



REF RTS502ING

GI Bacterial PLUS ELITE MGB® Kit

Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTS502ING



UDI 08033891487447

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 3
 página 3
 página 3
 página 4
 página 5
 página 7
 página 11
 página 15
 página 25
 página 25
 página 27
 página 30
 página 31
 página 31
 página A

USO PREVISTO

El producto **GI Bacterial PLUS ELITE MGB® Kit** es producto sanitario para diagnóstico *in vitro* destinado al uso por parte de profesionales sanitarios en ensayos cualitativos múltiples PCR de ácidos nucleicos en tiempo real para la detección y la identificación ADN genómico de *Campylobacter* spp. (**Cam**), *Clostridium difficile* (también conocido como *Clostridioides difficile*, **Cdif**), inclusive la distinción del ribotipo 027, *Salmonella* spp. (**Sal**), *Shigella* spp. (**Shi**) y *Yersinia enterocolitica* (**Yen**), extraído de muestras clínicas.

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

El producto se utiliza como ayuda en el diagnóstico de infecciones bacterianas gastrointestinales en pacientes en los que se sospecha la presencia de una infección por *Campylobacter* spp., *Clostridium difficile*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. o *Yersinia enterocolitica*.

GI Bacterial PLUS ELITE MGB® Kit

Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real

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

El producto no está concebido para utilizarlo como ayuda en el diagnóstico de fiebre entérica ni como ayuda en la identificación de *Salmonella enterica* serovar Typhi (también conocida como *Salmonella typhi*) para evaluar el estado de portador de los pacientes.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

El ensayo es una PCR cualitativa en tiempo real para detectar ADN de *Campylobacter* spp., *Clostridioides difficile*, inclusive la distinción del ribotipo 027, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. y *Yersinia enterocolitica*, aislados de muestras y amplificados utilizando el reactivo del ensayo **GI-B PCR Mix**, que contiene cebadores y sondas con la tecnología ELITE MGB.

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

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

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

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

- Gen **ARNr 16s** de *Campylobacter* spp., detectado en el canal **Cam**; la sonda se estabiliza mediante la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher®, se marca con el colorante AquaPhluor® 639 (AP639).
- Gen **tcdB** de *Clostridioides difficile*, detectado en Channel **Cdif**; la sonda se estabiliza mediante la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher y se marca con el colorante FAM.
- Gen **invA** de *Salmonella* spp., detectado en el canal **Sal**; la sonda se estabiliza con la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher y se marca con el colorante AquaPhluor 690 (AP690).
- Gen **ipaH** de *Shigella* spp., detectado en el canal **Shi**; la sonda se estabiliza con la tecnología MGB, se inactiva con el Eclipse Dark Quencher y se marca con el colorante AquaPhluor 593 (AP593).
- Gen **foxA** de *Yersinia enterocolitica*, detectado en el canal **Yen**; la sonda se estabiliza con la tecnología MGB, se inactiva con el Eclipse Dark Quencher y se marca con el colorante AquaPhluor 559 (AP559).
- Internal Control (**IC**), específico para la secuencia artificial **IC2**, 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 tinte AquaPhluor 525 (AP525).

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

El producto **GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit** contiene suficientes reactivos para realizar **96 análisis** en los instrumentos **ELITE InGenius** y **ELITE BeGenius (12 análisis con cada probeta)**, cuando se utilizan 20 µL en cada reacción.

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

GI Bacterial PLUS ELiTe MGB® Kit
Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTS502ING

GI Bacterial PLUS ELiTe MGB® Kit
Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTS502ING

MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

Componente	Descripción	Cantidad	Clasificación de peligros
GI-B PCR Mix ref. RTS502ING	Mezcla de reactivos para PCR en tiempo real en probeta con tapón blanco	8x280 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 aerosol o de dispensación positiva (0,5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Probetas estériles de 2,0 mL con tapón roscado (Sarstedt, Alemania, ref. 72.694.005).
- Agua para biología molecular.

OTROS PRODUCTOS NECESARIOS

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

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

Instrumento y software	Productos y reactivos
<p>ELiTe InGenius (ELiTechGroup S.p.A., EG SpA, ref. INT030).</p> <p>ELiTe InGenius Software versión 1.3.0.17 (o posterior).</p> <p>GI Bacterial PLUS ELiTe_PC, protocolo de ensayo (Assay Protocol) para el análisis del Positive Control.</p> <p>GI Bacterial PLUS ELiTe_NC, protocolo de ensayo para el análisis del Negative Control.</p> <p>GI Bacterial PLUS ELiTe_ST_200_100, protocolo de ensayo con parámetros para el análisis de muestras de heces.</p> <p>Instrumento ELiTe BeGenius (EG SpA, ref. INT040).</p> <p>ELiTe BeGenius Software versión 2.1.0 (o posterior).</p> <p>«GI Bacterial PLUS ELiTe_Be_PC», protocolo de ensayo con parámetros para el análisis del Positive Control.</p> <p>«GI Bacterial PLUS ELiTe_Be_NC», protocolo de ensayo con parámetros para el análisis del Negative Control.</p> <p>GI Bacterial PLUS ELiTe_Be_ST_200_100, protocolo de ensayo 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>300 µL Filter Tips Axygen (Corning Life Sciences Inc., ref. TF-350-L-R-S), solo con el ELiTe InGenius.</p> <p>1000 µL Filter Tips Tecan (Tecan, Switzerland, ref. 30180118), solo con el ELiTe BeGenius.</p> <p>CPE - Internal Control (EG SpA, ref. CTRCPE).</p> <p>GI Bacterial PLUS - ELiTe Positive Control (EG SpA, ref. CTR502ING).</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>

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 combustible desechable 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 y herramientas expresamente destinados a la sesión 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.

GI Bacterial PLUS ELiTe MGB® Kit
 Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTS502ING

Advertencias y precauciones específicas para los componentes:

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

*Con congelación intermedia

MUESTRAS Y CONTROLES

Especimen

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 ±10 °C	-70 ±15 °C
Heces naturales	recogidas sin conservantes	≤24 horas	≤48 horas	≤1 mes	≤2 mes
Heces	recogidas en FecalSwab	≤48 horas	≤5 días	≤1 mes	≤2 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» 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 µL 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.

GI Bacterial PLUS ELiTe MGB® Kit
 Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTS502ING

- 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 IVD protocolos se han validado específicamente con los productos **ELiTe MGB Kit** y los instrumentos **ELiTe InGenius** o **ELiTe BeGenius** con las matrices indicadas.

Protocolo de ensayo para el producto GI Bacterial PLUS ELiTe MGB Kit				
Muestra	Instrumento	Nombre del protocolo de ensayo	Informe	Características
Heces naturales o Heces recogidas en FecalSwab	ELiTe InGenius	GI Bacterial PLUS ELiTe_ST_200_100	Positivo/ Negativo	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: 20 µL
	ELiTe BeGenius	GI Bacterial 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 Bacterial PLUS - ELiTe Positive Control** (no incluido en este kit) con los protocolos de ensayo (Assay Protocols) **GI Bacterial PLUS ELiTe_PC** o **GI Bacterial PLUS ELiTe_Be_PC**.
- Para el Negative Control, utilizar agua para biología molecular (no incluida en este kit) con los protocolos de ensayo «**GI Bacterial PLUS ELiTe_NC**» o «**GI Bacterial PLUS ELiTe_Be_NC**».

Nota: el **ELiTe InGenius** y el **ELiTe BeGenius** permiten generar y guardar la curva de calibración y la validación del control de PCR para cada lote de reactivos de PCR. Los resultados del control de PCR caducan **a los 15 días**, después de los cuales es necesario volver a procesar 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 Bacterial PLUS ELiTe MGB Kit** con el **ELiTe InGenius** comprende tres pasos:

STEP 1	Verificación de la disponibilidad 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	Revisión 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) Generación del informe de resultados de la muestra

PASO 1. Verificación de la disponibilidad del sistema

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

- Encender el **ELiTe InGenius** e iniciar sesión en el modo «CLOSED».
- En el menú «Controls» de la página principal, verificar que los controles de PCR (**GI-B Positive Control** y **GI-B Negative Control**) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de mezcla **GI-B PCR Mix** que va a utilizarse. Si no se dispone de controles de PCR válidos para el lote de **GI Q-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 Bacterial 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 los protocolos de ensayo (Assay Protocol) disponibles en el instrumento y se cargan automáticamente al seleccionar el protocolo de ensayo.

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

Antes de configurar una sesión:

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

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

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

	A. Sesión de la muestra (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. Pretreatar las muestras de acuerdo con el procedimiento descrito en la sección «Muestras y controles». Para este ensayo, es necesario verter 200 µL de muestra en una probeta de extracción «Extraction Tube» 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 probeta es suficiente para 12 extracciones.	N/A	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	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.	N/A
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».	En la columna «Protocol», seleccionar «PCR Only».	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 PCR Mix 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 PCR Mix en el «Inventory Block» (bloque de inventario) en función de la «Load List» (lista de carga) y, después, introducir el número de lote de la PCR Mix , la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.	Cargar la PCR Mix en el «Inventory Block» (bloque de inventario) en función de la «Load List» (lista de carga) y, después, introducir el número de lote de los reactivos, 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.

GI Bacterial PLUS ELiTe MGB® Kit
 Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTS502ING

	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).
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», así como los ELiTe InGenius SP 200, los consumibles necesarios 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 instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.
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 («Elution Tube») debe extraerse del instrumento, taparse, identificarse y conservarse a -20 °C ±10 °C durante un máximo de un mes. Evitar derramar la muestra extraída.

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

Nota: al finalizar la sesión, 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-B Positive Control puede utilizarse para 4 sesiones independientes de 3 horas cada una.

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

PASO 3. Evaluación y aprobación de los resultados

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

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

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

El ELiTe InGenius genera resultados con el producto GI Bacterial 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. Elaboración de los informes de resultados de las muestras

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

GI Bacterial PLUS ELiTe MGB® Kit
 Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTS502ING

Protocols) GI Bacterial PLUS ELiTe_PC y GI Bacterial 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 para el lote de reactivos de PCR, se guardan en la base de datos («Controls»). El personal cualificado como administrador («Administrator») o analista («Analyst») puede consultar dichos resultados y aprobarlos siguiendo las instrucciones de la interfaz.

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

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

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

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

B. Validación de los resultados de las muestras

El ELiTe InGenius software interpreta los resultados de la PCR para las dianas (canales Cam, Cdif, Sal, Shi y Yen) y el Internal Control (canal IC) con los parámetros del protocolo de ensayo (Assay Protocol) GI Bacterial PLUS ELiTe_ST_200_10».

Los resultados se muestran en la pantalla «Result 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-B Positive Control	APROBADO
2) Negative Control	Estado
GI-B Negative Control	APROBADO

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

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

Resultado de la sesión de la muestra	Interpretación
Cam:DNA Detected.	Se ha detectado ADN de <i>Campylobacter</i> spp. en la muestra.
Cdif:DNA Detected.	Se ha detectado ADN de <i>Clostridioides difficile</i> en la muestra.
Cdif:DNA Detected Possible Ribotype 027	Se ha detectado ADN de <i>Clostridioides difficile</i> , posiblemente del ribotipo 027, en la muestra.
Sal:DNA Detected.	Se ha detectado ADN de <i>Salmonella</i> spp. en la muestra.
Shi:DNA Detected.	Se ha detectado ADN de <i>Shigella</i> spp. en la muestra.
Yen:DNA Detected.	Se ha detectado ADN de <i>Yersinia enterocolitica</i> en la muestra.
Cam:DNA Not Detected or below the «LoD».	No se ha detectado ADN de <i>Campylobacter</i> spp. en la muestra. La muestra es negativa para ADN de <i>Campylobacter</i> spp., o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
Cdif: DNA Not Detected or below the «LoD».	No se ha detectado ADN de <i>Clostridioides difficile</i> en la muestra. La muestra es negativa para ADN de <i>Clostridioides difficile</i> , o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
Sal: DNA Not Detected or below the «LoD».	No se ha detectado ADN de <i>Salmonella</i> spp. en la muestra. La muestra es negativa para ADN de <i>Salmonella</i> spp., o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.

Resultado de la sesión de la muestra	Interpretación
Shi: DNA Not Detected or below the "LoD".	No se ha detectado ADN de <i>Shigella</i> spp. en la muestra. La muestra es negativa para ADN de <i>Shigella</i> spp., o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
Yen: DNA Not Detected or below the «LoD».	No se ha detectado ADN de <i>Yersinia enterocolitica</i> en la muestra. La muestra es negativa para ADN de <i>Yersinia enterocolitica</i> , 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 el análisis.

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

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

Las muestras que se notifican como «Xxx: DNA Not Detected or below the LoD» son aptas para el análisis, pero no ha sido posible detectar ADN de las dianas. En este caso, puede que la muestra sea negativa para ADN de las dianas, o que haya ADN de las dianas a una concentración inferior al límite de detección del ensayo (ver sección «Características de rendimiento»).

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 los informes «Sample Report» y «Track Report».

PROCEDIMIENTO CON EL ELITE BeGenius

El procedimiento para utilizar el producto GI Bacterial PLUS ELite MGB Kit con el ELITE BeGenius comprende tres pasos:

STEP 1	Verificación de la disponibilidad 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	Revisión 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) Generación del informe de resultados de la muestra

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-B Positive Control, GI-B Negative Control) estén aprobados y sean válidos («Status») para el lote de GI-B PCR Mix que va a utilizarse. Si no se dispone de controles de PCR válidos para el lote de GI-B 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 Bacterial PLUS ELite MGB Kit puede utilizarse con el ELITE BeGenius para realizar las siguientes tareas:

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

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

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

Antes de configurar una sesión:

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

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

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

	A. Sesión de la muestra (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, descongelar 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 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 probeta es suficiente para 12 extracciones.	N/A	Preparar el Negative Control vertiendo al menos 50 µL de agua para biología molecular en el Elution Tube(probeta de elución) que se incluye con el producto 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).

GI Bacterial PLUS ELite MGB® Kit
Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTS502ING

	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	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».
6	Cargar las muestras en la gradilla de muestras «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). En caso necesario, insertar el «SID» (ID de la muestra) para posición utilizada (si las probetas secundarias están cargadas, marchar la probeta de 2 mL «2 mL Tube»). Si las probetas secundarias no tienen códigos de barras, introducir manualmente el ID de las muestras.	Insertar la Elution Rack en la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración), comenzando por el carril 3 (L3). En caso necesario, para cada «Position» (posición), introducir el «SID» (ID de la muestra), la «Sample matrix» (matriz de la muestra), el «Extraction kit» (kit de extracción) y el «Extracted Eluate Volume» (volumen de eluido).	Insertar la Elution Rack en la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración), comenzando por el carril 3 (L3). En caso necesario, 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).	N/A	N/A
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).	N/A	N/A
14	Hacer clic en «Next» para continuar.	N/A	N/A
15	Cargar el CPE y la PCR Mix en la «Reagent/Elution Rack» (gradilla de reactivos).	Cargar la PCR Mix en la «Reagent/Elution Rack» (gradilla de reactivos/elución).	Cargar la PCR Mix en la «Reagent/Elution Rack» (gradilla de reactivos/elución).

GI Bacterial PLUS ELite MGB® Kit
Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTS502ING

	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).
16	Insertar la « Reagent/Elution Rack » en el carril 2 (L2) de la unidad de refrigeración «Cooler Unit» o, si está disponible, en el carril 1 (L1). En caso necesario, para cada reactivo de la PCR Mix o cada CPE, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).	Insertar la « Reagent/Elution Rack » en el carril 2 (L2) de la unidad de refrigeración «Cooler Unit» o, si está disponible, en el carril 1 (L1). En caso necesario, para cada reactivo de la PCR Mix, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).	Insertar la « Reagent/Elution Rack » en el carril 2 (L2) de la unidad de refrigeración «Cooler Unit» o, si está disponible, en el carril 1 (L1). En caso necesario, para cada reactivo de la PCR Mix, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).
17	Hacer clic en «Next» para continuar.	Hacer clic en «Next» para continuar.	Hacer clic en «Next» para continuar.
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 cartucho «PCR Cassette» en el «Inventory Area».	Cargar la « PCR Basket » con el cartucho «PCR Cassette» en el «Inventory Area».	Cargar la « PCR Basket » con el cartucho «PCR Cassette» en el «Inventory Area».
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.	N/A	N/A
23	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.
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 **probeta de elución** debe extraerse del instrumento, taparse, identificarse y conservarse a -20 ±10 °C durante un máximo de un mes. Evitar derramar la muestra extraída.

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

Nota: al finalizar la sesión, 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-B Positive Control** puede utilizarse para 4 sesiones independientes de 3 horas cada una.

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

GI Bacterial PLUS ELITE MGB® Kit
 Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTS502ING

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 los resultados utilizando el producto GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit a través del siguiente procedimiento:

- Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
- Validación de los resultados de las muestras.
- Elaboración de los informes de resultados de las muestras

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

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

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 de *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* y *Yersinia enterocolitica* (DSMZ y 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 la tabla siguiente.

Patógeno	Límite de detección	Límites del intervalo de confianza del 95 %	
		Límite inferior	Límite superior
<i>Campylobacter jejuni</i>	72 ufc/mL	56 ufc/mL	115 ufc/mL
<i>Clostridioides difficile</i>	172 ufc/mL	129 ufc/mL	273 ufc/mL
<i>Salmonella enterica</i>	372 ufc/mL	268 ufc/mL	615 ufc/mL
<i>Shigella flexneri</i>	337 ufc/mL	239 ufc/mL	573 ufc/mL
<i>Yersinia enterocolitica</i>	363 ufc/mL	255 ufc/mL	637 ufc/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 *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* y *Yersinia enterocolitica* a la concentración declarada.

Los resultados obtenidos confirmaron la concentración declarada para todas las dianas del producto GI Bacterial 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, expresada como la eficacia de detección de las diferentes cepas y los diferentes aislados de *Campylobacter spp.*, *Clostridium difficile*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* y *Yersinia enterocolitica*, se evaluó mediante un análisis informático. El análisis demostró la conservación de la secuencia y la ausencia de mutaciones significativas. Así, se espera una detección eficaz de las diferentes cepas y los diferentes aislados.

GI Bacterial PLUS ELITE MGB® Kit
 Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTS502ING

La inclusividad también se verificó a través del análisis de 15 materiales de referencia de culturas bacterianas de diferentes proveedores (DSMZ y ZeptoMetrix).

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Muestra	Pos./Dup.	Resultado
<i>Campylobacter jejuni</i>	6/6	Cam: DNA Detected
<i>Campylobacter coli</i>	6/6	Cam: DNA Detected
<i>Campylobacter lari</i>	6/6	Cam: DNA Detected
<i>C. difficile</i> 002	6/6	Cdif: DNA Detected
<i>C. difficile</i> 078	6/6	Cdif: DNA Detected
<i>C. difficile</i> 017	6/6	Cdif: DNA Detected
<i>C. difficile</i> 027-1	6/6	Cdif:DNA Detected Possible Ribotype 027
<i>C. difficile</i> 027-2	6/6	Cdif:DNA Detected Possible Ribotype 027
<i>Salmonella enterica</i>	6/6	Sal: DNA Detected
<i>Salmonella bongori</i>	6/6	Sal: DNA Detected
<i>Shigella flexneri</i>	6/6	Shi: DNA Detected
<i>Shigella boydii</i>	6/6	Shi: DNA Detected
<i>Shigella sonnei</i>	6/6	Shi: DNA Detected
<i>Yersinia enterocolitica subsp. enterocolitica</i>	6/6	Yen: DNA Detected
<i>Yersinia enterocolitica subsp. palearctica</i>	6/6	Yen: DNA Detected

Todas las muestras se detectaron correctamente con el producto GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit.

Interferencia entre dianas

La interferencia potencial entre las dianas del ensayo se evaluó mediante un análisis de la coamplificación de *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* y *Yersinia enterocolitica* (DSMZ y ZeptoMetrix).

Para cada diana, la concentración más baja detectable en todos los duplicados se indica en la tabla siguiente.

Diana analizada (número reducido de copias)	Diana interferente a 2.500.000 ufc/mL				
	<i>Campylobacter</i>	<i>C. difficile</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>	<i>Yersinia</i>
<i>Campylobacter</i>	-	5.000 ufc/mL	5000 ufc/mL	5.000 ufc/mL	2.500 ufc/mL
<i>C. difficile</i>	2.500 ufc/mL	-	2.500 ufc/mL	5.000 ufc/mL	2.500 ufc/mL
<i>Salmonella</i>	2.500 ufc/mL	5.000 ufc/mL	-	5.000 ufc/mL	2.500 ufc/mL
<i>Shigella</i>	2.500 ufc/mL	2.500 ufc/mL	2.500 ufc/mL	-	2.500 ufc/mL
<i>Yersinia</i>	2.500 ufc/mL	2.500 ufc/mL	2.500 ufc/mL	2.500 ufc/mL	-

El producto GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit presenta una interferencia mínima entre dianas. Todas las dianas pueden detectarse incluso si son aproximadamente 1000 veces inferiores a otros patógenos de interés.

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, excepto en el caso de *Escherichia coli* enteroinvasivo (EIEC). La región ampliada del gen ipaH, que es la diana para la especie *Shigella*, tiene de hecho en común con *Escherichia coli* enteroinvasivo (EIEC) que suele estar genéticamente relacionado con *Shigella* y se detecta con este producto como positivo para *Shigella*.

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 la tabla siguiente.

GI Bacterial PLUS ELite MGB® Kit
Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTS502ING

Microorganismo	Positivas/Duplicados						Resultado
	Cdif	CI	Yen	Shi	Cam	Sal	
<i>Aeromonas hydrophila</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Bacteroides fragilis</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Vibrio cholerae</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Helicobacter pylori</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Escherichia coli</i> 92.0147	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Serratia Marcescens</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Candida albicans</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Citrobacter freundii</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Clostridium nexile</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Proteus mirabilis</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Enterobacter cloacae</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Giardia lamblia</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Cryptosporidium parvum</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Entamoeba histolytica</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Enterovirus	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Adenovirus	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Astrovirus	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Norovirus G1	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Rotavirus	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Sapovirus	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Clostridium disporicum</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada

Ninguno de los microorganismos potencialmente interferentes analizados presentó reactividad cruzada para la amplificación de las dianas cuando se utilizó el producto **GI Bacterial PLUS ELite MGB Kit**.

Microorganismos potencialmente interferentes: Inhibición

La inhibición potencial de microorganismos imprevistos que pueden encontrarse en las muestras

GI Bacterial PLUS ELite MGB® Kit
Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTS502ING

clínicas de heces se evaluó para el ensayo analizando un panel de microorganismos imprevistos (ATCC, ZeptoMetrix and DSMZ), enriquecidos con *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* y *Yersinia enterocolitica* (DSMZ y ZeptoMetrix).

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Microorganismo	Positivas/Duplicados						Resultado
	Cdif	CI	Yen	Shi	Cam	Sal	
<i>Aeromonas hydrophila</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Bacteroides fragilis</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Vibrio cholerae</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Helicobacter pylori</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Escherichia coli</i> 92.0147	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Serratia Marcescens</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Acinetobacter baumannii</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Candida albicans</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Citrobacter freundii</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Clostridium nexile</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Proteus mirabilis</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Enterobacter cloacae</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Giardia lamblia</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Cryptosporidium parvum</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Entamoeba histolytica</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Enterovirus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Adenovirus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Astrovirus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Norovirus G1	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Rotavirus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Sapovirus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Clostridium disporicum</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	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 Bacterial 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 la tabla siguiente.

Sustancia	Positivas/Duplicados						Resultado
	Cdif	CI	Yen	Shi	Cam	Sal	
Aceite de vaselina	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Nonoxinol-9	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Subsalicilato de bismuto	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Hydrocloruro de loperamida	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Bisacodilo	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Azitromicina	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Vancomicina	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Metronidazol	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Ampicilina	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Cefpodoxima	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Ciprofloxacino	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Hidrocortisona	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Carbonato cálcico	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Ácido algínico	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Hidróxido de aluminio	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Trisilicato de magnesio	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Sangre	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Sustancia	Positivas/Duplicados						Resultado

GI Bacterial PLUS ELiTe MGB® Kit
 Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTS502ING

	Cdif	Cl	Yen	Shi	Cam	Sal	
Mucina	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Ácido hexadecanoico	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Ácido esteárico	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	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 Bacterial PLUS ELiTe MGB Kit**

Sustancias potencialmente interferentes: Inhibición

La inhibición potencial de las sustancias interferentes (endógenas y exógenas) que pueden encontrarse en las muestras clínicas de heces se evaluó para el ensayo analizando un panel de sustancias a la concentración pertinente en muestras enriquecidas con *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* y *Yersinia enterocolitica* (DSMZ y ZeptoMetrix).

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Sustancia	Positivas/Duplicados						Resultado
	Cdif	Cl	Yen	Shi	Cam	Sal	
Aceite de vaselina	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Nonoxinol -9	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Subsalicilato de bismuto	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Hidrocloruro de loperamida	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Bisacodilo	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Azitromicina	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Vancomicina	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Metronidazol	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Ampicilina	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Cefpodoxima	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Ciprofloxacino	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Hidrocortisona	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Carbonato cálcico	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Ácido algínico	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Hidróxido de aluminio	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Trisilicato de magnesio	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Sangre	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Mucina	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Ácido hexadecanoico	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Ácido esteárico	5/5	5/5	5/5	5/5	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 Bacterial 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 *Campylobacter jejuni* (DSMZ) a una concentración de 1.000.000 ufc/mL en 5 sesiones.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

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

En este análisis con el producto **GI Bacterial 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 *Campylobacter jejuni* (DSMZ) a una concentración de 3 veces el LoD (216 ufc/mL).

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

GI Bacterial PLUS ELiTe MGB® Kit
 Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTS502ING

Muestras	N	Positivas	Negativas	Tasa total de fallos del sistema
Heces naturales enriquecidas a 3 veces el LoD	50	49	1	2 %
Heces recogidas en FecalSwab y enriquecidas a 3 veces el LoD	30	30	0	0 %

En este análisis con el producto **GI Bacterial PLUS ELiTe MGB Kit**, el 98 % 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 2 % 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 negativas o enriquecidas con *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* y *Yersinia enterocolitica* (DSMZ y ZeptoMetrix).

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	Diana	N	Media	DE	%CV	% de concordancia
Neg		6	-	-	-	100 %
3xLoD CY	Cdif (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD SS		6	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		6	35,30	0,55	1,55	100 %
Neg	Cdif (Tm)	6	58,8	0,19	0,32	100 %
3xLoD CY		6	-	-	-	100 %
3xLoD SS		6	32,01	0,39	1,20	100 %
3xLoD Cdif	Cam (Ct)	6	-	-	-	100 %
Neg		6	-	-	-	100 %
3xLoD CY		6	35,28	0,46	1,30	100 %
3xLoD SS	Yen (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		6	-	-	-	100 %
Neg		6	-	-	-	100 %
3xLoD CY	Sal (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD SS		6	35,95	1,19	3,31	100 %
3xLoD Cdif		6	-	-	-	100 %
Neg	Shi (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD CY		6	-	-	-	100 %
3xLoD SS		6	35,41	0,24	0,67	100 %
3xLoD Cdif	6	-	-	-	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	Diana	N	Media	DE	%CV	% de concordancia
Neg		6	-	-	-	100 %
3xLoD CY	Cdif (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD SS		6	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		6	34,81	0,25	0,71	100 %
Neg	Cdif (Tm)	6	60,0	0,16	0,27	100 %
3xLoD CY		6	-	-	-	100 %
3xLoD SS		6	31,34	0,11	0,34	100 %
3xLoD Cdif	Cam (Ct)	6	-	-	-	100 %
Neg		6	-	-	-	100 %
3xLoD CY		6	35,71	0,30	0,85	100 %
3xLoD SS	Yen (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		6	-	-	-	100 %

GI Bacterial PLUS ELite MGB® Kit
 Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTS502ING

Muestra	Diana	N	Media	DE	%CV	% de concordancia
Neg	Sal (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD CY		6	-	-	-	100 %
3xLoD SS		6	35,51	0,59	1,65	100 %
3xLoD Cdif		6	-	-	-	100 %
Neg	Shi (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD CY		6	-	-	-	100 %
3xLoD SS		6	33,49	0,96	2,87	100 %
3xLoD Cdif		6	-	-	-	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	Diana	N	Media	DE	%CV	% de concordancia
Neg	Cdif (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD CY		12	-	-	-	100 %
3xLoD SS		12	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		12	35,22	0,21	0,60	100 %
3xLoD Cdif	Cdif (Tm)	12	59,3	0,26	0,45	100 %
Neg	Cam (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD CY		12	32,59	0,38	1,15	100 %
3xLoD SS		12	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		12	-	-	-	100 %
Neg	Yen (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD CY		12	34,88	0,40	1,15	100 %
3xLoD SS		12	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		12	-	-	-	100 %
Neg	Sal (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD CY		12	-	-	-	100 %
3xLoD SS		12	35,69	0,93	2,61	100 %
3xLoD Cdif		12	-	-	-	100 %
Neg	Shi (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD CY		12	-	-	-	100 %
3xLoD SS		12	34,47	1,01	2,94	100 %
3xLoD Cdif		12	-	-	-	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	Diana	N	Media	DE	%CV	% de concordancia
Neg	Cdif (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD CY		12	-	-	-	100 %
3xLoD SS		12	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		12	34,81	0,22	0,63	100 %
3xLoD Cdif	Cdif (Tm)	12	60,0	0,20	0,33	100 %
Neg	Cam (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD CY		12	31,35	0,13	0,42	100 %
3xLoD SS		12	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		12	-	-	-	100 %
Neg	Yen (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD CY		12	35,79	0,31	0,87	100 %
3xLoD SS		12	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		12	-	-	-	100 %
Neg	Sal (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD CY		12	-	-	-	100 %
3xLoD SS		12	35,52	0,63	1,78	100 %
3xLoD Cdif		12	-	-	-	100 %

GI Bacterial PLUS ELite MGB® Kit
 Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTS502ING

Muestra	Diana	N	Media	DE	%CV	% de concordancia
Neg	Shi (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD CY		12	-	-	-	100 %
3xLoD SS		12	33,61	0,79	2,35	100 %
3xLoD Cdif		12	-	-	-	100 %

En el ensayo de repetibilidad, el producto **GI Bacterial PLUS ELITE MGB** Kit detectó todas las muestras tal como se esperaba y presentó una variabilidad máxima de los valores Ct de la diana como %CV del 3,31 %.

Reproducibilidad

La reproducibilidad del ensayo se evaluó en el ELITE BeGenius y el ELITE InGenius analizando un panel de muestras de heces naturales negativas o enriquecidas con *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* y *Yersinia enterocolitica* (DSMZ y ZeptoMetrix).

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

Muestra	Diana	N	Media	DE	%CV	% de concordancia
Neg	Cdif (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		36	35,08	0,35	1,01	100 %
3xLoD Cdif	Cdif (Tm)	36	59,2	0,33	0,56	100 %
Neg	Cam (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	31,92	0,60	1,87	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Neg	Yen (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	34,94	0,47	1,35	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Neg	Sal (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	35,71	0,85	2,37	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Neg	Shi (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	34,61	0,82	2,38	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	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	Diana	N	Media	DE	%CV	% de concordancia
Neg	Cdif (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		36	34,83	0,32	0,92	100 %
3xLoD Cdif	Cdif (Tm)	36	59,8	0,27	0,45	100 %
Neg	Cam (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	31,75	0,66	2,07	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Neg	Yen (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	35,73	0,39	1,10	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %

GI Bacterial PLUS ELITE MGB® Kit
Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTS502ING

Muestra	Diana	N	Media	DE	%CV	% de concordancia
Neg	Sal (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	35,46	0,54	1,51	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Neg	Shi (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	33,99	0,80	2,36	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	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	Diana	N	Media	DE	%CV	% de concordancia
Neg	Cdif (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		36	34,97	0,33	0,95	100 %
3xLoD Cdif	Cdif (Tm)	36	59,1	0,28	0,48	100 %
Neg	Cam (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	32,29	0,44	1,36	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Neg	Yen (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	35,91	0,59	1,64	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Neg	Sal (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	36,05	0,81	2,24	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Neg	Shi (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	34,75	1,29	3,71	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %

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

Muestra	Diana	N	Media	DE	%CV	% de concordancia
Neg	Cdif (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		36	34,68	0,37	1,06	100 %
3xLoD Cdif	Cdif (Tm)	36	59,9	0,26	0,44	100 %
Neg	Cam (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	31,82	0,38	1,18	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Neg	Yen (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	35,67	0,97	2,71	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Neg	Sal (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	36,19	1,49	4,11	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %

GI Bacterial PLUS ELITE MGB® Kit
Reactivos para la PCR de ADN en tiempo real

REF RTS502ING

Muestra	Diana	N	Media	DE	%CV	% de concordancia
Neg	Shi (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	34,46	0,76	2,21	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %

En el ensayo de repetibilidad, el producto **GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit** detectó todas las muestras tal como se esperaba y presentó una variabilidad máxima de los valores Ct de la diana como %CV del 4,11 %.

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 o en medio Cary Blair modificado, que se certificaron como negativas o como supuestamente negativas para cada 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.

Muestras de heces negativas analizadas para la diana	N	Positivas	Negativas	% de especificidad diagnóstica
<i>Campylobacter</i> spp.	267	1	266	99,6 %
<i>Clostridium difficile</i>	293	2	291	99,3 %
<i>Salmonella</i> spp.	314	2	312	99,4 %
<i>Shigella</i> spp.	338	0	338	100 %
<i>Yersinia enterocolitica</i>	332	2	330	99,4 %

Todas las muestras de heces fueron válidas para el análisis. Las muestras positivas presentaron un título muy bajo, cercano al valor del LoD del sistema, o eran muestras en las que no fue posible repetir el análisis.

La especificidad diagnóstica del producto **GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit** junto con muestras de heces en este análisis fue del 99,6 % para Cam, del 99,3 % para Cdif, del 99,4 % para Sal, del 100 % para Shi y del 99,7 % para Yen.

El valor de corte para el Ct del IC se ha establecido a 30.

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 o en medio Cary Blair, que se certificaron como positivas para cada diana o se enriquecieron con materiales de referencia.

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

Los resultados se resumen en la tabla siguiente.

Heces positivas/enriquecidas	N	Positivas	Negativas	% de sensibilidad diagnóstica
Positivas para <i>Campylobacter</i> spp.	100	100	0	100 %
Positivas para <i>Clostridium difficile</i>	51	49	2	96,3 %
Enriquecidas con <i>Clostridium difficile</i> 027	3	3	0	
Positivas para <i>Salmonella</i> spp.	56	56	0	100 %
Positivas para <i>Shigella</i> spp.	31	31	0	100 %
Enriquecidas con <i>Shigella</i>	22	22	0	
Positivas para <i>Yersinia enterocolitica</i>	39	39	0	100 %
Enriquecidas con <i>Yersinia enterocolitica</i>	12	12	0	

La sensibilidad diagnóstica del producto **GI Bacterial PLUS ELite MGB Kit** junto con muestras de heces fue del 100 % para Cam, del 96,3 % para Cdif, del 100 % para Sal, del 100 % para Shi y del 100 % para Yen.

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 Bacterial PLUS ELite MGB Kit**, FTP 502ING.

BIBLIOGRAFÍA

- K. Sen *et al.* (2018) Appl. Environ. Microbiol. 84
 E. J. Kuijper *et al.* (2006) Clin Microbiol Infect: 12 (Suppl. 6), 2–18
 U. Gross *et al.* (2018) BMC Genomics 19(1):1-1
 T. Kellner *et al.* (2019) J. Clin. Microbiol. 57
 V. D. Thiem *et al.* (2004) J. Clin. Microbiol. 42
 J. J. Germer *et al.* (2014) J. Clin. Microbiol. 52
 K. Linnet *et al.* (2004) Clin. Chem. 50: 732 - 740.
 E. A. Lukhtanov *et al.* (2007) Nucleic Acids Res. 35: e30

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.

El producto no está concebido para utilizarlo como ayuda en el diagnóstico de fiebre entérica ni tampoco como ayuda en la identificación de *Salmonella enterica* serovar Typhi para evaluar el estado de portador de los pacientes.

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 PCR y la detección de ácidos nucleicos.

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

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

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

En ocasiones, los resultados obtenidos con este producto pueden no ser válidos debido a un fallo del Internal Control. En este caso, la muestra debe volver a analizarse a partir del paso de extracción, lo que puede provocar retrasos a la hora de obtener los resultados finales.

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

La región amplificada del gen ipaH es específica para la especie *Shigella*, excepto en el caso de *Escherichia coli* enteroinvasivo (EIEC), que suele estar genéticamente relacionado con *Shigella* y se detecta con este producto como positivo para *Shigella*.

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 puede eliminarse ni reducirse aún más. En determinadas situaciones, el riesgo residual puede hacer que se tomen decisiones incorrectas, con consecuencias potencialmente graves para el paciente.

No obstante, este riesgo residual asociado al uso previsto del producto se ha ponderado con los beneficios potenciales para el paciente y se ha evaluado como aceptable.

PROBLEMAS Y SOLUCIONES

Reacción no válida del Positive Control	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Revisar la posición de la PCR Mix y del Positive Control. Revisar los volúmenes de la PCR Mix y del Positive Control.
Degradación de la PCR Mix (mezcla de PCR).	No utilizar la PCR Mix durante más de 7 sesiones independientes (3 horas en el bloque refrigerado del área de inventario [«Inventory Area»] o en la unidad de refrigeración [«Cooler Unit»]). No utilizar la PCR Mix durante más de 3 sesiones consecutivas (7 horas en el bloque refrigerado del área de inventario o en la unidad de refrigeración). No dejar la PCR Mix a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. Utilizar una nueva alícuota de la PCR Mix.
Degradación del Positive Control.	No utilizar el Positive Control para más de 4 sesiones independientes (3 horas cada una en el área de extracción o en la unidad de refrigeración). Utilizar una nueva alícuota de Positive Control.
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

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

Reacción no válida de la muestra	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la posición de la PCR Mix, la del Internal Control y la de la muestra. Comprobar el volumen de la PCR Mix, el del Internal Control y el de la muestra.
Degradación de la PCR Mix (mezcla de PCR).	No utilizar la PCR Mix durante más de 7 sesiones independientes (3 horas en el bloque refrigerado del área de inventario [«Inventory Area»] o en la unidad de refrigeración [«Cooler Unit»]). No utilizar la PCR Mix durante más de 3 sesiones consecutivas (7 horas en el bloque refrigerado del área de inventario o en la unidad de refrigeración). No dejar la PCR Mix a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. Usar nuevas alícuotas de la mezcla «PCR Mix».
Degradación de la plantilla del Internal Control.	Utilizar una nueva alícuota del Internal Control.
Inhibición debida a la presencia de sustancias interferentes en la muestra.	Repetir la amplificación con una dilución de 1:2 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 instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Curva de disociación anómala	
Posibles causas	Soluciones
Ausencia de un pico definido. Pico definido, pero Tm diferente del de otras muestras y del presentado 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 necesita un valor de Ct, proceder de la manera siguiente: Repetir la amplificación de la muestra eluida con una dilución de 1:10 en agua para biología molecular en una sesión en el modo «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. Utilizar una nueva probeta de la PCR Mix o de CPE.

SÍMBOLOS

-  Número de catálogo
-  Límite superior de temperatura
-  Código de lote
-  Fecha de caducidad (último día del mes)
-  Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*
-  Cumple los requisitos de la Directiva 2017/746/CE del Parlamento Europeo y del Consejo sobre productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*. Certificación emitida por la TÜV SÜD Product Service GmbH, Alemania.
-  Identificador único del producto
-  Contenido suficiente para «N» análisis.
-  Atención: Consultar las instrucciones de uso.
-  Contenido.
-  Manténgase fuera de la luz del sol
-  Fabricante.

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. La 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 en humanos. Para obtener información sobre cómo adquirir una licencia para este producto con fines distintos de los indicados anteriormente, contactar con del 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., 6972339, 7112684, 7319022, 7348146, 7381818, 7541454, 7582739, 7601851, 7671218, 7718374, 7723038, 7759126, 7767834, 7851606, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8569516, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529, así como por las patentes europeas 1430147, 1687609, 1781675, 1789587, 2689031, 2714939, 2736916, 2997161 y por solicitudes de patentes pendientes en la actualidad.

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

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

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

GI Bacterial PLUS ELITE MGB® Kit

used in association with Genius series® platforms

Ref: RTS502ING



⚠ 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 Bacterial PLUS ELITE MGB® Kit** is an *in vitro* diagnostic medical device intended to be used by healthcare professionals as qualitative multiplex nucleic acids Real-Time PCR assay for the detection and identification of the genomic DNA of *Campylobacter* spp. (Cam), *Clostridium difficile* (also known as *Clostridioides difficile*, Cdif), including discrimination of ribotype 027, *Salmonella* spp. (Sal), *Shigella* spp. (Shi), *Yersinia enterocolitica* (Yen) extracted from clinical specimens.

The assay is validated in association with the **ELITE InGenius®** and **ELITE BeGenius®** instruments, automated and integrated systems for extraction, Real-Time PCR and results interpretation, using human stool specimens. The product is intended for use as an aid in the diagnosis of gastrointestinal bacterial infections in patients suspected of having *Campylobacter* spp., *Clostridium difficile*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. and *Yersinia enterocolitica* infection.

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

The product is not intended for use as an aid in the diagnosis of enteric fever and is not intended for use as an aid in the identification of *Salmonella enterica* serovar Typhi (also known as *Salmonella typhi*) for the assessment of the carrier-status of patients.

Amplified sequence

Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
Target 1	16s rRNA	AP639	Cam
Target 2	tcdB	FAM	Cdif
Target 3	invA	AP690	Sal
Target 4	ipaH	AP593	Shi
Target 5	foxA	AP559	Yen
Internal Control	IC2	AP525	IC

Validated matrix

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

Kit content and related products

GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit (RTS502ING)		GI Bacterial PLUS - ELITE Positive Control (CTR502ING)	
	X 8		X 3
GI-B PCR Mix 8 tubes of 280 µL 12 reactions per tube 96 reactions per kit 7 freeze-thaw cycles per tube		GI-B Positive Control 3 tubes of 160 µL 4 reactions per tube 12 reactions per kit 4 freeze-thaw cycles	
Maximum shelf-life:	24 months	Maximum shelf-life	24 months
Storage temperature	≤ -20°C	Storage temperature	≤ -20°C

Other products required not provided in the kit

- | | |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> › ELITE InGenius instrument: INT030. › ELITE BeGenius instrument: INT040. › ELITE InGenius SP 200: INT032SP200. › ELITE InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS. › ELITE InGenius PCR Cassette: INT035PCR. › 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: CTRCPE › 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	20 µL
› CPE volume	10 µL	› GI-B 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	Cam	72 CFU / mL	100% <small>(100/100)</small>	99.6% <small>(266/267)</small>
	Cdif	172 CFU / mL	96.3% <small>(52/54)</small>	99.3 % <small>(291/293)</small>
	Sal	372 CFU / mL	100% <small>(56/56)</small>	99.4 % <small>(312/314)</small>
	Shi	337 CFU / mL	100% <small>(53/53)</small>	100 % <small>(338/338)</small>
	Yen	363 CFU / mL	100% <small>(51/51)</small>	99.4 % <small>(330/332)</small>

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	≤ 24 hours	≤ 48 hours	≤ 1 month	≤ 2 months
Stool collected in Fecal Swab (Modified CaryBlair medium)	≤ 48 hours	≤ 5 days	≤ 1 month	≤ 2 months

ELITE InGenius Procedures

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

Before analysis

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

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen	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 Bacterial PLUS ELITE_ST_200_100	5. Select the method "Extract + PCR" and the sample position: Extraction Tube	6. Load the PCR Mix and the Internal Control in the Inventory Block
7. Load: PCR cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip Cassette, Extraction Tube racks	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results

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

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", elution: "100 µL"	3. Scan the sample barcodes with hand-barcode reader or type the sample ID
4. Select the "Assay Protocol" of interest: GI Bacterial PLUS ELITE_ST_200_100 or GI Bacterial PLUS ELITE_PC or GI Bacterial PLUS ELITE_NC	5. Select the method "PCR Only" and the sample position "Elution Tube"	6. Load the PCR Mix in the Inventory Block
7. Load: PCR cassette rack and the Elution tube rack with the extracted nucleic acid	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results

ELITE BeGenius Procedures

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

Before analysis

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

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen 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 Bacterial 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 PCR Mix 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 Bacterial PLUS ELITE_Be_ST_200_100 or GI Bacterial PLUS ELITE_Be_PC or GI Bacterial PLUS ELITE_Be_NC	5. Load the PCR-Mix 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	