

NOTICE of CHANGE dated 14/03/19

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«Respiratory Bacterial ELITe MGB[®] Panel» Ref. RTS553ING

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

- *Modification of the indication of the number of reactions to be prepared in excess during preparation of the complete reaction mixture RB PCR Mix.*

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

PLEASE NOTE

	LA REVISIONE DI QUESTO IFU E' COMPATIBILE ANCHE CON LA VERSIONE PRECEDENTE DEL KIT
	THE REVIEW OF THIS IFU IS ALSO COMPATIBLE WITH THE PREVIOUS VERSION OF THE KIT
	CET IFU MIS A JOUR ANNULE ET REMPLACE ET EST PARFAITEMENT COMPATIBLE AVEC LA VERSION PRECEDENTE DU KIT
	LA REVISIÓN DE ESTE IFU ES COMPATIBLE TAMBIÉN CON LA VERSIÓN ANTERIOR DEL KIT
	A REVISÃO DO ESTE IFU ÉTAMBÉM COMPATÍVEL COM A VERSÃO ANTERIOR DO KIT
	DIE REVIEW VON DIESER IFU IST KOMPATIBLE MIT DER VORIGE VERSION VON DEM TEST-KIT



Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel

Reactivo para la amplificación de ADN en tiempo real

REF RTS553ING



0344



ÍNDICE

USO PREVISTO	pág. 1
PRINCIPIO DEL ENSAYO	pág. 2
PRESENTACIÓN DEL PRODUCTO	pág. 2
MATERIAL PROVISTO EN EL PRODUCTO	pág. 3
MATERIAL REQUERIDO NO PROVISTO EN EL PRODUCTO	pág. 3
OTROS PRODUCTOS REQUERIDOS	pág. 3
ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES	pág. 4
MUESTRAS Y CONTROLES	pág. 5
PROCEDIMIENTO	pág. 6
CARACTERÍSTICAS DE LAS PRESTACIONES	pág. 13
LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO	pág. 17
PROBLEMAS Y SOLUCIONES	pág. 18
SIGNIFICADO DE LOS SÍMBOLOS	pág. 19
AVISO AL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA	pág. 20

USO PREVISTO

El producto «Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel» es parte de un ensayo múltiple cualitativo de amplificación de los ácidos nucleicos para la detección del ADN de *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae* y *Chlamydomphila pneumoniae* de muestras respiratorias.

El producto se utiliza para el diagnóstico de infecciones por *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae* y *Chlamydomphila pneumoniae*, junto con los datos clínicos del paciente y los resultados de otros exámenes de laboratorio.

Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel

Reactivo para la amplificación de ADN en tiempo real

REF RTS553ING

PRINCIPIO DEL ENSAYO

El ensayo prevé la realización de una reacción múltiple de amplificación en tiempo real con un sistema integrado y automatizado de extracción, amplificación en tiempo real e interpretación de los resultados.

A partir del ADN extraído de las muestras en examen, en el cartucho se realizan tres reacciones de amplificación específicas para las bacterias siguientes:

- *Legionella pneumophila* (Lpneu), detectado por una sonda específica leída en el canal «Legio» de ELITE InGenius
- *Mycoplasma pneumoniae* (Mpneu), detectado por una sonda específica leída en el canal «Mpneu» de ELITE InGenius
- *Chlamydomphila pneumoniae* (Cpneu), detectado por una sonda específica leída en el canal «Cpneu» de ELITE InGenius

Además, en el cartucho también se amplifica el control interno de extracción e inhibición (IC), basado en secuencias de *Streptococcus equi* (S.equi) y detectado por una sonda específica leída en el canal «IC» de ELITE InGenius.

Las sondas utilizan la tecnología MGB® TaqMan™ y se activan al hibridar con el producto específico de la reacción de amplificación y son hidrolizadas por la enzima Taq ADN polimerasa termoestable. La emisión de fluorescencia aumenta con el aumento de los productos específicos de la reacción de amplificación, y el equipo la mide y la registra. El procesamiento de los datos permite detectar en la muestra la presencia de los ADN bacterianos arriba indicados.

El ensayo se ha validado en el sistema integrado automatizado de extracción, amplificación y detección de ácidos nucleicos **ELITE InGenius®**.

PRESENTACIÓN DEL PRODUCTO

En el producto «Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel» se incluyen los siguientes componentes:

• RB primer and probe mix

Mezcla de primers oligonucleótidos para la amplificación en tiempo real, en una solución estabilizada, prealiquotada en dos probetas (tapón VIOLETA). Cada probeta contiene **90 µL** de solución, suficiente para **48 ensayos** en condiciones óptimas de consumo de reactivo (número de reacciones correspondientes en múltiplos de 4 y con un máximo de 8 sesiones) con el sistema **ELITE InGenius**.

• RB buffer mix

Mezcla optimizada y estabilizada de reactivos para la amplificación en tiempo real, prealiquotada en dos probetas (tapón NARANJA). Cada probeta contiene **750 µL** de solución, suficiente para **48 ensayos** en condiciones óptimas de consumo de reactivo (número de reacciones correspondientes en múltiplos de 4 y con un máximo de 8 sesiones) con el sistema **ELITE InGenius**.

• RB enzyme

Mezcla optimizada y estabilizada de enzimas para la amplificación en tiempo real, prealiquotada en dos probetas (tapón AMARILLO). Cada probeta contiene **60 µL** de solución, suficiente para **48 ensayos** en condiciones óptimas de consumo de reactivo (número de reacciones correspondientes en múltiplos de 4 y con un máximo de 8 sesiones) con el sistema **ELITE InGenius**.

El producto permite realizar **96 determinaciones con el sistema ELITE InGenius**, incluyendo los controles.

MATERIAL PROVISTO EN EL PRODUCTO

Componente	Descripción	Cantidad	Clasificación de peligros
RB primer and probe mix	mezcla de primer y sonda para Lpneu, Mpneu, Cpneu e IC (S.equi) (tapón VIOLETA)	2 x 90 µl	-
RB buffer mix	mezcla de reactivos para PCR (tapón NARANJA)	2 x 750 µl	-
RB enzyme	mezcla de enzimas para PCR (tapón AMARILLO)	2 x 60 µl	-

MATERIAL REQUERIDO NO PROVISTO EN EL PRODUCTO

- Campana de flujo laminar.
- Guantes sin talco desechables de nitrilo o similares.
- Mezclador vórtex.
- Microcentrífuga de mesa (12.000 - 14.000 RPM).
- Micropipetas y puntas estériles con filtro para aerosol o de dispensación positiva (2-20 µl, 5-50 µl, 50-200 µl, 200-1000 µl).
- Agua de grado molecular para biología.
- Tubos Sarstedt de 2,0 ml con tapón roscado (Sarstedt Ref. 72.694.005).

OTROS PRODUCTOS REQUERIDOS

Los reactivos para la extracción del ADN de las muestras por analizar, el control interno de extracción, el control positivo de amplificación y los consumibles **no** se suministran con este producto.

Para la ejecución automática de la extracción del ADN, de la amplificación en tiempo real y de la interpretación de los resultados de las muestras que se van a analizar, se requieren el equipo «**ELITE InGenius**» (ELITechGroup S.p.A., código INT030) y los siguientes protocolos de ensayo específicos:

- parámetros para el control positivo de amplificación «**RB ELITE_PC**» (ELITechGroup S.p.A.),
- parámetros para el control negativo de amplificación «**RB ELITE_NC**» (ELITechGroup S.p.A.),
- parámetros para la muestra analizada «**RB ELITE_BAL_200_100**» (ELITechGroup S.p.A.).

Además, para la ejecución automática de los ensayos con el equipo «**ELITE InGenius**» se requieren los siguientes productos genéricos:

- cartuchos de extracción «**ELITE InGenius® SP 200**» (ELITechGroup S.p.A., código INT032SP200),
- consumibles para extracción y amplificación «**ELITE InGenius® SP 200 Consumable Set**» (ELITechGroup S.p.A., código INT032CS),
- cartuchos de amplificación «**ELITE InGenius® PCR Cassette**» (ELITechGroup S.p.A., código INT035PCR),
- puntas «**300 µl Universal Fit Filter Tips**» (Axygen BioScience Inc., CA, USA, código TF-350-L-R-S),
- contenedor de desechos «**ELITE InGenius® Waste Box**» (ELITechGroup S.p.A., código F2102-000).

Para el control interno de extracción e inhibición se requiere la utilización del producto genérico «**500-Internal Control**» (ELITechGroup S.p.A., código IC500), una solución estabilizada que contiene *Streptococcus equi* (S.equi).

Para el control positivo de amplificación se requiere la utilización del producto específico «**Respiratory Bacterial-ELITE Positive Control**» (ELITechGroup S.p.A. código CTR553ING), una solución estabilizada que contiene ADN plasmídico.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Este producto es para uso exclusivo *in vitro*.

Advertencias y precauciones generales

Manipular y eliminar todas las muestras biológicas como si pudieran transmitir agentes infecciosos. Evitar el contacto directo con las muestras biológicas. No deben producirse salpicaduras ni pulverizaciones. Antes de desechar el material en contacto con las muestras biológicas, debe tratarse con hipoclorito de sodio al 3 % durante al menos 30 minutos o bien en autoclave a 121 °C durante una hora.

Manipular y eliminar todos los reactivos y todos los materiales utilizados en el ensayo como si fueran agentes infecciosos. Evitar el contacto directo con los reactivos. No deben producirse salpicaduras ni pulverizaciones. Los residuos deben tratarse y eliminarse cumpliendo con las normas de seguridad en vigor. El material desechable combustible debe ser incinerado. Los residuos líquidos que contienen ácidos o bases deben ser neutralizados antes de desecharlos.

Usar indumentaria de protección y guantes adecuados y protegerse los ojos/la cara.

No pipetear ninguna solución con la boca.

No comer, beber, fumar o aplicarse cosméticos en el área de trabajo.

Lavar bien las manos después del manejo de muestras y reactivos.

Desechar los reactivos sobrantes y los residuos según las normas vigentes.

Consultar la versión actualizada de este manual disponible online.

Antes de realizar el ensayo, leer atentamente todas las instrucciones facilitadas con el producto.

Durante la realización del ensayo, respetar las instrucciones facilitadas con el producto.

Respetar la fecha de caducidad del producto.

Utilizar únicamente los reactivos presentes en el producto y los recomendados por el fabricante.

No utilizar reactivos procedentes de lotes diferentes.

No utilizar reactivos de otros fabricantes.

Advertencias y precauciones en los procedimientos de biología molecular

Para los procedimientos de biología molecular se requiere personal cualificado para evitar el riesgo de resultados incorrectos, especialmente debido a la degradación de los ácidos nucleicos de las muestras o la contaminación de las mismas por productos de amplificación.

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

Las muestras deben ser adecuadas y destinadas exclusivamente a este tipo de análisis. Las muestras deben ser manipuladas bajo una campana de flujo laminar. Las pipetas utilizadas para manipular las muestras deben destinarse exclusivamente a este uso. Las pipetas deben ser del tipo de dispensación positiva o utilizar puntas con filtro para aerosol. Las puntas utilizadas deben ser estériles, libres de ADNasa y ARNasa, ADN y ARN.

Los cartuchos de amplificación deben manipularse evitando su dispersión en el entorno para no contaminar muestras y reactivos.

Advertencias y precauciones específicas para los componentes

• **RB primer and probe mix**

La mezcla RB Primer and Probe debe conservarse a oscuras a -20 °C.

La mezcla RB Primer and Probe se puede congelar y descongelar un máximo de **ocho veces**: más ciclos de congelación/descongelación pueden reducir las prestaciones del producto.

• **RB enzyme**

La mezcla RB Enzyme debe conservarse a -20 °C.

La mezcla RB Enzyme no debe exponerse a temperaturas superiores a -20 °C durante más de 10 minutos. Se recomienda mantener la mezcla en hielo o el bloque refrigerado. La mezcla RB enzyme se puede utilizar un máximo de **ocho veces**.

• **RB buffer mix**

La mezcla RB Buffer debe conservarse a -20 °C.

La mezcla RB Buffer se puede congelar y descongelar un máximo de **ocho veces**: más ciclos de congelación/descongelación pueden reducir las prestaciones del producto.

MUESTRAS Y CONTROLES

Muestras

Este producto debe utilizarse con las siguientes muestras clínicas:

Muestras respiratorias (lavado broncoalveolar)

Las muestras respiratorias destinadas a la extracción de los ácidos nucleicos deben ser recolectadas según las indicaciones del laboratorio, transportadas y conservadas a +2 / +8° C durante máximo una semana; de lo contrario, deben ser congeladas y conservadas a -20° C por un máximo de treinta días o bien a -70° C por períodos más prolongados, según las prácticas del laboratorio.

Se recomienda repartir las muestras en alícuotas antes de congelarlas, para evitar ciclos repetidos de congelación y descongelación. Cuando se utilicen muestras congeladas, descongelarlas inmediatamente antes de la extracción para evitar la posible degradación del ácido nucleico.

Importante: Cuando se realiza la extracción del ADN de muestras respiratorias con **ELITE InGenius** y con **ELITE InGenius Software** versión 1.2 (o versiones posteriores equivalentes), utilizar el protocolo de ensayo **RB ELITE_BAL_200_100**. Este protocolo procesa 200 µL de muestra, añadiendo 10 µL de control interno **500-Internal Control** y eluye los ácidos nucleicos en 100 µL.

Controles de amplificación

Antes de analizar una muestra con el producto, es obligatorio generar y aprobar los controles de amplificación correspondientes al lote de reactivo de amplificación que se desea utilizar:

Para el control positivo de amplificación, utilizar el producto **Respiratory Bacterial-ELITE Positive Control** (no incluido en el kit) junto con el protocolo de ensayo **RB ELITE_PC**.

Para el control negativo de amplificación, utilizar agua de grado molecular para biología (no incluida en el kit) con el protocolo de ensayo **RB ELITE_NC**.

Importante: El sistema **ELITE InGenius** requiere resultados aprobados y válidos de los controles de amplificación para cada lote de reactivo de amplificación guardado en su base de datos.

Los resultados de los controles de la amplificación, aprobados y guardados en la base de datos, caducan al cabo de **15 días**. Al vencimiento, es necesario realizar de nuevo el análisis de los controles positivos y negativos con el lote de reactivo de amplificación.

Asimismo, los controles de amplificación deben repetirse cuando:

- se utiliza un nuevo lote de reactivos de amplificación,
- los resultados de los análisis de los controles de calidad (consultar el apartado siguiente) están fuera de las especificaciones,
- se ha realizado el mantenimiento del equipo **ELITE InGenius**.

Controles de calidad

Se recomienda convalidar periódicamente todo el procedimiento de análisis, extracción y amplificación, utilizando una muestra negativa y una muestra positiva ya sometidas a ensayo o bien material de referencia.

PROCEDIMIENTO

El procedimiento de utilización del producto **Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel** con el sistema **ELITE InGenius** incluye tres fases:

- comprobación de la preparación del sistema,
- preparación de la ejecución,
- evaluación y aprobación de los resultados.

Comprobación de la preparación del sistema

Antes de iniciar la ejecución, haciendo referencia a la documentación del equipo, es necesario:

- encender el **ELITE InGenius** y acceder al sistema en el modo «**CLOSED**»;
- comprobar que los resultados de los controles de amplificación (Controls, RB Positive Control, RB Negative Control) del lote de reactivo de amplificación que se desea utilizar estén disponibles, aprobados y sin caducar (Status). Si no se cuenta con resultados aprobados y válidos de los controles de amplificación, hay que generarlos como se indica a continuación;
- seleccionar el tipo de ciclo, siguiendo las instrucciones de la interfaz gráfica de usuario (GUI) para configurar la ejecución utilizando los protocolos de ensayo suministrados por ELITEchGroup S.p.A. Estos protocolos IVD se han validado específicamente con los productos **ELITE MGB® Panel**, el equipo **ELITE InGenius** y la matriz indicada. El protocolo de ensayo para el análisis de las muestras clínicas disponible para el producto **Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel** se describe en la tabla siguiente.

Protocolo de ensayo para Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel			
Nombre	Matriz	Resultado	Características
RB ELITE_BAL_200_100	Muestras respiratorias (lavado broncoalveolar)	Positivo / Negativo	Volumen inicial de extracción: 200 µl Volumen de eluido extraído: 100 µl Control interno: 10 µl Sonicación: NO Factor de dilución: 1 Volumen PCR Mix: 15 µl Volumen de la muestra en PCR: 10 µl

Si el protocolo de ensayo deseado no se encuentra en el sistema, contactar con el Servicio de atención al cliente de ELITEchGroup S.p.A. más próximo.

Configuración de la ejecución

El producto **Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel** con el sistema **ELITE InGenius** se puede utilizar para realizar:

- Ciclo integrado (Extracción + PCR),
- Ciclo de amplificación (solo PCR),
- Ciclo de amplificación para el control positivo y el control negativo (solo PCR).

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

Importante: El sistema **ELITE InGenius** se puede conectar al «Location Information Server» (LIS) mediante el cual es posible enviar la información de preparación de la ejecución. Para más información, consultar el manual de instrucciones del equipo.

Las principales operaciones para la configuración de los tres tipos de ciclo se describen a continuación.

A Ciclo integrado

Antes de iniciar la sesión de análisis:

1. Sacar y descongelar a temperatura ambiente (+18 / 25° C) las probetas con las muestras a analizar. Agitar las probetas con vórtex durante 10 segundos, centrifugarlas durante 5 segundos para que el contenido vuelva a depositarse en el fondo y guardarlas en hielo.
2. Sacar y descongelar durante 30 minutos a temperatura ambiente (+18/25° C) las probetas de RB Primer and Probe Mix (tapón VIOLETA), necesarias para la ejecución, recordando que el contenido de cada probeta es suficiente para preparar 48 reacciones. Agitar el reactivo con vórtex tres veces durante 10 segundos, centrifugar las probetas durante 5 segundos para que el contenido vuelva a depositarse en el fondo y guardarlas en hielo.
3. Sacar y descongelar durante 30 minutos a temperatura ambiente (+18 / 25° C) las probetas de RB Buffer Mix (tapón NARANJA), necesarias para la ejecución, recordando que el contenido de cada probeta es suficiente para preparar 48 reacciones. Agitar el reactivo con vórtex tres veces durante 10 segundos, centrifugar las probetas durante 5 segundos para que el contenido vuelva a depositarse en el fondo y guardarlas en hielo.
4. Sacar al momento de utilizarlas las probetas de RB Enzyme (tapón AMARILLO), necesarias para la ejecución, recordando que el contenido de cada probeta es suficiente para preparar 48 reacciones. Agitar suavemente las probetas, centrifugarlas durante 5 segundos para que el contenido vuelva a depositarse en el fondo y guardarlas en hielo.

Importante: La mezcla RB Enzyme no debe exponerse a temperaturas superiores a -20° C durante más de 10 minutos.

Una vez descongelada, se recomienda conservar la mezcla en hielo o bloque refrigerado.

5. Preparar una microprobeta de polipropileno para biología molecular de 2 mL (no suministrada con el kit) para la mezcla completa de reacción RB PCR Mix y marcarla de forma reconocible con un rotulador indeleble.
6. Calcular los volúmenes de los tres componentes suministrados en el kit, necesarios para preparar la mezcla completa de reacción RB PCR Mix según el número de muestras a analizar, como se indica en la tabla siguiente.

Importante: para calcular los volúmenes de los tres componentes, es necesario determinar el número de reacciones (N) de la sesión de trabajo sumando una reacción a las muestras clínicas de ensayo (cuando se analizan de 1 a 4 muestras), dos reacciones (cuando se analizan de 5 a 8 muestras). o bien tres reacciones (cuando se analizan de 9 a 12 muestras) como margen de seguridad.

Número de reacciones	RB primer and probe mix	RB buffer mix	RB enzyme
1	1.5 µl	12.5 µl	1 µl
N	N x 1,5 µl	N x 12,5 µl	N x 1 µl

7. Preparar la mezcla de reacción completa RB PCR Mix introduciendo en la probeta correspondiente los volúmenes calculados de los tres componentes.

Importante: La mezcla de reacción completa debe prepararse justo antes de introducirla en el equipo.

Importante: La mezcla de reacción completa **no se puede** conservar, es estable para 3 ejecuciones consecutivas (el mismo día en que se reconstituye la mezcla de reacción) si se guarda en el equipo (Inventory Area), pero es importante agitarla entre una ejecución y otra.

Importante: Cuando se extrae el líquido, no debe sumergirse toda la punta para evitar desperdiciar material y para lograr volúmenes exactos; la extracción y la dispensación deben realizarse muy lentamente para prevenir la formación de burbujas de aire; antes de la dispensación, eliminar el líquido sobrante del exterior de la punta, apoyándola en el borde de la probeta; recordar cambiar la punta después de cada extracción y dispensación.

8. Agitar la probeta con vórtex a baja velocidad tres veces durante 10 segundos, centrifugarla durante 5 segundos para que el contenido vuelva a depositarse en el fondo y guardarla en hielo.
9. Descongelar las probetas de **500 Internal Control** necesarias para la ejecución. Cada probeta es suficiente para 32 reacciones. Agitar suavemente y centrifugar el contenido durante 5 segundos antes de cada ejecución. Mezclar de nuevo el contenido pipeteando antes de cargar el tubo en el equipo.

Para configurar el ciclo integrado, seguir las indicaciones de la interfaz:

10. Seleccionar «Perform Run» en la pantalla «Home».
11. Asegurarse de que «Extraction Input Volume» esté configurado en 200 µl y que «Extracted Elute Volume» esté ajustado en 100 µl.
12. Por cada «Track» deseado, completar el «SampleID» (SID) tecleando o escaneando el código de barras de la muestra.
13. Seleccionar el protocolo de ensayo que se desea utilizar en la columna «Assay» (por ejemplo RB ELITE_BAL_200_100).
14. Asegurarse de que el «Protocol» que se muestra sea: «Extract + PCR».
15. Seleccionar la posición de carga de la muestra en la columna «Sample Position»:
 - si se utiliza el tubo primario, seleccionar «Primary Tube»,
 - si se utiliza un tubo secundario, seleccionar «Sonicator Tube».
 Hacer clic en «Next» para continuar con la operación siguiente.
16. Introducir el 500 Internal Control y la RB PCR Mix en el «Inventory Block» seleccionado siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» para continuar con la operación siguiente.
17. Cargar y controlar los racks de puntas en la «Inventory Area» seleccionada siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» para continuar con la operación siguiente.
18. Cargar los cartuchos «PCR Reaction Cassette», los cartuchos de extracción «ELITE InGenius SP 200», todos los consumibles y las muestras que se van a extraer en la posición especificada en el punto 15, siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» para continuar con la operación siguiente.
19. Cerrar la puerta del equipo.
20. Presionar «Start» para iniciar el ciclo.

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

Importante: Al final del ciclo la muestra extraída que ha quedado en el «Elution Tube» debe sacarse del equipo, taparse, identificarse y conservarse hasta 30 días a -20° C. Evitar derramar la muestra extraída.

Importante: Al final del ciclo los cartuchos «PCR Cassette» con los productos de reacción y los consumibles deben sacarse del equipo y eliminarse sin que se produzcan contaminaciones ambientales. Evitar la dispersión de los productos de reacción.

B Ciclo de amplificación

1. Sacar y descongelar a temperatura ambiente (+18 / 25° C) las probetas con las muestras extraídas. Agitar las probetas con vórtex durante 10 segundos, centrifugarlas durante 5 segundos para que el contenido vuelva a depositarse en el fondo y guardarlas en hielo.
2. Preparar la mezcla de reacción completa RB PCR Mix introduciendo en el tubo correspondiente los volúmenes calculados de los tres componentes, como se describe en el apartado A. Ciclo integrado (del punto 2 al punto 8; no descongelar las probetas de 500 Internal Control).

Para configurar el ciclo de amplificación, seguir las indicaciones de la interfaz:

3. Seleccionar «Perform Run» en la pantalla «Home».
4. Aunque no se vaya a realizar la extracción, asegurarse de que «Extraction Input Volume» esté configurado a 200 µl y que «Extracted Elute Volume» esté ajustado a 100 µl.
5. Por cada «Track» deseado, completar el SID tecleando o escaneando el código de barras de la muestra.
6. Seleccionar el protocolo de ensayo que se desea utilizar en la columna «Assay» (por ejemplo RB ELITE_BAL_200_100).
7. Seleccionar «PCR Only» en la columna «Protocol».
8. Asegurarse de que la posición de carga de la muestra en la columna «Sample Position» sea «Elution Tube (bottom row)». Hacer clic en «Next» para continuar con la operación siguiente.
9. Cargar la RB PCR Mix en el «Inventory Block» seleccionado siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» para continuar con la operación siguiente.
10. Cargar y controlar los racks de puntas en la «Inventory Area» seleccionada siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» para continuar con la operación siguiente.
11. Introducir los cartuchos «PCR Cassette» y las muestras de ácidos nucleicos extraídos siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» para continuar con la operación siguiente.
12. Cerrar la puerta del equipo.
13. Presionar «Start» para iniciar el ciclo.

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

Importante: Al final del ciclo la muestra que ha quedado en el «Elution Tube» debe sacarse del equipo, taparse, identificarse y conservarse hasta 30 días a -20° C. Evitar derramar la muestra extraída.

Importante: Al final del ciclo los cartuchos «PCR Cassette» con los productos de reacción y los consumibles deben sacarse del equipo y eliminarse sin que se produzcan contaminaciones ambientales. Evitar la dispersión de los productos de reacción.

C. Ciclo de amplificación para el control positivo y el control negativo

1. Preparar la mezcla de reacción completa RB PCR Mix introduciendo en el tubo correspondiente los volúmenes calculados de los tres componentes, como se describe en el apartado A. Ciclo integrado (del punto 2 al punto 8; no descongelar las probetas de 500 Internal Control).
2. Descongelar el **Respiratory Bacterial-ELITE Positive Control** para la ejecución. Cada probeta es suficiente para preparar 6 sesiones. Agitar delicadamente y centrifugar el contenido durante 5 segundos.
3. Verter al menos 50 µL de agua de grado molecular para biología en un «Elution tube», suministrado con el ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.

Para configurar el ciclo de amplificación del control positivo y del control negativo, seguir las indicaciones de la interfaz:

4. Seleccionar «Perform Run» en la pantalla «Home».
5. En la «Track» deseada, seleccionar el protocolo de ensayo a utilizar en la columna «Assay».
6. Para el control positivo, seleccionar el protocolo RB ELITE_PC en la columna «Assay» e introducir el número de lote y la fecha de caducidad del RB Positive Control.
7. Para el control negativo, seleccionar el protocolo de ensayo RB ELITE_NC en la columna «Assay» e introducir el número de lote y la fecha de caducidad del agua de grado molecular para biología.
8. Hacer clic en «Next» para continuar con la operación siguiente.
9. Cargar la RB PCR Mix en el «Inventory Block» seleccionado siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» para continuar con la operación siguiente.
10. Cargar y controlar los racks de puntas en la «Inventory Area» siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» para continuar con la operación siguiente.
11. Cargar los cartuchos «PCR Cassette», el tubo de RB Positive Control y el tubo de control negativo siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» para continuar con la operación siguiente.
12. Cerrar la puerta del equipo.
13. Presionar «Start» para iniciar el ciclo.

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

Importante: El software del equipo utiliza los resultados de las pruebas de los controles positivos y negativos realizados para completar el «Control Chart». Los resultados de los controles positivos y negativos se utilizan para monitorizar las prestaciones del paso de amplificación. Para más información, consultar el manual de uso del equipo.

Importante: Al final del ciclo, el control positivo que ha quedado debe sacarse del equipo, taparse, identificarse y conservarse a -20° C. Evitar derramar el control positivo. El control negativo sobrante debe ser eliminado.

Importante: Al final del ciclo los cartuchos «PCR Cassette» con los productos de reacción y los consumibles deben sacarse del equipo y eliminarse sin que se produzcan contaminaciones ambientales. Evitar la dispersión de los productos de reacción.

Evaluación y aprobación de los resultados

Al final del ciclo se muestra automáticamente la pantalla «Results Display». En esta pantalla se muestran los resultados correspondientes a la muestra/control y la información sobre el ciclo. En esta pantalla es posible aprobar el resultado, imprimir o guardar los informes («Sample Report» o «Track Report»). Para más información, consultar el manual de instrucciones del equipo.

Nota: el sistema ELITE InGenius se puede conectar a un sistema de interconexión LIS mediante el cual es posible enviar automáticamente los resultados aprobados al centro de procesamiento de datos del laboratorio. Para más información, consultar el manual de instrucciones del equipo.

Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel
Reactivo para la amplificación de ADN en tiempo real

REF RTS553ING

El sistema **ELITE InGenius** genera los resultados con el producto **Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel** mediante el siguiente procedimiento:

- Validación de los resultados del control positivo y del control negativo de amplificación.
- Validación de los resultados de la muestra.
- Generación del informe de los resultados de la muestra.

A. Validación de los resultados del control positivo y del control negativo de amplificación

Las señales de fluorescencia emitidas por las sondas para los genes diana («Legio», «Mpneu», «Cpneu») en la reacción de amplificación del control positivo y del control negativo son analizadas automáticamente e interpretadas por el software del equipo con los parámetros incluidos en los protocolos de ensayo «RB ELITE_PC» y «RB ELITE_NC».

Los resultados del control positivo y del control negativo de amplificación, específicos para el lote del reactivo de amplificación, se guardan en la base de datos (Controls) y el personal cualificado como «Administrator» o «Analyst» puede verlos y aprobarlos siguiendo las instrucciones de la interfaz.

Los resultados del control positivo y del control negativo de amplificación, específicos para el lote del reactivo de amplificación, caducan al cabo de **15 días**.

Antes de analizar una muestra, hay que comprobar que estén disponibles los resultados de la amplificación del control positivo y del control negativo aprobados y válidos para el lote de reactivo de amplificación que se desea utilizar. La disponibilidad del resultado «Approved» (Status) del control positivo y del control negativo de amplificación se muestra en la ventana «Controls» de la interfaz. Si no hay resultados aprobados y válidos del control positivo y del control negativo de amplificación, hay que generarlos como se ha descrito.

Importante: Cuando un resultado de la amplificación del control positivo o negativo no cumple con los criterios de aceptación, el equipo muestra el mensaje «not passed» en la pantalla «Controls» y no es posible aprobarlo. En este caso debe repetirse la reacción de amplificación del control positivo o negativo.

Importante: Si el control positivo o negativo se procesa junto con las muestras que se van a analizar y su resultado no es válido, se invalidará la ejecución entera. En este caso debe repetirse también la amplificación de las muestras.

B. Validación de los resultados de la muestra

Las señales de fluorescencia emitidas por las sondas para los genes diana («Legio», «Mpneu», «Cpneu») y la sonda para el control interno («IC») en las reacciones de amplificación de las muestras son analizadas automáticamente e interpretadas por el software del equipo con los parámetros incluidos en el protocolo de ensayo RB ELITE_BAL_200_100.

Importante: Antes de analizar una muestra, hay que comprobar que estén disponibles los resultados de los controles de amplificación aprobados y válidos para el lote de reactivo de amplificación que se desea utilizar. La disponibilidad de resultados de amplificación «Approved» (Status) se muestra en la ventana «Controls» de la interfaz. Si no se cuenta con resultados aprobados y válidos de los controles de amplificación, hay que generarlos según se ha indicado anteriormente.

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

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

1) Control positivo	Status
RB Positive Control	APPROVED
2) Control negativo	Status
RB Negative Control	APPROVED

Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel
Reactivo para la amplificación de ADN en tiempo real

REF RTS553ING

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

Los posibles mensajes correspondientes al resultado de una muestra se indican en la siguiente tabla. Por cada muestra válida, el sistema indica una combinación de tres mensajes que especifican si se han detectado o no los genes RB.

Resultado del ciclo de la muestra	Interpretación
Legio: DNA Detected.	Se ha detectado ADN del gen de <i>Legionella pneumophila</i> en la muestra.
Mpneu: DNA Detected.	Se ha detectado ADN del gen de <i>Mycoplasma pneumoniae</i> en la muestra.
Cpneu: DNA Detected.	Se ha detectado ADN del gen de <i>Chlamydomphila pneumoniae</i> en la muestra.
Legio: DNA Not Detected or below LoD.	No se ha detectado ADN del gen de <i>Legionella pneumophila</i> en la muestra. La muestra es negativa para este gen o bien su presencia está por debajo del límite de detección del producto.
Mpneu: DNA Not Detected or below LoD.	No se ha detectado ADN del gen de <i>Mycoplasma pneumoniae</i> en la muestra. La muestra es negativa para este gen o bien su presencia está por debajo del límite de detección del producto.
Cpneu: DNA Not Detected or below LoD.	No se ha detectado ADN del gen de <i>Chlamydomphila pneumoniae</i> en la muestra. La muestra es negativa para este gen o bien su presencia está por debajo del límite de detección del producto.
Invalid - Retest Sample.	El resultado del ensayo no es válido debido a un problema con el control interno (extracción incorrecta o presencia de un inhibidor).

Las muestras no idóneas para la interpretación de los resultados son marcadas como «Invalid - Retest Sample» por el software **ELITE InGenius**. En este caso no ha sido posible detectar de forma eficiente el ADN del control interno porque se han producido problemas en el paso de amplificación o extracción (degradación del ADN, pérdida del mismo durante la extracción o presencia de inhibidores en el extracto) que pueden dar lugar a resultados incorrectos y falsos negativos.

Cuando el volumen del eluato es suficiente, la muestra extraída se puede volver a someter a ensayo mediante amplificación en el modo «PCR Only». Si se confirma el resultado no válido, la muestra debe volver a someterse a ensayo a partir de la extracción de una nueva alícuota utilizando el modo «Extract + PCR».

Las muestras idóneas en las que no se ha podido detectar el ADN de los genes de *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae* y *Chlamydomphila pneumoniae* son marcadas como «Not Detected or below LoD». En este caso no se puede descartar que el ADN esté presente a un nivel inferior al límite de detección del producto (consultar el apartado «Características de las prestaciones»).

Importante: Los resultados obtenidos con este ensayo deben interpretarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y los demás resultados de los exámenes de laboratorio del al paciente.

Los resultados del ciclo de la muestra se guardan en la base de datos y, si son válidos, el personal cualificado como «Administrator» o «Analyst» puede aprobarlos (Result Display) siguiendo las instrucciones de la interfaz. Desde la ventana «Result Display» es posible imprimir y guardar los resultados de la ejecución como «Sample Report» y «Track Report».

C. Redacción del informe de los resultados de la muestra

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

El «Sample Report» muestra los detalles de una sesión de trabajo para las muestras seleccionadas (SID).

El «Track Report» muestra los detalles de una sesión de trabajo para los ciclos seleccionados.

El personal autorizado puede imprimir y firmar ambos informes.

CARACTERÍSTICAS DE LAS PRESTACIONES

Límite de Detección (LoD)

El límite de detección (LoD) del ensayo utilizado con muestras respiratorias con el sistema ELITE InGenius se ha determinado ensayando diluciones seriales de plásmidos que contienen la secuencia diana por cada patógeno detectado con el ensayo múltiple (80.000-40.000-20.000-10.000-5000-2500-1250-625-312 copias/ml).

El LoD obtenido de los resultados de 10 réplicas de cada dilución es la concentración correspondiente al último paso de dilución en el que el 100 % de las réplicas otorga un resultado positivo.

Los resultados se indican en la tabla siguiente.

Límite de detección para muestras respiratorias y ELITE InGenius (copias/ml)	
Diana	LoD (copias/ml)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> (Mpneu)	625
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i> (Cpneu)	1250
<i>Legionella pneumophila</i> (Lpneu)	5000

Además, se evaluó la sensibilidad analítica mediante regresión lineal. La regresión lineal se calculó en diluciones seriales de plásmidos, para calcular el coeficiente de regresión R^2 y la pendiente. Los valores de R^2 para los cuatro patógenos son mayores de 0,98, lo que demuestra la buena linealidad en este intervalo de dilución.

Repetibilidad

La repetibilidad del ensayo, como imprecisión intraensayo, con el equipo ELITE InGenius se ensayó ejecutando 10 réplicas de dos concentraciones (10xLoD y 3xLoD) de una muestra clínica caracterizada para cada diana, testada mediante extracción y PCR por el mismo operador, con el mismo lote de reactivos, el mismo equipo y en el mismo entorno.

Los resultados del ensayo mostraron una repetibilidad muy buena, con un coeficiente de variabilidad porcentual (CV%) inferior al 4 % por cada muestra y cada concentración (10xLoD y 3xLoD).

El resumen de los resultados se indica en la tabla siguiente.

Repetibilidad de Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel					
Muestra	Concentración	Ct medio	DS	CV%	% positivas
Legio_sample1	10xLoD	30,5	0,2	0,5	100
Legio_sample1	3xLoD	32,5	0,3	0,8	100
Mpneu_sample4	10xLoD	30,6	0,3	0,9	100
Mpneu_sample4	3xLoD	32,6	0,5	1,4	100
Cpneu_sample1	10xLoD	31,1	0,6	1,9	100
Cpneu_sample1	3xLoD	33,7	1,3	3,7	100

Reproducibilidad

La reproducibilidad en términos de variabilidad entre lotes, instrumentos y laboratorios del producto, con el sistema ELITE InGenius, fue ensayada utilizando las mismas muestras y los mismos lotes de reactivos por operadores diferentes, en tiempos distintos, con distintos equipos y laboratorios.

La precisión se expresó con base en las mediciones estadísticas de la imprecisión, como la desviación estándar (DS) y el coeficiente de variación (CV%). El análisis de los datos demostró una alta reproducibilidad de los resultados con valores de CV% inferiores o iguales al 3 % para cada muestra y para cada concentración.

El resumen de los resultados se indica en la tabla siguiente.

Reproducibilidad de Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel					
Muestra	Concentración	Ct medio	DS	CV%	% positivas
Legio_sample1	10xLoD	30,4	0,6	2,0	100
Legio_sample1	3xLoD	32,7	0,3	1,0	100
Mpneu_sample4	10xLoD	30,8	0,5	1,7	100
Mpneu_sample4	3xLoD	33,2	1,0	3,0	100
Cpneu_sample1	10xLoD	30,4	0,8	2,7	100
Cpneu_sample1	3xLoD	32,3	0,5	1,6	100

Especificidad analítica y ensayo de materiales de referencia

La especificidad del ensayo realizado con el producto Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel con el sistema ELITE InGenius, se ha probado llevando a cabo una extracción y una PCR en los paneles QCMD LPDNA15 y CP.MP16.

Este ensayo permite obtener una puntuación máxima para el panel QCMD sin verse afectado por la reactividad cruzada con ácidos nucleicos relacionados o que puedan interferir potencialmente, o por condiciones relacionadas con la muestra. La única muestra que falta, CP.MP16-06, es una muestra raramente detectada.

El resumen de los resultados se indica en la tabla siguiente.

Muestra	Descripción	Estado de la muestra	Valor de Ct		
			Legio	Mpneu	Cpneu
LPDNA15-01	<i>L. pneumophila</i> sg1	detected	34,5	neg	neg
LPDNA15-02	<i>L. pneumophila</i> sg6	detected	29,6	neg	neg
LPDNA15-03	<i>L. pneumophila</i> sg1	frequently detected	31,0	neg	neg
LPDNA15-04	<i>L. pneumophila</i> sg1	frequently detected	27,4	neg	neg
LPDNA15-05	<i>L. longbeachae</i>	NA	26,4*	neg	neg
LPDNA15-06	negative	negative	neg	neg	neg
LPDNA15-07	<i>L. pneumophila</i> sg1	frequently detected	27,4	neg	neg
LPDNA15-08	<i>L. pneumophila</i> sg1	frequently detected	30,5	neg	neg
LPDNA15-09	<i>L. pneumophila</i> sg3	frequently detected	28,6	neg	neg
LPDNA15-10	negative	negative	neg	neg	neg
CP.MP16-02	<i>M. pneumoniae</i>	infrequently detected	neg	36,8	neg
CP.MP16-03	<i>M. pneumoniae</i>	detected	neg	31,1	neg
CP.MP16-05	<i>M. pneumoniae</i>	frequently detected	neg	27,8	neg
CP.MP16-06	<i>C. pneumoniae</i>	infrequently detected	neg	neg	neg (2/2)
CP.MP16-07	<i>C. pneumoniae</i>	frequently detected	neg	neg	32,2
CP.MP16-08	<i>M. pneumoniae</i>	frequently detected	neg	29,1	neg
CP.MP16-09	negative	negative	neg	neg	neg
CP.MP16-10	<i>M. pneumoniae</i>	detected	neg	31,3	neg

* El producto es capaz de detectar también ADN de *Legionella longbeachae*; el rendimiento para este objetivo no está totalmente definido.

Además, se evaluó la especificidad testando unas 80 muestras clínicas que contienen bacterias, parásitos y virus. No se detectó ningún patógeno, excepto los esperados.

El resumen de los resultados se indica en la tabla siguiente.

Patógenos (virus)	Resultado
Adenovirus	negativo
Astrovirus	negativo
Coronavirus 229	negativo
Coronavirus 43	negativo
Coronavirus 63	negativo
Citomegalovirus	negativo
Enterovirus	negativo
Virus de Epstein-Barr	negativo
Virus del herpes simple 1	negativo
Virus del herpes simple 2	negativo
Virus del herpes humano 6	negativo
Virus del herpes humano 7	negativo
Metapneumovirus humano	negativo
Virus de la Influenza A	negativo
Virus de la Influenza B	negativo
Virus del sarampión	negativo
Virus de paperas	negativo
Norovirus G1	negativo
Norovirus G2	negativo
Parainfluenzavirus 1	negativo
Parainfluenzavirus 2	negativo
Parainfluenzavirus 3	negativo
Parainfluenzavirus 4	negativo
Parvovirus B19	negativo
Poliomavirus 1 (BKV)	negativo
Virus respiratorio sincitial A	negativo
Virus respiratorio sincitial B	negativo
Rinovirus	negativo
Rotavirus	negativo
Sapovirus	negativo
Virus de la varicela-zóster	negativo

Patógenos (bacterias y parásitos)	Resultados	Patógenos (bacterias y parásitos)	Resultados
<i>Aeromonas hydrophila</i>	negativo	<i>Legionella pneumophila</i>	positivo
<i>Bacillus ssp.</i>	negativo	<i>Legionella anisa</i>	negativo
<i>Bifidobacterium</i>	negativo	<i>Listeria monocytogenes</i>	negativo
<i>Bordetella pertussis</i>	negativo	<i>Moraxella catarrhalis</i>	negativo
<i>Campylobacter jejuni</i>	negativo	<i>Morganella morganii</i>	negativo
<i>Campylobacter coli</i>	negativo	<i>Mycoplasma genitalium</i>	negativo
<i>Chlamydia trachomatis</i>	negativo	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	positivo
<i>Citrobacter freundii</i>	negativo	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	negativo
<i>Clostridium difficile</i>	negativo	<i>Proteus mirabilis</i>	negativo
<i>Clostridium perfringens</i>	negativo	<i>Proteus vulgaris</i>	negativo
<i>EHEC vtx+</i>	negativo	<i>Rhodococcus equi</i>	negativo
<i>EIEC</i>	negativo	<i>Salmonella typhimurium</i>	negativo
<i>Enterococcus faecalis</i>	negativo	<i>Shigella boydii</i>	negativo
<i>EPEC</i>	negativo	<i>Staphylococcus aureus</i>	negativo
<i>ETEC</i>	negativo	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	negativo
<i>Haemophilus influenzae</i>	negativo	<i>Treponema pallidum</i>	negativo
<i>Haflnia alvei</i>	negativo	<i>Vibrio cholerae</i>	negativo
<i>Klebsiella oxytoca</i>	negativo	<i>Yersinia enterocolitica</i>	negativo
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	negativo		

Sensibilidad diagnóstica: confirmación de muestras positivas

La sensibilidad diagnóstica del ensayo, como confirmación de las muestras clínicas positivas, se ha evaluado analizando algunas muestras positivizadas mediante la dilución de material de referencia positivo para el ADN de las dianas en muestras procedentes de distintos pacientes negativos.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente.

Muestra	N	Positivas	Negativas	No válidas
Muestras respiratorias positivas para <i>Legionella pneumophila</i>	30	30	0	0
Muestras respiratorias positivas para <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	30	30	0	0
Muestras respiratorias positivas para <i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	30	30	0	0

En esta prueba, la sensibilidad diagnóstica del ensayo resultó ser del 100% para *Legionella pneumophila*, del 100% para *Mycoplasma pneumoniae* y del 100% para *Chlamydomphila pneumoniae*.

Especificidad diagnóstica: confirmación de muestras negativas

La especificidad diagnóstica del ensayo, como confirmación de las muestras clínicas negativas, se evaluó analizando algunas muestras de archivo procedentes de diferentes pacientes negativos.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente.

Muestra	N	Positivas	Negativas	No válidas
Muestras respiratorias negativas para <i>Legionella pneumophila</i>	34	0	34	0
Muestras respiratorias negativas para <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	34	0	34	0
Muestras respiratorias negativas para <i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	34	0	34	0

En esta prueba, la especificidad del ensayo resultó ser del 100% para *Legionella pneumophila*, del 100% para *Mycoplasma pneumoniae* y del 100% para *Chlamydomphila pneumoniae*.

Además, las muestras clínicas se sometieron anteriormente a ensayo con resultados positivos para otros patógenos respiratorios (RSV A y B, Influenza A y B, parainfluenza 1,2,3,4, adenovirus, metapneumovirus, enterovirus, coronavirus QC43, 229E, NL63, rinovirus, bocavirus, pneumocystis, HHV7, HSV1, HHV6, EBV y CMV), demostrando la ausencia de reactividad cruzada, en vista de que no se detectaron señales positivas.

Importante: Los datos y resultados completos de las pruebas realizadas para la evaluación de las características de las prestaciones del producto con las matrices y el equipo se recogen en la documentación técnica del producto «Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel», FTP RTS553ING.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Con este producto deben utilizarse exclusivamente las siguientes muestras clínicas: muestras respiratorias (lavado broncoalveolar).

No hay disponibles datos relacionados con la inhibición causada por medicamentos antivirales, antibióticos, quimioterápicos o inmunosupresores.

Los resultados obtenidos con este producto dependen de la correcta ejecución de la identificación, recogida, transporte, conservación y preparación de las muestras. Los resultados obtenidos con este producto también dependen de la idoneidad de los demás productos utilizados. Por consiguiente, para evitar resultados incorrectos es necesario prestar especial atención durante estas fases y seguir las instrucciones facilitadas con los productos para la extracción de los ácidos nucleicos.

Debido a su elevada sensibilidad analítica, la metodología de amplificación en tiempo real de ácidos nucleicos utilizada en este producto está sujeta a contaminación por muestras clínicas positivas, controles positivos y los propios productos de la reacción de amplificación. Las contaminaciones conducen a resultados falsos positivos. Los modos de elaboración del producto son capaces de limitar las contaminaciones; sin embargo, estos fenómenos se pueden evitar con la buena práctica de las técnicas de laboratorio y siguiendo atentamente las instrucciones que se facilitan en este manual.

Para utilizar este producto se requiere personal cualificado y con la formación necesaria para la manipulación de muestras biológicas que pueden transmitir agentes infecciosos, así como de preparados químicos clasificados como peligrosos, para evitar accidentes con consecuencias potencialmente graves para el usuario u otras personas.

Para utilizar este producto las áreas de trabajo y la ropa de trabajo deben ser adecuadas para la manipulación de muestras biológicas que pueden transmitir agentes infecciosos, así como de preparados químicos clasificados como peligrosos, para evitar accidentes con consecuencias potencialmente graves para el usuario u otras personas.

Para utilizar este producto se requiere personal cualificado y con la formación necesaria para los procedimientos de biología molecular, como la extracción, la amplificación y la detección de ácidos nucleicos para evitar resultados incorrectos.

Para manejar este producto se requieren ropa adecuada y equipos específicos para la preparación de las sesiones de trabajo, para evitar resultados falsos positivos.

Debido a las diferencias intrínsecas de las distintas tecnologías, se recomienda realizar estudios de correlación para evaluar estas diferencias antes de utilizar un nuevo producto.

Un resultado negativo obtenido con este producto indica que los ácidos nucleicos diana del ensayo no se han detectado en los ácidos nucleicos extraídos de la muestra, pero no se puede descartar que el ADN diana esté presente en cantidad inferior al límite de detección del producto (consultar el apartado Características de las prestaciones). En este caso el resultado sería un falso negativo.

En caso de coinfecciones, la sensibilidad de una diana puede afectar la amplificación de una segunda diana.

Las posibles interferencias causadas por condiciones particulares del paciente pueden dar lugar a resultados incorrectos.

Un resultado no válido obtenido con este producto indica que no ha sido posible detectar de forma eficiente el control interno. En este caso el análisis de la muestra deberá repetirse con posibles retrasos en la obtención del resultado.

Posibles polimorfismos en las regiones del ADN diana en las que hibridan los oligonucleótidos cebadores y las sondas del producto podrían perjudicar la detección del ADN diana.

Como para cualquier otro equipo médico de diagnóstico, los resultados obtenidos con este ensayo deben interpretarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y los demás exámenes de laboratorio correspondientes al paciente.

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

PROBLEMAS Y SOLUCIONES

Reacción no válida del Positive Control	
Posibles causas	Soluciones
Error durante la preparación de la ejecución.	Compruebe la posición de PCR Mix y control positivo. Compruebe los volúmenes de PCR Mix y control positivo.
Degradación del Positive Control.	Utilice una nueva alícuota de control positivo.
Degradación de PCR Mix.	Utilice una nueva alícuota de PCR Mix.
Error del equipo.	Póngase en contacto con el SAT ELITechGroup S.p.A.

Reacción no válida del Negative Control	
Posibles causas	Soluciones
Error durante la preparación de la ejecución.	Compruebe la posición de PCR Mix y control negativo. Compruebe los volúmenes de PCR Mix y control negativo.
Contaminación del Negative Control.	Utilice una nueva alícuota de agua de grado molecular para biología.
Contaminación de PCR Mix.	Utilice una nueva alícuota de PCR Mix.
Contaminación del área de extracción, de los racks o del bloque de la Inventory Area.	Limpie las superficies con detergentes acuosos, lave las batas, reemplace las probetas y puntas utilizadas.
Error del equipo.	Póngase en contacto con el SAT ELITechGroup S.p.A.

Reacción no válida de las muestras	
Posibles causas	Soluciones
Error durante la preparación de la ejecución.	Compruebe la posición de PCR Mix y muestra. Compruebe los volúmenes de PCR Mix y muestra.
Degradación de PCR Mix.	Utilice una nueva alícuota de PCR Mix.
Inhibición causada por sustancias que interfieren con la muestra.	Repita la amplificación diluyendo la muestra 1:2 en agua de grado molecular para biología, seleccionando la ejecución «PCR only». Repita la extracción diluyendo la muestra 1:2 en agua de grado molecular para biología, seleccionando la ejecución «Extract + PCR».
Error del equipo.	Póngase en contacto con el SAT ELITechGroup S.p.A.

SIGNIFICADO DE LOS SÍMBOLOS



Número de catálogo.



Límite superior de temperatura.



Código del lote.



Utilizar antes del (último día del mes).



Cumple con los requisitos de la Directiva Europea 98/79/CE sobre productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*. Certificación expedida por DEKRA Certification B.V., Holanda.



Contenido suficiente para «N» pruebas.



Atención, consulte las instrucciones de uso.



Contenido.



Proteger de la luz solar.



Fabricante.

AVISO AL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA

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

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

ELITE MGB® y el logotipo ELITE MGB® son marcas registradas por ELITechGroup en la Unión Europea.

ELITE InGenius® es una marca comercial de ELITechGroup.

TaqMan™ es una marca comercial de Roche Molecular Systems, Inc.