diagnosis of Norovirus in patients suspected of having viral gastrointestinal infections. The results must be interpreted in combination with all relevant clinical observations and laboratory outcomes.

Amplified sequence

Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
Target 1	GI Polyprotein	FAM	NV
Target 2	GII Polyprotein		
Internal Control	MS2 phage	AP525	IC

Validated matrix

- › Native stool collected without preservatives
- › Stool collected in FecalSwab (Modified Cary Blair medium)

Kit content and related products

GI Norovirus PLUS ELITE MGB Kit (RTS500ING)		GI Norovirus PLUS - ELITE Positive Control (CTR500ING)	
 X 4	 X 2	 X 3	
GI-NV PCR Mix 4 tubes of 600 µL 24 reactions per tube 96 reactions per kit 5 freeze-thaw cycles per tube	RT Enzyme Mix 2 tubes of 20 µL 48 reactions per tube 96 reactions per kit 10 freeze-thaw cycles	GI-NV Positive Control 3 tubes of 160 µL 4 reactions per tube 12 reactions per kit 4 freeze-thaw cycles	
Maximum shelf-life:	18 months	Maximum shelf-life	24 months
Storage temperature	≤ -20°C	Storage temperature	≤ -20°C

Other products required not provided in the kit

- | | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> › ELITE InGenius instrument: INT030. › ELITE BeGenius instrument: INT040. › ELITE InGenius SP 200: INT032SP200. › ELITE InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS. › ELITE InGenius PCR Cassette: INT035PCR. › ELITE InGenius Waste Box: F2102-000. › 300 µL Filter Tips Axigen: TF-350-L-R-S. › 1000 µL Filter Tips Tecan: 30180118. | <ul style="list-style-type: none"> › CPE - Internal Control: CTCPE › InhibitEX Buffer (QIAGEN GmBH, Germany, ref. 19593) or an equivalent device. › Minitip Flocked Swab® (COPAN Italia S.p.A., Italy, ref. 518CS01) or an equivalent device. › FecalSwab™ (COPAN Italia S.p.A., Italy, ref. 470CE,) or an equivalent device. |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

ELITE InGenius and ELITE BeGenius Protocol

› Sample volume	200 µL	› Eluate PCR input volume	10 µL
› CPE volume	10 µL	› GI-NV PCR Mix volume	20 µL
› Total elution volume	100 µL	› Frequency of controls	15 days

ELITe InGenius and ELITe BeGenius Performances

Matrix	Target	Limit of Detection	Sensitivity	Specificity
Native Stool / Stool collected in FecalSwab	Norovirus GI	8 TCID ₅₀ / mL (686 copies / mL)	94.4% (85/90)	100% (50/50)
	Norovirus GII	942 TCID ₅₀ / mL (809 copies / mL)		

Sample preparation

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

Sample type	Transport/Storage conditions			
	+16 / +26 °C (room temperature)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Native stool collected without preservatives	≤ 2 hours	≤ 48 hours	≤ 1 month	> 1 month
Stool collected in FecalSwab (Modified Cary Blair medium)	≤ 48 hours	≤ 5 days	≤ 1 month	> 1 month

Note: The specimens have to be pre-treated before use according to the procedure described in the complete IFU.

ELITe InGenius Procedures

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

Before analysis

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

- Prepare the complete reaction mixture

Sample Number (N)	GI-NV PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0.3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0.3 µL
N = 12	290 µL	4.4 µL

- Vortex gently. Spin down 5 sec. Keep the complete reaction mixture in ice. Do not expose to direct light.

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", elution: "100 µL"	3. Scan the sample barcodes with hand-barcode reader or type the sample ID
4. Select the "Assay Protocol" of interest: GI Norovirus PLUS ELITe_ST_200_100	5. Select the method "Extract + PCR" and the sample position "Extraction Tube"	6. Load the complete reaction mixture and the Internal Control in the Inventory Block
7. Load: PCR cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip Cassette, Extraction Tube racks	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results

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

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", elution: "100 µL"	3. Scan the sample barcodes with hand-barcode reader or type the sample ID
4. Select the "Assay Protocol" of interest: GI Norovirus PLUS ELITe_ST_200_100 or GI Norovirus PLUS ELITe_PC or GI Norovirus PLUS ELITe_NC	5. Select the method "PCR Only" and the sample position "Elution Tube"	6. Load the complete reaction mixture in the Inventory Block

7. Load: PCR Cassette rack and the Elution tube rack with the extracted nucleic acid	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results
--------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------	----------------------------------------

ELITe BeGenius Procedures

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

Before analysis

1. Switch on ELITe BeGenius. Log in with username and password. Select the mode "CLOSED".	2. Verify controls: GI-NV Positive Control and GI-NV Negative Control in the "Controls" menu. <i>Note:</i> Both must have been run, approved and not expired.	3. Thaw the GI-NV PCR Mix and the CTRCPE tubes. Vortex gently. Spin down 5 sec.
4. Prepare the complete reaction mixture		5. Vortex gently Spin down 5 sec Keep the complete reaction mixture in ice. Do not expose to direct light.

Sample Number (N)	GI-NV PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0.3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0.3 µL
N = 12	290 µL	4.4 µL
13 ≤ N ≤ 18	(N + 3) x 20 µL	(N + 3) x 0.3 µL
19 ≤ N ≤ 23	(N + 4) x 20 µL	(N + 4) x 0.3 µL
N = 24	580 µL	8.7 µL

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «Extract + PCR»	2. Insert the Sample Rack with the barcoded samples in the Cooler Unit. The barcode scan is already active	3. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "100 µL"
4. Select the "Assay Protocol" of interest: GI Norovirus PLUS ELITe_Be_ST_200_100 Note: if a second extraction is performed repeat steps from 2 to 4	5. Print the labels to barcode the empty elution tubes. Load the tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit	6. Load the complete reaction mixture and the Internal Control in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit
7. Load "PCR Basket" with "PCR Cassette" and the "Extraction Basket" with the "ELITe InGenius SP 200" extraction cartridges and the required extraction consumables	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «PCR Only»	2. Load the extracted nucleic acid or controls barcoded tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit	3. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "100 µL"
4. Select the "Assay Protocol" of interest: GI Norovirus PLUS ELITe_Be_ST_200_100 or GI Norovirus PLUS ELITe_Be_PC or GI Norovirus PLUS ELITe_Be_NC	5. Load the Complete reaction mixture in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit	6. Load "PCR Basket" with "PCR Cassette"
7. Close the door. Start the run	8. View, approve and store the results	