



GI Viral PLUS ELITE MGB® Kit

Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTS501ING

UDI 08033891487515



ÍNDICE

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 12
página 16
página 26
página 27
página 28
página 30
página 31
página 31
página A

USO PREVISTO

El producto **GI Viral PLUS ELITE MGB® Kit** es un producto sanitario para diagnóstico *in vitro* concebido para uso por parte de profesionales sanitarios como ensayo cualitativo múltiple de ácidos nucleicos mediante retrotranscriptasa y PCR en tiempo real para la **detección y la identificación** de ADN genómico de adenovirus (ADV), así como de ARN genómico de norovirus (NV), rotavirus (RV), astrovirus (ASV) y sapovirus (SV), extraídos de muestras clínicas.

El ensayo puede detectar ADN de adenovirus perteneciente a los serotipos F40 y F41 (tipificados mediante análisis de fusión), ARN de norovirus perteneciente a los genogrupos GI y GII (tipificados mediante análisis de fusión), rotavirus perteneciente al grupo A, adenovirus humano y sapovirus humano.

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

El producto se utiliza como ayuda en el diagnóstico de infecciones víricas gastrointestinales en pacientes en los que se sospecha la presencia de alguna infección por adenovirus, norovirus, rotavirus, astrovirus o sapovirus.

GI Viral PLUS ELITE MGB® Kit

Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real

REF RTS501ING

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

PRINCIPIOS DEL ENSAYO

Este es un ensayo cualitativo múltiple de retrotranscriptasa en solo paso para la detección de ADN de adenovirus y ARN de norovirus, rotavirus, astrovirus y sapovirus a partir de muestras sometidas a retrotranscriptasa y amplificadas a continuación utilizando una mezcla completa de reacción que contiene cebadores y sondas con tecnología ELITE MGB.

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

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

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

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

- **GI-V PCR Mix**, una mezcla de PCR optimizada y estabilizada que contiene los cebadores y las sondas específicos para:
 - El gen de la proteína del hexón de los serotipos F40 y F41 de adenovirus, detectado en el canal **ADV**; la sonda se estabiliza mediante la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher® y se marca con el colorante AquaPhluor® 639 (AP639).
 - El gen RdRp de la poliproteína de los genogrupos GI y GII de norovirus, detectado en el canal **NV**; las sondas se estabilizan mediante la tecnología MGB, se inactivan mediante el Eclipse Dark Quencher y se marcan con el colorante FAM.
 - El Gen NSP3 del grupo A de rotavirus, detectado en el canal **RV**; la sonda se estabiliza con la tecnología MGB, se inactiva con el Eclipse Dark Quencher y se marca con el colorante AquaPhluor 593 (AP593).
 - El gen de la proteína de cápside, detectado en el canal **ASV**; la sonda se estabiliza con la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher y se marca con el colorante AquaPhluor 690 (AP690).
 - El gen de la poliproteína de los genogrupos GI/GII/GIV del sapovirus y GV de sapovirus, detectado en el canal **SV**; las sondas se estabilizan mediante la tecnología MGB, se inactivan mediante el Eclipse Dark Quencher y se marcan con el colorante AquaPhluor 559 (AP559).
 - El Internal Control (**IC**), específico para una región del ARN genómico del bacteriófago MS2, detectado en el canal **IC**; la sonda se estabiliza con la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher, y se marca con el colorante AquaPhluor 525 (AP525).

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

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

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

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

MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

Componente	Descripción	Cantidad	Clasificación de peligros
GI-V PCR Mix ref. RTS501ING	Mezcla de reactivos para retrotranscriptasa y PCR en tiempo real en una probeta con tapón blanco	4×600 µL	-
RT EnzymeMix ref. RTS003-RT	Enzimas de retrotranscriptasa en una probeta con tapón con inserto negro	2×20 µL	-

MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

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

OTROS PRODUCTOS NECESARIOS

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

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

Instrumentos y software	Productos y reactivos
ELiTe InGenius (ELiTechGroup S.p.A., EG SpA, ref. INT030) ELiTe InGenius Software , versión 1.3.0.19 (o posterior) GI Viral PLUS ELiTe_PC , protocolo de ensayo (Assay Protocol) para el análisis del Positive Control. GI Viral PLUS ELiTe_NC , protocolo de ensayo (Assay Protocol) para el análisis del Positive Control. GI Viral PLUS ELiTe_ST_200_100 , protocolo de ensayo (Assay Protocol) con parámetros para el análisis de muestras de heces.	ELiTe InGenius SP200 (EG SpA, ref. INT032SP200) ELiTe InGenius SP 200 Consumable Set (EG SpA, ref. INT032CS) ELiTe InGenius PCR Cassette (EG SpA, ref. INT035PCR), ELiTe InGenius Waste Box (EG SpA, ref. F2102-000) Puntas 300 µL Filter Tips Axygen (Corning Life Sciences Inc., ref. TF-350-L-R-S), solo con el ELiTe InGenius 1000 µL Filter Tips Tecan (Tecan, Suiza, ref. 30180118), solo con el ELiTe BeGenius CPE - Internal Control (EG SpA, ref. CTRCPE), GI Viral PLUS - ELiTe Positive Control (EG SpA, ref. CTR501ING) Solución tampón InhibitEX Buffer (QIAGEN GmbH, Alemania, ref. 19593) o un producto equivalente. Minitip Flocked Swab® (COPAN Italia S.p.A., Italia, ref. 501CS01) o un producto equivalente. FecalSwab™ (COPAN Italia S.p.A., Italia, ref. 470CE,) o un producto equivalente con medio Cary Blair.

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.

Lavar 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.

Advertencias y precauciones específicas para los componentes:

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

MUESTRAS Y CONTROLES

Muestras

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

Muestra	Requisitos de obtención	Condiciones transporte/almacenamiento			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 °C ±10 °C	-70 °C ± 15 °C
Heces	recogidas sin conservantes	≤24 horas	≤48 horas	≤1 mes	≤2 meses
	recogidas en FecalSwab	≤48 horas	≤5 días	≤1 mes	≤2 meses

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.
- Centrifugar a 10.000x RCF durante 15 segundos.
- Verter con cuidado 200 µL de sobrenadante de heces clarificadas en una probeta de extracción «Extraction Tube» (en el caso del instrumento ELITE InGenius) o en una probeta Sarstedt de 2 mL (en el caso del instrumento ELITE BeGenius), teniendo cuidado de no alterar el material fecal granulado.

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

Protocolos de ensayo (Assay Protocols) para el producto GI Viral PLUS ELITE MGB Kit				
Muestra	Instrumento	Nombre del protocolo de ensayo	Informe	Características
Heces naturales o heces recogidas en FecalSwab	ELITE InGenius	GI Viral PLUS ELITE_ST_200_100	Positivo/ Negativas	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución de extracción: 100 µL Internal Control: 10 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen de carga de PCR de la muestra: 10 µL
	ELITE BeGenius	GI Viral 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 Positivo Control, utilizar el producto **GI Viral PLUS - ELITE Positive Control** (no incluido en este kit) con los protocolos de ensayo (Assay Protocols) **GI Viral PLUS ELITE_PC** o **GI Viral PLUS ELITE_Be_PC**.
- Para el Negative Control, utilizar agua para biología molecular (no incluida en este kit) con los protocolos de ensayo (Assay Protocols) **GI Viral PLUS ELITE_NC** o **GI Viral 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 Viral PLUS ELiTe MGB Kit** con el **ELiTe InGenius** comprende tres pasos:

STEP 1	Verificación de la disponibilidad del sistema
STEP 2	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	A) Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
	B) Validación de los resultados de las muestras
	C) Elaboración del informe de resultados de las muestras

PASO 1. Verificación de la disponibilidad del sistema

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

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

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

PASO 2. Configuración de la sesión

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

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

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

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

Antes de configurar una sesión:

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

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

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

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

3. Preparar una probeta de 2 mL (Sarstedt Ref. 72.694.005, no incluida en el kit) para la **mezcla completa de reacción** y etiquetarla con un rotulador permanente.

4. Calcular los volúmenes necesarios de **GI-V PCR Mix** y de **RT EnzymeMix** para preparar la **mezcla completa de reacción** en función del número de muestras (N) que vayan a analizarse, tal como se describe en la tabla siguiente.

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

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

Nota: la mezcla completa de reacción tiene que prepararse en el momento para cada sesión de trabajo y **no puede** conservarse para su reutilización.

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

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

	A. Sesión de la muestra (Extract + PCR).	B. Sesión con la muestra eluida (PCR Only).	C. Sesión del Positive Control y del Negative Control (PCR Only).
1	Identificar las muestras y, en caso necesario, descongelarlas a temperatura ambiente. Pretratar las muestras de acuerdo con el procedimiento descrito en la sección «Muestras y controles». Para este ensayo, es necesario verter 200 µL de muestra pretratada en una «Extraction Tube» (Tubo de extracción) previamente etiquetada.	Descongelar las probetas de elución que contienen los ácidos nucleicos extraídos a temperatura ambiente. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.	Descongelar las probetas de Positive Control a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Cada probeta es suficiente para 4 reacciones.
2	Descongelar las probetas de CPE necesarias a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Cada probeta es suficiente para 12 extracciones.	No aplicable.	Preparar el Negative Control vertiendo al menos 50 µL de agua para biología molecular en la «Elution Tube» (tubo de elución) que se incluye con el ELiTe InGenius SP 200 Consumable Set .
3	Seleccionar «Perform Run» en la «Home» (Inicio).	Seleccionar «Perform Run» en la «Home» (Inicio).	Seleccionar «Perform Run» en la «Home» (Inicio).
4	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (volumen de elución extraído), a 100 µL.	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (volumen de elución extraído), a 100 µL.	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (volumen de elución extraído), a 100 µL.
5	Para cada muestra, asignar un carril e introducir el «SampleID» o SID (ID de la muestra), ya sea rellenándolo directamente o escaneando su código de barras.	Para cada muestra, asignar un carril e introducir el «SampleID» o SID (ID de la muestra), ya sea rellenándolo directamente o escaneando su código de barras.	No aplicable.
6	Seleccionar el Assay Protocol en la columna «Assay» (Ensayo) (consultar la sección «Muestras y controles»).	Seleccionar el Assay Protocol en la columna «Assay» (Ensayo) (consultar la sección «Muestras y controles»).	Seleccionar el Assay Protocol en la columna «Assay» (Ensayo) (consultar la sección «Muestras y controles»). Introducir el número de lote y la fecha de caducidad del Positive Control y del agua para biología molecular.
7	Asegurarse de que el protocolo que se muestra en el área «Protocol» (Protocolo) sea «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	En la columna «Protocol» (Protocolo), seleccionar «PCR Only» (Solo PCR).	En la columna «Protocol» (Protocolo), asegurarse de que esté seleccionado «PCR Only» (Solo PCR).
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 (bottom row)» (Tubo de elución, fila inferior).	Asegurarse de que la posición de carga de la muestra en la columna «Sample Position» sea «Elution Tube (bottom row)» (Tubo de elución, fila inferior).

	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).
9	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
10	Cargar el CPE y la mezcla completa de reacción en el «Inventory Block» (administrador de inventarios) en función de la lista de carga («Load List») y, después, introducir el número de lote del CPE y de la mezcla PCR Mix, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.	Cargar la mezcla mezcla completa de reacción en el «Inventory Block» (administrador de inventarios), en función de la lista de carga («Load List») y, después, introducir el número de lote de la mezcla de PCR, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.	Cargar la mezcla mezcla completa de reacción en el «Inventory Block» (administrador de inventarios), en función de la lista de carga («Load List») y, después, introducir el número de lote de la mezcla de PCR, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.
11	Hacer clic en «Next» para continuar.	Hacer clic en «Next» para continuar.	Hacer clic en «Next» para continuar.
12	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack 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» (rack 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» (rack de puntas) del «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.
13	Hacer clic en «Next» para continuar.	Hacer clic en «Next» para continuar.	Hacer clic en «Next» para continuar.
14	Cargar el PCR Cassette, los cartuchos de extracción ELiTe InGenius SP 200, así como todos los consumibles necesario y las muestras que deben extraerse.	Cargar el PCR Cassette y la probeta de elución con las muestras extraídas.	Cargar el PCR Cassette y las probetas de Positive Control y de Negative Control.
15	Hacer clic en «Next» para continuar.	Hacer clic en «Next» para continuar.	Hacer clic en «Next» para continuar.
16	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.
17	Pulsar «Start» (inicio).	Pulsar «Start» (inicio).	Pulsar «Start» (inicio).

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

Nota: al finalizar la sesión, la muestra extraída que queda en la **«Elution Tube»** (probeta de elución) debe extraerse del instrumento, taparse, identificarse y conservarse a $-20^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$ durante un máximo de un mes. Evitar derramar la muestra extraída.

Nota: la mezcla completa de reacción tiene que prepararse en el momento para cada sesión de trabajo y **no puede** conservarse para su reutilización.

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-V Positive Control** puede utilizarse para 4 sesiones independientes de 3 horas cada una.

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

PASO 3. Evaluación y aprobación de los resultados

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

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

Nota: el **ELiTe InGenius** puede conectarse al «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 Viral PLUS ELiTe MGB Kit** mediante el siguiente procedimiento:

- Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
- Validación de los resultados de las muestras.
- 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 Protocols) **GI Viral PLUS_ELiTe_PC** y **GI Viral 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 («Control Charts»), lo que permite controlar el rendimiento del paso de amplificación. Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

Nota: si el resultado del Positive Control o del Negative Control no cumple los criterios de aceptación, en la pantalla «Controls» 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 **NV**, **SV**, **ADV**, **RV** y **ASV**) y para el Internal Control (canal **IC**) con los parámetros del protocolo de ensayo (Assay Protocol) **GI Viral PLUS_ELiTe_ST_200_100**.

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

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

1) Positive Control	Estado
GI-V Positive Control	APROBADO
2) Negative Control	Estado
GI-V 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 y especifica si el ADN y los ARN de los patógenos se han detectado o no.

Resultado de la sesión de la muestra	Interpretación
NV:RNA Detected Genogroup I (NV:ARN Detectado Genogroup I)	Se ha detectado ARN de norovirus en la muestras y se ha tipificado como genogrupo I.
NV:RNA Detected Genogroup II (NV:ARN Detectado Genogroup II)	Se ha detectado ARN de norovirus en la muestras y se ha tipificado como genogrupo II.
NV:RNA Detected Typing not determined (NV:ARN Detectado Typing not determined)	Se ha detectado ARN de norovirus en la muestra, pero el análisis para la tipificación del genogrupo no era viable. Es necesario repetir el análisis.
NV:RNA Not Detected or below the LoD (NV:ARN No detectado o por debajo del límite de detección)	No se ha detectado ARN de norovirus en la muestra. La muestra es negativa para el ADN diana, o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
SV:RNA Detected (SV:ARN Detectado)	Se ha detectado ARN de sapovirus en la muestra.
SV:RNA Not Detected or below the LoD (SV:ARN No detectado o por debajo del límite de detección)	No se ha detectado ARN de sapovirus en la muestra. La muestra es negativa para el ADN diana, o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
RV:RNA Detected (RV:ARN Detectado)	Se ha detectado ARN de rotavirus en la muestra.
RV:RNA Not Detected or below the LoD (RV:ARN No detectado o por debajo del límite de detección)	No se ha detectado ARN de rotavirus en la muestra. La muestra es negativa para el ADN diana, o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
ADV:DNA Detected Serotype F40 (ADV:ADN Detectado Serotype F40)	Se ha detectado ADN de adenovirus en la muestras y se ha tipificado como serotipo F40.
ADV:DNA Detected Serotype F41 (ADV:ADN Detectado Serotype F41)	Se ha detectado ADN de adenovirus en la muestras y se ha tipificado como serotipo F41.
ADV:DNA Detected Typing not determined (ADV:ADN Detectado Typing not determined)	Se ha detectado ADN de adenovirus en la muestra, pero el análisis para la tipificación del genogrupo no era viable. Es necesario repetir el análisis.
ADV:DNA Not Detected or below the LoD (ADV:ADN No detectado o por debajo del límite de detección)	No se ha detectado ADN de adenovirus en la muestra. La muestra es negativa para el ADN diana, o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
ASV:RNA Detected (ASV:ARN Detectado)	Se ha detectado ARN de astrovirus en la muestra.
ASV:RNA Not Detected or below the LoD (ASV:ARN No detectado o por debajo del límite de detección)	No se ha detectado ARN de astrovirus en la muestra. La muestra es negativa para el ADN diana, o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
Invalid-Retest Sample (No válido-Volver a probar muestra)	Resultado no válido del ensayo causado por un fallo en el Internal Control (p. ej., debido a una extracción incorrecta o al arrastre de inhibidores). Es necesario repetir el análisis.

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

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

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

Las muestras notificadas como «XXX:RNA/DNA Detected Typing not determined» no son aptas para la tipificación de los genogrupos GI o GII de norovirus ni de los serotipos F40 o F41 de adenovirus. No obstante, las muestras son positivas para ARN de norovirus o ADN de adenovirus.

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 Viral 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) Elaboración del informe de resultados de las muestras

PASO 1. Verificación de la disponibilidad del sistema

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

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

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

PASO 2. Configuración de la sesión

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

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

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

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

Antes de configurar una sesión:

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

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

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

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

3. Preparar una probeta de 2 mL (Sarstedt Ref. 72.694.005, no incluida en el kit) para la **mezcla completa de reacción** y etiquetarla con un rotulador permanente.

4. Calcular los volúmenes necesarios de **GI-V PCR Mix** y de **RT EnzymeMix** para preparar la **mezcla completa de reacción** en función del número de muestras (N) que vayan a analizarse, tal como se describe en la tabla siguiente.

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

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

Nota: la mezcla completa de reacción tiene que prepararse en el momento para cada sesión de trabajo y **no puede** conservarse para su reutilización.

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

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

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

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

	A. Sesión de la muestra (Extract + PCR).	B. Sesión con la muestra eluida (PCR Only).	C. Sesión del Positivo Control y del Negative Control (PCR Only).
18	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack 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» (racks 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» (rack 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 Rack con el PCR Cassette en la «Inventory Area».	Cargar la PCR Rack con el PCR Cassette en la «Inventory Area».	Cargar la PCR Rack con el PCR Cassette en la «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 Rack» (contenedores de extracción) con los cartuchos de extracción «ELITE InGenius SP 200» y los consumibles de extracción necesarios.	No aplicable.	No aplicable.
23	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.
24	Pulsar «Start» (inicio).	Pulsar «Start» (inicio).	Pulsar «Start» (inicio).

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

Nota: al finalizar la sesión, la muestra extraída que queda en la «**Elution Tube**» (probeta de elución) debe extraerse del instrumento, taparse, identificarse y conservarse a -20 ±10 °C durante un máximo de un mes. Evitar cualquier derrame de la muestra extraída.

Nota: la mezcla completa de reacción tiene que prepararse en el momento para cada sesión de trabajo y **no puede** conservarse para su reutilización.

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-V Positive Control** puede utilizarse para 4 sesiones independientes de 3 horas cada una.

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

PASO 3. Evaluación y aprobación de los resultados

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

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

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

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

- Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
- Validación de los resultados de las muestras.
- 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 el ELITE InGenius analizando muestras e heces naturales con material de referencia del genogrupo GI de norovirus, del genogrupo GII de norovirus, de astrovirus, del serotipo F40 de adenovirus, del serotipo F41 de adenovirus, de rotavirus (ZeptoMetrix y ATCC), de los genogrupos GI/II/IV de sapovirus y del genogrupo GV de sapovirus (plásmidos de EG SpA).

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
Norovirus GI	219 TCID ₅₀ /mL	146 TCID ₅₀ /mL	507 TCID ₅₀ /mL
Norovirus GII	151 TCID ₅₀ /mL	114 TCID ₅₀ /mL	321 TCID ₅₀ /mL
Astrovirus	690 TCID ₅₀ /mL	409 TCID ₅₀ /mL	2782 TCID ₅₀ /mL
Adenovirus F40	0,082 TCID ₅₀ /mL	0,058 TCID ₅₀ /mL	0,149 TCID ₅₀ /mL
Adenovirus F41	0,006 TCID ₅₀ /mL	0,004 TCID ₅₀ /mL	0,09 TCID ₅₀ /mL
Rotavirus	2,4 TCID ₅₀ /mL	1,9 TCID ₅₀ /mL	3,5 TCID ₅₀ /mL
GV de sapovirus	792 copias/mL	583 copias/mL	1267 copias/mL
GI/II/IV de sapovirus	1119 copias/mL	859 copias/mL	1897 copias/mL

El valor del LoD calculado se verificó analizando en el ELITE BeGenius y en el ELITE InGenius muestras de heces naturales y muestras de heces recogidas en FecalSwab y enriquecidas con materiales de referencia del genogrupo GI de norovirus, del genogrupo GII de norovirus, de astrovirus, del serotipo F40 de adenovirus, del serotipo F41 de adenovirus, de rotavirus, de los genogrupos GI/II/IV de sapovirus y del genogrupo GV de sapovirus a la concentración declarada.

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

Inclusividad: Eficacia de la detección en diferentes cepas o aislados

La inclusividad del ensayo, expresado como eficacia en la detección de diferentes genotipos o aislados de norovirus (GI/GII), astrovirus (F40/F41), rotavirus y sapovirus (GI/II/IV/V) se evaluó mediante un análisis informático. El análisis demostró la conservación y la ausencia de mutaciones reseñables para todas las dianas de interés, excepto en el caso del norovirus. De este modo, se esperan diferentes eficacias en la detección para algunos genotipos o aislados de norovirus.

La inclusividad también se verificó mediante el análisis de 10 materiales de referencia (Qnostics, Vircell, ZeptoMetrix y ATCC) y el análisis de 14 ADN plasmídicos que representaban las variantes genómicas principales del genogrupo GI de norovirus y del genogrupo GII de norovirus.

En la tabla siguiente se muestran los resultados obtenidos con los materiales de referencia.

Diana	Proveedor	Positivas/Duplicados	Resultado
Norovirus GI	ZeptoMetrix	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:ARN Detectado Genogroup I)
Norovirus GII	Vircell	6/6	NV:RNA Detected Genogroup II (NV:ARN Detectado Genogroup II)
Adenovirus F40	ZeptoMetrix	6/6	ADV:DNA Detected Serotype F40 (ADV:ADN Detectado Serotype F40)
Adenovirus F41	Vircell	6/6	ADV:DNA Detected Serotype F41 (ADV:ADN Detectado Serotype F41)
Adenovirus F41	Qnostics	6/6	ADV:DNA Detected Serotype F41 (ADV:ADN Detectado Serotype F41)
Rotavirus	Vircell	6/6	RV:RNA Detected (RV:ARN Detectado)
Rotavirus	Qnostics	6/6	RV:RNA Detected (RV:ARN Detectado)
Sapovirus	ATCC	6/6	SV:RNA Detected (SV:ARN Detectado)
Astrovirus I	ATCC	6/6	ASV:RNA Detected (ASV:ARN Detectado)
Astrovirus V	ATCC	6/6	ASV:RNA Detected (ASV:ARN Detectado)

Todas las muestras se detectaron correctamente con el producto **GI Viral PLUS ELiTe MGB Kit**.

En la tabla siguiente se muestran los resultados obtenidos con los ADN plasmídicos.

Muestra	Copias/ reacción	Positivas/ Duplicados	Resultado
Plásmido de genogrupo GI de norovirus (ID de sec. MN938461)	750	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:ARN Detectado Genogroup I)
Plásmido de genogrupo GI de norovirus (ID de sec. KP027330)	750	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:ARN Detectado Genogroup I)
Plásmido de genogrupo GI de norovirus (ID de sec. MZ470608)	4×10 ⁴	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:ARN Detectado Genogroup I)
Plásmido de genogrupo GI de norovirus (ID de sec. OK562729)	3×10 ⁴	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:ARN Detectado Genogroup I)
Plásmido de genogrupo GI de norovirus (ID de sec. MN421562)	1×10 ⁵	6/6	NV:RNA Detected Genogroup II (NV:ARN Detectado Genogroup II)
Plásmido de genogrupo GI de norovirus (ID de sec. LC378987)	1×10 ⁷	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:ARN Detectado Genogroup I)
Plásmido de genogrupo GI de norovirus (ID de sec. MW647681)	750	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:ARN Detectado Genogroup I)
Plásmido de genogrupo GI de norovirus (ID de sec. OK147886)	750	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:ARN Detectado Genogroup I)
Plásmido de genogrupo GI de norovirus (ID de sec. MW362461)	750	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:ARN Detectado Genogroup I)
Plásmido de genogrupo GI de norovirus (ID de sec. EU085525)	750	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:ARN Detectado Genogroup I)
Plásmido de genogrupo GII de norovirus (ID de sec. MK328934)	1×10 ²	6/6	NV:RNA Detected Genogroup II (NV:ARN Detectado Genogroup II)
Plásmido de genogrupo GII de norovirus (ID de sec. MG674721)	1×10 ²	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:ARN Detectado Genogroup I)
Plásmido de genogrupo GII de norovirus (ID de sec. MG495078)	1×10 ²	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:ARN Detectado Genogroup I)
Plásmido de genogrupo GII de norovirus (ID de sec. KC464491)	1×10 ²	6/6	NV:RNA Detected Genogroup II (NV:ARN Detectado Genogroup II)

Con algunas variantes del genogrupo GI de norovirus, la sensibilidad del producto puede cambiar hasta 10.000 veces.

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

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

Interferencia entre dianas

La posible interferencia entre las dianas del ensayo se evaluó mediante un análisis de coamplificación del genogrupo GI de Norovirus, del genogrupo GII de norovirus, de astrovirus, del serotipo F40 de adenovirus, del serotipo F41 de adenovirus, de rotavirus, de los genogrupos GI/II/IV de sapovirus y del genogrupo GV de sapovirus (ADN plasmídicos de EG SpA).

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 una alta concentración (50.000 copias/reacción)						
	NV1	NV2	SV124	SV5	RV	ADV-F40	ASV
NV1	-	-	50 c/rxn	50 c/rxn	50 c/rxn	50 c/rxn	50 c/rxn
NV2	-	-	100 c/rxn	100 c/rxn	100 c/rxn	100 c/rxn	100 c/rxn
SV124	100 c/rxn	100 c/rxn	-	-	100 c/rxn	100 c/rxn	100 c/rxn
SV5	50 c/rxn	50 c/rxn	-	-	50 c/rxn	50 c/rxn	50 c/rxn
RV	250 c/rxn	250 c/rxn	250 c/rxn	250 c/rxn	-	250 c/rxn	250 c/rxn
ADV-F40	50 c/rxn	50 c/rxn	50 c/rxn	50 c/rxn	50 c/rxn	-	50 c/rxn
ASV	250 c/rxn	250 c/rxn	250 c/rxn	250 c/rxn	250 c/rxn	250 c/rxn	-

El producto **GI Viral PLUS ELiTe MGB Kit** presenta una interferencia mínima entre dianas. Todas las dianas pueden detectarse incluso si son aproximadamente 200 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 algunos adenovirus que no sean del serotipo F40 o F41.

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

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Muestra	Positivas/Duplicados					Resultado
	NV	SV	RV	ADV	ASV	
<i>Aeromonas hydrophila</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Bacteroides fragilis</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Helicobacter pylori</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Escherichia coli</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Serratia Marcescens</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Bifidobacterium adollescens</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Candida albicans</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Citrobacter freundii</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Clostridium difficile</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Proteus mirabilis</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Enterobacter cloacae</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Giardia lamblia</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Cryptosporidium parvum</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Entamoeba histolytica</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Salmonella enterica</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Shigella flexneri</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Vibrio cholerae</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
<i>Campylobacter jejuni</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Virus ECHO 4	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Especie C de adenovirus	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	Reactividad cruzada para ADV
Especie A de adenovirus	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Especie B de adenovirus	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Especie C de adenovirus	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	Reactividad cruzada para ADV
Especie D de adenovirus	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	Reactividad cruzada para ADV
Especie E de adenovirus	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Especie G de adenovirus	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	Reactividad cruzada para ADV

Ninguno de los microorganismos potencialmente interferentes analizados presentó reactividad cruzada para la amplificación de la diana cuando se utilizó el producto **GI Viral PLUS ELiTe MGB Kit**, excepto en el caso de las especies C, D y G de adenovirus.

Microorganismos potencialmente interferentes: Inhibición

La inhibición potencial de microorganismos imprevistos que puede encontrarse en muestras clínicas de heces se evaluó para el ensayo mediante el análisis de un panel de microorganismos imprevistos (ATCC, ZeptoMetrix, DSMZ y ADN plasmídicos) enriquecidos con norovirus (genogrupos GI/GII), astrovirus, adenovirus (serotipos F40/F41), rotavirus y sapovirus (genogrupos GI/II/IV/GV) (ADN plasmídicos de EG SpA).

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Microorganismo	Positivas/Duplicados						Resultado
	NV1	NV2	RV	ADV-F40	ADV-F41	ASV	
<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>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>	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 difficile</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
<i>Yersinia enterocolitica</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Salmonella enterica</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
<i>Shigella flexneri</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>Campylobacter jejuni</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Virus ECHO 4	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Especie C de adenovirus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Especie A de adenovirus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Especie B de adenovirus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Especie C de adenovirus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Especie D de adenovirus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Especie E de adenovirus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sin interferencia
Especie G de adenovirus	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 Viral 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
	NV1	NV2	RV	ADV-F40	ADV-F41	ASV	
Aceite de vaselina	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Nonoxinol -9	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Subsalicilato de bismuto	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Hidroc loruro de loperamida	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Bisacodilo	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Azitromicina	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Vancomicina	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Metronidazol	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Ampicilina	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Cefpodoxima	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Ciprofloxacino	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Hidrocortisona	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Carbonato cálcico	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Ácido algínico	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Hidróxido de aluminio	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Trisilicato de magnesio	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Sangre	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Mucina	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Ácido palmítico	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sin reactividad cruzada
Ácido esteárico	0/5	0/5	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 Viral PLUS ELITe MGB Kit**.

Sustancias potencialmente interferentes: Inhibición

La inhibición potencial de sustancias interferentes (endógenas y exógenas) que puede encontrarse en muestras clínicas de heces se evaluó para el ensayo analizando un panel de sustancias a la concentración pertinente en muestras enriquecidas con materiales de referencia del genogrupo GI de norovirus, del genogrupo GII de norovirus, de astrovirus, del serotipo F40 de adenovirus, del serotipo F41 de adenovirus, de rotavirus, del genogrupo GV de sapovirus y de los genogrupos GI/GII/GIV de sapovirus (ZeptoMetrix, ATCC y plásmidos de EG SpA).

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Sustancia	Positivas/Duplicados						Resultado
	NV1	NV2	RV	ADV-F40	ADV-F41	ASV	
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
Hidroc loruro 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 palmítico	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 Viral PLUS ELITe MGB Kit**.

Contaminación cruzada

La posible contaminación cruzada durante el análisis se evaluó para el ensayo analizando 60 duplicados de una muestra de heces negativa que se alternó con 60 duplicados de la misma muestra enriquecidos con material de referencia recombinante del serotipo F40 de adenovirus (ADV-F40) (ZeptoMetrix) a una concentración aproximada de 1×10^4 TCID₅₀/mL.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

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

Ninguna de las muestras negativas analizadas dio resultados falsos positivos. En este análisis con el producto **GI Viral 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 52 muestras de heces naturales negativas diferentes y 52 muestras de heces recogidas en FecalSwab y enriquecidas con material de referencia del genogrupo GII de norovirus (Zeptomatrix) a una concentración de 3 veces el LoD.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

Muestras	N	Positivas	Negativas	Tasa total de fallos del sistema
Heces naturales enriquecidas a 3 veces el LoD	52	52	0	0 %
Heces recogidas en FecalSwab y enriquecidas a 3 veces el LoD	52	52	0	0 %

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

Repetibilidad

La repetibilidad del ensayo se evaluó en el ELITE BeGenius y el ELITE InGenius analizando un panel de muestras de heces naturales negativas o enriquecidas con materiales de referencia del genogrupo GII de norovirus, del serotipo F40 de adenovirus, de rotavirus, de astrovirus y de los genogrupos GI/II/IV de sapovirus (Zeptomatrix, ATCC y ADN plasmídico de EG SpA).

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	NV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		6	31,25	0,42	1,34	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	NV (Tm)	6	68,4	0,17	0,25	100 %
3xLoD SV124		6	-	-	-	100 %
Neg	NV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		6	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	SV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		6	32,36	0,50	1,55	100 %
Neg	RV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		6	30,18	0,29	0,95	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	ADV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		6	-	-	-	100 %
Neg	ADV (Tm)	6	34,17	0,81	2,37	100 %
3xLoD NV+RV		6	70,4	0,27	0,38	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	ADV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		6	-	-	-	100 %
Neg	ASV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		6	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	ASV (Ct)	6	27,14	0,36	1,32	100 %
3xLoD SV124		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	NV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		6	29,91	0,41	1,38	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	NV (Tm)	6	69,0	0,05	0,07	100 %
3xLoD SV124		6	-	-	-	100 %
Neg	NV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		6	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	SV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		6	32,94	0,83	2,52	100 %
Neg	RV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		6	30,01	0,23	0,76	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	ADV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		6	-	-	-	100 %
Neg	ADV (Tm)	6	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		6	34,32	0,64	1,86	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	ADV (Ct)	6	71,0	0,16	0,23	100 %
3xLoD SV124		6	-	-	-	100 %
Neg	ASV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		6	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	ASV (Ct)	6	27,26	0,46	1,70	100 %
3xLoD SV124		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	NV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		12	30,97	0,43	1,39	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	NV (Tm)	12	68,4	0,16	0,24	100 %
3xLoD SV124		12	-	-	-	100 %
Neg	NV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		12	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	SV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		12	32,37	0,45	1,39	100 %
Neg	RV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		12	30,07	0,27	0,89	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	ADV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		12	-	-	-	100 %
Neg	ADV (Tm)	12	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		12	33,80	0,71	2,10	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	ADV (Ct)	12	70,3	0,24	0,34	100 %
3xLoD SV124		12	-	-	-	100 %
Neg	ASV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		12	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	ASV (Ct)	12	27,02	0,33	1,22	100 %
3xLoD SV124		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	NV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		12	30,08	0,46	1,53	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	NV (Tm)	12	68,9	0,11	0,16	100 %
3xLoD SV124		12	-	-	-	100 %
Neg	NV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		12	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	SV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		12	32,74	0,78	2,37	100 %
Neg	SV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		12	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	RV (Ct)	12	30,18	0,40	1,32	100 %
3xLoD SV124		12	-	-	-	100 %
Neg	RV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		12	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	ADV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		12	-	-	-	100 %
Neg	ADV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		12	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	ADV (Tm)	12	34,44	0,63	1,82	100 %
3xLoD SV124		12	71,0	0,14	0,19	100 %
Neg	ADV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		12	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	ASV (Ct)	12	27,03	0,41	1,51	100 %
3xLoD SV124		12	-	-	-	100 %

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

Reproducibilidad

La reproducibilidad ensayo se evaluó en el ELITE BeGenius y el ELITE InGenius analizando un panel de muestras de heces naturales negativas o enriquecidas con materiales de referencia del genotipo GII de norovirus, del serotipo F40 de adenovirus, de rotavirus, de astrovirus y de los genogrupos GI/II/IV de sapovirus (Zeptomatrix, ATCC y ADN plasmídico de EG SpA).

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	NV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	31,95	0,91	2,85	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	NV (Tm)	36	68,5	0,17	0,25	100 %
3xLoD SV124		36	-	-	-	100 %
Neg	NV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	SV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		36	32,49	0,39	1,19	100 %
Neg	SV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	RV (Ct)	36	30,60	0,56	1,82	100 %
3xLoD SV124		36	-	-	-	100 %
Neg	RV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	ADV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		36	-	-	-	100 %
Neg	ADV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	ADV (Tm)	36	33,12	0,75	2,27	100 %
3xLoD SV124		36	70,3	0,41	0,58	100 %
Neg	ADV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	ASV (Ct)	36	28,15	0,97	3,44	100 %
3xLoD SV124		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	NV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	30,54	0,55	1,80	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	NV (Tm)	36	69,1	0,21	0,30	100 %
3xLoD SV124		36	-	-	-	100 %
Neg	NV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	SV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		36	32,75	0,57	1,74	100 %
Neg	SV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	RV (Ct)	36	30,41	0,41	1,35	100 %
3xLoD SV124		36	-	-	-	100 %
Neg	RV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	ADV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		36	-	-	-	100 %
Neg	ADV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	ADV (Tm)	36	33,66	0,78	2,31	100 %
3xLoD SV124		36	70,8	0,30	0,43	100 %
Neg	ADV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	ASV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		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	NV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	31,73	0,93	2,93	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	NV (Tm)	36	68,6	0,24	0,36	100 %
3xLoD SV124		36	-	-	-	100 %
Neg	NV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	SV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		36	32,45	0,44	1,35	100 %
Neg	SV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	RV (Ct)	36	30,80	0,53	1,73	100 %
3xLoD SV124		36	-	-	-	100 %
Neg	RV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	ADV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		36	32,91	0,68	2,07	100 %
Neg	ADV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	ADV (Tm)	36	70,5	0,37	0,52	100 %
3xLoD SV124		36	-	-	-	100 %
Neg	ADV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	ASV (Ct)	36	28,26	0,95	3,35	100 %
3xLoD SV124		36	-	-	-	100 %

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

Muestra	Diana	N	Media	DE	%CV	% de concordancia
Neg	NV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	30,74	0,62	2,02	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV	NV (Tm)	36	69,1	0,21	0,30	100 %
3xLoD SV124		36	-	-	-	100 %
Neg	SV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		36	32,66	0,47	1,43	100 %
Neg	RV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	30,28	0,42	1,38	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100 %
3xLoD SV124		36	-	-	-	100 %
Neg	ADV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		36	32,78	0,63	1,91	100 %
3xLoD SV124		36	70,8	0,37	0,52	100 %
Neg	ASV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3xLoD ADV-F40+ASV		36	25,57	0,88	3,18	100 %
3xLoD SV124		36	-	-	-	100 %

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

Especificidad diagnóstica: Confirmación de las muestras negativas

La especificidad diagnóstica del ensayo, expresada como confirmación de las muestras clínicas negativas, se evaluó utilizando el ELITE InGenius y analizando muestras clínicas de heces recogidas sin conservantes, que se certificaron como negativas para 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
Serotipos F40/F41 de adenovirus	101	0	101	100 %
Genogrupos GI/GII de norovirus	101	0	101	100 %
Rotavirus	101	0	101	100 %
Astrovirus	100	0	100	100 %
Sapovirus	101	0	101	100 %

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

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

El valor de corte para el Ct del IC se ha establecido a 34 para el ELITE InGenius y a 35 para el ELITE BeGenius.

Sensibilidad diagnóstica: confirmación de muestras positivas

La sensibilidad diagnóstica del ensayo, expresada como confirmación de las muestras clínicas positivas, se evaluó utilizando el ELITE InGenius y analizando muestras clínicas de heces recogidas sin conservantes, que se certificaron como positivas para 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. Por lo tanto, la sensibilidad diagnóstica del ensayo obtenida con el ELITE InGenius también es aplicable al ELITE BeGenius.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente.

Muestras de heces positivas analizadas para la diana	N	Positivas	Negativas	% de sensibilidad diagnóstica
Adenovirus F40	15	15	0	100 %
Adenovirus F41	35	35	0	
Norovirus GI	20	13	7	92,9 %
Norovirus GII	120	117	3	
Rotavirus	50	50	0	100 %
Astrovirus	50	50	0	100 %
Sapovirus	55	51	4	92,7 %

La sensibilidad diagnóstica del producto **GI Viral PLUS ELITE MGB Kit** junto con muestras de heces en este análisis fue del 100 % para los serotipos F40/F41 de ADV, del 92,9 % para los genogrupos GI/GII de NV, del 100 % para RV, del 100 % para ASV y del 92,7 % para SV.

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 Viral PLUS ELITE MGB Kit**, FTP 501ING.

BIBLIOGRAFÍA

- V. P. Ramanan *et al.* (2017) *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 87: 325-327
Y. Liu *et al.* (2012) *J. Clin. Microbiol.* 50: 2384 - 2389
: F. Jakab *et al.* (2019) *J. Med. Virol.* 74: 71 - 7
S. Q. Zeng *et al.* (2008) *J. Virol. Methods* 153: 238 - 240
M. Diez-Valcarce *et al.* (2018) *J. Clin. Virol.* 104: 65 - 72
E. Lukhtanov *et al.* (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e 30
K. Linnet *et al.* (2004) *Clin. Chem.* 50: 732-740.
P. Chhabra *et al.* (2019) *J. Gen. Virol.* 100: 1393 - 1406
K. Kumthip *et al.* (2019) *Ann Res Hosp* 3: 1 - 3
B. Lopman *et al.* (2015) *CDC Review*: 1-44

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

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

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

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

Debido a su alta sensibilidad analítica, el método de PCR en tiempo real utilizado en este producto puede desarrollar contaminación con las muestras clínicas positivas, los controles positivos y los propios productos de la PCR. Una contaminación cruzada puede dar lugar a resultados falsos positivos. El formato del producto está diseñado para limitar la posibilidad de una contaminación cruzada. No obstante, esta solo puede evitarse procediendo conforme a las prácticas correctas de laboratorio y siguiendo estas instrucciones de uso.

Para utilizar este producto y con el fin de evitar accidentes con consecuencias potencialmente graves para el usuario y otras personas, se requiere personal cualificado y con la formación necesaria para procesar muestras biológicas potencialmente infecciosas o productos químicos clasificados como peligrosos.

Con el fin de evitar accidentes con consecuencias potencialmente graves para el usuario y otras personas, este producto requiere el uso de un equipo de protección individual y áreas que sean adecuadas para procesar muestras biológicas potencialmente infecciosas o productos químicos clasificados como peligrosos.

Con el fin de evitar resultados falsos positivos, este producto requiere el uso de un equipo de protección individual e instrumentos especiales expresamente destinados a la configuración de la sesión de trabajo de que se trate.

Con el fin de evitar resultados incorrectos, este producto debe ser manipulado por profesionales debidamente formados y cualificados en técnicas de biología molecular, como la extracción, la retrotranscriptasa, la PCR y la detección de ácidos nucleicos.

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

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

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

En 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 o del ARN diana cubierto por los cebadores y las sondas del producto, pueden afectar negativamente a la detección y a la tipificación del ADN o del ARN diana.

En el caso de que se constate la presencia de la especie C o G de adenovirus en la muestra, el producto lo detectará como diana de adenovirus sin determinar la tipificación.

En el caso de que se constate la presencia de la especie D de adenovirus en la muestra, el producto lo detectará y lo tipificará como serotipo F41 de adenovirus.

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.	Comprobar la posición de la mezcla completa de reacción, así como la del Positive Control. Comprobar los volúmenes de la mezcla completa de reacción, así como los del Positive Control.
Error en la preparación de la mezcla completa de reacción.	Comprobar los volúmenes de los reactivos utilizados durante la preparación de la mezcla completa de reacción.
Degradación de la mezcla completa de reacción o de sus componentes.	No reutilizar la mezcla completa de reacción y utilizar siempre una mezcla recién preparada para cada sesión de trabajo. No dejar la mezcla completa de reacción a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. No exponer la mezcla «RT EnzymeMix» a temperaturas superiores a -20 °C durante más de 10 minutos. Volver a preparar la mezcla completa de reacción. Utilizar una nueva alícuota de los componentes.
Degradación del Positive Control.	No utilizar el Positive Control para más de 4 sesiones independientes: 3 horas cada una en el área de extracción o en la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración). Utilizar una nueva alícuota de Positive Control.
Error del 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 mezcla completa de reacción, así como del Negative Control. Comprobar el volumen de la mezcla completa de reacción, así como el del Negative Control.
Contaminación del Negative Control.	No utilizar el Negative Control para más de 1 sesión. Utilizar una nueva alícuota de agua para biología molecular.
Contaminación de la mezcla completa de reacción o de sus componentes.	Volver a preparar la mezcla completa de reacción. Utilizar una nueva alícuota de los componentes.
Contaminación del área de extracción, de las gradillas, del «Inventory Block» (bloque de inventario) o de la «Cooler Unit» (unidad de refrigeración).	Limpiar las superficies con detergentes acuosos, lavar las batas y sustituir los probetas y las puntas que se hayan utilizado.
Error del 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 mezcla completa de reacción, así como del Internal Control y la de la muestra. Comprobar los volúmenes de la mezcla completa de reacción, así como la del Internal Control y la de la muestra.
Error en la preparación de la mezcla completa de reacción.	Comprobar los volúmenes de los reactivos utilizados durante la preparación de la mezcla completa de reacción.
Degradación de la mezcla completa de reacción o de sus componentes.	No reutilizar la mezcla completa de reacción y utilizar siempre una mezcla recién preparada para cada sesión de trabajo. No dejar la mezcla completa de reacción a temperatura ambiente durante más de 30 minutos. No exponer la mezcla «RT EnzymeMix» a temperaturas superiores a -20 °C durante más de 10 minutos. Volver a preparar la mezcla completa de reacción. Utilizar una nueva alícuota de los componentes.
Degradación de la plantilla del Internal Control.	Utilizar una nueva alícuota del Internal Control.
Inhibición debida a la presencia de sustancias interferentes en la muestra.	Repetir la amplificación con una dilución de 1:2 en agua para biología molecular de la muestra eluida en una sesión en el modo de procesamiento «PCR Only». Repetir la extracción con una dilución de 1:2 en agua para biología molecular de la muestra pretratada en una sesión realizada en el modo de procesamiento «Extract + PCR».
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

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

Error en el cálculo del Ct	
Posibles causas	Soluciones
Concentración demasiado alta de la diana en la muestra o muestra con una señal de fluorescencia anómala.	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 de la muestra en una sesión realizada en el modo de procesamiento «PCR Only». - Repetir la extracción de la muestra pretratada con una dilución de 1:10 en agua para biología molecular en una sesión realizada en el modo de procesamiento «Extract + PCR».

Tasa anormalmente alta de resultados positivos dentro de la misma sesión (reacciones con valores de Ct tardíos similares)	
Posibles causas	Soluciones
Contaminación entre muestras durante los pasos preanalíticos.	Limpiar la micropipeta con una solución reciente de hipoclorito de sodio (lejía) al 3 % o un limpiador de ADN/ARN después de pipetear cada muestra. No utilizar pipetas de Pasteur. Las pipetas deben ser del tipo de desplazamiento positivo o utilizarse con puntas con filtro para aerosoles. Introducir las muestras en las últimas posiciones de los instrumentos, tal como se indica en la interfaz. Seguir la secuencia de carga indicada por el software.
Contaminación medioambiental en el laboratorio	Limpiar todas las superficies que están en contacto con el operador y las muestras (inclusive las pipetas) con solución de hipoclorito de sodio (lejía) al 3 % reciente o limpiador de ADN/ARN. Realizar un ciclo de descontaminación con radiación UV. Volver a preparar la mezcla completa de reacción o utilizar una nueva alícuota de CPE.

SÍMBOLOS



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. El precio de compra de este producto incluye derechos limitados y no transferibles para utilizar únicamente esta cantidad de producto exclusivamente para las actividades del comprador directamente relacionadas con el diagnóstico humano. Para obtener información sobre cómo adquirir una licencia para este producto con fines distintos de los indicados anteriormente, contactar con el departamento de licencias de ThermoFisher Scientific. Correo electrónico: outlicensing@thermofisher.com.

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

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

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

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

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 Viral PLUS ELiTe MGB® Kit

used in association with Genius series® platforms

Ref: RTS501ING



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 Viral PLUS ELiTe MGB® Kit is an in vitro diagnostic medical device intended to be used by healthcare professionals as qualitative multiplex nucleic acids reverse transcription and Real-Time PCR assay for the detection and identification of the genomic DNA of Adenovirus (ADV), and the genomic RNA of Norovirus (NV), Rotavirus (RV), Astrovirus (ASV) and Sapovirus (SV), extracted from clinical specimens.

The assay is able to detect the DNA of Adenovirus belonging to serotypes F40 and F41 (typed by melting analysis), the RNA of Norovirus belonging to genogroups GI and GII (typed by melting analysis), Rotavirus belonging to group A, human Astrovirus and human Sapovirus.

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

The product is intended for use as an aid in the diagnosis of gastrointestinal viral infections in patients suspected of having Adenovirus, Norovirus, Rotavirus, Astrovirus or Sapovirus infection.

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

Amplified sequence

Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
Target 1	GI and GII Polyprotein	FAM	NV
Target 2	capsid protein	AP690	ASV
Target 3	F40 and F41 Hexon protein	AP639	ADV
Target 4	group A NSP3	AP593	RV
Target 5	GI/GII/GIV and GV Polyprotein	AP559	SV
Internal Control	phage MS2	AP525	IC

Validated matrix

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

Kit content and related products

GI Viral PLUS ELiTe MGB Kit (RTS501ING)		GI Viral PLUS - ELiTe Positive Control (CTR501ING)	
	X 4		X 2
	X 3		
GI-V PCR Mix 4 tubes of 600 µL 24 reactions per tube 96 reactions per kit 5 freeze-thaw cycles per tube		RT EnzymeMix 2 tubes of 20 µL 48 reactions per tube 96 reactions per kit 10 freeze-thaw cycles	
GI-V Positive Control 3 tubes of 160 µL 4 reactions per tube 12 reactions per kit 4 freeze-thaw cycles			
Maximum shelf-life:		18 months	
Storage temperature		≤ -20°C	
		Maximum shelf-life	24 months
		Storage temperature	≤ -20°C

Other products required not provided in the kit

- | | |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> › ELiTe InGenius instrument: INT030. › ELiTe BeGenius instrument: INT040. › ELiTe InGenius SP 200: INT032SP200. › ELiTe InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS. › ELiTe InGenius PCR Cassette: INT035PCR. › ELiTe InGenius Waste Box: F2102-000. › 300 µL Filter Tips Axigen: TF-350-L-R-S. › 1000 µL Filter Tips Tecan: 30180118. | <ul style="list-style-type: none"> › CPE - Internal Control: CTCPE › InhibitEX Buffer (QIAGEN GmbH, Germany, ref. 19593) or an equivalent device. › Minitip Flocked Swab® (COPAN Italia S.p.A., Italy, ref. 501CS01) or an equivalent device. › FecalSwab™ (COPAN Italia S.p.A., Italy, ref. 470CE,) or an equivalent device with Cary Blair medium. |
|--|--|

ELiTe InGenius and ELiTe BeGenius Protocol

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

ELiTe InGenius and ELiTe BeGenius Performances

Matrix	Target	Limit of Detection	Sensitivity	Specificity
Native Stool / Stool collected in FecalSwab	Norovirus GI	219 TCID₅₀/mL	92.9% (130/140)	100% (101/101)
	Norovirus GII	151 TCID₅₀/mL		
	Astrovirus	690 TCID₅₀/mL	100% (50/50)	100% (100/100)
	Adenovirus F40	0.082 TCID₅₀/mL	100% (50/50)	100% (101/101)
	Adenovirus F41	0.006 TCID₅₀/mL		
	Rotavirus	2.4 TCID₅₀/mL	100% (50/50)	100% (101/101)
	Sapovirus GV	792 copies/mL	92.7% (51/55)	100% (101/101)
	Sapovirus GI/II/IV	1119 copies/mL		

Sample preparation

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

Sample type	Transport/Storage conditions			
	+16 / +26 °C (room temperature)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Native stool collected without preservatives	≤ 24 hours	≤ 48 hours	≤ 1 month	≤ 2 months
Stool collected in FecalSwab (Modified Cary Blair medium)	≤ 48 hours	≤ 5 days	≤ 1 month	≤ 2 months

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

ELiTe InGenius Procedures

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

Before analysis

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

- Prepare the complete reaction mixture

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

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

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", elution: "100 µL"	3. Scan the sample barcodes with hand-barcode reader or type the sample ID
4. Select the "Assay Protocol" of interest: GI Viral PLUS ELiTe_ST_200_100	5. Select the method "Extract + PCR" and the sample position "Extraction Tube"	6. Load the complete reaction mixture and the Internal Control in the Inventory Block
7. Load: PCR cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip Cassette, Extraction Tube racks	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results

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

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

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

ELITE BeGenius Procedures

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

Before analysis

1. Switch on ELITE BeGenius. Log in with username and password. Select the mode "CLOSED".	2. Verify controls: GI-V Positive Control and GI-V Negative Control in the "Controls" menu. <i>Note:</i> Both must have been run, approved and not expired.	3. Thaw the GI-V PCR Mix and the CTRCPE tubes. Vortex gently. Spin down 5 sec.																					
4. Prepare the complete reaction mixture	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Sample Number (N)</th><th>GI-V PCR Mix</th><th>RT EnzymeMix</th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1 ≤ N ≤ 5</td><td>(N + 1) x 20 µL</td><td>(N + 1) x 0.3 µL</td></tr> <tr> <td>6 ≤ N ≤ 11</td><td>(N + 2) x 20 µL</td><td>(N + 2) x 0.3 µL</td></tr> <tr> <td>N = 12</td><td>290 µL</td><td>4.4 µL</td></tr> <tr> <td>13 ≤ N ≤ 18</td><td>(N + 3) x 20 µL</td><td>(N + 3) x 0.3 µL</td></tr> <tr> <td>19 ≤ N ≤ 23</td><td>(N + 4) x 20 µL</td><td>(N + 4) x 0.3 µL</td></tr> <tr> <td>N = 24</td><td>580 µL</td><td>8.7 µL</td></tr> </tbody> </table>		Sample Number (N)	GI-V PCR Mix	RT EnzymeMix	1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0.3 µL	6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0.3 µL	N = 12	290 µL	4.4 µL	13 ≤ N ≤ 18	(N + 3) x 20 µL	(N + 3) x 0.3 µL	19 ≤ N ≤ 23	(N + 4) x 20 µL	(N + 4) x 0.3 µL	N = 24	580 µL	8.7 µL
Sample Number (N)	GI-V PCR Mix	RT EnzymeMix																					
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0.3 µL																					
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0.3 µL																					
N = 12	290 µL	4.4 µL																					
13 ≤ N ≤ 18	(N + 3) x 20 µL	(N + 3) x 0.3 µL																					
19 ≤ N ≤ 23	(N + 4) x 20 µL	(N + 4) x 0.3 µL																					
N = 24	580 µL	8.7 µL																					
	5. Vortex gently Spin down 5 sec Keep the complete reaction mixture in ice. Do not expose to direct light.																						

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen 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 Viral PLUS ELITE_Be_ST_200_100 Note: if a second extraction is performed repeat steps from 2 to 4	5. Print the labels to barcode the empty elution tubes. Load the tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit	6. Load the complete reaction mixture and the Internal Control in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit
7. Load "PCR Basket" with "PCR Cassette" and the "Extraction Basket" with the "ELITE InGenius SP 200" extraction cartridges and the required extraction consumables	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «PCR Only»	2. Load the extracted nucleic acid or controls barcoded tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit	3. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "100 µL"
4. Select the "Assay Protocol" of interest: GI Viral PLUS ELITE_Be_ST_200_100 or GI Viral PLUS ELITE_Be_PC or GI Viral PLUS ELITE_Be_NC	5. Load the Complete reaction mixture in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit	6. Load "PCR Basket" with "PCR Cassette"
7. Close the door. Start the run	8. View, approve and store the results	