

Instructions for use

HCV ELITe MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real



REF RTK601ING

UDI 08033891487072

CE **IVD**
0123

HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES

Rev.	Aviso de alteração	Data (dd/mm/aa)
10-R	Expansão de utilização do produto em associação com o instrumento MyGenius PRO (REF INT050) com matrizes de plasma em EDTA ou ACD e soro. Atualização para o "Modelo 2 versão 4.0.2" dos protocolos de ensaio para os instrumentos ELITe InGenius® (REF INT030) e ELITe BeGenius® (REF INT040). Novos gráficos e definição de conteúdos das instruções de utilização.	16/09/26
09-R	Atualização do teste de reatividade cruzada	10/04/26
08-R	Substituição do tubo de 2mL 953-217 e da tampa branca 953-223 pelo tubo de 2mL 953-065 relativo aos tubos de componentes de PCR Mix	01/08/25
07-R	Atualização para conformidade com o Regulamento (UE) 2017/746 em matéria de requisitos de dispositivo médico para diagnóstico in vitro (IVDR). Upgrade dos desempenhos analíticos e de diagnóstico no parágrafo CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO NOTE A composição do produto permanece inalterada	06/06/25
04	Outros produtos necessários: nota relativa à disponibilidade de HCV ELITe Standard (Ref STD601ING) e HCV - ELITe Positive Control (Ref CTR601ING) como produtos separados. Procedimento ELITe BeGenius: instruções detalhadas para preparar a mistura de reação completa para amostras com número superior a 12 em associação com o instrumento ELITe BeGenius. Procedimento ELITe BeGenius: correção de digitação na descrição do protocolo de ensaio. Avisos e precauções específicos para os componentes: prolongamento do período de utilização de cada tubo de reagente até 60 dias a partir da primeira abertura.	07/06/24
00 — 03	Desenvolvimento de novo produto e alterações subsequentes	-

ÍNDICE

1 UTILIZAÇÃO PREVISTA	4
2 PRINCÍPIOS DO ENSAIO	4
3 DESCRIÇÃO DO PRODUTO	4
4 MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO	6
5 MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO	6
6 OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS	7
7 AVISOS E PRECAUÇÕES	7
8 AMOSTRAS E CONTROLOS para o ELITe InGenius, ELITe BeGenius E MyGenius PRO	9
9 PROCEDIMENTO do ELITe InGenius	12
10 PROCEDIMENTO do ELITe BeGenius	20
11 PROCEDIMENTO MyGenius PRO	26
12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELITe InGenius, ELITe BeGenius e MyGenius PRO	32
13 REFERÊNCIAS	48
14 LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO	48
15 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS	49
16 SÍMBOLOS	55
17 NOTIFICAÇÃO PARA OS UTILIZADORES	56
18 NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA	56
Appendix A QUICK START GUIDE	57
Appendix B QUICK START GUIDE	63

1 UTILIZAÇÃO PREVISTA

O produto **HCV ELiTe MGB® Kit** consiste num dispositivo médico de diagnóstico in vitro que se destina a ser usado por profissionais de saúde como um ensaio quantitativo de transcrição reversa e PCR em tempo real de ácidos nucleicos para a deteção e a quantificação do ARN do vírus da Hepatite C (HCV), extraído de amostras clínicas.

O ensaio é validado em associação com os instrumentos **ELiTe InGenius®** e **ELiTe BeGenius®** e **MyGenius PRO®** (nome de registo ELIVERSE®), sistemas automatizados e integrados para a extração, transcrição reversa, PCR em tempo real e a interpretação dos resultados, usando amostras humanas de plasma colhido em EDTA ou em ACD e soro.

O produto está previsto para utilização como auxiliar na gestão de indivíduos infetados por HCV que estejam a realizar terapia antiviral.

Os resultados devem ser interpretados em conjunto com todas as observações clínicas e resultados laboratoriais relevantes.

O produto não se destina a ser utilizado para rastrear ou detetar a presença ou a exposição a agentes transmissíveis no sangue, componentes sanguíneos, células, tecidos, órgãos ou quaisquer dos seus derivados, a fim de avaliar a sua adequação para transfusão, transplante ou administração de células. O produto não se destina a ser utilizado como teste de diagnóstico para confirmar a presença de infeção pelo HCV.

2 PRINCÍPIOS DO ENSAIO

Este é um ensaio quantitativo de transcrição reversa e PCR em tempo real de um passo para a deteção de ARN de HCV de amostras, retrotranscritas e, em seguida, amplificadas usando uma mistura de reação completa que contém primers e sondas com tecnologia ELiTe MGB®.

As sondas ELiTe MGB são ativadas quando hibridizam com os produtos PCR relacionados. O **ELiTe InGenius**, o **ELiTe BeGenius** e o **MyGenius PRO** monitorizam o aumento da fluorescência e calculam os ciclos limiares (Ct) e as temperaturas de fusão (Tm). A quantidade de HCV é calculada com base numa curva de calibração armazenada.

Nas sondas ELiTe MGB, os fluoróforos são inativados no estado de cadeia única de espiral aleatória da sonda. Os fluoróforos são ativados no duplex amplicon / sonda dado que o inativador está espacialmente separado do fluoróforo. Ressalva-se que o fluoróforo não é clivado durante a PCR e pode ser utilizado para a análise da dissociação e o cálculo da temperatura de fusão.

3 DESCRIÇÃO DO PRODUTO

O **HCV ELiTe MGB Kit** fornece os seguintes componentes:

- **HCV ELiTe MGB**

Este componente fornece os seguintes dois subcomponentes:

- **HCV PCR Mix**, uma PCR Mix otimizada e estabilizada que contém:

- primers e sonda específicos para o **HCV**, região 5' UTR, detetados no canal **HCV**; a sonda é estabilizada por MGB®, inativada pelo Eclipse Dark Quencher® e identificada pelo corante FAM.®, and labeled by FAM dye.
- primers e sondas específicos para Internal Control (**IC**), específico para uma região do ARN genómico **MS2** do fago, detetado no Canal **IC**; a sonda é estabilizada pelo MGB®, inativada pelo Eclipse Dark Quencher e identificada com o corante AquaPhluor® AP525.
- tampão, cloreto de magnésio, trifosfatos de nucleótidos e ADN polimerase de início a quente.

- **RT EnzymeMix**, uma mistura otimizada e estabilizada de enzimas para a transcrição reversa.

O **HCV ELiTe MGB Mix** contém reagentes suficientes para **96 testes** no **ELiTe InGenius**, no **ELiTe BeGenius** e no **MyGenius PRO**, com 20 µL de **HCV PCR Mix** e 0,3 µL de **RT EnzymeMix** usados por reação.

- **HCV ELiTe Standard**

Este componente fornece os subcomponentes **HCV Q-PCR Standard**, quatro soluções estabilizadas de ADN de plasmídeo com a região HCV 5' UTR amplificada a **título conhecido**. O **HCV ELITE Standard** tem de ser usado com **HCV ELITE MGB Mix** no **ELITE InGenius**, no **ELITE BeGenius** e no **MyGenius PRO** para calcular a curva de calibração do sistema (lote do produto e instrumento) para a quantificação de HCV.

NOTE

A concentração de ADN de plasmídeo foi determinada por espectrofotómetro de UV como cópias/mL, que estava relacionada com a "6th HCV International Standard" (NIBSC, UK, código 18/184) por um fator de conversão permitindo a quantificação de HCV em Unidades Internacionais/mL (IU/mL).

O **HCV ELITE Standard** contém reagentes suficientes para **2 sessões** no **ELITE InGenius**, no **ELITE BeGenius**, e no **MyGenius PRO**, sendo usados 20 µL por reação.

- **HCV - ELITE Positive Control**

Este componente contém o subcomponente **HCV Positive Control**, uma solução estabilizada de ADN de plasmídeo com a região 5' UTR do HCV amplificada a **título conhecido**. O **HCV Positive Control** tem de ser usado com a **HCV ELITE MGB Mix** no **ELITE InGenius**, no **ELITE BeGenius** e no **MyGenius PRO** para gerar os gráficos de controlo para a verificação do sistema (lote do produto e instrumento).

O **HCV Positive Control** contém reagentes suficientes para **8 sessões** no **ELITE InGenius**, no **ELITE BeGenius** e no **MyGenius PRO (4 testes em cada tubo)**, com 20 µL usados por reação.

- **HCV Internal Control**

Este componente contém o subcomponente **HCV CPE** (Internal Control exógeno), uma solução estabilizada de ARN genómico MS2. O **HCV Internal Control** tem de ser usado no **ELITE InGenius** e no **ELITE BeGenius** e é adicionado a reagentes de extração para validar os resultados de amostras negativas para HCV.

O **HCV Internal Control** contém reagentes suficientes para **96 testes** no **ELITE InGenius** e no **ELITE BeGenius (12 testes em cada tubo)**, com 10 µL usados por reação.

O **HCV Internal Control NÃO** é usado em associação com o **MyGenius PRO**, para o qual o produto Internal Control Maxi (ref. ICMAXI) (não incluído no kit) deve ser utilizado.

4 MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO

Table 1

Componente	Subcomponente	Descrição	Quantidade	Classificação dos perigos
HCV ELiTe MGB Mix ref. RTS601ING	HCV PCR Mix ref. RTS601ING	Mistura de reagentes para a transcrição reversa e o PCR em tempo real no tubo com tampa NATURAL	4 x 600 µL	-
	RT EnzymeMix ref. RTS003-RT	Enzimas de transcriptase reversa no tubo com tampa com inserção PRETA	2 x 20 µL	-
HCV ELiTe Standard ref. STD601ING	HCV Q-PCR Standard 10 ⁵ ref. STD601ING-5	Solução de plasmídeo no tubo com tampa VERMELHA	1 x 160 µL	-
	HCV Q-PCR Standard 10 ⁴ ref. STD601ING-4	Solução de plasmídeo no tubo com tampa AZUL	1 x 160 µL	
	HCV Q-PCR Standard 10 ³ ref. STD601ING-3	Solução de plasmídeo no tubo com tampa VERDE	1 x 160 µL	
	HCV Q-PCR Standard 10 ² ref. STD601ING-2	Solução de plasmídeo no tubo com tampa AMARELA	1 x 160 µL	
HCV - ELiTe Positive Control ref. CTR601ING	HCV Positive Control ref. CTR601ING	Solução de plasmídeo no tubo com tampa PRETA	2 x 160 µL	-
HCV Internal Control ref. CPE601ING	HCV Internal Control ref. CPE601ING	Solução de ADN de plasmídeo e ARN genómico de MS2 no tubo com tampa NATURAL	8 x 160 µL	-

5 MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO

- Exaustor de fluxo de ar laminar.
- Luvas de nitrilo sem pó descartáveis ou material semelhante.
- Misturador de vórtice.
- Microcentrífuga de bancada (~5.000 RPM).
- Microcentrífuga de bancada (~13.000 RPM).
- Micropipetas e pontas esterilizadas com filtro de aerossóis ou pontas esterilizadas de deslocação positiva (intervalo de volume: 0,5 - 1000 µL).
- Tubos com tampa de rosca esterilizados de 2,0 mL (Sarstedt, Alemanha, ref. 72.694.005).
- Tubos com tampa de rosca esterilizados de 0,5 mL (Sarstedt, Alemanha, ref. 72.730.005)
- Água de qualidade para biologia molecular.

6 OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS

Os reagentes para a extração do ARN da amostra e os consumíveis **não** são fornecidos com este produto. Para a extração automática de ácidos nucleicos, a transcrição reversa, a PCR em tempo real e a interpretação dos resultados das amostras, são necessários os produtos seguintes.

Table 2

Instrumento e software	Produto e reagentes
ELiTe InGenius (ELiTechGroup S.p.A., EG SpA ref. INT030) Software ELiTe InGenius versão 1.4.0 (ou mais recente) HCV ELiTe_PC , protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Positive Control HCV ELiTe_NC , protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Negative Control HCV ELiTe_STD , protocolo do ensaio com parâmetros para a análise dos calibradores HCV ELiTe_PL_600_50 , protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de plasma HCV ELiTe_Se_600_50 , protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de soro	ELiTe InGenius SP 1000 (EG SpA, ref. INT033SP1000) Consumíveis ELiTe InGenius e ELiTe BeGenius (ver instruções de utilização do ELiTe InGenius e do ELiTe BeGenius)
ELiTe BeGenius (EG SpA, ref. INT040) Software ELiTe BeGenius versão 2.3.0. (ou superior) HCV ELiTe_Be_PC , protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Positive Control HCV ELiTe_Be_NC , protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Negative Control HCV ELiTe_Be_STD , protocolo do ensaio com parâmetros para a análise dos Calibradores HCV ELiTe_Be_PL_600_50 , protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de plasma HCV ELiTe_Be_Se_600_50 , protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de soro	
MyGenius PRO (EG SpA ref: INT050). Software MyGenius PRO versão BB—04 (ou posterior) HCV ELiTe_My_PC , protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Positive Control HCV ELiTe_My_NC , protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Negative Control HCV ELiTe_My_STD , protocolo do ensaio com parâmetros para a análise dos Calibradores HCV ELiTe_My_PL_IU_600_50 , protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de plasma HCV ELiTe_My_PL_cmL_600_50 , protocolo de ensaio com parâmetros para análise da amostra de plasma e resultados com cópias/mL HCV ELiTe_My_Se_IU_600_50 , protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de plasma HCV ELiTe_My_Se_cmL_600_50 , protocolo de ensaio com parâmetros para análise da amostra de soro e resultados com cópias/mL	Internal Control Maxi (EG SpA, Ref. ICMAXI) Negative Control (EG SpA, Ref. CTRNEG) Consumíveis MyGenius PRO (ver instruções de utilização do MyGenius PRO),

7 AVISOS E PRECAUÇÕES

Este produto foi concebido para utilização exclusiva in-vitro.

7.1 Avisos e precauções gerais

- Manuseie e elimine todas as amostras biológicas como se fossem infecciosas. Evite o contacto direto com as amostras biológicas. Evite salpicos ou vaporizações. Tubos, pontas e outros materiais que entrarem em contacto com as amostras biológicas devem ser tratados durante, pelo menos, 30 minutos com hipoclorito de sódio (lixívia) a 3% ou em autoclave durante uma hora a 121 °C antes da eliminação.
- Manuseie e elimine todos os reagentes e todos os materiais usados na realização do ensaio como se fossem infecciosos. Evite o contacto direto com os reagentes. Evite salpicos ou vaporizações. Os resíduos devem ser manuseados e eliminados em conformidade com as normas de segurança adequadas. Os materiais combustíveis descartáveis devem ser incinerados. Os resíduos líquidos que contenham ácidos ou bases devem ser neutralizados antes da eliminação. Não permita que os reagentes de extração entrem em contacto com hipoclorito de sódio (lixívia).
- Use vestuário e luvas de proteção adequados e proteja os olhos e o rosto.
- Nunca deve pipetar soluções com a boca.
- Não coma, beba, fume ou aplique produtos cosméticos nas áreas de trabalho.
- Lave cuidadosamente as mãos após manusear amostras e reagentes.
- Elimine os reagentes remanescentes e os desperdícios em conformidade com os regulamentos em vigor.
- Leia atentamente todas as instruções fornecidas antes de efetuar o ensaio.
- Durante a realização do ensaio, siga as instruções fornecidas com o produto.
- Não utilize o produto após a data de validade indicada.
- Use apenas os reagentes fornecidos com o produto e os recomendados pelo fabricante.
- Não use reagentes de lotes diferentes.
- Não use reagentes de outros fabricantes.

7.2 Avisos e precauções para biologia molecular

Os procedimentos de biologia molecular requerem profissionais qualificados e com formação, para evitar o risco de resultados incorretos, especialmente devido à degradação de ácidos nucleicos na amostra ou à contaminação da amostra por produtos da PCR.

São necessárias batas de laboratório, luvas e ferramentas para preparação da sessão de trabalho.

As amostras devem ser adequadas e, se possível, exclusivas para este tipo de análise. As amostras devem ser manuseadas sob uma câmara de fluxo laminar. As pipetas usadas no manuseamento de amostras devem ser usadas exclusivamente para este fim específico. As pipetas devem ser do tipo de deslocação positiva ou ser usadas com pontas com filtro de aerossóis. As pontas usadas devem ser esterilizadas, estar livres de DNases e RNases e livres de ADN e ARN.

Os reagentes devem ser manuseados sob uma câmara de fluxo laminar. As pipetas usadas no manuseamento dos reagentes devem ser usadas exclusivamente para este fim. As pipetas devem ser do tipo de deslocação positiva ou ser usadas com pontas com filtro de aerossóis. As pontas usadas devem ser esterilizadas, estar livres de DNases e RNases e livres de ADN e ARN.

Os produtos da extração têm de ser manuseados com vista a impedir a dispersão no meio ambiente e a evitar a contaminação da área de trabalho do instrumento.

A PCR Cassette deve ser manuseada com cuidado e nunca deve ser aberta, para evitar a difusão e a contaminação por transferência.

7.3 Avisos e precauções específicos para os componentes

Table 3

Componente (Subcomponente)	Temperatura de armazena- mento	Utilização a partir da primeira abertura	Ciclos de congelação/ desconge- lação	Estabilidade de bordo (ELITe InGenius e ELITe BeGenius)	Estabilidade de bordo (MyGenius PRO)
HCV ELITe MGB (HCV PCR Mix)	-20°C ou inferior (protegido da luz)	60 dias	até cinco	—	—
HCV ELITe MGB (RT EnzymeMix)	-20°C ou inferior	60 dias	até dez vezes, durante até dez minutos cada a 2 / +8 °C	—	—
HCV ELITe Standard (HCV Q-PCR Standard)	-20°C ou inferior	60 dias	até duas	2 sessões separadas de 2 horas cada	até 2 horas por 4 vezes*
HCV ELITe – Positive Control (HCV Positive Control)	-20°C ou inferior	60 dias	até quatro	4 sessões separadas de 3 horas cada	até 3 horas por 4 vezes*
HCV ELITe Internal Control (HCV Internal Control)	-20°C ou inferior	60 dias	até seis	6 sessões separadas de 3 horas cada	—

* com ciclos intermédios de congelação/descongelação

8 AMOSTRAS E CONTROLOS para o ELITe InGenius, ELITe BeGenius E MyGenius PRO

8.1 Amostras e protocolos de ensaio

Este produto destina-se a ser usado no **ELITe InGenius**, no **ELITe BeGenius** e no **MyGenius PRO** com as amostras clínicas relevantes validadas identificadas e manuseadas de acordo com as diretrizes laboratoriais, e colhidas, transportadas e armazenadas sob as seguintes condições:

Table 4

Amostra	Requisitos de colheita	Condições de transporte / armazenamento			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ±10 °C	-70 ±15 °C
Plasma	EDTA ou ACD	≤ 1 dia	≤ 3 dias	≤ 1 mês	≤ 6 meses
Soro	-	≤ 1 dia	≤ 5 dias	≤ 1 mês	≤ 6 meses

EDTA, ácido etilenodiamino tetra-acético; ACD, ácido-citrato-dextrose

Recomenda-se a divisão das amostras em alíquotas antes da congelação, para evitar ciclos repetidos de congelação / descongelação. Quando utilizar amostras congeladas, descongele as mesmas apenas antes da extração, para evitar uma possível degradação do ácido nucleico.

Para realizar o teste de amostras no **ELITe InGenius** e no **ELITe BeGenius**, devem ser usados os seguintes Assay protocol (Protocolos de ensaio). Estes protocolos de DIV foram especificamente validados com os **ELITe InGenius** ou **ELITe BeGenius** com as matrizes indicadas.

Table 5 Protocolo de ensaio para o HCV ELITE MGB Kit

Amostra	Instrumento	Protocolo de ensaio	Relatório	Características
Plasma	ELITE InGenius	HCV ELITE_PL_600_50	cópias/mL / IU/mL	Volume inicial de extração: 600 µL Volume de eluição da extração: 50 µL Internal Control: 10 µL Sonicação: NÃO Fator de diluição: 1,7 Volume da PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL
	ELITE BeGenius	HCV ELITE_Be_PL_600_50	cópias/mL / IU/mL	Volume inicial de extração: 600 µL Volume de eluição da extração: 50 µL Internal Control: 10 µL Fator de diluição: 1 Volume da PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL
Soro	ELITE InGenius	HCV ELITE_Se_600_50	cópias/mL / IU/mL	Volume inicial de extração: 600 µL Volume de eluição da extração: 50 µL Internal Control: 10 µL Sonicação: NÃO Fator de diluição: 1,7 Volume da PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL
	ELITE BeGenius	HCV ELITE_Be_Se_600_50	cópias/mL / IU/mL	Volume inicial de extração: 600 µL Volume de eluição da extração: 50 µL Internal Control: 10 µL Fator de diluição: 1 Volume da PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL

Para realizar os testes de amostras no **MyGenius PRO**, devem ser usados os seguintes protocolos de ensaio. Estes protocolos IVD foram especificamente validados com os ELITE MGB Kits e o **MyGenius PRO** com as matrizes indicadas.

Table 6 Protocolos de ensaio para HCV ELITE MGB Kit e MyGenius PRO

Amostra	Instrumento	Nome do protocolo de ensaio	Relatório	Características
Plasma ACD ou EDTA	My Genius PRO	HCV ELITE_My_PL_IU_600_50	IU/mL	Volume inicial de extração: 600 µL Volume de eluição da extração: 50 µL Internal Control: 10 µL
		HCV ELITE_My_PL_cmL_600_50	cópias/ /mL	Fator de diluição: 1 Volume de PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL
Soro	My Genius PRO	HCV ELITE_My_Se_IU_600_50	IU/mL	Volume inicial de extração: 600 µL Volume de eluição da extração: 50 µL Internal Control: 10 µL
		HCV ELITE_My_Se_cmL_600_50	cópias/ /mL	Fator de diluição: 1 Volume de PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL

NOTE

Verifique se o tubo primário e o volume da amostra são compatíveis com o ELITE InGenius, o ELITE BeGenius ou o MyGenius PRO, seguindo as instruções de utilização dos instrumentos.

O volume da amostra num tubo primário varia consoante o tipo de tubo carregado. Consulte as instruções de utilização do kit de extração para obter mais informações sobre como preparar e realizar o procedimento de extração.

Se necessário, 600 µL de amostra devem ser transferidos para um tubo de extração (para o ELITE InGenius) ou para um tubo Sarstedt de 2 mL (para o ELITE BeGenius) e 660 µL de amostra devem ser transferidos para um tubo Sarstedt de 2 mL (para MyGenius PRO).

NOTE

A pipetagem de amostras do tubo principal do esfregaço para o **tubo de extração** ou o **tubo Sarstedt de 2 mL** pode **gerar contaminação**. Utilize as pipetas adequadas e siga todas as recomendações reportadas na secção "7 AVISOS E PRECAUÇÕES page 7".

Os ácidos nucleicos purificados podem ser deixados à temperatura ambiente durante 16 horas e armazenados a -20 °C ou abaixo durante não mais de um mês.

Consulte "Substâncias Potencialmente Interferentes" na [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELITE InGenius, ELITE BeGenius e MyGenius PRO page 32](#) para verificar os dados relativos a substâncias interferentes.

Não use plasma colhido em heparina, a qual é um conhecido inibidor da PCR.

Não use plasma hemolítico, uma vez que a hemoglobina inibe a reação de PCR.

8.2 Calibradores e controlos da PCR

A curva de calibração tem de ser gerada e aprovada para cada lote de reagente de PCR.

- Para a curva de calibração, utilize os quatro níveis de produto HCV ELITE Standard, fornecido com este kit, com os protocolos do ensaio **HCV ELITE_STD** ou **HCV ELITE_Be_STD** ou **HCV ELITE_My_STD**,

NOTE

As concentrações de Q – PCR Standards são expressas em cópias/reação (10^5 cópias / rxn, 10^4 cópias / rxn, 10^3 cópias / rxn, 10^2 cópias / rxn). Consulte "Incerteza da curva de standard" em [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELITE InGenius, ELITE BeGenius e MyGenius PRO page 32](#)

Os resultados do controlo da PCR têm de ser gerados e aprovados para cada lote de reagente de PCR.

- Para o Positive Control, use o produto **HCV - ELITE Positive Control**, fornecido com este kit, com os protocolos de ensaio **HCV ELITE_PC** ou **HCV ELITE_Be_PC** ou **HCV ELITE_My_PC**,

Para o Negative Control, utilize água de qualidade para biologia molecular (não fornecida com este kit) com os protocolos de ensaio **HCV ELITE_NC** ou **HCV ELITE_Be_NC** ou utilize o **Negative Control** (não fornecido com este kit) com o protocolo de ensaio **HCV ELITE_My_NC**.

NOTE

O **ELITE InGenius**, o **ELITE BeGenius** e o **MyGenius PRO** permitem a geração e o armazenamento da curva de calibração e a validação do controlo de PCR para cada lote de reagente de PCR.

As curvas de validação expiram após **60 dias** e, nesse momento, é necessário voltar a executar a calibração.

Os resultados do controlo da PCR expiram **após 15** e, nesse momento, é necessário voltar a executar os controlos positivos e negativos.

Os Calibradores e os Controlos da PCR devem ser novamente testados se ocorrer algum dos seguintes eventos:

- se for usado um novo lote de reagentes,
- os resultados da análise de controlo da qualidade se encontrarem fora da especificação (ver o parágrafo seguinte),
- for realizada qualquer manutenção ou assistência significativa nos instrumentos **ELITE InGenius**, **ELITE BeGenius** e **MyGenius PRO**.

8.3 Controlos da qualidade

Recomenda-se a verificação do procedimento de extração e PCR. Podem ser usadas amostras arquivadas ou material de referência certificado. Os controlos externos devem ser usados em conformidade com as organizações de acreditação locais, estatais e federais, consoante aplicável.

9 PROCEDIMENTO do ELITE InGenius

O procedimento para uso do **HCV ELITE MGB Kit** com o **ELITE InGenius** é composto por três passos:

Table 7

PASSO 1	Verificação da prontidão do sistema	
PASSO 2	Preparação da sessão	A) Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair+PCR])
		B) Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR])
		C) Execução da calibração (PCR Only [Apenas PCR])
		D) Execução de Positive Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR])
PASSO 3	Revisão e aprovação de resultados	1) Validação da Curva de calibração
		2) Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control
		3) Validação dos resultados das amostras
		4) Elaboração do relatório do resultado da amostra

9.1 PASSO 1 – Verificação da disponibilidade do sistema

Antes de iniciar a sessão:

- ligue o **ELiTe InGenius** e inicie sessão no modo “**CLOSED**” (fechado),
- - no menu “Calibração” na página inicial, verifique se os Calibradores (**Q - PCR Standard**) estão aprovados e válidos (Estado) para o lote de **PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja calibradores válidos para o lote **PCR Mix**, realize a calibração conforme descrito nas secções seguintes,
- no menu “Controlos” na página inicial, verifique se os controlos de PCR (**Positive Control, Negative Control**) estão aprovados e válidos (estado) para o lote de **PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja controlos de PCR válidos disponíveis para o lote da **PCR Mix** execute os controlos de PCR conforme descrito nas secções seguintes,
- selecione o tipo de execução, seguindo as instruções na Interface Gráfica do Utilizador (GUI) para a preparação da sessão e utilize os Protocolos de ensaio fornecidos pela EG SpA. (ver “Amostras e Controlos”).

Se o protocolo do ensaio que precisa não estiver carregado no sistema, contacte o Serviço de Apoio ao cliente da ELiTechGroup de sua localidade.

9.2 PASSO 2 - Configuração da sessão

O **HCV ELiTe MGB Kit** pode ser usado no **ELiTe InGenius** para realizar:

- A. Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair+PCR]),
- B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR]),
- C. Execução de calibração (apenas PCR),
- D. Execução de Positive Control e Negative Control (PCR Only [apenas PCR]).

Todos os parâmetros requeridos estão incluídos no Protocolo de ensaio disponível no instrumento e são automaticamente carregados quando o Protocolo de ensaio é selecionado.

NOTE

O **ELiTe InGenius** pode ser ligado ao “Laboratory Information System” (Sistema de Informações Laboratoriais - LIS), que permite descarregar a informação da sessão. Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

Antes de configurar uma execução:

1. Descongele os tubos **HCV PCR Mix** necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para **24 testes** (5 ou mais testes por sessão). Misture por meio de vórtice a baixa velocidade durante 10 segundos três vezes e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.

NOTE

Proteja a **PCR Mix** da luz enquanto a aquece, dado que este reagente é fotossensível.

2. Coloque de parte os tubos de **RT EnzymeMix** necessários. Cada tubo é suficiente para **48 testes**. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.

NOTE

A **RT EnzymeMix** não deve ser exposta a temperaturas superiores a -20 °C durante mais de 10 minutos.

3. Prepare um tubo de 2 mL (Sarstedt, ref. 72.694.005, não incluído no kit) para a **mistura de reação completa** e identifique-o com um marcador de tinta permanente.
4. Calcule os volumes necessários de **HCV PCR Mix** e **RT EnzymeMix** para preparar a **mistura de reação completa** com base no número de amostras (N) a serem analisadas, conforme descrito na tabela seguinte.

Table 8

Número de amostras (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 12$	290 μL	4,4 μL

5. Prepare a **mistura de reação completa** transferindo para o tubo de 2 mL identificado os volumes calculados dos dois componentes. Misture por meio de vórtice a baixa velocidade durante 10 segundos três vezes e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.

NOTE

A **mistura de reação completa** pode ser usada dentro de **7 horas** se mantida num bloco refrigerado (durante 2 sessões de 3 horas cada e o tempo necessário para iniciar uma terceira sessão). A mistura de reação completa **não pode** ser armazenada para reutilização.

NOTE

A **mistura da reação completa** é sensível à luz, não a exponha à luz direta.

Para configurar um dos quatro tipos de execução, siga os passos abaixo diante da GUI:

Table 9

	A. Execução da amostra (Extract + PCR) [Extrair +PCR]	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR])
1	Identifique amostras e, se necessário, descongele à temperatura ambiente, misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Se necessário, 600 μL da amostra devem ser transferidos para um Extraction Tube (Tubo de extração) anteriormente identificado. Qualquer volume em excesso será deixado no Extraction Tube (Tubo de extração) pelo ELiTe InGenius. Descongele os tubos de CPE necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.	Descongele os tubos de eluição contendo os ácidos nucleicos extraídos à temperatura ambiente. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.
2	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Início).	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Início).
3	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 1000 μL e que o "Extracted Elute Volume" (Volume de eluição do extraído) é de 50 μL .	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 1000 μL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição do extraído") é de 50 μL .
4	Para cada amostra, atribua um Track e introduza a "SampleID" (SID) digitando ou lendo o código de barras.	Para cada amostra, atribua um Track e introduza a "SampleID" (SID) digitando ou lendo o código de barras.
5	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").
6	Certifique-se de que o "Protocol" (Protocolo) apresentado é: "Extract + PCR" (Extrair + PCR).	Selecione "PCR Only" (Apenas PCR) na coluna "Protocol".

Table 9 (continued)

	A. Execução da amostra (Extract + PCR) [Extrair +PCR]	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR])
7	Selecione a posição de carregamento da amostra como "Primary tube" (Tubo primário) ou "Extraction Tube" (Tubo de extração) na coluna "Sample Position" (Posição da amostra). Certifique-se de que o " Dilution factor " (Fator de diluição) é " 1,7 ".	Certifique-se de que a posição de carregamento da amostra na coluna "Sample Position" (Posição da amostra) é "Elution Tube (bottom row)" (Tubo de eluição [linha inferior]). Certifique-se de que o " Dilution factor " (Fator de diluição) é " 1,7 ".
8	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
9	Carregue a CPE e a mistura de reação completa no "Inventory Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza o número de lote do CPE e PCR Mix, data de expiração e número de reações por cada tubo.	Carregue a mistura de reação completa no "Inventory Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza a CPE e o número de lote da PCR Mix, a data de validade e o número de reações para cada tubo.
10	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
11	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.
12	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
13	Carregue a PCR Cassette, os tubos de eluição, os cartuchos de extração Elite InGenius SP 1000 e todos os consumíveis e amostras necessários para serem extraídos.	Carregue a PCR Cassette, os tubos de eluição com amostras extraídas.
14	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
15	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
16	Prima "Start" (Iniciar).	Prima "Start" (Iniciar).

Table 10

	C. Execução da calibração (PCR Only) (Apenas PCR)	D. Execução do Positive Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR])
1	Descongele , se necessário Q-PCR Standard tubes (Cal1: Q-PCR Standards 10 ² , Cal2: Q-PCR Standards 10 ³ , Cal3: Q-PCR Standards 10 ⁴ , Cal4: Q-PCR Standards 10 ⁵) à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture por meio de vórtice a baixa velocidade durante 10 segundos três vezes e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.	Descongele os tubos de Positive Control à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture por meio de vórtice a baixa velocidade durante 10 segundos três vezes e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Prepare o Negative Control transferindo pelo menos 50 µL de água de grau de biologia molecular para um "Elution tube" (Tubo de eluição), fornecido com o ELiTe InGenius SP 1000 Consumable Set.
2	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Início).	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Início).
3	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" é de 1000 µL e que o "Extracted Elute Volume" é de 50 µL.	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 1000 µL e que o "Extracted Elute Volume" (Volume de eluição do extraído) é de 50 µL.
4	Para o Q-PCR Standard, atribua a "Track" (Track), selecione o Assay Protocol (Protocolo de ensaio) (ver "Amostras e Controlos") na coluna "Assay" (Ensaio) e introduza o número de lote e a data de expiração do reagente.	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos"). Introduza o número do lote e a data de validade do Positive Control e da água de grau biológico molecular.

Table 10 (continued)

	C. Execução da calibração (PCR Only) (Apenas PCR)	D. Execução do Positive Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR])
5	Certifique-se de que "PCR Only" (Apenas PCR) está selecionado na coluna "Protocol" (Protocolo).	Certifique-se de que "PCR Only" (Apenas PCR) está selecionado na coluna "Protocol" (Protocolo).
6	Certifique-se de que a posição de carregamento da amostra na coluna "Sample Position" (Posição da amostra) é "Elution Tube (bottom row)" (Tubo de eluição [linha inferior]).	Certifique-se de que a posição de carregamento da amostra na coluna "Sample Position" (Posição da amostra) é "Elution Tube (bottom row)" (Tubo de eluição [linha inferior]).
7	Carregue a mistura de reação completa no "Inventory Block" consultando a "Load List" e introduza o número de lote, data de validade da PCR Mix e o número de reações para cada tubo.	Carregue a mistura de reação completa no "Inventory Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza o número de lote, data de validade da PCR Mix e o número de reações para cada tubo.
8	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
9	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua os "Tip Racks" (Racks de pontas), se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de ponta) na "Inventory Area" (Área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.
10	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
11	Carregue a PCR Cassette e os tubos de Q-PCR Standard.	Carregue a PCR Cassette, o Positive Control e o Negative Control.
12	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
13	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
14	Prima "Start" (Iniciar)	Prima "Start" (Iniciar).

Quando a sessão tiver terminado, o **ELITE InGenius** permite aos utilizadores ver, aprovar, guardar os resultados e imprimir e guardar o relatório.

NOTE

No final da execução a restante amostra extraída no **Elution tube** (Tubo de eluição) deve ser removida do instrumento, tapada, identificada e guardada a -20 ± 10 °C durante não mais de um mês. Evite derramar a Amostra extraída.

NOTE

A **mistura de reação completa** pode ser mantida no bloco refrigerado até 7 horas (para 2 sessões de 3 horas cada e durante o tempo necessário para iniciar uma terceira sessão). Misture suavemente e centrifugue os conteúdos durante 5 segundos antes de dar início à sessão seguinte. A mistura de reação completa **não pode** ser guardada para reutilização.

NOTE

No final da execução, o **Q-PCR Standards** restante deve ser removido do instrumento, tapado e guardado a -20 °C ou menos. Evite derramar o **Q - PCR Standards**.

NOTE

Os **Q - PCR Standard** podem ser usados para 2 sessões separadas de 2 horas cada.

NOTE

No final da execução, o **Positive Control** restante deve ser removido do instrumento, tapado e guardado a -20 °C ou menos. Evite derramar o Positive Control. O restante negative control deve ser eliminado.

NOTE

O **Positive Control** pode ser usado para 4 sessões separadas de 3 horas cada.

NOTE

No final da execução, a **PCR Cassette** e os outros consumíveis têm de ser eliminados seguindo todos os regulamentos governamentais e ambientais. Evite derramar os produtos de reação.

9.3 PASSO 3 - Revisão e aprovação dos resultados

O **ELiTe InGenius** monitoriza os sinais de fluorescência do alvo e do controlo interno para cada reação e aplica automaticamente os parâmetros do Assay Protocol (Protocolo de ensaio) para gerar curvas de PCR que são então interpretadas sob a forma de resultados.

No final da execução, é automaticamente apresentado o ecrã “Results Display” (Exibição dos resultados). Neste ecrã são mostrados os resultados e informações sobre a execução. A partir deste ecrã é possível aprovar o resultado, imprimir ou guardar os relatórios (“Sample Report” (Relatório da amostra) ou “Track Report” (Relatório da calha)). Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

NOTE

O sistema **ELiTe InGenius** pode ser ligado ao “Laboratory Information System” (Sistema de Informações Laboratoriais - LIS), que permite carregar os resultados da sessão no centro de dados laboratoriais. Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

O **ELiTe InGenius** gera os resultados com o **HCV ELiTe MGB Kit** através do seguinte procedimento:

1. Validação da Curva de calibração,
2. Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control,
3. Validação dos resultados da amostra,
4. Elaboração do relatório do resultado da amostra.

9.3.1 Validação da Curva de calibração

O **ELiTe InGenius software** interpreta os resultados do PCR para o alvo das reações do Calibrador com os parâmetros do Assay Protocol (Protocolo de ensaio) **ELiTe STD**. A Ct resultante versus a concentração produz a curva da calibração.

As curvas de calibração, específicas para o lote de reagente da PCR, são guardadas na base de dados (Calibração). Podem ser visualizados e aprovados pelos utilizadores “Administrator” (Administrador) ou “Analyst” (Analista), seguindo as instruções na GUI.

A curva da calibração expira **após 60 dias**.

NOTE

Se a curva de calibração não cumprir os critérios de aceitação, é mostrada a mensagem “Failed” no ecrã “Calibration”. Neste caso, os resultados não podem ser aprovados e têm de ser repetidas as reações de amplificação do Calibrador. Além disso, se as amostras foram incluídas na execução, estas não são quantificadas e também têm de ser repetidas para a geração de resultados quantitativos.

9.3.2 Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control da amplificação

O **ELiTe InGenius software** interpreta os resultados da PCR para os alvos das reações de Positive Control e Negative Control com os parâmetros dos protocolos de ensaio **ELiTe_PC** e **ELiTe_NC**. Os valores de Ct resultantes são convertidos em concentrações e usados para validar o sistema (lote de reagente e instrumento).

Os resultados do positive control e negative control, específicos para o lote de reagente de PCR usado, são registados na base de dados (Controlos). Podem ser visualizados e aprovados pelos utilizadores “Administrator” (Administrador) ou “Analyst” (Analista), seguindo as instruções na GUI.

Os resultados do Positive Control e Negative Control expiram **após 15 dias**.

O **software ELiTe InGenius** processa os resultados do Positive Control e do Negative Control e gera os Gráficos de Controlo. A aprovação do Positive Control baseia-se na avaliação da quantidade logarítmica obtida, que deve estar dentro do intervalo de quantidade logarítmica esperado (gráfico PC). Isto garante que o desempenho do sistema está dentro dos critérios de aceitação. O segundo gráfico (gráfico L-J) é dedicado exclusivamente ao acompanhamento da tendência do Positive Control ao longo do tempo. Consulte o manual do instrumento para obter mais informações

NOTE

Se o resultado do Positive Control e Negative Control não cumprir os critérios de aceitação, é mostrada a mensagem “Failed” (Reprovado) no ecrã “Controls” (Controlos). Neste caso, os resultados não podem ser aprovados e as execuções de Positive Control e Negative Control têm de ser repetidas.

NOTE

Se o Positive Control e Negative Control forem inválidos e as amostras tiverem sido incluídas na mesma execução, as amostras podem ser aprovadas mas os resultados não são válidos. Neste caso, o Controlo(s) e amostras falhados têm todos de ser repetidos.

9.3.3 Validação dos resultados da amostra

O **software ELiTe InGenius** interpreta os resultados de PCR para o alvo (canal **HCV**) e o Internal Control (canal **IC**) com os parâmetros dos protocolos de ensaio **HCV ELiTe_PL_600_50** e **HCV ELiTe_Se_600_50**. Os valores de Ct do alvo resultante são convertidos em concentração.

Os resultados são mostrados no ecrã “Result Display” (Exibição dos resultados).

Os resultados da amostra podem ser aprovados quando forem cumpridas as três condições reportadas na tabela abaixo.

Table 11

1) Curva de calibração	Estado
HCV Q-PCR Standards	APROVADO
2) Positive Control	Estado
HCV Positive Control	APROVADO
3) Negative Control	Estado
HCV Negative Control	APROVADO

Os resultados da amostra são automaticamente interpretados pelo **software ELiTe InGenius** usando os parâmetros do Assay Protocol (Protocolo do ensaio). Estão listadas na tabela abaixo as possíveis mensagens de resultado.

Para cada amostra o sistema comunica uma combinação das seguintes mensagens a especificar se os ARNs dos patogénicos foram detetados ou não detetados.

Table 12

Resultado da execução da amostra	Interpretação
HCV:RNA Detected, quantity equal to “XXX” copies/mL or IU/mL (HCV:RNA detetado, quantidade igual a “XXX” cópias/mL ou IU/mL)	Foi detetado ARN do HCV na amostra no intervalo de medição de ensaio, a sua concentração é mostrada.
HCV:RNA Detected, quantity below LLoQ copies/mL or IU/mL (HCV:RNA detetado, quantidade abaixo LLoQ cópias/mL ou IU/mL)	Foi detetado ARN do HCV na amostra, a sua concentração é inferior ao ensaio - limite inferior de quantificação.
HCV:RNA Detected, quantity beyond “ULoQ” copies/mL or IU/mL (HCV:RNA detetado, quantidade além de “ULoQ” cópias/mL ou IU/mL)	Foi detetado ARN do HCV na amostra, a sua concentração é superior ao ensaio Limite superior de quantificação.
HCV:RNA Not Detected or below the “LoD” copies/mL or IU/mL (HCV:RNA não detetado ou abaixo de “LoD” cópias/mL ou IU/mL)	Não foi detetado ARN do HCV na amostra. A amostra é negativa para ARN do alvo ou a sua concentração está abaixo do limite de detecção do ensaio.
Invalid-Retest Sample (Inválido-Testar novamente a amostra)	Resultado do ensaio inválido devido a falha do Controlo Interno (p. ex., extração incorreta, transferência de inibidores). O teste deve ser repetido.

As amostras reportadas como “Invalid-Retest Sample” (Inválido-Testar novamente a amostra) não são adequadas para a interpretação dos resultados. Neste caso, o ARN do Internal Control não foi detetado eficientemente devido a problemas nos passos de transcrição reversa, PCR ou extração (degradação ou perda do ARN durante a extração ou inibidores na eluição), que pode causar resultados incorretos.

Se subsistir volume da eluição suficiente, o eluato pode ser novamente testado (tal como está ou diluído) através de uma execução da amplificação no modo “PCR Only” (Apenas PCR). Se o segundo resultado for inválido, a amostra deve ser novamente testada começando a partir da extração de uma nova amostra utilizando o modo “Extract + PCR” (Extrair+PCR) (ver [15 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS page 49](#)).

As amostras reportadas como “HCV:RNA Not Detected or below “LoD” copies/mL or IU/mL” (HCV:RNA não detetado ou abaixo de “LoD” cópias/mL ou IU/mL) são adequadas para análise mas não foi detetado ARN de HCV. Neste caso, a amostra pode ser negativa para ARN de HCV ou

ARN de HCV está presente a uma concentração abaixo do limite de detecção do ensaio (ver [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELITE InGenius, ELITE BeGenius e MyGenius PRO page 32](#)).

Amostras positivas do ARN de HCV a uma concentração abaixo do Limite de Detecção (e Limite Inferior da Quantificação) do ensaio, se detetado, são relatadas como “HCV:RNA Detected, quantity below “LLoQ” copies/mL or IU/mL” (HCV:RNA detetado, quantidade abaixo de “LLoQ” cópias/mL ou IU/mL) (ver [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELITE InGenius, ELITE BeGenius e MyGenius PRO page 32](#)).

São detetadas amostras positivas de ARN de HCV no Intervalo de Medição Linear (ver [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELITE InGenius, ELITE BeGenius e MyGenius PRO page 32](#)) e são relatadas como “HCV:RNA Detected, quantity equal to “XXX” copies/mL” (HCV:RNA detetado, quantidade igual a “XXX” cópias/mL).

As amostras positivas de ARN de HCV que estejam acima do Limite Superior de Quantificação são comunicadas como “HCV:RNA Detected, quantity beyond “ULoQ” copies/mL or IU/mL” (HCV:RNA detetado, quantidade além de “ULoQ” cópias/mL ou IU/mL) e não são adequadas para quantificação. Se necessário a amostra pode ser diluída antes da extração ou PCR e novamente testada de forma a serem obtidos resultados dentro do intervalo de medição linear do ensaio.

NOTE

Os resultados obtidos com este ensaio devem ser interpretados em combinação com todas as observações clínicas e resultados laboratoriais relevantes.

Os resultados da execução da Amostra são guardados na base de dados e, se válidos, podem ser aprovados (Exibição dos resultados) pelos utilizadores “Administrator” (Administrador) ou “Analyst” (Analista), seguindo as instruções na GUI. A partir da janela “Result Display” (Exibição de resultados) é possível imprimir e guardar os resultados da execução da amostra como “Sample Report” (Relatório de amostra) e “Track Report” (Relatório de calha).

9.3.4 Elaboração do relatório do resultado da amostra

Os resultados da amostra são guardados na base de dados e os relatórios podem ser exportados como “Sample Report” (Relatório da amostra) e “Track Report” (Relatório da calha).

O “Sample Report” (Relatório da amostra) apresenta os detalhes dos resultados pela amostra selecionada (SID).

O “Track Report” (Relatório do track) apresenta os detalhes do resultado pelo Rastreo selecionado.

O “Sample Report” (Relatório da amostra) e o “Track Report” (Relatório da calha) podem ser impressos e assinados por pessoal autorizado.

10 PROCEDIMENTO do ELITE BeGenius

O procedimento para uso do **HCV ELITE MGB Kit** com o **ELITE BeGenius** é composto por três passos:

Table 13

PASSO 1	Verificação da prontidão do sistema	
PASSO 2	Preparação da sessão	A) Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair+PCR])
		B) Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR])
		C) Execução da calibração (PCR Only [Apenas PCR])
		D) Execução de Positive Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR])
PASSO 3	Revisão e aprovação de resultados	1) Validação da Curva de calibração
		2) Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control
		3) Validação dos resultados das amostras
		4) Elaboração do relatório do resultado da amostra

10.1 PASSO 1 - Verificação da disponibilidade do sistema

Antes de iniciar a sessão:

- ligue o **ELITE BeGenius** e inicie sessão no modo “**CLOSED**” (fechado),
- no menu “Calibrações” na página inicial, verifique se os Calibradores (**Q - PCR Standard**) estão aprovados e válidos (Estado) para o lote de **PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja calibradores válidos para o lote **PCR Mix**, realize a calibração conforme descrito nas secções seguintes,
- no menu “Controlos” na página inicial, verifique se os controlos de PCR (**Positive Control, Negative Control**) estão aprovados e válidos (estado) para o lote de **PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja controlos de PCR válidos disponíveis para o lote de **PCR Mix** execute os controlos de PCR conforme descrito nas secções seguintes,
- selecione o tipo de execução, seguindo as instruções na interface gráfica do utilizador (GUI) para a preparação da sessão e utilize os Protocolos de ensaio fornecidos pela EG SpA (ver “Amostras e Controlos”).

Se o protocolo do ensaio que precisa não estiver carregado no sistema, contacte o Serviço de Apoio ao cliente da ELITechGroup de sua localidade.

10.2 PASSO 2 – Configuração da sessão

O HCV ELITE MGB Kit pode ser usado no ELITE BeGenius para realizar:

- Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair+PCR]),
- Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR]),
- Execução de calibração (PCR Only [Apenas PCR]),
- Positive Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR]).

Todos os parâmetros requeridos para a sessão estão incluídos no protocolo de ensaio disponível no instrumento e são automaticamente carregados quando o protocolo de ensaio é selecionado.

NOTE

O ELITE BeGenius pode ser ligado ao "Laboratory Information System" (Sistema de Informações Laboratoriais - LIS), que permite descarregar a informação da sessão. Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

Antes de configurar uma execução:

- Descongele os tubos de **PCR Mix** necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para **24 testes** em condições otimizadas (5 ou mais testes por sessão). Misture por meio de vórtice a baixa velocidade durante 10 segundos três vezes e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.

NOTE

Proteja a **PCR Mix** da luz enquanto a aquece, dado que este reagente é fotossensível.

- Use os tubos **RT EnzymeMix** necessários. Cada tubo é suficiente para **48 testes** em condições otimizadas (5 ou mais testes por sessão). Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.

NOTE

A **RT EnzymeMix** não deve ser exposta a temperaturas superiores a -20 °C durante mais de 10 minutos.

- Prepare um tubo de 2 mL (Sarstedt, ref. 72.694.005, não incluído no kit) para a **mistura de reação completa** e identifique-o com um marcador de tinta permanente.
- Calcule os volumes necessários de **PCR Mix** e **RT EnzymeMix** para preparar a **mistura de reação completa** com base no número de amostras (N) a serem analisadas, conforme descrito na tabela seguinte.

Table 14

Número de amostras (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 12$	290 μL	4,4 μL
$13 \leq N \leq 18$	$(N + 3) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 3) \times 0,3 \mu\text{L}$
$19 \leq N \leq 23$	$(N + 4) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 4) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 24$	580 μL	8,7 μL

- Prepare a **mistura de reação completa** transferindo para o tubo de 2 mL identificado os volumes calculados dos dois componentes. Misture por meio de vórtice a baixa velocidade durante 10 segundos três vezes e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.

NOTE

A **mistura de reação completa** pode ser usada dentro de **7 horas** se mantida num bloco refrigerado (durante 2 sessões de 3 horas cada e o tempo necessário para iniciar uma terceira sessão). A mistura de reação completa **não pode** ser armazenada para reutilização.

NOTE

A **mistura da reação completa** é sensível à luz, não a exponha à luz direta.

Para configurar um dos quatro tipos de execução, siga os passos abaixo diante da GUI.

Table 15

	A. Execução da amostra (Extract and PCR) [Extrair e PCR]	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR])
1	Identifique amostras e, se necessário, descongele à temperatura ambiente, misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Se necessário, transfira 600 µL da amostra para um tubo Sarstedt de 2mL (não fornecido) anteriormente identificado. Qualquer volume em excesso será deixado no tubo Sarstedt de 2 mL pelo ELITe BeGenius. Descongele os tubos de CPE necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.	Se necessário, descongele os Elution tubes (Tubos de eluição) contendo os ácidos nucleicos extraídos à temperatura ambiente. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.
2	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Início).	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Início).
3	Retire os Suportes da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação.	Retire os "Racks" de "Lane 1, 2 and 3" (L1, L2, L3) da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação.
4	Selecione o "Run mode": "Extract and PCR"(Extrair e PCR). Nota: Quando os tubos secundários "2 mL Tubes" forem carregados, use adaptadores azuis para o "Sample Rack" (Rack da amostra).	Selecione o "Run mode": "PCR Only".
5	Carregue amostras no "Sample Rack" (Suporte de amostras).	Carregue amostras no "Elution Rack".
6	Insira o "Sample Rack" (Suporte de amostras) na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 5" (L5). Se necessário, para cada "Position" (Posição) insira "Sample ID" (SID). Se forem carregados tubos secundários, assinale "Tubo de 2 mL". Se os tubos secundários não possuírem código de barras, digite manualmente a "Sample ID".	Insira o "Elution Rack" (Rack de eluição) na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 3" (L3) Se necessário, para cada "Position" (Posição), insira a "Sample ID" (Identificação da amostra), a "Sample matrix" (Matriz da amostra), o "Extraction kit" (Kit de extração) e o "Extracted eluate vol." (Volume de eluato extraído).
7	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
8	Certifique-se de que o Volume de entrada de extração é de 600 µL e que o "Volume de eluição extraído" é de 50 µL.	não aplicável
9	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos")	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos")
10	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.

Table 15 (continued)

	A. Execução da amostra (Extract and PCR) [Extrair e PCR]	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR])
11	Quando forem processadas mais de 12 amostras, repita o procedimento a partir do ponto 6 usando "Lane 4" (L4).	Quando forem processadas mais de 12 amostras, repita o procedimento a partir do ponto 6 usando "Lane 4" (L4).
12	Carregue os "Elution tubes" (Tubos de eluição) no "Elution Rack" (Rack de eluição) (os tubos de eluição podem ser etiquetados com código de barras para melhorar a capacidade de localização).	não aplicável
13	Insira o "Elution Rack" (Rack de eluição) na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 3" (L3). Quando mais de 12 amostras forem processadas, repita usando a "Lane 2" (L2).	não aplicável
14	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	não aplicável
15	Carregue CPE e a mistura de reação completa no "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição).	Carregue a mistura de reação completa no "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição).
16	Insira o "Reagent/Elution Rack" na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2) se estiver disponível, ou na "Lane 1" (L1). Se necessário, para cada reagente da PCR Mix e/ou CPE, insira o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações).	Insira o "Reagent/Elution Rack" na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2) se estiver disponível, ou na "Lane 1" (L1). Se necessário, para cada reagente da PCR Mix, insira o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações).
17	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
18	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de ponta) na "Inventory Area" (Área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de ponta) na "Inventory Area" (Área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.
19	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
20	Carregue o "PCR Rack" com a "PCR Cassette" na área dos reagentes.	Carregue o "PCR Rack" com a "PCR Cassette" na área dos reagentes.
21	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
22	Carregue o "Extraction Rack" (rack de extração) com os cartuchos de extração "ELITE InGenius SP 1000" e os consumíveis de extração necessários.	não aplicável
23	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
24	Prima "Start" (Iniciar).	Prima "Start" (Iniciar).

Table 16

	C. Execução da calibração (PCR Only) (Apenas PCR)	D. Execução de Positive Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR]).
1	Descongele , se necessário Q-PCR Standard tubes (Cal1: Q-PCR Standards 10 ² , Cal2: Q-PCR Standards 10 ³ , Cal3: Q-PCR Standards 10 ⁴ , Cal4: Q-PCR Standards 10 ⁵) durante 30 minutos à temperatura ambiente. Misture por meio de vórtice a baixa velocidade durante 10 segundos três vezes e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração	Descongele os tubos de Positive Control à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Prepare o Negative Control transferindo pelo menos 50 µL de água de grau biológico molecular para um "Elution tube" (Tubo de eluição), fornecido com o ELiTe InGenius SP 1000 Consumable Set.
2	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Início).	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Página inicial)
3	Retire os "Racks" de "Lane 1, 2 and 3" (L1, L2, L3) da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação.	Retire os "Racks" de "Lane 1, 2 and 3" (L1, L2, L3) da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação
4	Selecione o "Run mode: PCR Only".	Selecione o "Run mode": "PCR Only" (Apenas PCR)
5	Carregue os tubos de standard de Q-PCR no "Elution Rack" (Rack de eluição).	Carregue os tubos de Positive Control e Negative Control no "Elution Rack".
6	Insira o "Elution Rack" (Rack de eluição) na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 3" (L3) Se necessário, para cada "Position" (Posição) introduza o "Reagent name" (Nome do reagente) e o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações)	Insira o "Elution Rack" (Rack de eluição) na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 3" (L3) Se necessário, para cada "Position" (Posição) introduza o "Reagent name" (Nome do reagente) e o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações)
7	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
8	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").
9	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
10	Carregue a mistura de reação completa no "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição).	Carregue a mistura de reação completa no "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição).
11	Insira o "Reagent/Elution Rack" na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2) se estiver disponível, ou na "Lane 1" (L1). Se necessário, para cada PCR Mix, insira o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de validade) e o "T/R" (número de reações)	Insira o "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição) na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2). Se necessário, para cada PCR Mix, insira o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações).
12	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
13	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua o suporte (s) de pontas, se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua o suporte(s) de pontas, se necessário.
14	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar
15	Carregue o "PCR Rack" com a "PCR Cassette" na área dos reagentes	Carregue o "PCR Rack" com a "PCR Cassette" na área dos reagentes
16	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
17	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
18	Prima "Start" (Iniciar)	Prima "Start" (Iniciar)

Quando a sessão tiver terminado, o **ELITe BeGenius** permite aos utilizadores ver, aprovar, guardar os resultados e imprimir e guardar o relatório.

NOTE

No final da execução a restante amostra extraída no “**Elution tube**” (Tubo de eluição) deve ser removida do instrumento, tapada, identificada e guardada a -20 ± 10 °C durante não mais de um mês. Evite derramar a Amostra extraída.

NOTE

A **mistura de reação completa** pode ser mantida no bloco refrigerado até 7 horas (para 2 sessões de 3 horas cada e durante o tempo necessário para iniciar uma terceira sessão). Misture suavemente e centrifugue os conteúdos durante 5 segundos antes de dar início à sessão seguinte. A mistura de reação completa **não pode** ser guardada para reutilização.

NOTE

No final da execução, o **Q-PCR Standards** restante deve ser removido do instrumento, tapado e guardado a -20 °C ou menos. Evite derramar o Q-PCR Standards.

NOTE

O **Q- PCR Standard** pode ser usado para 2 sessões separadas de 2 horas cada.

NOTE

No final da execução, o **Positive Control** restante deve ser removido do instrumento, tapado e guardado a -20 °C ou menos. Evite derramar o Positive Control. O restante negative control deve ser eliminado.

NOTE

O **Positive Control** pode ser usado para 4 sessões separadas de 3 horas cada

NOTE

No final da execução, a **PCR Cassette** e os outros consumíveis têm de ser eliminados seguindo todos os regulamentos governamentais e ambientais. Evite derramar os produtos de reação.

10.3 PASSO 3 - Revisão e aprovação dos resultados

O **ELITe BeGenius** monitoriza os sinais de fluorescência do alvo e do controlo interno para cada reação e aplica automaticamente os parâmetros do Assay Protocol (Protocolo de ensaio) para gerar curvas de PCR que são então interpretadas sob a forma de resultados.

At the end of the run, the “Results Display” screen is automatically shown. Neste ecrã são mostrados os resultados e informações sobre a execução. A partir deste ecrã é possível aprovar o resultado, imprimir ou guardar os relatórios (“Sample Report” (Relatório da amostra) ou “Track Report” (Relatório da calha)). Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

NOTE

O sistema **ELITe BeGenius** pode ser ligado ao “Laboratory Information System” (Sistema de Informações Laboratoriais - LIS), que permite carregar os resultados da sessão no centro de dados laboratoriais. Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

O **ELITe BeGenius** gera os resultados com o **HCV ELITe MGB Kit** através do seguinte procedimento:

1. Validação da Curva de calibração,
2. Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control,
3. Validação dos resultados da amostra,

4. Elaboração do relatório do resultado da amostra.

NOTE

Para mais informações, consulte o mesmo parágrafo do **Procedimento do ELITE InGenius**.

11 PROCEDIMENTO MyGenius PRO

O procedimento para utilização do **HCV ELITE MGB Kit** com o **MyGenius PRO** é composto por três passos:

Table 17

PASSO 1	Verificação da prontidão do sistema	
PASSO 2	Preparação da sessão	A) Sessão de testes de amostras (Extract + PCR [Extrair+PCR])
		B) Sessão de testes de calibração (PCR Only [Apenas PCR])
		C) Sessão de testes de Positive Control e Negative Control (PCR Only [apenas PCR])
PASSO 3	Revisão e aprovação de resultados	1) Validação da Curva de calibração
		2) Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control
		3) Validação dos resultados das amostras
		4) Elaboração do relatório do resultado da amostra

11.1 PASSO 1 - Verificação da disponibilidade do sistema

Antes de iniciar a sessão de testes:

- ligue o MyGenius PRO e inicie sessão; a unidade irá iniciar no modo STANDBY.
- no menu “Calibrations” (Calibrações) no ecrã inicial, verifique se os Calibradores (**Q - PCR Standard**) estão aprovados e válidos (estado) para o lote de **PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja calibradores válidos para o lote **PCR Mix**, realize a calibração conforme descrito nas secções seguintes,
- no menu “Controls” (Controlos) no ecrã inicial, verifique se os controlos de PCR (**Positive Control, Negative Control**) estão aprovados e válidos (estado) para o lote de **PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja controlos de PCR válidos disponíveis para o lote da **PCR Mix** execute os controlos de PCR conforme descrito nas secções seguintes,
- siga as instruções na interface gráfica do utilizador (GUI) para a preparação da sessão e utilize os protocolos de ensaio fornecidos pela EG SpA (ver “Amostras e Controlos”).

Se o protocolo do ensaio que precisa não estiver carregado no sistema, contacte o Serviço de Apoio ao cliente da ELITechGroup de sua localidade.

11.2 PASSO 2 – Configuração do fluxo de trabalho no sistema

O **HCV ELITE MGB Kit** pode ser usado no **MyGenius PRO** para realizar:

- Sessão de testes de amostras (Extract + PCR [Extrair+PCR])
- Sessão de testes de calibração (PCR Only [Apenas PCR])
- Sessão de testes de Positive Control e Negative Control (PCR Only [apenas PCR])

Todos os parâmetros requeridos estão incluídos no protocolo de ensaio disponível no instrumento e são automaticamente carregados quando o protocolo de ensaio é selecionado.

NOTE

O **MyGenius PRO** pode ser ligado ao “Laboratory Information System” (Sistema de Informações Laboratoriais - LIS), que permite descarregar a informação para o fluxo de trabalho. Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

Antes de configurar uma sessão de testes:

1. Descongele os tubos **PCR Mix** necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para **24 testes** (5 ou mais testes por sessão). Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.
2. Use os tubos **RT EnzymeMix II** necessários. Cada tubo é suficiente para **48 testes**. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.
3. Prepare um tubo de 2 mL (Sarstedt, ref. 72.694.005, não incluído no kit) para a **mistura de reação completa** e identifique-o com um marcador de tinta permanente.
4. Calcule os volumes necessários de **PCR Mix** e **RT EnzymeMix II** para preparar a **mistura de reação completa** com base no número de amostras (N) a serem analisadas, conforme descrito na tabela seguinte.

Número de teste (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 12$	290 μL	4,4 μL
$13 \leq N \leq 18$	$(N + 3) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 3) \times 0,3 \mu\text{L}$
$19 \leq N \leq 23$	$(N + 4) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 4) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 24$	580 μL	8,7 μL

NOTE

Se o número de reações exceder 24 testes, prepare um tubo adicional de 2 mL contendo o número necessário de reações, seguindo as instruções fornecidas na tabela acima.

5. Prepare a **mistura de reação completa** transferindo para o tubo de 2 mL identificado os volumes calculados dos dois componentes. Misture por meio de vórtice a baixa velocidade durante 10 segundos três vezes e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.

NOTE

A **mistura de reação completa** pode ser mantida guardada no bloco refrigerado durante um máximo de 7 horas. A mistura de reação completa **não pode** ser guardada para reutilização.

NOTE

Proteja a **PCR Mix** da luz enquanto a aquece, dado que este reagente é fotossensível.

NOTE

A **RT EnzymeMix** não deve ser exposta a temperaturas superiores a -20 °C durante mais de 10 minutos

Para configurar um dos três tipos de sessão de testes, siga os passos abaixo diante da GUI:

	A. Sessão de testes de amostras (Extract + PCR [Extrair+PCR])	B. Sessão de testes de calibração (PCR Only [Apenas PCR])	C. Sessão de testes de Positive Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR])
1	Identifique amostras e, se necessário, descongele à temperatura ambiente, misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Se o tubo primário for compatível com os suportes MyGenius PRO, insira o tubo com as amostras nos suportes; se isso não for possível, transfira 660 µL da amostra para um tubo secundário (2 mL) previamente rotulado. Descongele os tubos Internal Control Maxi IC MAXI necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos. Cada tubo é suficiente para 72 testes.	Descongele os tubos de Q-PCR Standard necessários (Cal1: Q-PCR Standard 102, Cal2: Q-PCR Standard 103, Cal3: Q-PCR Standard 104, Cal4: Q-PCR Standard 105) à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.	Descongele os tubos de Positive Control à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Centrifugue os tubos de Negative Control durante 5 segundos.
2	Se o instrumento estiver ligado ao LIS, os códigos de barras das amostras são automaticamente lidos e reconhecidos pelo MyGenius PRO quando colocados na área de amostras. Se o instrumento não estiver ligado ao LIS, atribua manualmente as amostras utilizando as funções ASSIGN TEST (ATRIBUIR TESTE) ou ASSIGN SAMPLE (ATRIBUIR AMOSTRA) na página "Sample List" (Lista de amostras) da GUI, antes de as carregar no instrumento. Essas funções também permitem atribuir o protocolo de teste correto a cada amostra.	Carregue a PCR Mix e os tubos Q-PCR Standard no carrossel de reagentes refrigerado.	Carregue a PCR Mix e os tubos de Positive e Negative Controls no carrossel de reagentes refrigerado.
3	No modo STANDBY, verifique se há quantidade suficiente de consumíveis para concluir o teste e se os níveis de resíduos sólidos e líquidos são adequados para o funcionamento do instrumento. Se necessário, carregue os consumíveis necessários nas gavetas adequadas e esvazie a caixa de resíduos e o tanque de líquido. Para obter informações detalhadas sobre os procedimentos de carregamento, consulte o manual do utilizador do instrumento.	No modo STANDBY, verifique se há quantidade suficiente de consumíveis para concluir o teste e se os níveis de resíduos sólidos e líquidos são adequados para o funcionamento do instrumento. Se necessário, carregue os consumíveis necessários nas gavetas adequadas e esvazie a caixa de resíduos e o tanque de líquido. Para obter informações detalhadas sobre os procedimentos de carregamento, consulte o manual do utilizador do instrumento.	No modo STANDBY, verifique se há quantidade suficiente de consumíveis para concluir o teste e se os níveis de resíduos sólidos e líquidos são adequados para o funcionamento do instrumento. Se necessário, carregue os consumíveis necessários nas gavetas adequadas e esvazie a caixa de resíduos e o tanque de líquido. Para obter informações detalhadas sobre os procedimentos de carregamento, consulte o manual do utilizador do instrumento.
4	Prima Start (Iniciar) na página inicial e aguarde que o instrumento passe para o estado "Preparation" (Preparação) e depois para "Operation" (Funcionamento).	Prima Start (Iniciar) na página inicial e aguarde que o instrumento passe para o estado "Preparation" (Preparação) e depois para "Operation" (Funcionamento).	Prima Start (Iniciar) na página inicial e aguarde que o instrumento passe para o estado "Preparation" (Preparação) e depois para "Operation" (Funcionamento).
5	Carregue a PCR Mix no carrossel de reagentes refrigerado.	Selecione "Calibration" (Calibração) a partir do ecrã "Home"	Selecione "Controls" (Controlos) a partir do ecrã "Home"

	A. Sessão de testes de amostras (Extract + PCR [Extrair+PCR])	B. Sessão de testes de calibração (PCR Only [Apenas PCR])	C. Sessão de testes de Positive Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR])
6	Reserve a abertura da porta da Área do Auto Sampler e carregue as amostras e o IC MAXI.	Selecione na página Calibration (Calibração) o tubo Q-PCR Standard carregado no passo 2 e, em seguida, prima "Order" (Pedir).	Selecione na página Control (Controlo) o Positive Control e o Negative Control carregados no passo 2 e, em seguida, prima "Order" (Pedir).
7	Feche a porta do Auto Sampler e a sessão de testes inicia-se.		

Assim que é obtido um resultado, o **MyGenius PRO** permite aos utilizadores ver, aprovar, guardar os resultados e guardar o relatório final.

NOTE

No final da sessão de testes, o restante **Q - PCR Standard** pode ser removido do instrumento, tapado e guardado a -20 °C ou menos. Evite derramar o Q - PCR Standard.

NOTE

O **Q- PCR Standard** pode ser utilizado para 2 calibrações, deixando-o no instrumento durante um máximo de 2 horas para cada calibração.

NOTE

No final da sessão de testes, o **Positive Control** restante deve ser removido do instrumento, tapado e guardado a -20 °C ou menos. Evite o derrame do **Positive Control**. O **Negative Control** restante deve ser eliminado.

NOTE

O **Positive Control** pode ser utilizado para 4 calibrações, deixando-o no instrumento durante um máximo de 3 horas para cada calibração.

NOTE

Quando necessário ou quando o instrumento o exigir, retire da gaveta do instrumento a **PCR Cassette** e os outros consumíveis têm de ser eliminados seguindo todos os regulamentos governamentais e ambientais. Evite derramar os produtos de reação.

NOTE

O **MyGenius PRO** pode ser ligado ao "Laboratory Information System" (Sistema de Informações Laboratoriais - LIS), que permite descarregar a informação da sessão. Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

11.3 PASSO 3 - Revisão e aprovação dos resultados

O **MyGenius PRO** monitoriza os sinais de fluorescência do alvo e do controlo interno para cada reação e aplica automaticamente os parâmetros do protocolo de ensaio para gerar curvas de PCR que são então interpretadas sob a forma de resultados.

Quando a análise de cada amostra estiver concluída, os resultados podem ser visualizados no ecrã "Results" (Resultados), que apresenta os resultados e as informações sobre as amostras. A partir deste ecrã, é possível aprovar os resultados e guardar os relatórios. Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

O **MyGenius PRO** gera os resultados com o **HCV ELITE MGB Kit** através do seguinte procedimento:

1. Validação da Curva de calibração,
2. Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control,

3. Validação dos resultados da amostra,
4. Elaboração do relatório do resultado da amostra.

Validação da Curva de calibração

O **software MyGenius PRO** interpreta os resultados da PCR para o alvo das reações do Calibrador com os parâmetros do protocolo de ensaio **HCV ELITE_My_STD**. A Ct resultante versus a concentração produz a curva da calibração.

As curvas de calibração, específicas para o lote de reagente da PCR, são guardadas na base de dados (Calibrações) e podem ser visualizadas e aprovadas pelo utilizador, seleccionando a calibração de interesse e a secção "View chart" (Ver gráfico).

A curva de calibração expira **após 60 dias**.

NOTE

Se a curva de calibração não cumprir os critérios de aceitação, é mostrada a mensagem "Error" (Erro) no ecrã "Calibrations" (Calibrações). Neste caso, os resultados não podem ser aprovados e têm de ser repetidas as reações de amplificação do Calibrador. Além disso, se as amostras foram incluídas na sessão de testes, estas não são quantificadas: neste caso, após a repetição da calibração, todos os resultados devem ser interpretados e aprovados (ver secção dedicada aos resultados das amostras).

Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control da amplificação

O **software MyGenius PRO** interpreta os resultados da PCR para os alvos das reações de Positive Control e Negative Control com os parâmetros dos protocolos de ensaio **HCV ELITE_My_PC** e **HCV ELITE_My_NC**. Os valores de Ct resultantes são convertidos em concentrações e usados para validar o sistema (lote de reagente e instrumento).

Os resultados do Positive Control e Negative Control, específicos para o lote de reagente de PCR usado, são registados na base de dados (Controlos). Estes podem ser visualizados e aprovados pelo utilizador, seleccionando o controlo de interesse e a secção "View chart" (Ver gráfico).

Os resultados do Positive Control e Negative Control expiram **após 15 dias**.

O **software MyGenius PRO** processa os resultados do Positive Control e do Negative Control e gera os Gráficos de Controlo. Os resultados são analisados pelo software para garantir que os desempenhos do sistema se encontram dentro dos critérios de aceitação, mostrados nos traçados do Gráfico de controlo. Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

NOTE

Se o resultado do Positive Control e Negative Control não cumprir os critérios de aceitação, é mostrada a mensagem "Error" (Erro) no ecrã "Controls" (Controlos). Neste caso, os resultados não podem ser aprovados e o Positive Control e o Negative Control têm de ser repetidos.

NOTE

Se os resultados do Positive Control ou do Negative Control forem inválidos e as amostras tiverem sido incluídas na mesma sessão de testes, as amostras não podem ser aprovadas. Neste caso, após a repetição dos controlos, todos os resultados têm de ser interpretados e aprovados (ver secção dedicada aos resultados das amostras).

Validação dos resultados da amostra

O **software MyGenius PRO** interpreta os resultados de PCR para o alvo (Canal **HCV**) e do Internal Control (Canal **IC**) com os parâmetros dos protocolos de ensaio **HCV ELITE_My_PL_IU_600–50**, **HCV ELITE_My_PL_cml_600–50**, **HCV ELITE_My_Se_IU_600–50** e **HCV ELITE_My_Se_cml_600–50**. Os valores de Ct do alvo resultante são convertidos em concentração.

Os resultados são mostrados no ecrã "Results" (Resultados).

Os resultados da amostra podem ser aprovados quando forem cumpridas as três condições reportadas na tabela abaixo.

1) Curva de calibração	Estado
HCV Q-PCR Standard	APROVADO
2) Positive Control	Estado
HCV Positive Control	APROVADO
3) Negative Control	Estado
HCV Negative Control	APROVADO

Os resultados da amostra são automaticamente interpretados pelo **software MyGenius PRO** utilizando os parâmetros dos protocolos de ensaio se os resultados dos respetivos controlos e calibração forem aprovados. Se as calibrações e os controlos válidos não estiverem presentes e aprovados quando os resultados das amostras são obtidos, as amostras não podem ser interpretadas e aprovadas: neste caso, as calibrações e os controlos têm de ser aprovados e, em seguida, cada amostra tem de ser interpretada na secção “sample list” (lista de amostras) e aprovada na secção “Results” (resultados) utilizando botões específicos.

Estão listadas na tabela abaixo as possíveis mensagens de resultado.

Para cada amostra o sistema comunica uma combinação das seguintes mensagens a especificar se os ADN dos agentes patogénicos foram detetados ou não detetados.

Resultado da execução da amostra	Interpretação
HCV:RNA DETECTED, QUANTITY EQUAL TO XXX COPIES/ML OR IU/ML (HCV:RNA DETETADO, QUANTIDADE IGUAL A XXX CÓPIAS/ML OU IU/ML)	Foi detetado ARN do HCV na amostra no intervalo de medição de ensaio, a sua concentração é mostrada.
HCV:RNA DETECTED, QUANTITY BELOW “LLOQ” COPIES/ML OR IU/ML (HCV:RNA DETETADO, QUANTIDADE ABAIXO DE “LLOQ” CÓPIAS/ML OU IU/ML)	Foi detetado ARN do HCV na amostra, a sua concentração é inferior ao ensaio Limite inferior de quantificação
HCV:RNA DETECTED, QUANTITY BEYOND “ULOQ” COPIES/ML OR IU/ML (HCV:RNA DETETADO, QUANTIDADE ALÉM DE “ULOQ” CÓPIAS/ML OU IU/ML)	Foi detetado ARN do HCV na amostra, a sua concentração é superior ao ensaio Limite superior de quantificação
HCV:RNA NOT DETECTED OR BELOW “LOD” COPIES/ML OR IU/ML (HCV:RNA NÃO DETETADO OU QUANTIDADE ABAIXO DE “LOD” CÓPIAS/ML OU IU/ML)	Não foi detetado ARN de HCV na amostra. A amostra é negativa para ARN de HCV ou a sua concentração está abaixo do limite de deteção do ensaio.
INVALID - RETEST SAMPLE (INVÁLIDO - TESTAR NOVAMENTE A AMOSTRA)	Resultado do ensaio inválido devido a falha do Internal Control (devido, p.ex., a extração incorreta, transferência de inibidores). O teste deve ser repetido.

Amostras indicadas como “INVALID - RETEST SAMPLE” (INVÁLIDO - TESTAR NOVAMENTE AMOSTRA): neste caso, o ADN do Internal Control não foi detetado eficientemente devido a problemas nos passos de colheita, extração ou PCR da amostra (por ex. amostragem incorreta, degradação ou perda do ARN durante a extração ou inibidores na eluição), que pode causar resultados incorretos. Neste caso, a amostra deve ser novamente testada, a começar pela extração de uma nova amostra.

As amostras reportadas como “HCV:RNA NOT DETECTED OR BELOW “LOD” COPIES/ML OR IU/ML” (HCV:RNA NÃO DETETADO OU ABAIXO DE “LOD” CÓPIAS/ML OU IU/ML) são adequadas para análise mas não foi detetado HCV. Neste caso, a amostra pode ser negativa para ARN de HCV ou o ARN de HCV está presente numa concentração abaixo do limite de deteção do ensaio (ver [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELITE InGenius, ELITE BeGenius e MyGenius PRO page 32](#)).

Amostras positivas do ARN de HCV a uma concentração abaixo do Limite de Detecção (e Limite Inferior da Quantificação) do ensaio, se detetado, são relatadas como “HCV:RNA DETECTED, QUANTITY BELOW “LLOQ” COPIES/ML OR IU/ML” (HCV: RNA DETETADO, QUANTIDADE ABAIXO DE “LLOQ” CÓPIAS/ML OU IU/ML) (ver [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELiTe InGenius, ELiTe BeGenius e MyGenius PRO](#) page 32).

Amostras positivas para ARN de HCV no intervalo de medição linear são detetadas e relatadas como “HCV:RNA DETECTED, QUANTITY EQUAL TO “XXX” COPIES/ML OR IU/ML” (HCV: RNA DETETADO, QUANTIDADE IGUAL A “XXX” CÓPIAS/ML OU IU/ML) (ver [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELiTe InGenius, ELiTe BeGenius e MyGenius PRO](#) page 32).

As amostras positivas de ARN de HCV que estejam acima do Limite Superior de Quantificação são relatadas como “HCV:RNA DETECTED, QUANTITY BEYOND “ULOQ” COPIES/ML OR IU/ML” (HCV:RNA DETETADO, QUANTIDADE ALÉM DE “ULOQ” CÓPIAS/ML OU IU/ML) (ver [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELiTe InGenius, ELiTe BeGenius e MyGenius PRO](#) page 32) e não são adequadas para quantificação. Se necessário a amostra pode ser diluída antes da extração e novamente testada de forma a serem obtidos resultados dentro do intervalo de medição linear do ensaio.

NOTE

Os resultados obtidos com este ensaio devem ser interpretados em combinação com todas as observações clínicas e resultados laboratoriais relevantes.

Os resultados da execução da Amostra são guardados na base de dados e, se válidos, podem ser aprovados (Exibição dos resultados) pelos utilizadores “Administrator” (Administrador) ou “Analyst” (Analista), seguindo as instruções na GUI. A partir da janela “Result Display” (Exibição de resultados) é possível imprimir e guardar os resultados da execução da amostra como “Sample Report” (Relatório de amostra) e “Track Report” (Relatório de calha).

Elaboração do relatório do resultado da amostra

Os resultados da amostra são guardados na base de dados e os relatórios podem ser exportados como “Summary Report” (Relatório de resumo) e “Details Report” (Relatório de detalhes).

O “Details Report” (Relatório de detalhes) apresenta os resultados detalhados para cada amostra selecionada (SID).

O “Summary Report” (Relatório de resumo) apresenta os resultados de interpretação para todas as amostras selecionadas (SID).

O “Details Report” (Relatório de detalhes) e o “Summary Report” (Relatório de resumo) podem ser impressos e assinados por pessoal autorizado.

12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELiTe InGenius, ELiTe BeGenius e MyGenius PRO

12.1 Limite de detecção (LdD)

O limite de detecção (LdD) do ensaio foi determinado no instrumento ELiTe InGenius, testando um painel de plasma em ACD negativo para o HCV reforçado com material de referência certificado de HCV (6th WHO International Standard, NIBSC). Foi executada a análise de regressão Probit nos resultados, e estimou-se como LdD a concentração correspondente a 95% de probabilidade de um resultado positivo.

Os resultados são comunicados nas tabelas seguintes.

Table 18

Limite de detecção (IU/mL) para amostras de plasma em ACD e ELiTe InGenius			
Alvo	LdD	intervalo de confiança de 95%	
		Limite inferior	Limite superior
HCV	26	19	48

O LdD como cópias/mL para plasma em ACD foi calculado através da aplicação do fator de conversão específico (2,4 IU/cópia) reportado em [12.13 Fator de conversão para unidades internacionais page 43](#). A sensibilidade analítica como cópias/mL está reportada a seguir.

Table 19

Limite de detecção (cópias/mL) para amostras de plasma em ACD e ELITE InGenius			
Alvo	LdD	intervalo de confiança de 95%	
		Limite inferior	Limite superior
HCV	11	8	20

O valor do LdD calculado foi verificado testando no ELITE InGenius e no ELITE BeGenius um painel de plasma em ACD, um painel de plasma em EDTA e um painel de soro reforçados com material de referência certificado de HCV à concentração indicada.

Os resultados obtidos confirmaram a concentração declarada para o alvo de HCV ELITE MGB Kit tanto no ELITE InGenius como no ELITE BeGenius.

O valor LdD calculado no ELITE InGenius também é válido para o MyGenius PRO.

12.2 Equivalência da matriz: Plasma em EDTA face a Plasma em ACD e soro

A equivalência da matriz do HCV ELITE MGB Kit foi verificada usando amostras emparelhadas (mesmo dador) de plasma em EDTA e ACD, plasma em EDTA e soro no ELITE InGenius.

Para 30 amostras com resultados negativos para o HCV através de um imunoensaio com marcação CE IVD, foram avaliados concordância de percentagem negativa (NPA) e o coeficiente de variação (%CV) dos valores Ct do Internal Control.

Os resultados são comunicados nas tabelas seguintes.

Table 20

Amostra	N	Positivo	Negativo	NPA	%CV do Ct do CI	%CV do Ct do CI (controle interno) completo
Plasma em EDTA	30	0	30	100%	0,89	0,95
Plasma em ACD	30	0	30		1,02	

Table 21

Amostra	N	Positivo	Negativo	NPA	%CV do Ct do HCV	%CV do Ct do HCV completo
Plasma em EDTA	30	30	0	100%	0,90	1,11
Soro	30	30	0		1,28	

Para 30 amostras reforçadas com material de referência certificado (6th WHO HCV International Standard, NIBSC), foram avaliados concordância de percentagem negativa (PPA) e o coeficiente de variação (%CV) dos valores Ct do HCV.

Os resultados são comunicados nas tabelas seguintes.

Table 22

Amostra	N	Positivo	Negativo	PPA	%CV do Ct do HCV	%CV do Ct do HCV completo
Plasma em EDTA	30	30	0	100%	1,96	1,79
Plasma em ACD	30	30	0		1,60	
Plasma em EDTA	30	30	0	100%	1,84	1,81
Soro	30	30	0		1,77	

Nestes testes, as 30 amostras emparelhadas de Plasma em EDTA e de Plasma em ACD e das 30 amostras emparelhadas de Plasma e de Soro em EDTA demonstraram um desempenho equivalente quando analisadas pelo HCV ELITE MGB® Kit em associação com o ELITE InGenius.

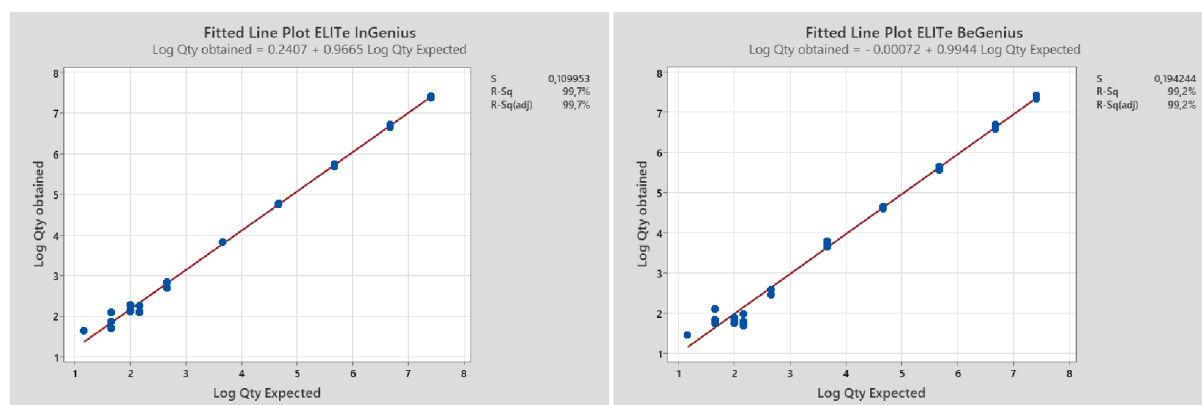
Adicionalmente, foi realizado o teste da equivalência de matrizes no estudo do intervalo de medição linear constante da secção seguinte.

A equivalência da matriz verificada em associação com o ELITE InGenius também é válida para o ELITE BeGenius e o MyGenius PRO.

12.3 Intervalo de medição linear

O intervalo de medição linear do ensaio foi determinado em associação com amostras de plasma no ELITE InGenius e no ELITE BeGenius usando um painel de diluições de material de referência de HCV (AcroMetrix) em amostras de plasma em EDTA negativas.

Os resultados são comunicados nas figuras seguintes.

**Fig. 1**

O intervalo de medição linear como cópias/mL para o plasma em EDTA é calculado através da aplicação do fator de conversão específico na secção seguinte.

Os resultados finais estão resumidos na tabela seguinte.

Table 23

Intervalo de medição linear para o HCV ELITE MGB Kit e o ELITE InGenius e o ELITE BeGenius	
Limite inferior	Limite superior
26 IU/mL	25000001 IU/mL
11 cópias/mL	10.416.667 cópias/mL

Para os principais genótipos do HCV (1, 2, 3, 4, 5, 6), a linearidade da quantificação foi verificada através da análise de plasma em EDTA negativo reforçado com material de referência de HCV (SeraCare).

Os resultados são comunicados na figura seguinte.

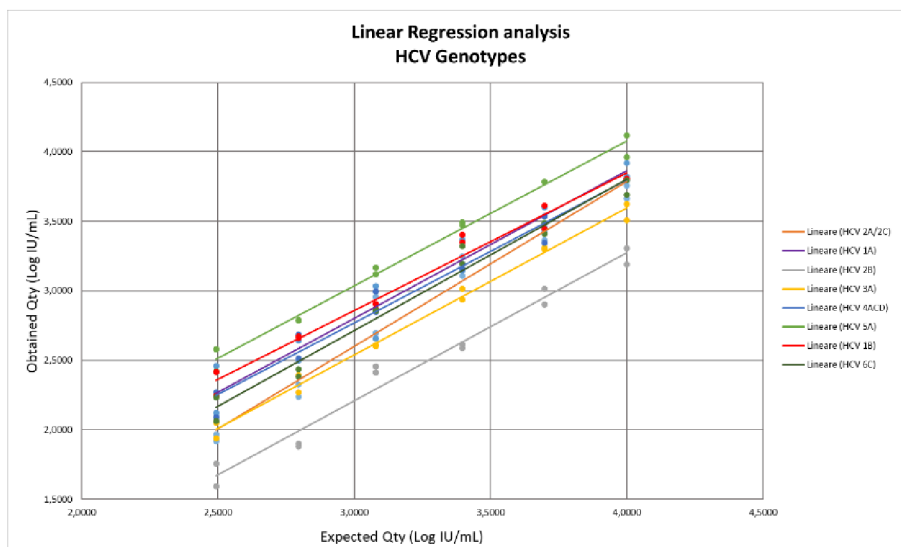


Fig. 2

A linearidade do ensaio foi confirmada para os genótipos HCV principais (1, 2, 3, 4, 5, 6): o valor R² variou de 0,950 a 0,992 e os resultados quantitativos encontram-se dentro de $\pm 0,5$ Log IU/mL com exceção do genótipo HCV 2B que foi subvalorizado a cerca de 0,8 Log IU/mL em comparação com o valor teórico. No entanto, as amostras também foram subvalorizadas por “cobas® HCV para uso em sistemas 6800” (Roche Diagnostics).

A linearidade do ensaio foi verificada através da análise de plasma em EDTA negativo, plasma em ACD negativo e soro negativo reforçado com material de referência de HCV (6th WHO International Standard NIBSC).

Os resultados são comunicados na figura seguinte.

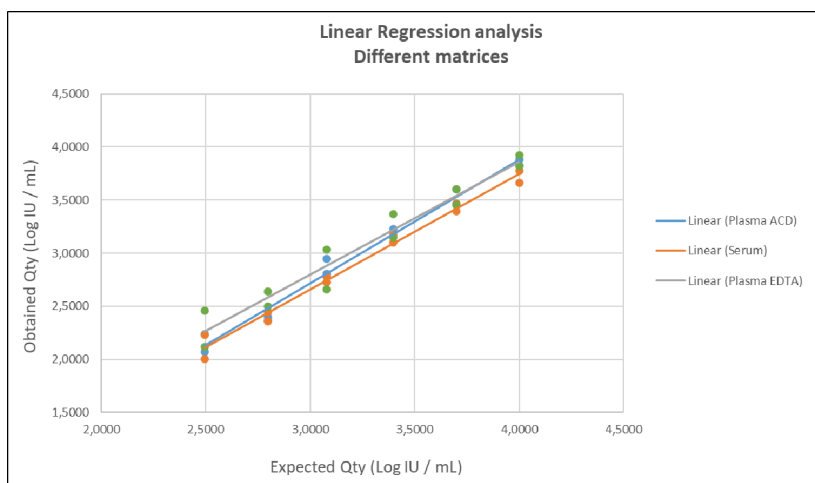


Fig. 3

A linearidade do ensaio foi verificada para o plasma em EDTA, plasma em ACD e soro, fornecendo resultados quantitativos dentro do intervalo de $\pm 0,5$ Log IU/mL e um R² de 0,950, 0,984 e 0,987, respetivamente.

O intervalo de medição linear determinado para o ELITe InGenius também é válido para o ELITe BeGenius e o MyGenius PRO.

12.4 Incerteza da curva de standard

O valor da incerteza da curva de standard foi calculado combinando os erros aleatórios (DP) das quantificações de todos os níveis e multiplicando o fator de cobertura $k = 2$ (incerteza combinada alargada) e é igual a 0,1416 Log cópias / reação.

Table 24

Níveis da curva de standard	Teórico Log c/rxn	SD	Incerteza combinada alargada
HCV Standard 10^5	5,0000	0,0652	0,1416
HCV Standard 10^4	4,0000	0,0641	
HCV Standard 10^3	3,0000	0,0489	
HCV Standard 10^2	2,0000	0,0964	

12.5 Inclusividade: Eficiência de detecção e eficiência de quantificação em diferentes genótipos

A inclusividade do ensaio, como eficiência de detecção de diferentes genótipos de HCV foi avaliada por análise in silico das sequências disponíveis nas bases de dados de nucleótidos. A análise mostrou a conservação da sequência e a ausência de mutações significativas. Assim, espera-se uma detecção eficiente para as diferentes estirpes ou isolados.

A inclusividade do ensaio foi verificada testando três painéis de materiais de referência de HVC (Seracare, AccuTrak, Qnostics) a 3x o LdD.

Os resultados são comunicados nas tabelas seguintes.

Table 25

Painel de avaliação do genótipo de ARN de HCV AccuTrak (SeraCare)		
Identificação da amostra	Pos./Rep.	Resultado
HCV 1a	3 / 3	HCV detetado
HCV 1b	3 / 3	HCV detetado
HCV 2a/2c	3 / 3	HCV detetado
HCV 2b	3 / 3	HCV detetado
HCV 3a	3 / 3	HCV detetado
DHCV 4acd	3 / 3	HCV detetado
HCV 5a	3 / 3	HCV detetado
HCV 6c	3 / 3	HCV detetado
Painel de avaliação do genótipo de ARN de HCV AccuTrak (SeraCare)		
Identificação da amostra	Pos./Rep.	Resultado
HCV 1a	3/3	HCV detetado
HCV 1b	3/3	HCV detetado
HCV 2b	3/3	HCV detetado
HCV 3a	3/3	HCV detetado
HCV 4a	3/3	HCV detetado

Table 25 (continued)

Painel de avaliação do genótipo de ARN de HCV AccuTrak (SeraCare)		
Identificação da amostra	Pos./Rep.	Resultado
HCV 5a	3/3	HCV detetado
HCV 6a	3/3	HCV detetado
Painel de avaliação do genótipo de ARN de HCV AccuTrak (SeraCare)		
Identificação da amostra	Pos./Rep.	Resultado
HCV 1a	3/3	HCV detetado
HCV 1b	3/3	HCV detetado
HCV 2i	3/3	HCV detetado
HCV 3a	3/3	HCV detetado
HCV 4r	3/3	HCV detetado
HCV 5a	3/3	HCV detetado
HCV 6I	3/3	HCV detetado

Todas as amostras foram corretamente detetadas como positivas e quantificadas dentro de $\pm 0,5$ Log pelo HCV ELITe MGB® Kit no ELITe InGenius.

12.6 Marcadores potencialmente interferentes: Reatividade cruzada

A potencial reatividade cruzada de organismos não pretendidos que podem ser encontrados em amostras clínicas foi avaliada para o ensaio através de análise in silico. A análise não demonstrou homologias significativas com outros organismos não pretendidos (vírus, bactérias, protozoários e fungos). Por conseguinte, não é esperada qualquer reatividade cruzada.

A ausência de reatividade cruzada com outros organismos também foi verificada através da análise de um painel de organismos não pretendidos (ATCC, NIBSC, Vircell e Zeptomatrix) a título alto.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Table 26

Identificação da amostra	Pos./Rep.	Resultado
HIV1	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HIV2	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HTLVI	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HTLVII	0 / 3	Sem reatividade cruzada
CMV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
EBV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HAV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HBV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HEV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HSV1	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HSV2	0 / 3	Sem reatividade cruzada

Table 26 (continued)

Identificação da amostra	Pos./Rep.	Resultado
HHV6	0 / 3	Sem reatividade cruzada
VZV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Flu A	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Flu B	0 / 3	Sem reatividade cruzada
RSV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
ADV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
WNV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
DV3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
EV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
PVB19	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Staphylococcus aureus	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Candida albicans	0 / 3	Sem reatividade cruzada
WNV (NIBSC)	0 / 12	Sem reatividade cruzada
WNV (ATCC)	0 / 3	Sem reatividade cruzada
WNV (Vircell)	0 / 5	Sem reatividade cruzada
DV1	0 / 5	Sem reatividade cruzada
DV2	0 / 5	Sem reatividade cruzada
DV3 (Vircell)	0 / 5	Sem reatividade cruzada
DV3 (ATCC)	0 / 3	Sem reatividade cruzada
DV4	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Vírus da febre amarela	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Vírus Zika asiático	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Vírus Zika	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Vírus Chikungunya	0 / 5	Sem reatividade cruzada

Todos os marcadores potencialmente interferentes testados revelaram que não há reatividade cruzada para a amplificação do alvo HCV utilizando o HCV ELITe MGB Kit.

12.7 Marcadores potencialmente interferentes: Inibição

A inibição potencial dos organismos não pretendidos que podem ser encontrados em amostras clínicas foi avaliada para o ensaio através da análise de um painel de organismos não pretendidos (ATCC, NIBSC, ZeptoMetrix) a 3x o LdD.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Table 27

Identificação da amostra	Pos./Rep. HCV	Resultado
HIV1	3 / 3	Sem interferência
HIV2	3 / 3	Sem interferência
HTLVI	3 / 3	Sem interferência
HTLVII	3 / 3	Sem interferência
CMV	3 / 3	Sem interferência
EBV	3 / 3	Sem interferência
HAV	3 / 3	Sem interferência
HBV	3 / 3	Sem interferência
HEV	3 / 3	Sem interferência
HSV1	3 / 3	Sem interferência
HSV2	3 / 3	Sem interferência
HHV6	3 / 3	Sem interferência
VZV	3 / 3	Sem interferência
Flu A	3 / 3	Sem interferência
Flu B	3 / 3	Sem interferência
RSV	3 / 3	Sem interferência
ADV	3 / 3	Sem interferência
WNV	3 / 3	Sem interferência
DV3	3 / 3	Sem interferência
EV	3 / 3	Sem interferência
PVB19	3 / 3	Sem interferência
Staphylococcus aureus	3 / 3	Sem interferência
Candida albicans	3 / 3	Sem interferência

Todos os organismos potencialmente interferentes testados não revelaram qualquer inibição da detecção e quantificação do alvo HCV utilizando o HCV ELITe MGB Kit.

12.8 Substâncias potencialmente interferentes: Inibição

A inibição potencial de substâncias interferentes (endógenas e exógenas) que pode ser encontrada em amostras clínicas foi avaliada para o ensaio através da análise de um painel de substâncias a concentrações relevantes em amostras de plasma positivas para os alvos.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Table 28

Amostra	Pos./Rep. HCV	Resultado
Bilirrubina	3 / 3	Sem interferência
Triglicéridos	3 / 3	Sem interferência

Table 28 (continued)

Amostra	Pos./Rep. HCV	Resultado
Hemoglobina alta	1 / 3	Interferência
Hemoglobina média	3 / 3	Interferência
Hemoglobina baixa	3 / 3	Sem interferência
Heparina	0 / 3	Interferência
EDTA	3 / 3	Sem interferência
Ganciclovir	3 / 3	Sem interferência
Azitromicina	3 / 3	Sem interferência
Sofosbuvir	3 / 3	Sem interferência
Pibrentasvir	3 / 3	Sem interferência
Glecaprevir	3 / 3	Sem interferência
Ribavirina	3 / 3	Sem interferência
Velpatasvir	3 / 3	Sem interferência

A maioria das substâncias testadas não interfere com a amplificação de HCV ou do Internal Control.

NOTE

A hemoglobina a uma concentração média (1,7 - 2,3 g/dL) é considerada interferente, uma vez que não quantifica o alvo HCV com valores médios de Quantidade Logarítmica do alvo dentro do intervalo solicitado pelas diretrizes internacionais após adição ou subtração do valor SEM como erro de medição.

NOTE

A heparina e a hemoglobina a concentrações elevadas (3,4 – 4,6 g/dL) foram confirmadas como capazes de inibir a amplificação do HCV mas, graças ao valor-limite de Ct do Internal Control (IC Ct < 31), os resultados das amostras foram, na maioria dos casos, designados "inválidos" e não "falsos negativos".

12.9 Contaminação cruzada

A possível contaminação cruzada durante a análise foi avaliada através da análise de 30 amostras de plasma negativas para o ARN do HCV, alternadas com 30 amostras de plasma reforçadas com material de referência certificado para HCV (Zeptometrix) em título alto.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Table 29

Amostras	N	Positivo	Negativo
Plasma em ACD enriquecido a 6.26×10^7 HCV IU/mL	30	30	0
Plasma em ACD negativo para HCV	30	0	30

Neste teste com o HCV ELITE MGB Kit, a contaminação cruzada não foi detetada dentro das sessões nem entre sessões.

12.10 Taxa de falha geral do sistema

A taxa de falha de todo o sistema para o ensaio foi avaliada no ELITE InGenius e ELITE BeGenius através do teste de um painel de amostras reforçadas com material de referência certificado (6th WHO International Standard, NISBC) a uma concentração de 3 x LdD (cerca de 78 IU/mL).

Os resultados estão resumidos nas tabelas seguintes.

Table 30 ELITE InGenius – Taxa de falha geral do sistema

Amostras	N	Teórico IU/mL	Positivo	Negativo	Taxa de falha geral do sistema
Plasma em EDTA reforçado com HCV	100	78	100	0	0%
Plasma em ACD reforçado com HCV	30	78	30	0	0%
Soro reforçado com HCV	30	78	30	0	0%

Table 31 ELITE BeGenius – Taxa de falha geral do sistema

Matriz	N	Teórico IU/mL	Positivo	Negativo	Taxa de falha geral do sistema
Plasma em EDTA reforçado com HCV	100	78	100	0	0%

Neste teste com o HCV ELITE MGB Kitt, nenhuma das amostras de ARN do HCV positivas testadas deu resultados falsos negativos. Neste teste, a taxa de falha geral do sistema foi igual a 0%.

12.11 Repetibilidade

A repetibilidade intra-sessão e inter-sessão do ensaio foi avaliada no ELITE InGenius e no ELITE BeGenius através da análise de um painel de amostras de plasma, incluindo uma amostra negativa e duas amostras enriquecidas com material de referência certificado de HCV (6th WHO International Standard, NIBSC).

Um exemplo dos resultados da repetibilidade intra-sessão (em um dia) são mostrados nas tabelas seguintes.

Table 32 Repetibilidade intra-sessão do ELITE InGenius (dia 1)

Amostra	N	HCV			
		Ct médio	Ct médio	Ct médio	% Concordância
Negativo	8	-	-	-	100%
3X LDD	8	37,28	0,34	0,92	100%
10X LDD	8	35,37	0,43	1,23	100%

Table 33 Repetibilidade intra-sessão do ELITe BeGenius (dia 1)

Amostra		HCV			
		Ct médio	Ct médio	Ct médio	% Concordância
Negativo	8	-	-	-	100%
3X LDD	8	37,83	1,15	3,05	100%
10X LDD	8	35,45	0,30	0,85	100%

Um exemplo dos resultados da repetibilidade inter-sessão (em dois dias) são mostrados nas tabelas seguintes.

Table 34 ELITe BeGenius Capacidade de repetição inter-sessão (Dia1 + Dia2)

Amostra	N	HCV			
		Ct médio	Ct médio	Ct médio	% Concordância
Negativo	16	-	-	-	100%
3X LDD	16	37,37	0,67	1,78	100%
10X LDD	16	35,40	0,43	1,22	100%

Table 35 ELITe BeGenius Capacidade de repetição inter-sessão (Dia1 + Dia2)

Amostra	N	HCV			
		Ct médio	Ct médio	Ct médio	% Concordância
Negativo	16	-	-	-	100%
3X LDD	16	37,68	0,25	2,31	100%
10X LDD	16	35,54	0,10	0,96	100%

No teste de repetibilidade, o HCV ELITe MGB Kit detetou todas as amostras conforme esperado e apresentou uma variabilidade máxima dos valores de Ct do alvo como %CV menor que 5%.

12.12 Reprodutibilidade

A reprodutibilidade interlocal do ensaio foi avaliada no ELITe InGenius através da análise de um painel de amostras de plasma negativas ou reforçadas com HCV (6th WHO International Standard, NIBSC).

Um resumo de reprodutibilidade interlocal (em dois locais) é mostrado nas tabelas seguintes:

Table 36 ELITe InGenius Reprodutibilidade interlocal

Amostra	HCV				
	N	Ct médio	SD	%CV	% Concordância
Negativo	24	Indet.	-	-	100%
3X LdD	24	36,89	0,55	1,48	100%
10X LOD	24	35,03	0,46	1,32	100%

No teste de reprodutibilidade interlocal, o HCV ELITe MGB Kit detetou o alvo e apresentou uma variabilidade máxima dos valores de Ct do alvo como %CV igual a 1,48%.

A reprodutibilidade do ensaio foi avaliada no ELITe BeGenius e no ELITe InGenius através da análise de um painel de amostras de plasma negativas ou reforçadas com HCV (6th WHO International Standard, NIBSC).

Um resumo de reprodutibilidade inter-instrumento (em três instrumentos) é mostrado nas tabelas seguintes:

Table 37 ELITe InGenius Reprodutibilidade inter-instrumento

Amostra	HCV				
	N	Ct médio	SD	% CV	% Concordância
Negativo	24	Indet.	-	-	100%
3x LdD	24	37,03	0,53	1,44	100%
10x LdD	24	33,97	0,38	1,11	100%

Table 38 Reprodutibilidade inter-instrumento do ELITe InGenius

Amostra	HCV				
	N	Ct médio	SD	% CV	% Concordância
Negativo	24	Indet.	-	-	100%
3 x LdD	23	38,00	0,71	1,86	100%
10 x LdD	24	36,44	0,67	1,84	100%

Um resumo de reprodutibilidade interlote (em três lotes) é mostrado nas tabelas seguintes:

Table 39 ELITe InGenius Capacidade de reprodução inter-lote

Amostra	HCV				
	N	Ct médio	SD	% CV	% Concordância
Negativo	48	Indet.	-	-	100%
3x LdD	48	37,32	0,64	1,72	100%
10x LdD	48	35,44	0,38	1,07	100%

Table 40 ELITe BeGenius Capacidade de reprodução inter-lote

Amostra	HCV				
	N	Ct médio	SD	% CV	% Concordância
Negativo	48	Indet.	-	-	100%
3 x LdD	48	37,60	0,71	1,88	100%
10 x LdD	48	35,78	0,48	1,33	100%

No teste de reprodutibilidade inter-instrumento e inter-lote, o HCV ELITe MGB Kit detetou todas as amostras conforme esperado e apresentou uma variabilidade máxima dos valores de Ct do alvo como %CV inferior a 5%.

12.13 Fator de conversão para unidades internacionais

O fator de conversão para relatar os resultados quantitativos em IU/mL a partir de cópias/mL, foi verificado usando material de referência calibrado e certificado “6th WHO HCV International Standard” (NIBSC).

O fator de conversão foi determinado como **2,4 IU/cópia**.

Como a equivalência entre o plasma em EDTA, plasma em ACD e soro foi demonstrada anteriormente, o fator de conversão pode ser aplicado às três matrizes.

O fator de conversão do HCV ELITE MGB Kit em associação com plasma em EDTA foi verificado em associação com os instrumentos ELITE BeGenius e ELITE InGenius utilizando o material de referência calibrado certificado "6th WHO HCV International Standard" (NIBSC). Os resultados obtidos foram analisados por regressão ortogonal e linear para calcular a sua correlação.

O fator de conversão para unidades internacionais calculado para ELITE InGenius também é válido para MyGenius PRO.

Os resultados estão resumidos na figura seguinte.

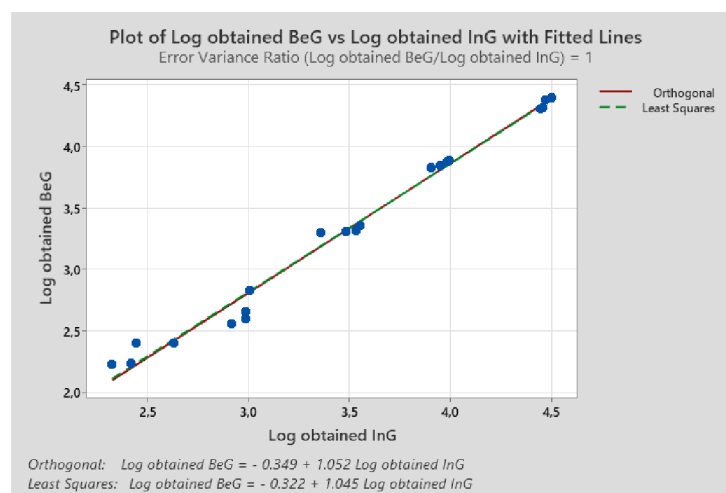


Fig. 4

A análise de regressão ortogonal gerou uma interceção igual a 0,3494 (95% CI: - 0,5546; - 0,1442) e um declive igual a 1,0523 (95% CI: 0,9943; 1,1103). A análise de regressão linear gerou um R² de 0,985.

12.14 MyGenius PRO: correlação do método

A análise de correlação dos diferentes métodos foi avaliada no MyGenius PRO através da análise de amostras HCV de doentes cuja carga viral se encontrava dentro do intervalo de medição dos métodos de referência (ELITE InGenius). Os resultados obtidos com o MyGenius PRO e o método de referência (ELITE InGenius) foram analisados por regressão ortogonal e linear.

O estudo de correlação foi efetuado num local em 103 amostras clínicas positivas de plasma em EDTA, certificadas como positivas para o ADN do HCV ou reforçadas com material de referência, utilizando o ELITE InGenius como comparador.

Os resultados estão resumidos na figura seguinte

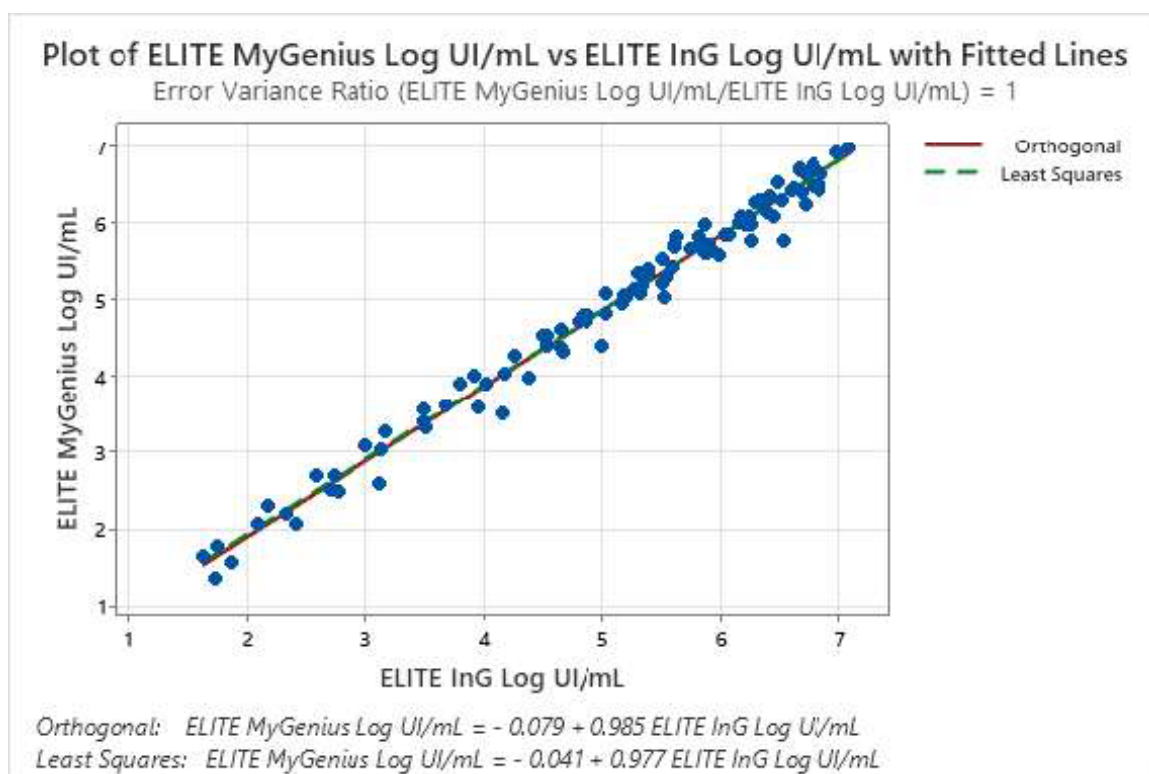


Fig. 5

A análise de regressão ortogonal gerou um declive igual a 0,0791 (95% CI: 0,2047; 0,0464) e um declive igual a 0,9849 (95% CI: 0,9611 – 1,0088). A análise de regressão linear gerou um R² de 0,985.

Os resultados da correlação do método também são válidos para as matrizes de plasma em ACD e soro.

12.15 Especificidade de diagnóstico: confirmação de amostras negativas

A especificidade de diagnóstico do ensaio, avaliada pela concordância da percentagem negativa, foi avaliada em três locais diferentes no **ELITE InGenius** através da análise de amostras clínicas negativas para o ARN de HCV testadas por métodos de referência de diagnóstico molecular com marcação CE IVD.

Dado que o ELITE BeGenius tem desempenhos analíticos equivalentes ao ELITE InGenius, os desempenhos de diagnóstico do ensaio realizados nos dois instrumentos também foram considerados equivalentes. Por conseguinte, a Especificidade de diagnóstico do ensaio obtida em associação com o ELITE InGenius também se aplica ao ELITE BeGenius.

Dado que o MyGenius PRO revelou desempenhos analíticos equivalentes ao ELITE InGenius, os desempenhos de diagnóstico do ensaio realizados nos dois instrumentos também foram considerados equivalentes. Por conseguinte, a especificidade do diagnóstico do ensaio obtida em associação com o ELITE InGenius também se aplica ao MyGenius PRO.

Os resultados do estudo de especificidade de diagnóstico, após análise discrepante, estão resumidos na tabela seguinte, tanto diferenciados pelo método de referência ("cobas® HCV para utilização no sistema 4800" e "cobas® HCV para utilização no sistema 6800", Roche Diagnostics) como unidos, uma vez que têm desempenhos equivalentes.

Table 41

Amostras de plasma em EDTA e soro negativas para o ARN do HCV	N	Positivo	Negativo	Especificidade do diagnóstico
Referência: cobas HCV para utilização no sistema 6800	100	0	100	100%
Referência: cobas HCV para utilização no sistema 4800	222	5	217	97,7%
Resultados unidos	322	5	317	98,4%

O valor-limite de Ct do IC para plasma em EDTA, plasma em ACD e soro foi definido para 31 quando testadas com o ELITE InGenius e o MyGenius PRO e para 33 quando testadas com o ELITE BeGenius.

12.16 Sensibilidade de diagnóstico: correlação do método

A sensibilidade de diagnóstico do ensaio, avaliada pela análise de correlação de diferentes métodos, foi avaliada em três locais diferentes no **ELITE InGenius** através da análise de amostras clínicas positivas para ARN do HCV de pacientes submetidos a terapia antivírica cuja carga viral se encontrava dentro do intervalo de medição do HCV ELITE MGB Kit e dos métodos de referência de diagnóstico molecular com marcação CE IVD. Os resultados obtidos com o HCV ELITE MGB Kit e o método de referência foram analisados por regressão Deming e linear.

O estudo de correlação foi realizado num local em 95 amostras clínicas positivas para ARN do HCV de plasma colhido em EDTA usando o "cobas® HCV para utilização no sistema 6800" como comparador.

Os resultados estão resumidos na figura seguinte.

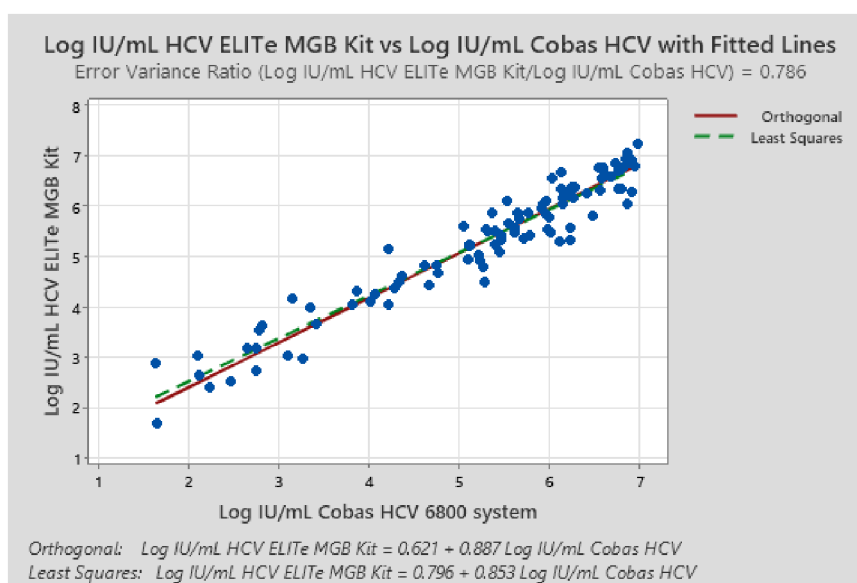


Fig. 6

Neste teste, a análise da regressão Deming gerou um declive igual a 0,887 (95% CI: 0,836; 0,938) e uma interceção igual a 0,621 (95% CI: 0,345; 0,896). A análise de regressão linear gerou um R² de 0,926.

O estudo de correlação foi realizado noutros dois locais em 184 amostras clínicas positivas para ARN do HCV de plasma colhido em EDTA e soro usando o "cobas® HCV para utilização no sistema 4800" como comparador.

Os resultados estão resumidos na figura seguinte.

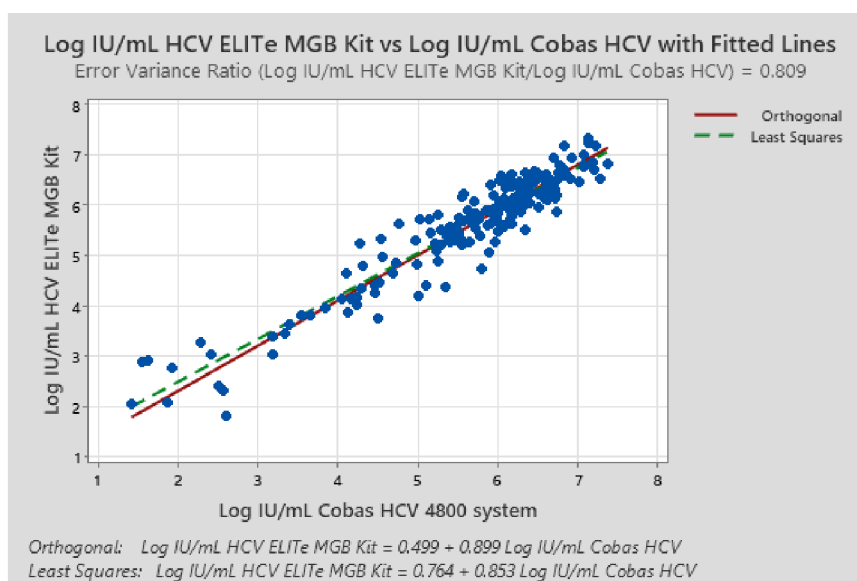


Fig. 7

Neste teste, a análise da regressão Deming gerou um declive igual a 0,899 (95% CI: 0,856; 0,943) e uma interceção igual a 0,499 (95% CI: 0,245; 0,753). A análise de regressão linear gerou um R^2 de 0,899.

Como os dois métodos de referência (“cobas® HCV para utilização no sistema 4800” e “cobas® HCV para utilização no sistema 6800”, Roche Diagnostics) têm desempenhos equivalentes, o estudo de correlação também foi realizado em resultados unidos obtidos em três locais diferentes.

Os resultados estão resumidos na figura seguinte.

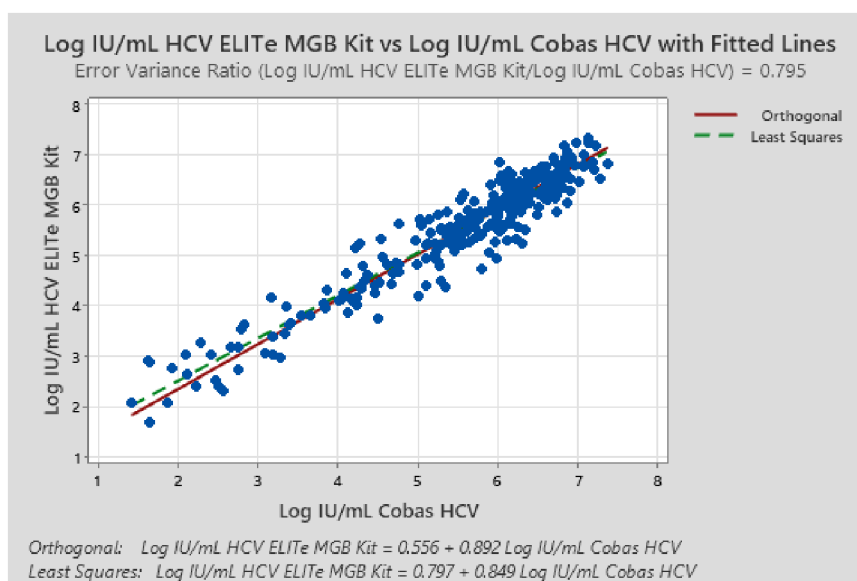


Fig. 8

Neste teste, a análise da regressão Deming gerou um declive igual a 0,892 (95% CI: 0,858; 0,926) e uma interceção igual a 0,556 (95% CI: 0,363; 0,749). A análise de regressão linear gerou um R^2 de 0,905.

Dado que o **ELITe BeGenius** tem desempenhos analíticos equivalentes ao **ELITe InGenius**, os desempenhos de diagnóstico do ensaio realizados nos dois instrumentos também foram considerados equivalentes. Por conseguinte, a Sensibilidade do diagnóstico do ensaio obtida em associação com o **ELITe InGenius** também se aplica ao **ELITe BeGenius**.

Dado que o **MyGenius PRO** revelou desempenhos analíticos equivalentes ao ELiTe InGenius, os desempenhos de diagnóstico do ensaio realizados nos dois instrumentos também foram considerados equivalentes. Por conseguinte, a sensibilidade do diagnóstico do ensaio obtida em associação com o ELiTe InGenius também se aplica ao MyGenius PRO.

NOTE

Os dados e resultados completos dos testes realizados para avaliação das características de desempenho do produto com matrizes e o instrumento estão registados no Ficheiro técnico do produto para o "HCV ELiTe MGB® Kit", FTP601ING.

13 REFERÊNCIAS

P. Halfon et al. (2006) J Clin Microbiology 44: 2507 – 2511

E. A. Lukhtanov et al. (2007) Nucleic Acids Res. 35: e30.

Relatório público da OMS sobre a pré-qualificação de diagnósticos in vitro (Relatório público da OMS sobre PQ), número PQDx 0465-118-00, 03/2021, versão 1,0.

<https://ltd.aruplab.com> (número de teste 3000572).

<https://www.mayocliniclabs.com> (ID de teste: HCVQN).

H. H. Kessler et al. (2001) J. Clin. Microb. 39: 1788 - 1790.

K. Sener et al. (2010) J. Clin. Lab. Analysis 24: 134 - 138.

C. Baleriola et al. (2011) J. Clin. Microbiol. 49: 3163 – 3167

WHO (World Health Organization), 2018, Guidelines for the care and treatment of persons diagnosed with chronic hepatitis C virus infection.

CDC (Centers for Disease Control and Prevention), 2020, CDC Recommendations for Hepatitis C Screening Among Adults — United States, 2020.

AASLD (American Association for the study of liver diseases) and IDSA (The Infectious Diseases Society of America), 2022, HCV Guidance: Recommendations for testing, managing and treating Hepatitis C.

EASL (European Association for the Study of the Liver), 2020, EASL recommendations on treatment of Hepatitis C 2020", Journal of Hepatology.

Ministero della Salute, 2022, Linee di indirizzo Nazionali sui percorsi diagnostico terapeutici assistenziali per l'infezione da virus dell'epatite

14 LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Utilize este produto apenas com as seguintes amostras clínicas: Plasma colhido em EDTA ou ACD, Soro.

O plasma colhido em EDTA ou em ACD e o soro devem ser obtidos a partir de sangue total armazenado à temperatura ambiente ou +2 / +8 °C durante um máximo de 24 horas.

Não use Plasma colhido em heparina com este produto: a heparina inibe a reação de amplificação de ácidos nucleicos e causa resultados inválidos.

Não use Plasma hemolítico com este produto: a hemoglobina inibe a reação de amplificação de ácidos nucleicos e causa resultados inválidos.

Neste momento não existem dados disponíveis relativos aos desempenhos do produto com outras amostras clínicas, como sangue total.

Este produto não se destina a ser utilizado para rastrear ou detetar a presença ou a exposição a agentes transmissíveis no sangue, componentes sanguíneos, células, tecidos, órgãos ou quaisquer dos seus derivados, a fim de avaliar a sua adequação para transfusão, transplante ou administração de células.

Os resultados obtidos com este produto dependem da identificação, colheita, transporte, armazenamento e processamento corretos das amostras. Para evitar resultados incorretos, é por isso necessário ter cuidado durante estes passos e seguir cuidadosamente as instruções de utilização fornecidas com o produto.

Devido à sua elevada sensibilidade analítica, o método de PCR em tempo real usado neste produto é sensível a contaminações cruzadas a partir de amostras clínicas positivas, dos Positive Controls e dos produtos de PCR. A contaminação cruzada causa resultados falsos positivos. O formato do produto foi concebido para limitar a contaminação cruzada. No entanto, as contaminações cruzadas podem ser evitadas simplesmente através de boas práticas laboratoriais e do cumprimento destas instruções de utilização.

Este produto deve ser manuseado por pessoal qualificado e com formação no processamento de amostras biológicas potencialmente infecciosas e de preparações químicas classificadas como perigosas, para evitar acidentes com consequências potencialmente graves para o utilizador e outras pessoas.

Este produto requer o uso de equipamento de proteção individual que seja adequado para o processamento de amostras biológicas potencialmente infecciosas e de preparações químicas classificadas como perigosas, para evitar acidentes com consequências potencialmente graves para o utilizador e outras pessoas.

Este produto requer o uso de equipamento de proteção individual e instrumentos específicos para preparação do ensaio, para evitar falsos resultados positivos.

Para evitar resultados incorretos, este produto deve ser manuseado por profissionais qualificados e com formação em técnicas de biologia molecular, como extração, transcrição reversa, PCR e deteção de ácidos nucleicos.

É necessário ter áreas separadas para a preparação da mistura de reação completa e da extração/amplificação/deteção de produtos de amplificação para evitar falsos resultados positivos.

Devido a diferenças inerentes entre tecnologias, é recomendado que os utilizadores realizem estudos de correlação do método para calcular diferenças tecnológicas antes de mudar para uma nova tecnologia.

Um resultado negativo obtido com este produto indica que o ARN alvo não foi detetado no ARN extraído da amostra; no entanto, não pode negligenciar-se o facto de o ARN alvo ter um título mais baixo que o limite de deteção do produto (ver [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELiTe InGenius, ELiTe BeGenius e MyGenius PRO page 32](#)). Neste caso, o resultado poderia ser um falso negativo.

Os resultados obtidos com este produto podem, por vezes, ser inválidos devido a uma falha do Internal Control. Neste caso, a amostra deve ser retestada, começando pela extração; o que pode causar um atraso na obtenção dos resultados finais.

Possíveis polimorfismos, inserções ou deleções na região do ARN do alvo abrangida pelos primers do produto e pelas sondas podem prejudicar a deteção e quantificação do ARN alvo.

Tal como acontece com qualquer outro dispositivo médico de diagnóstico, os resultados obtidos com este produto têm de ser interpretados em combinação com todas as observações clínicas e resultados laboratoriais relevantes.

Tal como acontece com qualquer outro dispositivo médico de diagnóstico, existe um risco residual de obter resultados inválidos ou errados com este produto. Este risco residual não pode ser eliminado ou ainda mais reduzido. Em alguns casos, este risco residual pode contribuir para decisões erradas com potenciais efeitos perigosos para o doente. No entanto, este risco residual associado à utilização prevista do produto foi ponderado em relação aos potenciais benefícios para o paciente e foi considerado aceitável.

15 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

ELiTe InGenius e ELiTe BeGenius

Table 42

Reação do Q-PCR Standard, curva standard ou reação do Controlo Positivo inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da mistura de reação completa, dos Q-PCR Standards e do Positive Control. Verifique os volumes da mistura de reação completa, dos Q-PCR Standards e do Positive Control.
Erro na preparação da mistura de reação completa.	Verifique os volumes dos reagentes usados durante a preparação da mistura de reação completa.
Degradação da mistura de reação completa ou dos respetivos componentes.	Não utilize a mistura de reação completa durante mais de 3 sessões consecutivas (7 horas no bloco de refrigeração da Inventory Area (área dos reagentes) ou na Cooler Unit). Não deixe a PCR Mix à temperatura ambiente durante mais do que 30 minutos. Não deixe a RT EnzymeMix a temperaturas superiores a -20 °C durante mais de 10 minutos. Prepare novamente a mistura de reação completa. Utilize uma nova alíquota de componentes.
Degradação dos Q-PCR Standards ou do Positive Control.	Não use o Q-PCR Standard para mais de 2 sessões independentes (2 horas cada na área de extração ou na Cooler Unit). Não use o Positive Control para mais de 4 sessões independentes (3 horas cada na área de extração ou na Cooler Unit). Use novas alíquotas dos Q-PCR Standards ou do Controlo positivo (Positive Control).
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELiTechGroup.

Table 43

Reação de Negative Control inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da mistura de reação completa e do Negative Control. Verifique os volumes da mistura de reação completa e do Negative Control.
Contaminação do Negative Control.	Não use o Negative Control para mais do que 1 sessão. Utilize uma nova alíquota de água de grau de biologia molecular.
Contaminação da mistura de reação completa ou dos respetivos componentes.	Prepare novamente a mistura de reação completa. Utilize uma nova alíquota de componentes.
Contaminação da área de extração, dos Racks, do Inventory Block (Gestor do reagente) ou da Cooler Unit	Limpe as superfícies com detergentes aquosos, lave as batas de laboratório, substitua os tubos e as pontas utilizadas.
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELiTechGroup.

Table 44

Reação da amostra inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da mistura de reação completa, do controlo interno e da amostra. Verifique os volumes da mistura de reação completa, do controlo interno e da amostra.
Erro na preparação da mistura de reação completa.	Verifique os volumes dos reagentes usados durante a preparação da mistura de reação completa.
Degradação da mistura de reação completa ou dos seus componentes.	Não utilize a mistura de reação completa durante mais de 3 sessões consecutivas (7 horas no bloco de refrigeração da Inventory Area (área dos reagentes) ou na Cooler Unit). Não deixe a PCR Mix à temperatura ambiente durante mais do que 30 minutos. Não deixe a RT EnzymeMix a temperaturas superiores a -20 °C durante mais de 10 minutos. Prepare novamente a mistura de reação completa. Utilize uma nova alíquota de componentes.
Degradação do modelo do Controlo Interno.	Utilize uma nova alíquota de Controlo Interno.
Inibição devido a substâncias interferentes na amostra.	Repita a amplificação com uma diluição de 1:2 em água de qualidade para biologia molecular de amostra eluída numa sessão "PCR only" (Apenas PCR). Repita a extração com uma diluição 1:2 em água de grau de biologia molecular da amostra numa sessão "Extract + PCR" (Extrair+ PCR).
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELiTechGroup.

Table 45

Curva de dissociação anómala	
Causas possíveis	Soluções
Ausência de um pico definido. Pico definido mas T _m diferente do de outras amostras e dos Standards e Positive Control.	Verifique a presença de Ct do alvo inferior a 30. A elevada quantidade de produto de amplificação no final da reação pode interferir com a análise da curva de fusão. Repita a amplificação da amostra para confirmar a presença do alvo com uma possível mutação. O alvo da amostra deve ser sequenciado para confirmar a mutação.

Table 46

Erro no cálculo de Ct	
Causas possíveis	Soluções
Concentração demasiado alta do alvo na amostra ou amostra com sinal de fluorescência anómalo.	Se for observada uma amplificação significativa no gráfico de PCR: - selecione o rastreio relacionado com a amostra e aprove manualmente o resultado como sendo positivo. Se não for observada uma amplificação significativa no gráfico de PCR, selecione o rastreio relacionado com a amostra e aprove manualmente o resultado como sendo negativo, ou deixe-o como inválido. Se for necessário um valor Ct: - repita a amplificação de amostra eluída com uma diluição 1:10 em água de grau de biologia molecular numa sessão "PCR Only" (apenas PCR). - repita a extração da amostra com uma diluição 1:10 em água de qualidade para biologia molecular numa sessão "Extract + PCR" (Extrair + PCR).

Table 47

Elevada taxa anómala de resultados positivos na mesma sessão (reações com valores de Ct recentes semelhantes)	
Causas possíveis	Soluções
Contaminação entre amostras durante os passos pré-analíticos.	Limpe a micropipeta com uma solução de hipoclorito de sódio (lixívia) a 3% nova ou detergente de ADN/ARN após usar a pipeta em cada amostra. Não use pipetas Pasteur. As pipetas devem ser do tipo de deslocação positiva ou ser usadas com pontas com filtro de aerossóis. Introduza as amostras nas últimas posições dos instrumentos, tal como indicado nas GUI. Siga a sequência de carregamento indicada pelo software.
Contaminação pelo ambiente laboratorial.	Limpe todas as superfícies em contacto com o operador e as amostras (incluindo as pipetas) com uma solução de hipoclorito de sódio a 3% (lixívia) nova ou produto de limpeza de ADN/ARN. Realize um ciclo de descontaminação U.V. Utilize um novo tubo de Q-PCR Mix e/ou Controlo Interno

MyGenius PRO**Table 48**

Reação do Q-PCR Standard, curva standard ou reação do Controlo Positivo inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique os volumes da mistura de reação completa, dos Q-PCR Standards e do Positive Control. É importante que os tubos utilizados no MyGenius PRO não tenham sido utilizados anteriormente por outras plataformas ou para definir sessões em plataformas abertas, pois o instrumento lê a etiqueta e atribui automaticamente o número máximo de réplicas que podem ser executadas se esse tubo nunca tiver sido carregado no MyGenius PRO. Portanto, se for utilizado um tubo que não seja novo, o volume poderá não ser suficiente.
Erro na preparação da mistura de reação completa.	Verifique os volumes dos reagentes usados durante a preparação da mistura de reação completa.

Table 48 (continued)

Reação do Q-PCR Standard, curva standard ou reação do Controlo Positivo inválida	
Causas possíveis	Soluções
Degradação da mistura de reação completa ou dos respetivos componentes.	Não use a mistura de reação completa durante mais de 3 sessões consecutivas (7 horas no carrossel). Não deixe a PCR Mix à temperatura ambiente durante mais do que 30 minutos. Não deixe a RT EnzymeMix a temperaturas superiores a -20 ° C durante mais de 10 minutos. Prepare novamente a mistura de reação completa. Utilize uma nova alíquota de componentes.
Degradação dos Q-PCR Standards ou do Positive Control.	Não use o Q-PCR Standard durante mais de 2 sessões independentes (2 horas cada no carrossel). Não use o Controlo Positivo para mais de 4 sessões independentes (3 horas cada no carrossel). Use tubos novos de Q-PCR Standards ou Positive Control.
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Table 49

Reação de Negative Control inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique os volumes da mistura de reação completa e do Negative Control. É importante que os tubos utilizados no MyGenius PRO não tenham sido utilizados anteriormente por outras plataformas ou para definir sessões em plataformas abertas, pois o instrumento lê a etiqueta e atribui automaticamente o número máximo de réplicas que podem ser executadas se esse tubo nunca tiver sido carregado no MyGenius PRO. Portanto, se for utilizado um tubo que não seja novo, o volume poderá não ser suficiente.
Contaminação do Negative Control.	Não use o Negative Control para mais do que 1 sessão e durante mais de 8 horas. Utilize um tubo novo de Negative Control.
Contaminação da mistura de reação completa	Prepare novamente a mistura de reação completa. Utilize uma nova alíquota de componentes.
Contaminação da área de extração, dos Racks, do Inventory Block (Gestor do reagente) ou da Cooler Unit.	Limpe as superfícies com detergentes aquosos, lave as batas de laboratório, substitua os tubos e as pontas utilizadas.
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Table 50

Reação da amostra inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique os volumes da mistura de reação completa, do Internal Control e das amostras. É importante que os tubos utilizados no MyGenius PRO não tenham sido utilizados anteriormente por outras plataformas ou para definir sessões em plataformas abertas, pois o instrumento lê a etiqueta e atribui automaticamente o número máximo de réplicas que podem ser executadas se esse tubo nunca tiver sido carregado no MyGenius PRO. Portanto, se for utilizado um tubo que não seja novo, o volume poderá não ser suficiente.
Degradação da mistura de reação completa ou dos respectivos componentes.	Não use a mistura de reação completa durante mais de 3 sessões consecutivas (7 horas no carrossel). Não deixe a PCR Mix à temperatura ambiente durante mais do que 30 minutos. Não deixe a RT EnzymeMix a temperaturas superiores a -20 ° C durante mais de 10 minutos. Prepare novamente a mistura de reação completa. Utilize uma nova alíquota de componentes.
Degradação do Controlo Interno.	Não use o Negative Control durante mais de 8 horas. Utilize um tubo novo de Internal Control.
Inibição devido a substâncias interferentes na amostra.	Repita a extração e amplificação da amostra. Repita a extração e amplificação da amostra com uma diluição 1:2 em água de qualidade para biologia molecular.
Concentração demasiado alta do alvo na amostra ou amostra com sinal de fluorescência anómalo	Se for necessário um valor de Ct, repita a extração e amplificação da amostra com uma diluição 1:10 em água de qualidade para biologia molecular.
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Table 51

Curva de dissociação anómala	
Causas possíveis	Soluções
Ausência de um pico definido. Pico definido mas Tm diferente do de outras amostras e dos Standards e Positive Control.	Verifique a presença de Ct do alvo inferior a 30. A elevada quantidade de produto de amplificação no final da reação pode interferir com a análise da curva de fusão. Repita a extração e amplificação da amostra para confirmar a presença do alvo com uma possível mutação. O alvo da amostra deve ser sequenciado para confirmar a mutação.

Table 52

Erro no cálculo de Ct	
Causas possíveis	Soluções
Concentração demasiado alta do alvo na amostra ou amostra com sinal de fluorescência anómalo.	Se uma amplificação significativa aparecer no traçado da PCR, o resultado deve ser considerado positivo. Se nenhuma amplificação aparecer no traçado da PCR, o resultado deve ser considerado negativo ou inválido. Se for necessário um valor de Ct, repita a extração e amplificação da amostra com uma diluição 1:10 em água de qualidade para biologia molecular.

Table 53

Elevada taxa anómala de resultados positivos na mesma sessão (reações com valores de Ct recentes semelhantes)	
Causas possíveis	Soluções
Contaminação entre amostras durante os passos pré-analíticos.	Limpe a micropipeta com uma solução de hipoclorito de sódio (lixívia) a 3% nova ou detergente de ADN/ARN após usar a pipeta em cada amostra. Não usar pipetas Pasteur. As pipetas devem ser do tipo de deslocação positiva ou ser usadas com pontas com filtro de aerossóis. Introduza amostras no final do dia.
Contaminação pelo ambiente laboratorial.	Limpe todas as superfícies em contacto com o operador e as amostras (incluindo as pipetas) com uma solução de hipoclorito de sódio a 3% (lixívia) nova ou produto de limpeza de ADN/ARN. Realize um ciclo de descontaminação U.V. Utilize um novo tubo de Q-PCR Mix e/ou Controlo Interno

16 SÍMBOLOS



Número de catálogo.



Limite máximo da temperatura.



Código de lote.



Prazo de validade (último dia do mês).

Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*.Cumprimento dos requisitos dos Regulamentos IVDR 2017/746/CE relativo a dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro*. Certificação emitida pela TÜV Süd Product Service GmbH, Alemanha.

Identificação única do dispositivo



Contém suficiente para "N" testes.



Consultar as instruções de utilização.



Conteúdo.



Manter afastado da luz solar.



Fabricante.

17 NOTIFICAÇÃO PARA OS UTILIZADORES

Qualquer incidente grave ocorrido relacionado com o dispositivo deve ser comunicado ao fabricante e às autoridades competentes do Estado-Membro em que o utilizador e/ou o paciente se encontram localizados. Para informar a ELITechGroup S.p.A., fabricante deste dispositivo, utilize o seguinte endereço de e-mail: egspa.vigilance@elitechgroup.com.

Um "Resumo da segurança e desempenho" será disponibilizado ao público através da base de dados europeia para dispositivos médicos (Eudamed) quando este sistema informático estiver operacional. Antes da notificação de total funcionalidade da Eudamed ter sido publicada, o "Resumo da Segurança e Desempenho" foi disponibilizado ao público mediante pedido por e-mail para emd.support@elitechgroup.com, em tempo útil.

18 NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA

Este produto contém reagentes produzidos pela Thermo Fisher Scientific e são vendidos ao abrigo de contratos de licenciamento celebrados entre a EG S.p.A. e respetivas sucursais e a Thermo Fisher Scientific. O preço de compra deste produto inclui direitos exclusivos, não transmissíveis, de utilização apenas desta quantidade do produto exclusivamente para atividades do comprador que estejam diretamente relacionadas com diagnósticos em humanos. Para obter mais informações sobre a aquisição de uma licença deste produto para outros fins que não os acima indicados, contacte o Licensing Department, Thermo Fisher Scientific. E-mail: outlicensing@thermofisher.com.

Os reagentes de deteção ELITe MGB® são abrangidos por um ou mais dos números de patente dos 7319022, 7348146, 7541454, 7671218, 7723038, 7767834, 8163910, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529, e os números de patente EP 2689031, 2714939, 2736916, 2997161 bem como pedidos que estejam atualmente pendentes.

As tecnologias ELITe InGenius®, ELITe BeGenius® e MyGenius PRO® estão cobertas por patentes e pedidos pendentes.

Esta licença limitada permite à pessoa ou entidade legal à qual este produto foi fornecido, usar o produto e os dados gerados pela utilização do produto, unicamente para diagnóstico humano. Nem o ELITechGroup S.p.A. nem os respetivos licenciantes concedem quaisquer outras licenças, expressas ou implícitas, para quaisquer outros fins.

Appendix A HCV ELITe MGB® Kit utilizado em associação com a série Genius®

NOTE

Este documento é uma versão simplificada das instruções de utilização oficiais. Este documento está disponível apenas em inglês. Consulte o documento completo antes de utilizar: www.elitechgroup.com

Utilização prevista

O produto **HCV ELITe MGB® Kit** consiste num dispositivo médico de diagnóstico in vitro que se destina a ser usado por profissionais de saúde como um ensaio quantitativo de transcrição reversa e PCR em tempo real de ácidos nucleicos para a deteção e a quantificação do ARN do vírus da Hepatite C (HCV), extraído de amostras clínicas.

O ensaio é validado em associação com os instrumentos **ELITe InGenius®** e **ELITe BeGenius®** e **MyGenius PRO®** (nome de registo ELIVERSE®), sistemas automatizados e integrados para a extração, transcrição reversa, PCR em tempo real e a interpretação dos resultados, usando amostras humanas de plasma colhido em EDTA ou em ACD e soro.

O produto está previsto para utilização como auxiliar na gestão de indivíduos infetados por HCV que estejam a realizar terapia antiviral.

Os resultados devem ser interpretados em conjunto com todas as observações clínicas e resultados laboratoriais relevantes.

O produto não se destina a ser utilizado para rastrear ou detetar a presença ou a exposição a agentes transmissíveis no sangue, componentes sanguíneos, células, tecidos, órgãos ou quaisquer dos seus derivados, a fim de avaliar a sua adequação para transfusão, transplante ou administração de células. O produto não se destina a ser utilizado como teste de diagnóstico para confirmar a presença de infeção pelo HCV.

Sequência amplificada

Sequência	Gene	Fluoróforo	Canal
Alvo	Região HCV5' UTR	FAM	HCV
Internal Control	MS2	AP525	IC

Matriz validada

› Plasma EDTA ou Plasma ACD	› Soro
-----------------------------	--------

Conteúdo do kit

HCV ELITe MGB Mix		HCV ELITe Standard		HCV - ELITe Positive Control	HCV Internal Control
 X 4	 X 2	    X 1		 X 2	 X 8
PCR Mix 4 tubos de 600 µL 96 reações por kit 5 ciclos de congelamento-descongelamento por tubo	RT EnzymeMix 2 tubos de 20 µL 96 reações por kit 10 ciclos de congelamento-descongelamento por tubo	Calibradores prontos a usar: 10 ⁵ , 10 ⁴ , 10 ³ , 10 ² 1 conjuntos de 4 tubos de 160 µL 2 ciclos de congelamento-descongelamento por tubo		Ready-to-use PC 2 tubos de 160 µL 8 reações por kit 4 ciclos de congelamento-descongelamento por tubo	IC pronto a utilizar 8 tubos de 160 µL 96 extrações por kit 6 ciclos de congelamento-descongelamento por tubo

Prazo de conservação máximo: **18 meses**Temperatura de armazenamento: **-20 °C**

Outros produtos necessários não fornecidos no kit

› Instrumento ELITe InGenius: INT030
› Instrumento ELITe BeGenius: INT040

› Cartucho de extração ELITe InGenius SP 1000: INT033SP1000
Consumíveis **ELITe InGenius** e **ELITe BeGenius** (ver instruções de utilização do ELITe InGenius e do ELITe BeGenius)

Protocolo do ELITe InGenius e do ELITe BeGenius

› Volume da amostra	600 µL	› Unidade do resultado quantitativo	Unidades internacionais: IU/mL
› Volume da HCV Internal Control	10 µL		Cópias: cópias/mL
› Volume de eluição total	50 µL	› Frequência dos controlos	15 dias
› Volume de entrada de eluição PCR	20 µL	› Frequência da calibração	60 dias
› Volume PCR Mix completo	20 µL		

Desempenho do ELiTe InGenius e do ELiTe BeGenius

Matriz	Limite de detecção	Fator de conversão em IU	Sensibilidade de diagnóstico: Correlação do método	Especificidade do diagnóstico
Plasma / Soro	26 IU/mL 11 cópias/mL	2,4 IU/cópia	R2 = 0,905 279 amostras quantificadas	98.4% 317 amostras confirmadas/322 amostras testadas
			métodos de referência: “cobas® HCV para utilização nos sistemas 4800” e “cobas® HCV para utilização nos sistemas 6800”, Roche Diagnostics.	

Preparação da amostra

Este produto destina-se a ser usado no instrumento **ELiTe InGenius** e **ELiTe BeGenius** com o ácido nucleico extraído das seguintes amostras clínicas identificadas de acordo com as diretrizes laboratoriais, e colhidas, transportadas e armazenadas sob as condições seguintes.

Tipo de amostra	Condições de transporte/armazenamento			
	+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ±10 °C	-70 ±15 °C
Amostras de plasma colhido em EDTA ou ACD	≤ 1 dia	≤ 3 dias	≤ 1 mês	≤ 6 meses
Soro	≤ 1 dia	≤ 5 dias	≤ 1 mês	≤ 6 meses

Não use Plasma colhido em heparina para evitar a inibição da reação de amplificação e resultados inválidos frequentes.

Não use plasma hemolítico, uma vez que a hemoglobina inibe a reação de PCR.

Procedimentos ELiTe InGenius

O utilizador é guiado passo a passo pela interface gráfica do utilizador (GUI) do software ELiTe InGenius para configurar a execução. Todos os passos: extração, PCR em tempo real e a interpretação dos resultados são realizados automaticamente. Estão disponíveis dois modos operacionais: execução completa (Extract + PCR (Extrair+PCR)) ou PCR Only (Apenas PCR).

Antes da análise

1. Ligue o ELiTe InGenius. Inicie sessão com o nome de utilizador e a palavra-passe Selecione o modo “Closed” (Fechado)	2. Verifique os calibradores: Q-PCR Standard no menu “Calibration” (Calibração) Verifique os controlos: Positive Control e Negative Control no menu “Controls” (Controlos). Nota: Todos devem ter sido executados, aprovados e não ter expirado	3. Descongele a PCR Mix e os tubos de CPE . Submeta a vórtice suave Centrifugue durante 5 s Mantenha a RT EnzymeMix em gelo
--	--	--

4. Prepare a mistura de reação completa			5. Submeta a vórtice suave Centrifugue durante 5 s. Mantenha mistura de reação completa em gelo. Não exponha à luz direta.
Número de amostras (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix	
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$	
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$	
$N = 12$	290 μL	4,4 μL	

Procedimento 1 - Execução completa: Extração + PCR

1. Selecione "Perform Run" (Executar) no ecrã tátil	2. Verifique os volumes de extração: Entrada: "1000 μL ", eluição: "50 μL "	3. Leia os códigos de barras das amostras com um leitor de códigos de barras manual ou escreva a identificação da amostra
4. Selecione o protocolo de ensaio de interesse: HCV ELITe_PL_600_50 ou HCV ELITe_Se_600_50	5. Selecione o método "Extract + PCR" (Extrair+PCR) e a posição da amostra: Extraction Tube (Tubo de extração)	6. Carregue a mistura de reação completa no Internal Control e no Inventory Block (Gestor do reagente)
7. Carregue: PCR Cassete, Cartucho de extração, Tubo de eluição, Cassete de pontas, Racks do tubo de extração	8. Feche a porta. Inicie a execução	9. Visualize, aprove e guarde os resultados

NOTE

Se for necessário um modo Apenas extração, consulte o manual do utilizador do instrumento para obter informações sobre o procedimento.

Procedimento 2 - Apenas PCR

1 a 4: Siga o procedimento de execução completa descrito acima (selecione os Protocolos de ensaio: HCV ELITe_PC e HCV ELITe_NC ou HCV ELITe_STD, ou HCV ELITe_PL_600_50 ou HCV ELITe_Se_600_50)	5. Selecione o método "PCR Only" (Apenas PCR) e defina a posição da amostra "Elution Tube" (Tubo de eluição)	6. Carregue a mistura de reação completa no Inventory Block (Gestor do reagente).
7. Carregue: Rack de PCR Cassete e suporte de tubos de eluição com o ácido nucleico extraído	8. Feche a porta Iniciar a execução	9. Visualize, aprove e guarde os resultados

Procedimentos ELITe BeGenius

O utilizador é guiado passo a passo pela interface gráfica do utilizador (GUI) do software ELITe BeGenius para configurar a execução. Todos os passos, extração, PCR em tempo real e a interpretação dos resultados são realizados automaticamente. Estão disponíveis dois modos operacionais: execução completa (Extract + PCR (Extrair+PCR)) ou PCR Only (Apenas PCR).

Antes da análise

1. Ligue o ELITE BeGenius. Inicie sessão com o nome de utilizador e a palavra-passe Selecione o modo "Closed" (Fechado)	2. Verifique os calibradores: Q-PCR Standard no menu "Calibration" (Calibração) Verifique os controlos: Positive Control e Negative Control no menu "Controls" (Controlos) Nota: Todos devem ter sido executados, aprovados e não ter expirado	3. Descongele a PCR Mix e os tubos de CPE Submeta a vórtice suave Centrifugue durante 5 s Mantenha a RT EnzymeMix em gelo
---	---	--

4. Prepare a mistura de reação completa			5. Submeta a vórtice suave Centrifugue durante 5 s Mantenha mistura de reação completa em gelo. Não exponha à luz direta.
Número de amostras (N)	HCV PCR Mix	RT EnzymeMix	
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$	
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$	
$N = 12$	290 μL	4,4 μL	
$13 \leq N \leq 18$	$(N + 3) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 3) \times 0,3 \mu\text{L}$	
$19 \leq N \leq 23$	$(N + 4) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 4) \times 0,3 \mu\text{L}$	
$N = 24$	580 μL	8,7 μL	

Procedimento 1 - Execução completa: Extração + PCR

1. Selecione "Perform Run" (Executar) no ecrã tátil e, a seguir, clique no modo de execução "Extract + PCR" (Extrair+PCR)	2. Insira o rack de amostras com as amostras com código de barras na área de refrigeração. A leitura do código de barras já se encontra ativada	3. Verifique os volumes de extração: Entrada: "600 μL ", eluato: "50 μL "
4. Selecione o protocolo de ensaio de interesse: HCV ELITE_Be_PL_600_50 ou HCV ELITE_Be_Se_600_50	5. Imprima as etiquetas para colocar um código de barras nos tubos de eluição vazios. Carregue os tubos no rack de eluição e insira-o na área de refrigeração	6. Carregue a mistura de reação completa e o CPE no "Reagent Rack" (Rack de reagente) e insira-o na área de refrigeração
NOTE Se for realizada uma segunda extração, repita os passos 2 a 4		
7. Carregue: Pontas de filtro, rack de extração e rack PCR	8. Feche a porta. Inicie a execução	9. Visualize, aprove e guarde os resultados

NOTE

Se for necessário um modo Apenas extração, consulte o manual do utilizador do instrumento para obter informações sobre o procedimento.

Procedimento 2 - Apenas PCR

1. Selecione “Perform Run” (Executar) no ecrã tátil e, a seguir, clique no modo de execução “PCR Only” (Apenas PCR)	2. Carregue os tubos com código de barras do ácido nucleico extraído no Elution Rack (rack de eluição) e insira-o na Cooler Unit	3. Para Standards e Controlos: para cada “Position” (Posição) introduza o “Reagent name” (Nome do reagente) e o “S/N” (número de série), o “Lot No.” (número de lote), a “Exp.Date” (data de validade) e o “T/R” (número de reações). Para os eluatos: para cada “Position” (Posição), insira a “Sample ID” (Identificação da amostra), a “Sample matrix” (Matriz da amostra), o “Extraction kit” (Kit de extração) e o “Extracted eluate vol.” (Volume de eluato extraído).
3. Selecione o “Assay protocol” (Protocolo de ensaio) de interesse (HCV ELITe_Be_PC e HCV ELITe_Be_NC ou HCV ELITe_Be_STD ou HCV ELITe_Be_PL_600_50 ou HCV ELITe_Be_Se_600_50)	5. Carregue a PCR Mix no Reagent/Elution Rack (Rack de reagente/eluição). e insira-o na Cooler Unit. Carregue as pontas de filtro e o rack PCR com a “PCR Cassette”	6. Feche a porta. Inicie a execução
7. Visualize, aprove e guarde os resultados		

Appendix B HCV ELITe MGB Kit utilizado em associação com MyGeniusPRO



CAUTION

Este documento é uma versão simplificada das instruções de utilização oficiais. Consulte o documento completo antes da utilização: www.elitechgroup.com

Utilização prevista

O produto **HCV ELITe MGB® Kit** consiste num dispositivo médico de diagnóstico in vitro que se destina a ser usado por profissionais de saúde como um ensaio quantitativo de transcrição reversa e PCR em tempo real de ácidos nucleicos para a deteção e a quantificação do ARN do vírus da Hepatite C (HCV), extraído de amostras clínicas.

O ensaio é validado em associação com os instrumentos **ELITe InGenius®** e **ELITe BeGenius®** e **MyGenius PRO®** (nome de registo ELIVERSE®), sistemas automatizados e integrados para a extração, transcrição reversa, PCR em tempo real e a interpretação dos resultados, usando amostras humanas de plasma colhido em EDTA ou em ACD e soro.

O produto está previsto para utilização como auxiliar na gestão de indivíduos infetados por HCV que estejam a realizar terapia antiviral.

Os resultados devem ser interpretados em conjunto com todas as observações clínicas e resultados laboratoriais relevantes.

O produto não se destina a ser utilizado para rastrear ou detetar a presença ou a exposição a agentes transmissíveis no sangue, componentes sanguíneos, células, tecidos, órgãos ou quaisquer dos seus derivados, a fim de avaliar a sua adequação para transfusão, transplante ou administração de células. O produto não se destina a ser utilizado como teste de diagnóstico para confirmar a presença de infeção pelo HCV.

Sequência amplificada

Sequência	Gene	Fluoróforo	Canal
Alvo	Região HCV5' UTR	FAM	HCV
Internal Control	MS2	AP525	IC

Matrizes validadas

› Plasma EDTA ou Plasma ACD	› Soro
-----------------------------	--------

Conteúdo do kit

HCV ELITe MGB		HCV ELITe Standard				HCV - ELITe Positive Control	HCV Internal Control
 X 4	 X 2				 X 1	 X 2	 X 8
PCR Mix 4 tubos de 600 µL 96 reações por kit 5 ciclos de congelamento-descongelamento por tubo	RT EnzymeMix 2 tubos de 20 µL 96 reações por kit 10 ciclos de congelamento-descongelamento por tubo	Calibradores prontos a usar: 10 ⁵ , 10 ⁴ , 10 ³ , 10 ² 1 conjuntos de 4 tubos de 160 µL 2 ciclos de congelamento-descongelamento por tubo				Ready-to-use PC 2 tubos de 160 µL 8 reações por kit 4 ciclos de congelamento-descongelamento por tubo	IC pronto a utilizar 8 tubos de 160 µL 96 extrações por kit 6 ciclos de congelamento-descongelamento por tubo

Prazo de conservação máximo: **18 meses**Temperatura de armazenamento: **-20 °C**

Outros produtos necessários não fornecidos no kit

• MyGenius PRO (EG SpA ref: INT050) • Software MyGenius PRO versão BB-04 (ou posterior)	• Internal Control Maxi (EG SpA, Ref. ICMAXI) • Negative Control (EG SpA, Ref. CTRNEG) • Reagentes e consumíveis MyGenius PRO (ver instruções de utilização do MyGenius PRO)
--	--

Protocolo MyGenius PRO

› Volume da amostra › Volume de IC › Volume de eluição total	660 µL 10 µL 50 µL	› Volume de entrada de PCR eluato › Q—PCR Mix volume › Frequência dos controlos › Frequência da calibração	20 µL 20 µL 15 dias 60 dias
--	--------------------------	---	--------------------------------------

Desempenhos MyGenius PRO

Matriz	Limite de deteção	Fator de conversão em IU	Sensibilidade de diagnóstico: Correlação do método	Especificidade do diagnóstico
Plasma / Soro	26 IU/mL 11 cópias/mL	2,4 IU/cópia	R2 = 0,905 279 amostras quantificadas	98.4% 317 amostras confirmadas/322 amostras testadas
			métodos de referência: “cobas® HCV para utilização nos sistemas 4800” e “cobas® HCV para utilização nos sistemas 6800”, Roche Diagnostics.	

Preparação da amostra

Este produto destina-se a ser usado no **MyGenius PRO** com as seguintes amostras clínicas identificadas de acordo com as diretrizes laboratoriais, e colhidas, transportadas e armazenadas sob as condições seguintes.

Table 54

Amostra	Requisitos de colheita	Condições de transporte / armazenamento			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ±10 °C	-70 ±15 °C
Plasma	EDTA ou ACD	≤ 1 dia	≤ 3 dias	≤ 1 mês	≤ 6 meses
Soro	-	≤ 1 dia	≤ 5 dias	≤ 1 mês	≤ 6 meses

Não use Plasma colhido em heparina para evitar a inibição da reação de amplificação e resultados inválidos frequentes.

Procedimentos MyGenius PRO

O utilizador é guiado passo a passo pela interface gráfica do utilizador (GUI) do software MyGenius PRO para configurar a execução. Todos os passos: extração, PCR em tempo real e a interpretação dos resultados são realizados automaticamente. Estão disponíveis dois modos operacionais: execução completa (Extract + PCR (Extrair+PCR)) ou PCR Only (Apenas PCR).

1. Ligue o MyGenius PRO. Inicie sessão no modo STANDBY com o nome de utilizador e a palavra-passe.	2. Carregue todos os consumíveis nas gavetas e esvazie o depósito de resíduos líquidos e as caixas de resíduos sólidos, se necessário. Prima o botão Iniciar para efetuar a Preparação: após a preparação, o instrumento passa para o modo de Funcionamento.	3. Verifique os calibradores: Q-PCR Standard no menu "Calibration" (Calibração). Verifique os controlos: Positive Control e Negative Control no menu "Controls" (Controlos). Nota: Todos devem ter sido executados, aprovados e não ter expirado.
4. Descongele os tubos de PCR Mix e IC MAXI. Submeta a vórtice suave. Centrifugue durante 5 s Mantenha a RT EnzymeMix em gelo		
5. Prepare a mistura de reação completa		
Número de amostras (N)	HCV 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

6. Carregue os tubos de misturas de PCR no carrossel de reagentes seguindo as indicações da GUI.	7. Carregue o(s) tubo(s) IC MAXI no suporte azul dedicado e coloque-o(s) na área do Auto Sampler.	8a. Se o instrumento estiver ligado ao LIS, insira as amostras na área do Auto Sampler utilizando suportes dedicados, consoante os diâmetros dos tubos utilizados. A extração inicia-se automaticamente. 8b. Se o instrumento não estiver ligado ao LIS, na lista de amostras, prima "Assign test" (Atribuir teste), leia o código de barras das amostras com o leitor de códigos de barras externo, selecione a matriz de plasma ou soro e atribua o protocolo de ensaio "HCV ELITe_My_PL_IU_600_50" ou "HCV ELITe_My_PL_cmL_600_50" ou HCV ELITe_My_Se_IU_600_50" HBV ou ELITe_My_PL_cmL_600_50", insira as amostras na área do Auto Sampler utilizando suportes dedicados, consoante os diâmetros dos tubos utilizados. A extração inicia-se automaticamente.
--	---	--



ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185, 10149 Torino ITÁLIA
Tel. +39-011 976 191
Fax +39-011 936 76 11
E-mail: emd.support@elitechgroup.com
WEB site: www.elitechgroup.com