



NOTICE of CHANGE dated 06/06/2025

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«HCV ELITe MGB® Kit» Ref. RTK601ING

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

- *Update for compliance with the Regulation (EU) 2017/746 on in vitro diagnostic medical devices (IVDR) requirements.*
- *Updated data have been added in PERFORMANCE CHARACTERISTICS paragraph.*

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

PLEASE NOTE

The product batches identified by the following LOT numbers are still placed on the market as per IVDD till to their expiration dates, according to Article 110 of IVDR. If you have those product batches, please contact ELITechGroup staff to request the related previous revision of IFUs.

PRODUCT REF.	Lot Number	Expiry date
RTK601ING	C0125-009	31/07/2026

HCV ELITe MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK601ING

UDI 08033891487072



ÍNDICE

UTILIZAÇÃO PREVISTA	página 1
PRINCÍPIOS DO ENSAIO	página 2
DESCRIÇÃO DO PRODUTO	página 2
MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO	página 3
MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO	página 3
OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS	página 4
AVISOS E PRECAUÇÕES	página 4
AMOSTRAS E CONTROLOS	página 5
PROCEDIMENTO DO ELITe InGenius	página 7
PROCEDIMENTO DO ELITe BeGenius	página 13
CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO	página 17
REFERÊNCIAS	página 28
LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO	página 29
RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS	página 30
SÍMBOLOS	página 32
NOTIFICAÇÃO PARA OS UTILIZADORES	página 32
NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA	página 33
ANEXO: GUIA DE INICIAÇÃO RÁPIDA	página A

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®**, sistemas automatizado e integrado para a extração, transcrição reversa, PCR em tempo real e a interpretação dos resultados, usando amostras humanas de plasma colhido em EDTA ou 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

HCV ELITE MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK601ING

produto não se destina a ser utilizado como teste de diagnóstico para confirmar a presença de infecção pelo HCV.

PRINCÍPIOS DO ENSAIO

Este é um ensaio quantitativo de transcrição reversa e PCR em tempo real de um passo para a detecção de ARN do 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 da PCR correspondentes. O **ELITE InGenius** e o **ELITE BeGenius** monitorizam o aumento da fluorescência e calculam os ciclos de limiar (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.

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 mistura PCR 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.
 - primers e sonda 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. Cada tubo contém **600 µL** de solução e é suficiente para **24 testes**, se processar, pelo menos, 5 amostras por sessão.
- **RT EnzymeMix**, uma mistura otimizada e estabilizada de enzimas para a transcrição reversa. Cada tubo contém **20 µL** de solução e é suficiente para **48 testes**, se processar, pelo menos, 5 amostras por sessão.

O **HCV ELITE MGB Mix** contém reagentes suficientes para **96 testes** no **ELITE InGenius** e no **ELITE BeGenius**, 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** e **ELITE BeGenius** para calcular a curva de calibração no sistema (lote do produto e instrumento) para a quantificação de HCV.

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).

A **HCV ELITE Standard** contém material suficiente para **2 sessões** no **ELITE InGenius** e **ELITE BeGenius**, 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 HIV1 amplificada a **título conhecido**. O **HCV Positive Control** tem de ser usado com a **HCV ELITE MGB Mix** no **ELITE InGenius** e no **ELITE BeGenius** 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** e **ELITE BeGenius** (**4 sessões por tubo**), sendo usados 20 µL por reação.

- **HCV Internal Control**

HCV ELITE MGB® Kit**reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real****REF** RTK601ING

Este componente contém o subcomponente **HCV CPE** (Internal Control exógeno), uma solução estabilizada de ARN genômico MS2. O **HCV CPE** é adicionado aos reagentes de extração, para validar os resultados de amostras negativas para o HCV.

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

O **HCV ELITE MGB Kit** pode também ser usado em associação com instrumentos equivalentes.

MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO

Componente	Subcomponente	Descrição	Quantidade	Classificação dos perigos
HCV ELITE MGB Mix ref. RTS601ING	HCV PCR Mix ref. RTS601ING	Mistura de reagentes para transcrição reversa e PCR em tempo real no tubo com tampa BRANCA	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 CPE ref. CPE601ING	Solução de ADN de plasmídeo e ARN genômico de MS2 no tubo com tampa NEUTRA	8 x 160 µL	-

Nota: As concentrações dos quatro **Q – PCR Standards** são expressas em cópias/reação (10⁵ cópias / rxn, 10⁴ cópias / rxn, 10³ cópias / rxn, 10² cópias / rxn).

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO

- Exaustor de fluxo de ar laminar.
- Luvas sem pó de nitrilo descartáveis ou material semelhante.
- Misturador de vórtice.
- Centrífuga de bancada (~3000 RPM).
- Microcentrífuga de bancada (~13.000 RPM).
- Micropipetas e pontas estéreis com filtro de aerossol ou pontas de deslocação positiva estéreis (0,5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Tubos com tampa de rosca esterilizados de 2,0 mL (Sarstedt, Alemanha, ref. 72.694.005).
- Água de grau de biologia molecular.

HCV ELITE MGB® Kit**reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real****REF** RTK601ING**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, transcrição reversa, a PCR em tempo real e a interpretação dos resultados das amostras, são necessários os produtos seguintes:

Instrumentos e software	Produtos e reagentes
ELITE InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA ref. INT030) ELITE InGenius Software versão 1.3.0.17 (ou superior) 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) ELITE InGenius SP 200 Consumable Set (EG SpA, ref. INT032CS) ELITE InGenius PCR Cassette (EG SpA, ref. INT035PCR), 300 µL Filter Tips Axygen (Corning Life Sciences Inc., ref. TF-350-L-R-S) apenas com o ELITE InGenius 1000 µL Filter Tips Tecan (Tecan, Suíça, ref. 30180118) com o ELITE BeGenius apenas ELITE InGenius® Waste Box (EG SpA, ref. F2102-000)
ELITE BeGenius (EG SpA, ref. INT040) ELITE BeGenius Software versão 2.1.0. (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	

AVISOS E PRECAUÇÕES

Este produto foi concebido para utilização exclusiva *in-vitro*.

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.

HCV ELITE MGB® Kit**reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real****REF** RTK601ING

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.

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 deslocamento positiva ou ser usadas com pontas com filtro de aerossóis. As pontas usadas devem ser esterilizadas, 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 deslocamento positiva ou ser usadas com pontas com filtro de aerossóis. As pontas usadas devem ser esterilizadas, livres de DNases e RNases e livres de ADN e ARN.

Os produtos de extração devem ser manuseados de modo a reduzir a dispersão para o ambiente, para evitar a possibilidade de contaminação.

As PCR Cassette devem ser manuseadas com cuidado de modo a evitar a emissão do produto da PCR para o ambiente e a contaminação da amostra e do reagente.

Avisos e precauções específicos para os componentes

Componente (Subcomponente)	Temperatura de armazenamento	Utilização a partir da primeira abertura	Ciclos de congelamento/descongelamento	Estabilidade de bordo (ELITE InGenius e ELITE BeGenius)
HCV ELITE MGB Mix (HCV PCR Mix)	-20°C ou inferior (protegido da luz)	60 dias	até cinco	não aplicável
HCV ELITE MGB Mix (RT EnzymeMix)	-20°C ou inferior	60 dias	até dez vezes, durante até dez minutos, a +2 / +8 °C	não aplicável
HCV ELITE Standard (HCV Q-PCR Standard)	-20°C ou inferior	60 dias	até duas	2 sessões separadas de 2 horas cada
HCV ELITE – Positive Control (HCV Positive Control)	-20°C ou inferior	60 dias	até quatro	4 sessões separadas de 3 horas cada
HCV ELITE Internal Control (HCV CPE)	-20°C ou inferior	60 dias	até seis	6 sessões separadas de 3 horas cada

HCV ELITE MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK601ING**AMOSTRAS E CONTROLOS****Amostras**

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

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

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 protocolos de ensaio. Estes protocolos de DIV foram especificamente validados com os **ELITE InGenius** ou **ELITE BeGenius** com as matrizes indicadas.

HCV ELITE MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK601ING**Protocolos de ensaio para o HCV ELITE MGB Kit**

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

Para todos os protocolos, 600 µL de amostra devem ser transferidos para o tubo de extração (para o ELITE InGenius) ou para o tubo Sarstedt de 2 mL (para o ELITE BeGenius).

Nota: A pipetagem de amostras para o **Extraction Tube** (Tubo de extração) ou para o **tubo Sarstedt de 2 mL pode gerar contaminação**. Utilize as pipetas adequadas e siga todas as recomendações reportadas na secção "Advertências e precauções".

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 secção Características de Desempenho para verificar os dados relativos a substâncias interferentes.

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

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

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 do produto **HCV ELITE Standard** fornecido com este kit com os protocolos do ensaio **HCV ELITE_STD** ou **HCV ELITE_Be_STD**.

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

HCV ELITE MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK601ING

- 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**.
- Para o Negative Control, utilize água de grau biológico molecular (não fornecida com este kit) com os protocolos de ensaio **HCV ELITE_NC** ou **HCV ELITE_Be_NC**.

Nota: O **ELITE InGenius** e o **ELITE BeGenius** 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 dias** 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 reparação ou manutenção significativa no **ELITE InGenius** ou no **ELITE BeGenius**.

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.

PROCEDIMENTO do ELITE InGenius

O procedimento para utilização do **HCV ELITE MGB Kit** com o **ELITE InGenius** consiste em três passos:

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	A) Validação da Curva de calibração
		B) Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control
		C) Validação dos resultados da amostra
		D) Elaboração do relatório do resultado da amostra

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 “Calibration” (Calibração) na página inicial, verifique se os calibradores (**HCV Q-PCR Standard**) estão aprovados e válidos (Estado) para o lote de **HCV PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja calibradores válidos para o lote de **HCV PCR Mix**, realize a calibração conforme descrito nas secções seguintes,
- no menu “Controls” (Controlos) na página inicial, verifique se os controlos de PCR (**HCV Positive Control**, **HCV Negative Control**) estão aprovados e válidos (estado) para o lote de **HCV PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja controlos de PCR válidos disponíveis para o lote da **HCV PCR Mix** execute os controlos de PCR conforme descrito nas secções seguintes.
- escolha o tipo de execução, seguindo as instruções na interface gráfica do utilizador (GUI) para a preparação da sessão e utilizando os protocolos de ensaio fornecidos pela EG SpA (ver “Amostras e Controlos”).

HCV ELITE MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK601ING

Se o Assay Protocol (Protocolo de ensaio) que precisa não estiver carregado no sistema, contacte o Serviço de Apoio ao cliente da ELITechGroup de sua localidade.

PASSO 2 - Configuração da sessão

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

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

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

Nota: 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:

- Descongele os tubos de HCV 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.

Nota: Proteja a PCR Mix da luz enquanto descongela, 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.

Nota: 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 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.

Número de amostras (N)	Mistura PCR do HCV	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

- 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.

Nota: 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 guardada para reutilização.

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

HCV ELITE MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK601ING

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

	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. Para este ensaio, 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 o Elution tube (Tubo 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 da amostra.	Para cada amostra, atribua um Track e introduza a "SampleID" (SID) digitando ou lendo o código de barras da amostra.
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" (Protocolo).
7	Selecione a posição de carregamento da amostra como "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 o número de lote da mistura de PCR, 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 cartuchos de extração Elite InGenius SP 1000 e todos os consumíveis e amostras necessários para serem extraídos.	Carregue a PCR Cassette e o Elution Tube (Tubo de eluição) com as 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).

HCV ELITE MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK601ING

	C. Execução da calibração (PCR only [Apenas PCR])	D. Execução de Positive Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR])
1	Descongele os tubos de Q-PCR Standard necessários (Cal1: Q-PCR Standard 10 ² , Cal2: Q-PCR Standard 10 ³ , Cal3: Q-PCR Standard 10 ⁴ , Cal4: Q-PCR Standard 10 ⁵) 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. Prepare o Negative Control , transfira pelo menos 50 µL de água de qualidade para 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" (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 o Q-PCR Standard, atribua a "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.
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" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza o número de lote da mistura de PCR, data de validade 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 da mistura de PCR, data de validade 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 "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.
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 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 é concluída, o **ELITE InGenius** permite aos utilizadores ver, aprovar, guardar os resultados e imprimir e guardar o relatório.

Nota: 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 °C durante não mais de um mês. Evite derramar a Amostra extraída.

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

Nota: No final da execução, o restante **Q - PCR Standard** pode ser removido do instrumento, fechado e guardado a -20 °C ou menos. Evite derramar o **Q - PCR Standard**.

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

Nota: 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.

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 apresentados os resultados e informações sobre a execução. A partir deste ecrã é possível aprovar os resultados, imprimir ou guardar os relatórios (“Sample Report” ou “Track Report”). Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

Nota: O **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 utilizando o **HCV ELITE MGB Kit** através do seguinte procedimento:

- A. Validação da Curva de calibração,
- B. Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control,
- C. Validação dos resultados da amostra,
- D. Elaboração do relatório do resultado da amostra.

A. 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 protocolo de ensaio **HCV 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**.

Nota: 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.

B. Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control da amplificação

O **software ELITE InGenius** 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 PC** e **HCV 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. São usados quatro resultados de Positive Control e de Negative Control aprovados para preparar o Gráfico de Controlo inicial. Para controlos subsequentes, 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.

Nota: 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

HCV ELITE MGB® Kit**reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real****REF** RTK601ING

podem ser aprovados e as execuções de Positive Control e Negative Control têm de ser repetidas.

Nota: 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(s) controlo(s) e amostras falhados têm todos de ser repetidos.

C. Validação dos resultados da amostra

O **ELITE InGenius software** interpreta os resultados de PCR para o alvo (Canal **HCV**) e do Controlo Interno (Canal **IC**) com os parâmetros do protocolo 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.

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 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.

Resultado da execução da amostra	Interpretação
HCV:RNA Detected, quantity equal to "XXX" copies/mL or IU/mL (HCV:ARN 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:ARN 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:ARN 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:ARN 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 deteção 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.

Amostras indicadas como "Invalid-Retest Sample" (Inválido-Testar novamente a amostra): neste caso, o ARN do Internal Control não foi detetado eficientemente, o que pode dever-se a problemas nos passos de colheita, extração, transcrição reversa, ou PCR (por ex. amostragem incorreta, degradação ou perda do ARN durante a extração ou inibidores no eluato), o que pode causar resultados incorretos.

Se restar volume de eluato 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 "Resolução de problemas").

As amostras reportadas como "HCV:RNA Not Detected or below "LoD" copies/mL or IU/mL" (HCV:ARN 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 deteção do ensaio (ver "Características de desempenho").

Amostras positivas do ARN de HCV a uma concentração abaixo do Limite de Deteção (e Limite Inferior da Quantificação) do ensaio, se detetado, são relatados como "HCV:RNA Detected, quantity below

HCV ELITE MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK601ING

“LLOQ” copies/mL or IU / mL” (HCV:ARN detetado, quantidade abaixo de “LLOQ” cópias/mL ou IU/mL) (ver “Características de desempenho”).

São detetadas amostras positivas de ARN de HCV no Intervalo de Medição Linear (ver “HCV:RNA Detected, quantity equal to “XXX” copies/mL or IU / mL” (HCV:ARN detetado, quantidade igual a “XXX” cópias/mL ou IU/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:ARN 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.

Nota: 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).

D. 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 do track).

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 Track selecionado.

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

PROCEDIMENTO do ELITE BeGenius

O procedimento para utilização do **HCV ELITE MGB Kit** com o **ELITE InGenius** consiste em três passos:

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	A) Validação da Curva de calibração
		B) Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control
		C) Validação dos resultados da amostra
		D) Elaboração do relatório do resultado da amostra

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 “Calibrations” (Calibrações) na página inicial, verifique se os calibradores (**HCV Q-PCR Standard**) estão aprovados e válidos (Estado) para o lote da **HCV PCR Mix** a ser utilizada. Caso não haja calibradores válidos para o lote de **HCV PCR Mix**, realize a calibração conforme descrito nas secções seguintes,

no menu “Controls” (Controlos) na página inicial, verifique se os controlos de PCR (**HCV Positive Control**, **HCV Negative Control**) estão aprovados e válidos (estado) para o lote de **HCV PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja controlos de PCR válidos disponíveis para o lote da **HCV PCR Mix**

HCV ELITE MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK601ING

execute os controlos de PCR conforme descrito nas secções seguintes,

- escolha o tipo de execução, seguindo as instruções na interface gráfica do utilizador (GUI) para a preparação da sessão e utilizando os protocolos de ensaio fornecidos pela EG SpA (ver “Amostras e Controlos”).

Se o Assay Protocol (Protocolo de ensaio) que precisa não estiver carregado no sistema, contacte o Serviço de Apoio ao cliente da ELITechGroup de sua localidade.

PASSO 2 – Configuração da sessão

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

- 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]).

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

Nota: 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:

1. Descongele os tubos de HCV 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.

Nota: Proteja a PCR Mix da luz enquanto descongela, dado que este reagente é fotossensível.

2. 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.

Nota: 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.

Número de amostras (N)	Mistura PCR do HCV	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

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.

Nota: 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 guardada para reutilização.

Nota: 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:

HCV ELITE MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK601ING

	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. Para este ensaio, 600 µL da amostra devem ser transferidos para um tubo Sarstedt de 2 mL (não fornecido) previamente 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 o Elution tube (Tubo 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 + PCR" (Extrair + PCR).	Selecione o "Run mode": "PCR Only".
5	Carregue as amostras no "Sample Rack" (Suporte da amostras). (Nota: quando os tubos secundários "2 mL Tubes" (Tubos de 2 mL) forem carregados, use adaptadores azuis para o "Sample Rack" (Suporte de amostras).	Carregue as amostras no "Elution Rack" (Rack de eluição).
6	Insira o "Sample Rack" na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 5" (L5). Insira a "Sample ID" (Identificação da amostra) (SID) para cada "Position" usada. Se forem carregados tubos secundários, assinala "2 mL Tube" (Tubo de 2 mL). Se os tubos secundários não possuírem código de barras, digite manualmente a "Sample ID".	Insira o "Elution Rack" na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 3" (L3). Para cada "Position", insira a "Sample ID", a "Sample matrix", o "Extraction kit" 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 "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 600 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 600 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição do extraído") é de 50 µL.
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.
11	Quando forem processadas mais de 12 amostras, repita o procedimento a partir do ponto 6.	Quando forem processadas mais de 12 amostras, repita o procedimento a partir do ponto 6.
12	Carregue os "Elution tubes" (Tubo 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" 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.
15	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Não aplicável.
16	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).
17	Insira o "Reagent/Elution Rack" na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2) se estiver disponível, ou na "Lane 1" (L1). Para cada 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). 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).
18	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
19	Verifique as pontas nos "Tip Rack(s)" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua o suporte(s) de pontas, se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Rack(s)" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua o suporte(s) de pontas, se necessário.
20	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
21	Carregue o "PCR Rack" (Rack de PCR) com a "PCR	Carregue o "PCR Rack" (Rack de PCR) com a "PCR

HCV ELITE MGB® Kit
reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK601ING

	A. Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair+PCR])	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR])
	Cassette na Inventory Area (área dos reagentes).	Cassette na Inventory Area (área dos reagentes).
22	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
23	Carregue o "Extraction Rack" (Rack de extração) com os cartuchos de extração "ELITE InGenius SP 1000" e os consumíveis de extração necessários.	Não aplicável.
24	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
25	Prima "Start" (Iniciar).	Prima "Start" (Iniciar).

	C. Execução da calibração (PCR only [Apenas PCR])	D. Execução de Positive Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR])
1	Descongele os tubos de Q-PCR Standard necessários (Cal1: Q-PCR Standard 10 ² , Cal2: Q-PCR Standard 10 ³ , Cal3: Q-PCR Standard 10 ⁴ , Cal4: Q-PCR Standard 10 ⁵) durante 30 minutos à temperatura ambiente. 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. Prepare o Negative Control , transfira pelo menos 50 µL de água de qualidade para 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" (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" (Rack de eluição).
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	Verifique o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) (600 µL) e o "Extracted Elute Volume" (Volume de eluato do extraído) (50 µL).	Verifique o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) (600 µL) e o "Extracted Elute Volume" (Volume de eluato do extraído) (50 µL).
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.
11	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)
12	Insira o "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição) na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2). 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)	Insira o "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição) na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2). 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).
13	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
14	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.
15	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar
16	Carregue o "PCR Rack" (Rack de PCR) com a "PCR Cassette" na Inventory Area (área dos reagentes)	Carregue o "PCR Rack" (Rack de PCR) com a "PCR Cassette" na Inventory Area (área dos reagentes)
17	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
18	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
19	Prima "Start" (Iniciar)	Prima "Start" (Iniciar)

HCV ELITE MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK601ING

Quando a sessão é concluída, o **ELITE BeGenius** permite aos utilizadores ver, aprovar, guardar os resultados e imprimir e guardar o relatório.

Nota: 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.

Nota: A **mistura de reação completa** pode ser mantida no bloco refrigerado até 7 horas (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 iniciar a sessão seguinte. A mistura de reação completa **não pode** ser guardada para reutilização.

Nota: No final da execução, o restante **Q-PCR Standard** pode ser removido do instrumento, fechado e guardado a -20 °C ou menos. Evite derramar o Q-PCR Standard.

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

Nota: 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.

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 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 apresentados os resultados e informações sobre a execução. A partir deste ecrã é possível aprovar os resultados, imprimir ou guardar os relatórios ("Sample Report" ou "Track Report"). Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

Nota: O **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 utilizando o **HCV ELITE MGB Kit** através do seguinte procedimento:

- Validação da Curva de calibração,
- Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control,
- Validação dos resultados da amostra,
- Elaboração do relatório do resultado da amostra.

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

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Limite de deteção (LdD)

O limite de deteção (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 (6.^a Norma Internacional da OMS, 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.

Limite de deteção (IU/mL) para amostras de plasma de 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). A sensibilidade analítica como cópias/mL está reportada a seguir.

HCV ELITE MGB® Kit
reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK601ING

Limite de detecção (cópias/mL) para amostras de plasma de 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.

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.

Amostra	N	Positivo	Negativo	NPA	%CV do Ct do IC	%CV do Ct do IC completo
Plasma em EDTA	30	0	30	100%	0,89	0,95
Plasma em ACD	30	0	30		1,02	

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.

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	

Amostra	N	Positivo	Negativo	PPA	%CV do Ct do HCV	%CV do Ct do HCV completo
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.

Intervalo de medição linear

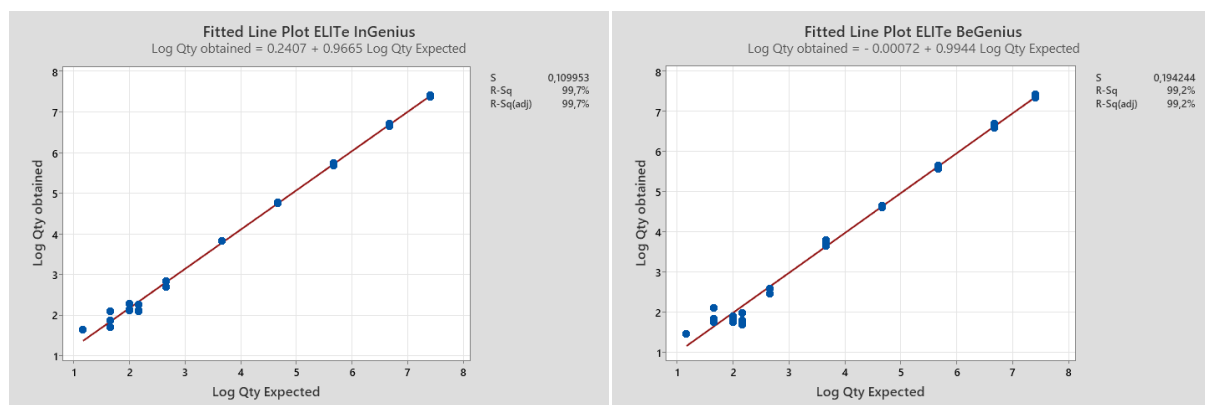
O intervalo de medição linear do ensaio foi determinado em associação com amostras de plasma no ELITE InGenius e no ELITE BeGenius usando um painel de diluições de material de referência de HCV (AcroMetrix) em amostras de plasma em EDTA negativas.

Os resultados são comunicados nas figuras seguintes.

HCV ELITE MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK601ING



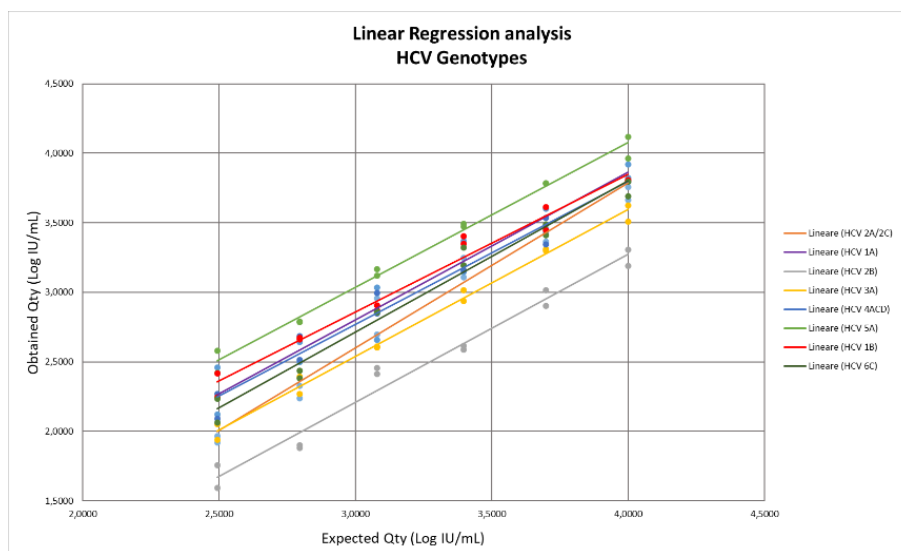
O intervalo de medição linear como cópias/mL para o plasma em EDTA é calculado através da aplicação do fator de conversão específico na secção seguinte.

Os resultados finais estão resumidos na tabela seguinte.

Intervalo de medição linear para o HCV ELITE MGB Kit e o ELITE InGenius e 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.



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).

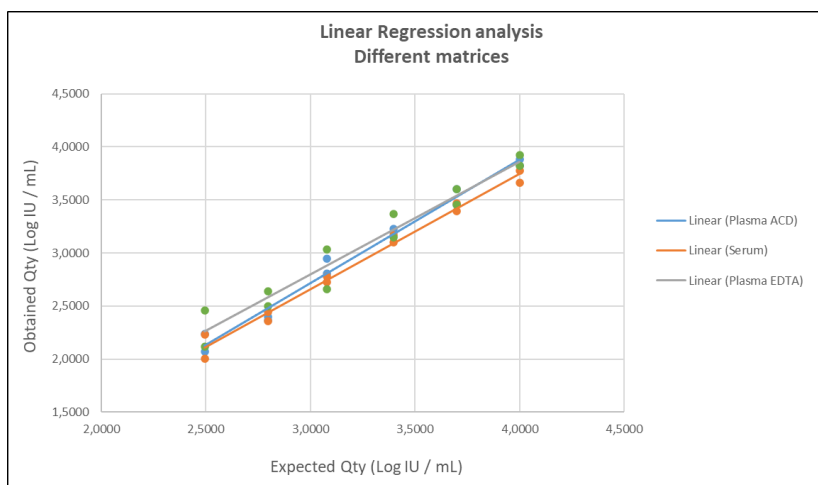
A linearidade do ensaio foi verificada através da análise de plasma em EDTA negativo, plasma em ACD negativo e soro negativo reforçado com material de referência de HCV (6.^a Norma Internacional da OMS, NIBSC).

Os resultados são comunicados na figura seguinte.

HCV ELITE MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK601ING



A linearidade do ensaio foi verificada para o plasma em EDTA, plasma em ACD e soro, fornecendo resultados quantitativos dentro do intervalo de $\pm 0,5 \text{ Log IU/mL}$ e um R^2 de 0,950, 0,984 e 0,987, respectivamente.

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.

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	

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 comparação *in silico* das sequências disponíveis nas bases de dados de nucleótidos. A análise revelou 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.

HCV ELITE MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK601ING

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 HCV (Qnostics)		
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
HCV 5a	3/3	HCV detetado
HCV 6a	3/3	HCV detetado
Material de referência não OMS 4.º Painel de genótipo de ARN de HCV (NIBSC)		
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 6l	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.

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 e ZeptoMetrix) a título alto.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Identificação da amostra	Pos. / Rep.	Resultado
HIV1	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HIV2	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HTLV1	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
HHV6	0 / 3	Sem reatividade cruzada
VZV	0 / 3	Sem reatividade cruzada

HCV ELITE MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK601ING

Identificação da amostra	Pos. / Rep.	Resultado
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 / 12	Sem reatividade cruzada
DV3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
EV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
PVB19	0 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Staphylococcus aureus</i>	0 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Candida albicans</i>	0 / 3	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.

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.

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
<i>Staphylococcus aureus</i>	3 / 3	Sem interferência
<i>Candida albicans</i>	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.

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.

Amostra	Pos./Rep. HCV	Resultado
Bilirrubina	3 / 3	Sem interferência
Triglicéridos	3 / 3	Sem interferência
Hemoglobina alta	1 / 3	Interferência
Hemoglobina média	3 / 3	Interferência
Hemoglobina baixa	3 / 3	Sem interferência
Heparina	0 / 3	Interferência

HCV ELITE MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK601ING

Amostra	Pos./Rep. HCV	Resultado
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 Controle Interno.

Nota: 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.

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".

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 (Zeptomatrix) em título alto.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Amostras	N	Positivo	Negativo
Plasma em ACD enriquecido a 1×10^6 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.

Taxa de falha de todo o sistema

A taxa de falha de todo o sistema para o ensaio foi avaliada no ELITE InGenius e no ELITE BeGenius através do teste de um painel de amostras reforçadas com material de referência certificado (6.^a Norma Internacional da OMS, NISBC) a uma concentração de $3 \times \text{LdD}$ (cerca de 78 IU/mL).

Os resultados estão resumidos nas tabelas seguintes.

ELITE InGenius – Taxa de falha de todo o sistema					
Amostras	N	Teórico IU/mL	Positivo	Negativo	Taxa de falha de todo o 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%

ELITE BeGenius – Taxa de falha de todo o sistema					
Matriz	N	Teórico IU/mL	Positivo	Negativo	Taxa de falha de todo o sistema
Plasma em EDTA reforçado com HCV	100	78	100	0	0%

Neste teste com o HCV ELITE MGB Kit, 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%.

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 (6.^a Norma Internacional da OMS, NIBSC).

HCV ELITE MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK601ING

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

Repetibilidade intra-sessão do ELITE InGenius (dia 1)								
Amostra	N	HCV				Internal Control		
		Ct médio	Ct médio	Ct médio	% Concordância	Ct médio	SD	%CV
Negativo	8	-	-	-	100%	27,43	0,21	0,78
3X LOD	8	37,28	0,34	0,92	100%			
10X LOD	8	35,37	0,43	1,23	100%			

Repetibilidade intra-sessão do ELITE BeGenius (dia 1)								
Amostra	N	HCV				Internal Control		
		Ct médio	Ct médio	Ct médio	% Concordância	Ct médio	SD	%CV
Negativo	8	-	-	-	100%	27,87	0,30	1,08
3X LOD	8	37,83	1,15	3,05	100%			
10X LOD	8	35,45	0,30	0,85	100%			

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

Repetibilidade inter-sessão do ELITE InGenius (dia 1 + dia 2)								
Amostra	N	HCV				Internal Control		
		Ct médio	Ct médio	Ct médio	% Concordância	Ct médio	SD	%CV
Negativo	16	-	-	-	100%	27,41	0,18	0,66
3X LOD	16	37,37	0,67	1,78	100%			
10X LOD	16	35,40	0,43	1,22	100%			

Repetibilidade inter-sessão do ELITE BeGenius (dia 1 + dia 2)								
Amostra	N	HCV				Internal Control		
		Ct médio	Ct médio	Ct médio	% Concordância	Ct médio	SD	%CV
Negativo	16	-	-	-	100%	27,89	0,31	1,10
3X LOD	16	37,68	0,25	2,31	100%			
10X LOD	16	35,54	0,10	0,96	100%			

No teste de repetibilidade, o HCV ELITE MGB Kit detetou corretamente o alvo e apresentou uma variabilidade máxima dos valores de Ct do alvo como %CV igual a 3,05%.

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 (6.^a Norma Internacional da OMS, NIBSC).

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

Reprodutibilidade interlocal do ELITE InGenius								
Amostra	HCV					Internal Control		
	N	Ct médio	SD	%CV	% Concordância	Média CI Ct	SD CI Ct	%CV CI Ct
Negativo	24	Indet.	-	-	100%	28,15	0,58	2,06
3X LOD	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 (6.^a Norma Internacional da OMS, NIBSC).

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

HCV ELITE MGB® Kit
reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK601ING

Reprodutibilidade inter-instrumento do ELITE InGenius								
Amostra	HCV					Internal Control		
	N	Ct médio	SD	% CV	% Concordância	Ct médio	SD	% CV
Negativo	24	Indet.	-	-	100%	27,69	0,34	1,24
3X LOD	24	37,03	0,53	1,44	100%			
10X LOD	24	33,97	0,38	1,11	100%			

Reprodutibilidade inter-instrumento do ELITE BeGenius								
Amostra	HCV					Internal Control		
	N	Ct médio	SD	% CV	% Concordância	Ct médio	SD	% CV
Negativo	24	Indet.	-	-	100%	28,52	0,61	2,13
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:

Reprodutibilidade inter-lote do ELITE InGenius								
Amostra	HCV					Internal Control		
	N	Ct médio	SD	% CV	% Concordância	Ct médio	SD	% CV
Negativo	48	Indet.	-	-	100%	27,70	0,33	1,20
3X LOD	48	37,32	0,64	1,72	100%			
10X LOD	48	35,44	0,38	1,07	100%			

Reprodutibilidade inter-lote do ELITE BeGenius								
Amostra	HCV					Internal Control		
	N	Ct médio	SD	% CV	% Concordância	Ct médio	SD	% CV
Negativo	48	Indet.	-	-	100%	28,20	0,40	1,41
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 corretamente todas as amostras conforme esperado e apresentou uma variabilidade máxima dos valores de Ct do alvo como %CV igual a 1,88%.

Fator de conversão para unidades internacionais

O fator de conversão para relatar os resultados quantitativos em unidades internacionais/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.

Na tabela seguinte é apresentado um resumo dos resultados.

Fator de conversão para unidades internacionais, Fc = 2,4 IU/cópia						
Amostra			Resultado			Log diferença (ref. - teste)
IU/mL	IU/mL de Registo	N	Média c. / mL	Média IU / mL	Média Registo IU / mL	
31.623	4,5000	27	13.233	31.254	4,4807	+0,0193
10000	4,0000	27	4.482	10.595	4,0133	+0,0133
3162	3,5000	27	1414	3.342	3,5091	-0,0091
1000	3,0000	27	439	1036	2,9969	+0,0031

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.

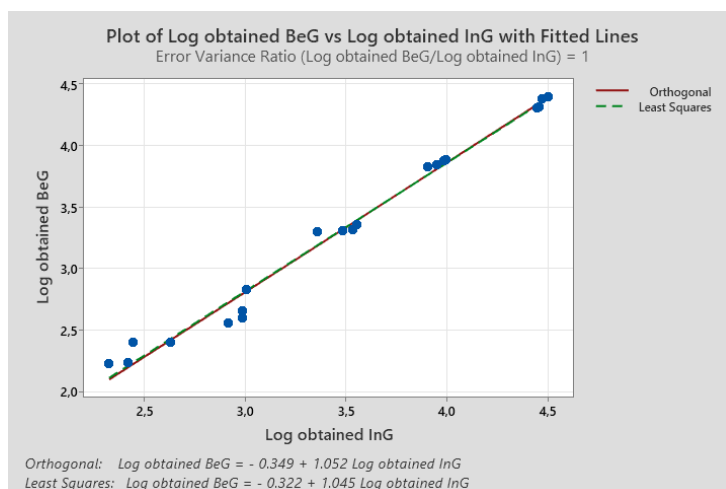
O fator de conversão para relatar os resultados quantitativos em Unidades internacionais/mL a partir de cópias/mL, foi verificado nos **instrumentos ELITE BeGenius** and **ELITE InGenius** usando material de referência calibrado e certificado (6.^a Norma Internacional da OMS, NIBSC).

Os resultados obtidos foram analisados por regressão ortogonal e linear para calcular a sua correlação.

HCV ELITE MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK601ING



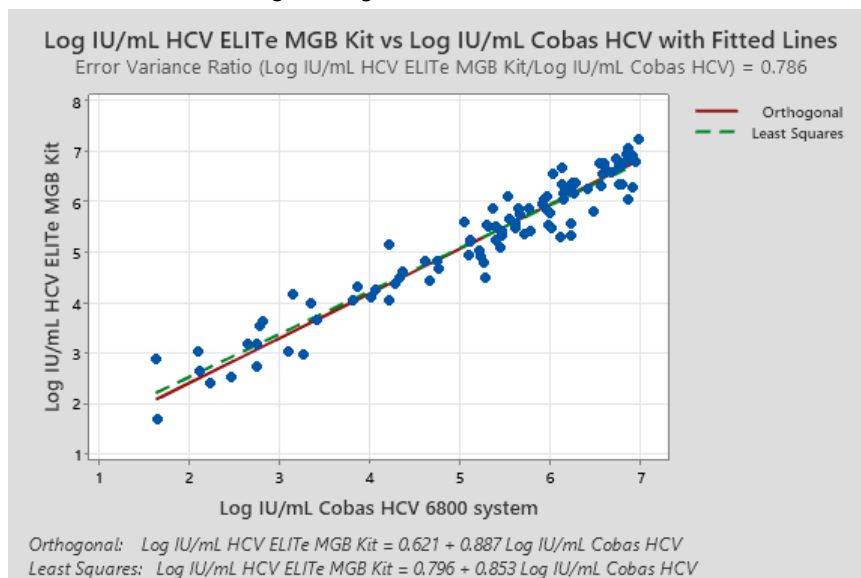
A análise de regressão ortogonal gerou uma interceção igual a 0,3494 (95% CI: - 0,5546; - 0,1442) e um declive igual a 1,0523 (95% CI: 0,9943 – 1,1103). A análise de regressão linear gerou um R^2 de 0,985.

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 MBG Kit e dos métodos de referência de diagnóstico molecular com marcação CE IVD. Os resultados obtidos com o HCV ELITE MBG 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.



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 R^2 de 0,926.

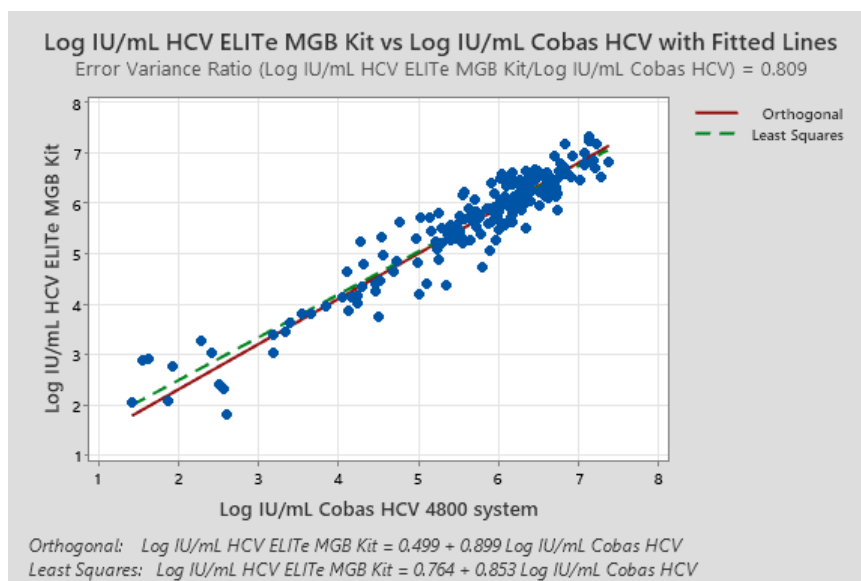
O estudo de correlação foi realizado noutros dois locais em 184 amostras clínicas positivas para ARN do HCV de plasma colhido em EDTA e soro usando o "cobas® HCV para utilização no sistema 4800" como comparador.

Os resultados estão resumidos na figura seguinte.

HCV ELITE MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

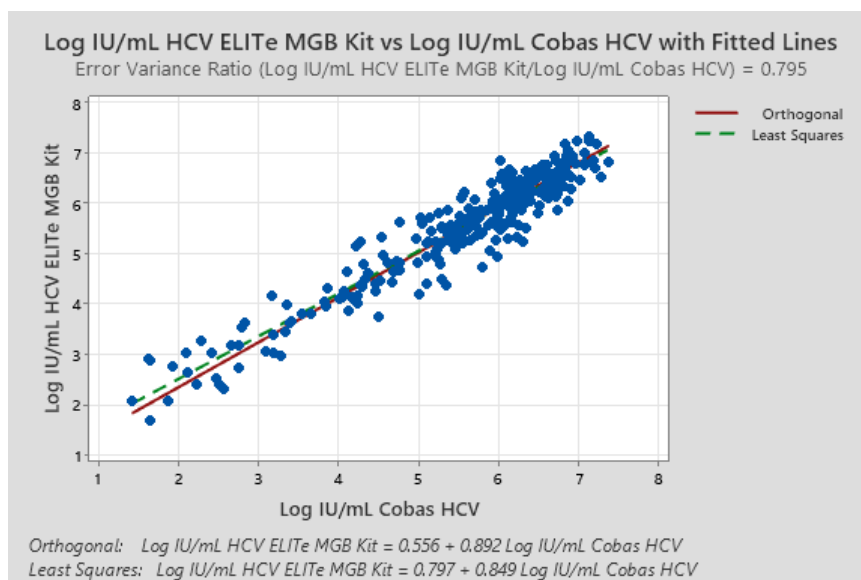
REF RTK601ING



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.



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 no **ELITE InGenius** também se aplica ao **ELITE BeGenius**.

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.

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

HCV ELITE MGB® Kit**reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real****REF** RTK601ING

no sistema 4800” e “cobas® HCV para utilização no sistema 6800”, Roche Diagnostics) como unidos, uma vez que têm desempenhos equivalentes.

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%

Cinco amostras apresentaram resultados positivos discordantes com títulos baixos (4 de 5 amostras com títulos inferiores ao LdD do HCV ELITE MGB Kit e dos métodos de referência), o que pode gerar aleatoriamente resultados positivos.

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 do diagnóstico do ensaio obtida no **ELITE InGenius** também se aplica ao **ELITE BeGenius**.

Nota: 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.

REFERÊNCIAS

- P. Halfon et al. (2006) *J Clin Microbiology* 44: 2507 – 2511
K. Linnet et al. (2004) *Clin. Chem.* 50: 732 - 740.
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> (test number 3000572).
<https://mayocliniclabs.com> (ID do 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 C.

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 ao desempenho 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.

O produto não se destina a ser utilizado como teste de diagnóstico para confirmar a presença de infecção pelo HCV.

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 contaminação a partir de amostras clínicas positivas, dos controlos positivos 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 da sessão de trabalho, 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 Características de desempenho). Neste caso, o resultado podia ser um falso negativo.

Os resultados obtidos com este produto podem, por vezes, ser inválidos devido a uma falha do controlo interno. Neste caso, a amostra deve ser novamente testada, começando pela extração, o que pode originar 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

HCV ELITE MGB® Kit**reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real****REF** RTK601ING

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 paciente. 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.

RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

Reação do Q-PCR Standard, curva standard ou reação do Positive Control 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 Positive Control.
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

HCV ELITE MGB® Kit**reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real****REF** RTK601ING

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.

Reação da amostra inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da mistura de reação completa, do Internal Control e da amostra. Verifique os volumes da mistura de reação completa, do Internal Control 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 Internal Control.	Utilize uma nova alíquota de Internal Control.
Inibição devido a substâncias interferentes na amostra.	Repita a amplificação com uma diluição de 1:2 em água de grau para biologia molecular de amostra de eluato 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.

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 amplificação da amostra para confirmar a presença do alvo com uma possível mutação. O alvo da amostra deve ser sequenciado para confirmar a mutação.

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 de 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).

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 produto de limpeza 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 as amostras nas últimas posições dos instrumentos, tal como indicado na 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. Prepare novamente a mistura de reação completa e/ou utilize uma nova alíquota de CPE.

SÍMBOLOS

REF

Número de catálogo.



Limite máximo da temperatura.

LOT

Código de lote.



Prazo de validade (último dia do mês).

IVD

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.

UDI

Identificação única de dispositivo



Contém suficiente para "N" testes.



Consulte as instruções de utilização.

CONT

Conteúdo.

Manuseio da luz solar.



Fabricante.

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. No momento da revisão atual das IDU, não ocorreu nenhum incidente grave ou recolha de segurança com impacto no desempenho do produto e na segurança do dispositivo.

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.

HCV ELITE MGB® Kit
reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK601ING

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 EUA 7319022, 7348146, 7381818, 7541454, 7671218, 7718374, 7723038, 7759126, 7767834, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529 e números de patente EP 1687609, 1781675, 1789587, 2689031, 2714939, 2736916, 2997161 bem como pedidos que estejam atualmente pendentes.

As tecnologias ELITE InGenius® e ELITE BeGenius® estão protegidas por patentes e aplicações 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.

cobas® é uma marca comercial registada da Roche Diagnostics.

MGB®, Eclipse Dark Quencher®, AquaPhluor®, ELITE MGB®, o logotipo ELITE MGB®, ELITE InGenius® e ELITE BeGenius® são marcas comerciais registadas da ELITechGroup na União Europeia.

HCV ELITE MGB® Kit utilizado em associação com Genius series®



Atenção, 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®, sistemas automatizado e integrado 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.

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 usado como teste de rastreio da presença de HCV no sangue ou em produtos sanguíneos nem como um teste de diagnóstico para confirmar a presença de infeção por HCV.

Sequência amplificada

Sequência	Gene	Fluoróforo	Canal
Alvo	Região HCV 5' UTR	FAM	HCV
Internal Control	MS2	AP525	IC

Matrizes validadas

› 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
Mistura PCR do HCV 4 tubos de 600 µL 24 reações por tubo 96 reações por kit 5 ciclos de congelamento-descongelamento	RT EnzymeMix 2 tubos de 20 µL 48 reações por tubo 96 reações por kit 10 ciclos de congelamento-descongelamento	Calibradores prontos a usar: 4 níveis 1 conjuntos de 4 tubos de 160 µL 2 reações por tubo 2 reações por kit 2 ciclos de congelamento-descongelamento		Positive Control pronto a usar 2 tubos de 160 µL 4 reações por tubo 8 reações por kit 4 ciclos de congelamento-descongelamento	Internal Control pronto a usar 8 tubos de 160 µL 12 extrações por tubo 96 extrações por kit 6 ciclos de congelamento-descongelamento

Prazo de conservação máximo: **18 meses**

Temperatura de armazenamento: **-20 °C**

Outros produtos necessários não fornecidos no kit

- | | |
|---|---|
| › Instrumento ELITE InGenius: INT030 | › Conjunto de consumíveis ELITE InGenius SP200: INT032CS |
| › Instrumento ELITE BeGenius: INT040 | › ELITE InGenius Waste Box: F2102-000 |
| › ELITE InGenius SP 1000 Extraction Cartridge: INT033SP1000 | › Pontas de filtro Axigen de 300 µL: TF-350-L-R-S (apenas ELITE InGenius) |
| › ELITE InGenius PCR Cassette: INT035PCR | › Pontas de filtro Tecan de 1000 µL: 30180118 (apenas ELITE BeGenius) |

Protocolo ELITE InGenius e ELITE BeGenius

› Volume da amostra	600 µL	› Unidade do resultado quantitativo	Unidades internacionais: IU/mL
› Volume de HCV CPE	10 µL		Cópias: Cópias/mL
› Volume de eluição total	50 µL	› Fator de conversão em IU	2,4 IU/cópia
› Volume de entrada de eluição PCR	20 µL	› Frequência dos controlos	15 dias
› Volume de mistura PCR completa	20 µL	› Frequência da calibração	60 dias

Desempenhos ELITE InGenius e ELITE BeGenius

Matriz	Limite de detecção	Sensibilidade de diagnóstico: Correlação do método	Especificidade do diagnóstico
Plasma / Soro	26 IU/mL 11 cópias/mL	$R^2 = 0,905$ 279 amostras quantificadas	98,4% 317 amostras confirmadas/322 amostras testadas

métodos de referência:
 “cobas® HCV para utilização no sistema 4800” e
 “cobas® HCV para utilização no sistema 6800”, Roche Diagnostics.

Preparação da amostra

Este produto destina-se a ser usado no instrumento **ELITE InGenius** e no **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
Plasma colhido em EDTA	≤ 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 do ELITE InGenius

O utilizador é guiado passo a passo pela interface gráfica do utilizador do software ELITE InGenius para configurar a execução. Todos os passos: extração, transcrição reversa, 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). <i>Nota:</i> Todos devem ter sido executados, aprovados e não ter expirado	3. Descongele os tubos PCR Mix e CTRCPE Submeta a vórtice suave Centrifugue durante 5 s Mantenha o RT EnzymeMix em gelo ou bloco de refrigeração.
--	---	---

4. Prepare a mistura de reação completa da seguinte forma

Número de amostras (N)	Mistura PCR do HCV	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

5. Submeta a vórtice suave
Centrifugue durante 5 s
Mantenha mistura de reação completa em gelo ou bloco de refrigeração. Não exponha à luz direta.

Procedimento 1 - Execução completa: Extract + PCR (Extrair+PCR) (p. ex., amostras)

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 “Assay protocol” (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 e o Controlo Interno no Inventory Block (Gestor do reagente)
7. Carregar: PCR Cassette, Cartucho de extração, Tubo de eluição, Cassete de pontas, Racks do tubo de extração	8. Feche a porta. Iniciar a execução	9. Visualize, aprove e guarde os resultados

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

Procedimento 2 - Apenas PCR (p. ex., eluatos, standards, controlos)

1 a 4: Siga o procedimento 1 descrito acima (selecione a opção Protocolos de ensaio: HCV ELiTe_PC e HCV ELiTe_NC ou HCV ELiTe_STD)	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. Carregar: Rack de PCR Cassette e suporte de tubos de eluição com os ácidos nucleicos extraídos, standards ou controlos	8. Feche a porta Iniciar a execução	9. Visualize, aprove e guarde os resultados

Procedimentos do ELiTe BeGenius

O utilizador é guiado passo a passo pela interface gráfica do utilizador 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) <i>Nota:</i> Todos devem ter sido executados, aprovados e não ter expirado	3. Descongele os tubos PCR Mix e CTRCPE Submeta a vórtice suave Centrifugue durante 5 s Mantenha o RT EnzymeMix em gelo ou bloco de refrigeração.
--	---	--

4. Prepare a mistura de reação completa da seguinte forma

Número de amostras (N)	Mistura PCR do HCV	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

5. Submeta a vórtice suave
Centrifugue durante 5 s
Mantenha mistura de reação completa em gelo ou bloco de refrigeração. Não exponha à luz direta.

Procedimento 1 - Execução completa: Extract + PCR (Extrair+PCR) (p. ex., amostras)

1. Selecione “Perform Run” (Executar) no ecrã tátil e, a seguir, clique no modo de execução “Extract + PCR” (Extrair+PCR)	2. Insira o suporte de amostras com as amostras com código de barras na Cooler Unit. 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 “Assay protocol” (Protocolo de ensaio) de interesse: HCV ELiTe_Be_PL_600_50 ou HCV ELiTe_Be_Se_600_50 Nota: se for realizada uma segunda extração, repita os passos 2 a 4	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 Cooler Unit	6. Carregue a mistura de reação completa e o CPE no “Reagent/Elution Rack” (Rack de reagente/eluição) e insira-o na Cooler Unit.
7. Carregue o “PCR Rack” (rack de PCR) com a “PCR Cassette” (Cassete de PCR) e o “Extraction Rack” (Rack de extração) com os cartuchos de extração “ELiTe InGenius SP 1000” e os consumíveis de extração necessários	8. Feche a porta. Iniciar a execução	9. Visualize, aprove e guarde os resultados

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

Procedimento 2 - Apenas PCR (p. ex., eluatos, standards, controlos)

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 ou dos standards ou dos controlos no Elution Rack (rack de eluição) e insira-o na Cooler Unit	3. Verifique os volumes de extração: Entrada: "600 µL", eluato: "50 µL"
4. Selecione o "Assay protocol" (Protocolo de ensaio) de interesse (HCV ELITE_Be_PC e HCV ELITE_Be_NC ou HCV ELITE_Be_STD)	5. Carregue a mistura de reação completa no rack de reagentes e insira-o na Cooler Unit	6. Carregue o "PCR Rack" com "PCR Cassette".
7. Feche a porta. Iniciar a execução	8. Visualize, aprove e guarde os resultados	