



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

NOTICE of CHANGE dated 04/05/2022

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«HSV1/2 ELITe MGB[®] Kit» Ref. RTK403ING

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

- *Change of the Legal Manufacturer.*

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

PLEASE NOTE



LA REVISIONE DI QUESTO IFU E' COMPATIBILE ANCHE CON LA VERSIONE PRECEDENTE DEL KIT



THE REVIEW OF THIS IFU IS ALSO COMPATIBLE WITH THE PREVIOUS VERSION OF THE KIT



CET IFU MIS A JOUR ANNULE ET REMPLACE ET EST PARFAITEMENT COMPATIBLE AVEC LA VERSION PRECEDENTE DU KIT



LA REVISIÓN DE ESTE IFU ES COMPATIBLE TAMBIÉN CON LA VERSIÓN ANTERIOR DEL KIT



A REVISÃO DO ESTE IFU ÉTAMBÉM COMPATÍVEL COM A VERSÃO ANTERIOR DO KIT



DIESE FASSUNG DER GEBRAUCHSANLEITUNG IST KOMPATIBEL MIT DER VORHERIGEN VERSION DES TESTKITS

PRINCÍPIOS DO ENSAIO

O ensaio consiste numa reação de amplificação em tempo real multiplex realizada com o **ELITE InGenius**, um sistema automático integrado para extração, amplificação, detecção e interpretação de resultados.

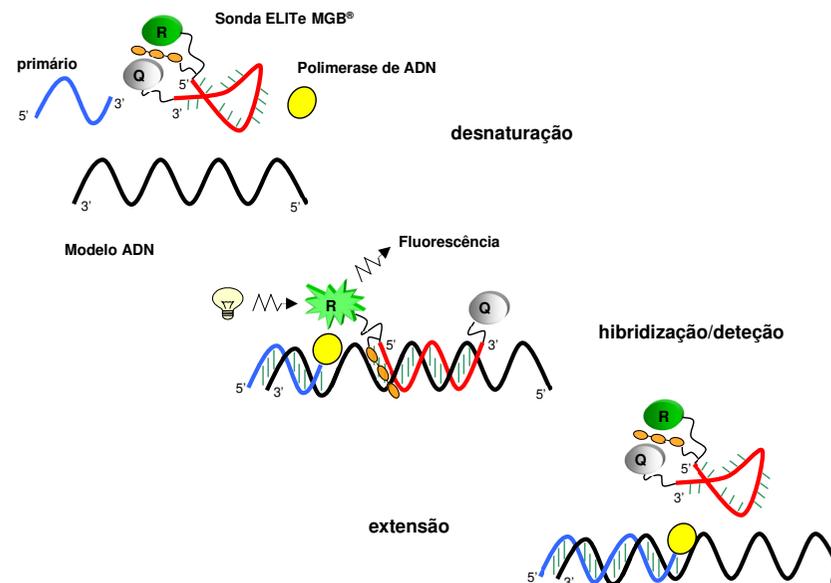
A partir do ADN extraído de cada amostra sujeita a teste, são realizadas diferentes reações de amplificação pela **HSV 1&2 PCR mix** na PCR Cassette para amplificar os seguintes alvos:

- **HSV1** (gene da glicoproteína D), detetado pela sonda específica no Canal **HSV1** do sistema ELITE InGenius (Canal 4). A sonda específica HSV1 é etiquetada com fluoróforo AP593, estabilizada pelo grupo MGB® e extinta por uma humidade não fluorescente.
- **HSV2** (gene da glicoproteína G), detetado pela sonda específica no Canal **HSV2** do sistema ELITE InGenius (Canal 1). A sonda específica HSV2 é etiquetada com fluoróforo FAM, estabilizada pelo grupo MGB® e extinta por uma humidade não fluorescente.
- **Internal Control** (sequência artificial IC2), detetado pela sonda específica no Canal **CI** do sistema ELITE InGenius (Canal 2). A sonda específica CI é etiquetada com fluoróforo AP525, estabilizada pelo grupo MGB® e extinta por uma humidade não fluorescente,

As sondas com a tecnologia ELITE MGB® são ativadas quando hibridizam com o produto específico da reação de amplificação. A emissão de fluorescência é medida e registada pelo instrumento. No final do ciclo de amplificação, os diagramas da fluorescência são analisados para identificar os ciclos do limiar (Ct). A interpretação do resultado permite detetar a presença dos patogénicos de interesse.

O ensaio foi validado com o **ELITE InGenius®**, sistema integrado automático para extração, amplificação e detecção de ácidos nucleicos.

Na imagem seguinte é sinteticamente mostrado o mecanismo de ativação e a emissão de fluorescência da sonda da tecnologia ELITE MGB®. Tenha em atenção que a sonda não é hidrolisada durante o ciclo de amplificação, pelo que pode ser usada para a análise da curva de dissociação.



HSV 1&2 ELITE MGB® Kit
reagentes para amplificação PCR em tempo real do ADN

REF RTK403ING



ÍNDICE

UTILIZAÇÃO PREVISTA	página 1
PRINCÍPIOS DO ENSAIO	página 2
DESCRIÇÃO DO KIT	página 3
MATERIAIS FORNECIDOS NO KIT	página 3
MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO KIT	página 3
OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS	página 4
AVISOS E PRECAUÇÕES	página 4
AMOSTRAS E CONTROLOS	página 5
PROCEDIMENTO	página 6
CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO	página 12
REFERÊNCIAS	página 22
LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO	página 23
RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS	página 24
SÍMBOLOS	página 25
NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA	página 26

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O «**HSV 1&2 ELITE MGB® Kit**» é um teste de diagnóstico in vitro qualitativo baseado numa reação em cadeia de polimerase (PCR) em tempo real, para a detecção e diferenciação do ADN do Vírus do Herpes Simples 1 e 2 (HSV1 e HSV2) em espécimes de esfregaços em lesões cutâneas ou mucocutâneas de doentes com sinais e sintomas de infeção por HSV1 ou HSV2.

O produto está previsto para utilização como auxiliar no diagnóstico diferencial de infeções por HSV1 e HSV2 em conjunto com os dados clínicos do doente e outros resultados de testes laboratoriais.

DESCRIÇÃO DO KIT

O «**HSV 1&2 ELITE MGB® Assay**» fornece os seguintes componentes:

- **HSV 1&2 PCR Mix**

Uma mistura de oligonucleóticos primários e sondas para amplificação em tempo real, numa solução de estabilização, alíquotadas em oito tubos de teste (tampa AMARELA). Cada tubo contém **280 µL** de solução, suficiente para **12 testes** (processamento de, pelo menos, 2 amostras por sessão) em associação com o ELITE InGenius.

- **HSV 1&2 Negative Control**

Água livre de DNase e RNase, pré-alíquotada em dois tubos de teste (tampa BRANCA). Cada tubo contém **1800 µL** de água, suficiente para **8 testes** (processamento de 200 µL numa sessão integrada) em associação com o ELITE InGenius.

- **HSV 1&2 Positive Control**

Uma solução com tampão contendo os modelos de ADN plasmídeo para HSV1 e HSV2, pré-alíquotada em dois tubos de teste (tampa VERMELHA). Cada tubo contém **1800 µL** de solução, suficiente para **8 sessões** (processamento de 200 µL numa sessão integrada) em associação com o ELITE InGenius.

- **HSV 1&2 Positive Control**

Uma solução com tampão contendo o fago M13 recombinante com a sequência artificial IC2 clonada no genoma do fago, pré-alíquotada em oito tubos de teste (tampa NEUTRA). Cada tubo contém **160 µL** de solução, suficiente para **12 extrações** (processamento de 10 µL por sessão) em associação com o ELITE InGenius.

- **Sample Dilution Buffer**

O Tampão de diluição da amostra está previsto para utilização na diluição da amostra quando as amostras no testes estiverem demasiado concentradas, consoante indicado pelo software ELITE InGenius (Erro 30103). O Tampão de diluição da amostra é uma solução com tampão, pré-alíquotada em oito tubos de teste (tampa CASTANHA). Cada tubo contém **1000 µL** de solução.

O kit é suficiente para **96 testes em associação com o ELITE InGenius**, incluindo comandos.

MATERIAIS FORNECIDOS NO KIT

Caixa	Componente	Descrição	Quantidade	Classificação dos perigos
1	HSV 1&2 PCR Mix	mistura de reação para HSV1&2 tampa AMARELA	8 x 280 µL	-
	HSV 1&2 Negative Control	Água livre de DNase e RNase tampa BRANCA	2 x 1800 µL	-
2	HSV 1&2 Internal Control	solução de fago recombinante tampa NEUTRA	8 x 160 µL	-
3	HSV 1&2 Positive Control	solução de ADN de plasmídeo tampa VERMELHA	2 x 1800 µL	-
	Sample Dilution Buffer	solução de tampão tampa CASTANHA	8 x 1000 µL	-

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO KIT

- Exaustor de fluxo de ar laminar ou Cabina com segurança biológica.
- Luvas sem pó de nitrilo descartáveis ou material semelhante.
- Misturador de vórtice.
- Microcentrifugadora de bancada (12.000 - 14.000 RPM).
- Micropipetas e pontas esterilizadas com filtro de aerossóis ou pontas esterilizadas de deslocação positiva (2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).

OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS

Os reagentes para extração do ADN das amostras a serem analisadas e os consumíveis **não** estão incluídos neste produto.

Para a extração de ADN automática, a amplificação em tempo real e a interpretação dos resultados das amostras, são necessários o instrumento «**ELITE InGenius**» (ELITechGroup S.p.A., ref. INT030 e INT030-K) e os seguintes Protocolos de ensaio específicos (ELITechGroup S.p.A.):

- parâmetros para o controlo positivo de extração e amplificação «**HSV ELITE_PC**»,
- parâmetros para o controlo negativo de extração e amplificação «**HSV ELITE_NC**»,
- parâmetros para amostras a serem executadas e analisadas «**HSV ELITE_MCS_200_50**».

Com o instrumento «**ELITE InGenius**» são necessários os seguintes produtos genéricos:

- cartuchos de extração «**ELITE InGenius® SP 200**» (ELITechGroup S.p.A., ref. INT032SP200),
- consumíveis para extração e amplificação «**ELITE InGenius® SP 200 Consumable Set**» (ELITechGroup S.p.A., ref. INT032CS),
- cartuchos de amplificação «**ELITE InGenius® PCR Cassette**» (ELITechGroup S.p.A., ref. INT035PCR),
- pontas «**300 µL Filter Tips Axygen**» (Axygen BioScience Inc., CA, EUA, ref. TF-350-L-R-S),
- caixas «**ELITE InGenius® Waste Box**» (ELITechGroup S.p.A., ref. F2102-000).

AVISOS E PRECAUÇÕES

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

Avisos e precauções gerais

Manuseie e elimine todas as amostras biológicas como se fossem capazes de transmitir agentes infecciosos. Evite o contacto direto com as amostras biológicas. Evite salpicos ou vaporizações. Os materiais que entrarem em contacto com as amostras biológicas devem ser tratados durante, pelo menos, 30 minutos com 3% de hipoclorito de sódio 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 capazes de transmitir agentes infecciosos. Evite o contacto direto com os reagentes. Evite salpicos ou vaporizações. Os desperdícios devem ser manuseados e eliminados em conformidade com as normas de segurança adequadas. Os materiais combustíveis descartáveis devem ser incinerados. Os desperdícios líquidos que contêm ácidos ou devem ser neutralizados antes da eliminação.

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.

Consulte a versão atual das IFU, disponíveis online.

Leia atentamente todas as instruções fornecidas com o produto antes de efetuar o ensaio.

Durante a realização do ensaio, siga as instruções fornecidas com o produto.

Não use o produto após a data de validade indicada.

Use apenas os reagentes fornecidos com o produto e os recomendados pelo fabricante.

Não use reagentes de lotes diferentes.

Não use reagentes de outros fabricantes.

Avisos e precauções para biologia molecular

Os procedimentos de biologia molecular requerem colaboradores qualificados e com formação, para evitar o risco de resultados incorretos, especialmente devido à degradação de ácidos nucleicos contidos nas amostras ou à contaminação da amostra por produtos de amplificação.

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 um exaustor de fluxo de ar laminar. As pipetas usadas no manuseamento de amostras devem ser usadas exclusivamente para este fim específico. As pipetas devem ser do tipo de deslocação positiva ou ser usadas com pontas com filtro de aerossóis. As pontas usadas devem ser esterilizadas, livres de DNases e RNases e livres de ADN e ARN.

As Cassetes PCR devem ser manuseadas de modo a reduzir, tanto quanto possível, a difusão do produto de amplificação para o ambiente, para evitar a contaminação da amostra e do reagente.

Avisos e precauções específicos para os componentes

- **HSV1 &2 PCR Mix**

A **HSV 1&2 PCR Mix** deve ser guardada a -20 °C num local escuro.

A **HSV 1&2 PCR Mix** pode ser congelada e descongelada para um máximo de **cinco sessões**: quaisquer ciclos de congelação/descongelação adicionais podem causar um menor desempenho do produto.

- **HSV 1&2 Negative Control**

O **HSV 1&2 Negative Control** deve ser guardado a -20 °C

- **HSV 1&2 Positive Control**

O **HSV 1&2 Positive Control** deve ser guardado a -20 °C.

O **HSV 1&2 Positive Control** pode ser congelado e descongelado um máximo de **cinco vezes**: quaisquer ciclos de congelação/descongelação adicionais podem causar um menor desempenho do produto.

- **HSV 1&2 Internal Control**

O **HSV 1&2 Internal Control** deve ser guardado a -20 °C.

O **HSV 1&2 Internal Control** pode ser congelado e descongelado um máximo de **cinco vezes**: quaisquer ciclos de congelação/descongelação adicionais podem causar um menor desempenho do produto.

- **Sample Dilution Buffer**

O **Sample Dilution Buffer** deve ser guardado a -20 °C.

AMOSTRAS E CONTROLOS

Amostras

O produto deve ser utilizado com as seguintes amostras clínicas:

Amostras de esfregaços de lesões cutâneas e mucocutâneas

As amostras de esfregaços de lesões cutâneas e mucocutâneas para extração de ADN devem ser colhidas e guardadas num suporte de transporte viral UTM, M4, M4RT, M5 ou M6 e identificadas de acordo com as diretrizes laboratoriais. Os espécimes devem ser transportados e guardados num refrigerador (+2/+8 °C) durante um período máximo de 7 dias ou a -70 °C durante um máximo de 3 meses.

Separe as amostras em alíquotas antes da congelação, para evitar ciclos repetidos de congelação e descongelação.

Guarde os ácidos nucleicos purificados a +2/+8 °C se forem usados no mesmo dia em que foram extraídos ou a -20 °C para um armazenamento a longo prazo.

Nota: para realizar a extração do ADN a partir de amostras de esfregaços de lesões mucocutâneas pelo **ELITE InGenius** e o **Software ELITE InGenius** versão 1.3 (ou versões posteriores), use o Protocolo do ensaio : **HSV ELITE_MCS_200_50**. Este protocolo processa 200 µL da amostra, adiciona 10 µL do **HSV 1&2 Internal Control** por extração e elui os ácidos nucleicos em 50 µL.

As amostras fornecidas num tubo principal compatível com o ELITE InGenius (tubo de 12x80 mm ou 13x100 com tampa de rosca com formato interno cónico, Copan Italia S.p.A., ou semelhante) com um volume da amostra de, pelo menos, 2,2 mL, podem ser colocadas diretamente na prateleira da amostra primária ELITE InGenius. As amostras fornecidas num tubo que não é compatível com o ELITE InGenius, ou que possui um volume da amostra inferior a 2,2 mL, requerem a transferência de uma alíquota de 200 µL para um tubo de sonicação colocado na prateleira para tubos de sonicação ELITE InGenius. Consulte o Manual do operador do ELITE InGenius (SCH mINT030_en) para obter mais informações.

Comandos de extração e amplificação

Antes da análise de qualquer amostra, é absolutamente obrigatório criar e aprovar os controlos de extração e amplificação para o lote do reagente de amplificação que será usado nos testes:

como Controlo positivo, use o produto **HSV 1&2 Positive Control** fornecido com este kit, em associação com o protocolo **HSV ELITE_PC**, como Controlo negativo, use o produto **HSV 1&2 Negative Control** fornecido com este kit, em associação com o protocolo **HSV ELITE_NC**,

Nota: O sistema **ELITE InGenius** requer resultados aprovados e válidos dos controlos de extração e amplificação para cada lote de reagente de amplificação guardado na respetiva base de dados.

Os resultados do controlo, aprovados e guardados na base de dados, irão expirar **após 15 dias**. Na data de fim da validade será necessário fazer uma nova execução dos controlos positivo e negativo em associação com o lote do reagente de amplificação em utilização.

Para além disso, os controlos de extração e amplificação devem ser novamente executados quando:

- for iniciado um novo lote de reagentes de amplificação,
- os resultados dos controlos da qualidade (ver o parágrafo seguinte) se encontrarem fora da especificação,
- for realizado qualquer serviço de manutenção significativo no instrumento **ELITE InGenius**.

Controlos da qualidade

É recomendada a validação planeada do procedimento de extração e amplificação. Podem ser usadas amostras testadas ou material de referência certificado.

PROCEDIMENTO

O procedimento para utilização do **HSV 1&2 ELITE MGB® Kit** com o sistema **ELITE InGenius** consiste em três passos:

- verificação da prontidão do sistema,
- preparação da sessão,
- revisão e aprovação de resultados.

Verificação da prontidão do sistema

Antes de iniciar a sessão, e através da consulta da documentação do instrumento, é necessário:

- ligar o instrumento **ELITE InGenius** e selecionar o modo de início de sessão "CLOSED" (Fechado),
- verificar que os controlos de extração e amplificação (Controlos, HSV 1&2 Positive Control, HSV 1&2 Negative Control) foram executados em associação com o lote do reagente de amplificação a ser usado e que os resultados são aprovados e válidos (Status). Se não existirem resultados de controlo de extração e amplificação aprovados ou válidos, crie os mesmos como descrito nos parágrafos seguintes,
- escolha o tipo de execução, seguindo as instruções na Interface Gráfica do Utilizador (GUI) para a preparação da sessão e utilizando os Assay Protocols fornecidos pela ELITechGroup S.p.A. Estes protocolos IVD foram especificamente validados com os kits **ELITE MGB®**, o instrumento **ELITE InGenius** e a matriz citada.

O Protocolo de ensaio disponível para teste da amostra com o produto «**HSV 1&2 ELITE MGB® Kit**» está descrito na tabela seguinte:

Protocolo de ensaio para o Kit HSV 1&2 ELITE MGB®			
Nome	Matriz	Relatório	Características
HSV ELITE_MCS_200_50	amostras de esfregaços de lesões cutâneas e mucocutâneas	Positivo/ Negativo	Volume de entrada da extração: 200 µL Volume de eluição da extração: 50 µL Controlo interno: 10 µL Sonicação: NÃO Fator de diluição: 1 Volume de PCR Mix: 20 µL Volume de entrada PCR de amostra: 10 µL

Se o Assay Protocol de interesse não estiver carregado no sistema, contacte o serviço de Apoio ao cliente ELITechGroup na sua localidade.

Preparação da sessão

O produto **HSV 1&2 ELITE MGB® Kit** pode ser usado com o sistema **ELITE InGenius** para realizar:

- Execução integrada (Extract + PCR),
- Execução de amplificação (PCR only),
- Execução integrada de Controlo positivo e Controlo negativo (Extract + PCR).

Todos os parâmetros necessários para a sessão estão incluídos no Protocolo de ensaio disponível no instrumento e são automaticamente recuperados quando o Protocolo de ensaio é selecionado.

Nota: O sistema **ELITE InGenius** pode ser ligado ao "Location Information Server" (Servidor de informação da localização - LIS) através do qual é possível carregar a informação da sessão de trabalho. Consulte o manual de utilizador do instrumento para obter mais informações.

Estão descritos a seguir os passos principais para a preparação dos três tipos de execução.

A. Execução integrada

Para configurar uma execução integrada com extração e amplificação da amostra, execute os passos seguintes de acordo com a GUI:

1. Descongele o tubo da HSV 1&2 PCR Mix para a sessão. Cada tubo é suficiente para 12 reações em condições ideais de consumo do reagente (pelo menos 2 amostras por sessão). Misture suavemente, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.

Nota: Descongele a HSV 1&2 PCR Mix num local escuro, pois o reagente é sensível à luz.

2. Descongele os tubos do HSV 1&2 Internal Control para a sessão. Cada tubo é suficiente para 12 extrações. Misture suavemente, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.
3. Selecione "Perform Run" a partir do ecrã "Home".
4. Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" é de 50 µL.
5. Para cada Rastreo de interesse preencha a "Sample ID" (SID) digitando ou digitalizando o código de barras da amostra.
6. Selecione o Protocolo de ensaio a ser usado na coluna "Assay" (isto é, HSV ELITE_MCS_200_50).
7. Certifique-se de que o "Protocol" apresentado é: "Extract + PCR".
8. Selecione a posição de carregamento da amostra na coluna "Sample Position":
 - se for usado um tubo primário, selecione "Primary Tube",
 - se for usado um tubo secundário, selecione "Sonication Tube".
 Clique em "Next" para continuar a preparação.
9. Carregue a Mistura PCR HSV 1&2 e o Controlo Interno HSV 1&2 no "Inventory Block" selecionado pela seguinte instrução da GUI.
10. Carregue e verifique os Suportes de pontas na "Inventory Area" selecionada seguindo as instruções na GUI. Clique no botão "Next" para continuar a preparação.
11. Carregue as "PCR Cassette", os cartuchos de extração "ELITE InGenius SP 200", todos os consumíveis necessários e as amostras a serem extraídas, seguindo as instruções na GUI. Clique em "Next" para continuar a preparação.
12. Feche a porta do instrumento.
13. Pressione "Start" para iniciar a execução.

Após a conclusão do processo, o sistema **ELITE InGenius** permite aos utilizadores ver, aprovar e guardar os resultados e imprimir e guardar o relatório.

Nota: No final da execução, a restante amostra não extraída no "Elution tube" deve ser removida do instrumento, tapada e guardada. Evite derramar a amostra não extraída.

Nota: No final da execução a restante amostra extraída no "Elution tube" deve ser removida do instrumento, tapada, identificada e guardada a -20 °C. Evite derramar a amostra extraída.

Nota: No final da execução as PCR Cassette com os produtos de reação e os consumíveis devem ser removidas do instrumento e eliminadas sem contaminações ambientais. Evite derramar os produtos de reação.

Nota: A PCR Mix pode ser mantida no bloco refrigerado até 2 sessões de trabalho de 3 horas cada e durante o tempo necessário para preparar uma terceira sessão de trabalho.

B. Execução de amplificação

Para preparar uma execução de amplificação a iniciar a partir de Ácidos nucleicos extraídos, realize os passos seguintes de acordo com a GUI:

1. Descongele o tubo da HSV 1&2 PCR Mix para a sessão. Cada tubo é suficiente para 12 reações em condições ideais de consumo do reagente (pelo menos 2 testes por sessão). Misture suavemente, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.

Nota: Descongele a HSV 1&2 PCR Mix num local escuro, pois estes reagentes são sensíveis à luz.

2. Selecione "Perform Run" a partir do ecrã "Home".
3. Mesmo que não seja efetuada qualquer extração, certifique-se de que o "Extraction Input Volume" é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" é de 50 µL.
4. Para cada Rastreo de interesse preencha a SID digitando ou digitalizando o código de barras da amostra.
5. Selecione o Assay Protocol a ser usado na coluna "Assay" (isto é, HSV ELITE_MCS_200_50).
6. Selecione "PCR only" na coluna "Protocol".
7. Certifique-se de que a posição de carregamento da amostra na coluna "Sample Position" é "Elution Tube (bottom row)". Clique em "Next" para continuar a preparação.
8. Carregue a Mistura PCR HSV 1&2 no "Inventory Block" selecionado seguindo as instruções na GUI. Clique em "Next" para continuar a preparação.
9. Carregue e verifique os Suportes de pontas na "Inventory Area" selecionada seguindo as instruções na GUI. Clique em "Next" para continuar a preparação.
10. Carregue as "PCR Cassette" e as amostras de Ácidos nucleicos extraídas seguindo as instruções na GUI. Clique em "Next" para continuar a preparação.
11. Feche a porta do instrumento.
12. Pressione "Start" para iniciar a execução.

Após a conclusão do processo, o sistema **ELITE InGenius** permite aos utilizadores ver, aprovar e guardar os resultados e imprimir e guardar o relatório.

Nota: No final da execução a restante Amostra extraída no "Elution tube" deve ser removida do instrumento, tapada e guardada a -20 °C. Evite derramar a Amostra extraída.

Nota: No final da execução as PCR Cassette com os produtos de reação e os consumíveis devem ser removidas do instrumento e eliminadas sem contaminações ambientais. Evite quaisquer derrames dos produtos de reação.

Nota: A PCR Mix pode ser mantida no bloco refrigerado até 2 sessões de trabalho de 3 horas cada e durante o tempo necessário para preparar uma terceira sessão de trabalho.

C. Execução integrada de Controlo positivo e Controlo negativo

Para preparar a execução integrada com extração e amplificação do Positive Control and Negative Control, realize os passos seguintes em conformidade com a GUI:

- Descongele o tubo da HSV 1&2 PCR Mix para a sessão. Cada tubo é suficiente para preparar 12 reações em condições ideais de consumo do reagente (pelo menos 2 testes por sessão). Misture suavemente, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.

Nota: Descongele a HSV 1&2 PCR Mix num local escuro, pois estes reagentes são sensíveis à luz.

- Descongele os tubos do HSV 1&2 Internal Control para a sessão. Cada tubo é suficiente para 12 extrações. Misture suavemente, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.
- Descongele o tubo do HSV 1&2 Positive Control para a sessão. Cada tubo é suficiente para 8 sessões. Misture suavemente, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e transfira 200 µL de HSV 1&2 Positive Control num "Tubo de sonicação".
- Descongele o tubo do HSV 1&2 Negative Control para a sessão. Cada tubo é suficiente para 8 sessões. Misture suavemente, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e transfira 200 µL de HSV 1&2 Negative Control num "Tubo de sonicação".
- Selecione "Perform Run" a partir do ecrã "Home".
- Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" é de 50 µL.
- Nos Rastreios de interesse, selecione o Assay Protocolo a ser usado na coluna "Assay".
- Para o Controlo positivo, selecione HSV ELITE_PC, na coluna "Assay" e preencha o número do lote e a data de validade do Controlo positivo HSV1&2.
- Para o Controlo negativo, selecione HSV ELITE_NC, na coluna "Assay" e preencha o número do lote e a data de validade do Controlo negativo HSV1&2.
- Certifique-se de que o "Protocol" apresentado é: "Extract + PCR".
- Certifique-se de que a "Sample Position" apresentada é: "Sonication Tube". Clique em "Next" para continuar a preparação.
- Carregue a Mistura PCR HSV 1&2 e o Controlo Interno HSV 1&2 no "Inventory Block" selecionado pela seguinte instrução da GUI.
- Carregue e verifique os Suportes de pontas na "Inventory Area" selecionada seguindo as instruções na GUI. Clique no botão "Next" para continuar a preparação.
- Carregue as "PCR Cassette", os cartuchos de extração "ELITE InGenius SP 200", todos os consumíveis necessários e o HSV 1&2 Positive Control e 200 µL de HSV 1&2 Negative Control a ser extraído nos rastreios especificados no passo 7, seguindo as instruções da GUI. Clique em "Next" para continuar a preparação.
- Feche a porta do instrumento.
- Pressione "Iniciar" para iniciar a execução.

Após a conclusão do processo, o sistema **ELITE InGenius** permite aos utilizadores ver, aprovar e guardar os resultados e imprimir e guardar o relatório.

Nota: No final da execução, deve ser eliminado o restante Positive Control and Negative Control no "Elution tube". Evite derramar a amostra extraída.

Nota: No final da execução as PCR Cassette com os produtos de reação e os consumíveis devem ser removidas do instrumento e eliminadas sem contaminações ambientais. Evite derramar os produtos de reação.

Nota: A PCR Mix pode ser mantida no bloco refrigerado até 2 sessões de trabalho de 3 horas cada e durante o tempo necessário para preparar uma terceira sessão de trabalho.

Revisão e aprovação de resultados

No final da execução, é automaticamente apresentado o ecrã "Results Display". Neste ecrã são mostrados os resultados da amostra/Controlo e a informação relativa à execução. A partir deste ecrã é possível aprovar o resultado, imprimir ou guardar os relatórios ("Sample Report" or "Track Report"). Consulte o manual de utilizador do instrumento para obter mais informações.

Nota: o sistema **ELITE InGenius** pode ser ligado ao "Laboratory Information System" (Sistema de informação do laboratório - LIS) através do qual é possível enviar os resultados da sessão de trabalho para o centro de dados do laboratório. Consulte o manual de utilizador do instrumento para obter mais informações.

O sistema **ELITE InGenius** gera os resultados com o produto **HSV 1&2 ELITE MGB® Kit** através do seguinte procedimento:

- Validação dos resultados do Positive Control and Negative Control,
- Validação dos resultados da amostra,
- Elaboração do relatório do resultado da amostra.

A. Validação dos resultados do Positive Control and Negative Control

Os sinais de fluorescência emitidos pelas sondas alvo (Canais **HSV1** e **HSV2**) nas reações de amplificação de Positive Control and Negative Control são analisados automaticamente e interpretados pelo software do instrumento com os parâmetros incluídos nos Protocolos de ensaio "HSV ELITE_PC" e "HSV ELITE_NC".

Os resultados de execução do Positive Control and Negative Control, específicos para o lote de reagente de amplificação usado, são registados na base de dados (Controlos). Podem ser visualizados e aprovados por pessoal qualificado como o "Administrator" ou "Analyst", seguindo as instruções na GUI.

Os resultados da execução do Positive Control and Negative Control, específicos para o lote de reagente de amplificação, irão expirar **após 15 dias**.

Os resultados das execuções do Controlo positivo e Controlo negativo são usados pelo software do instrumento para preparar os "Control Charts" para monitorizar os desempenhos do passo de amplificação. Consulte o manual de utilizador do instrumento para obter mais informações.

Nota: Se o resultado da execução do Positive Control or Negative Control não cumprir os critérios de aceitação, é mostrada a mensagem "Failed" no ecrã "Controls" e não é possível aprovar o mesmo. Neste caso, devem ser repetidas as execuções do Controlo positivo ou Controlo negativo.

Nota: Se o Positive Control or Negative Control for executado em conjunto com amostras a serem testadas e o respetivo resultado for inválido, toda a sessão é inválida. Neste caso, também deve ser repetida a execução de todas as amostras.

B. Validação dos resultados da amostra

Os sinais de fluorescência emitidos pelas sondas HSV1 e HSV2 específicas (Canais **HSV1** e **HSV2**) e pela sonda de Controlo Interno específica ("CI") em cada reação de amplificação da amostra são analisados automaticamente e interpretados pelo software do instrumento com os parâmetros incluídos no Assay Protocol HSV 1&2 ELITE_MCS_200_50.

Os resultados são mostrados nos relatórios gerados pelo instrumento ("Result Display"). A execução da amostra pode ser aprovada quando forem cumpridas as duas condições reportadas na tabela abaixo.

1) Controlo positivo	Estado
HSV 1&2 Positive Control	APROVADO
2) Controlo negativo	Estado
HSV 1&2 Negative Control	APROVADO

Para cada amostra, o resultado do ensaio é automaticamente interpretado pelo sistema como estabelecido pelo algoritmo do **software ELITE® InGenius** e os parâmetros do 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 ADN dos patogênicos foram detetados ou não detetados.

Resultado da execução da amostra		Interpretação
Resultado HSV1	Resultado HSV2	
HSV1: DNA Not Detected or below the LoD	HSV2: DNA Not Detected or below the LoD	O ADN de HSV1 e HSV2 não foi detetado na amostra. A amostra é negativa válida para estes patogênicos ou as suas concentrações estão abaixo dos Limites de detecção do ensaio.
HSV1: DNA Not Detected or below the LoD	HSV2: DNA Detected	O ADN de HSV1 não foi detetado na amostra. O ADN de HSV2 foi detetado na amostra.
HSV1: DNA Detected	HSV2: DNA Not Detected or below the LoD	O ADN de HSV1 foi detetado na amostra. O ADN de HSV2 não foi detetado na amostra.
HSV1: DNA Detected	HSV2: DNA Detected	O ADN de HSV1 e HSV2 foi detetado na amostra.
Invalid - Retest Sample.		Resultado do ensaio inválido causado por falha do Controlo Interno devido a extração incorreta, transferência de inibidores. O teste deve ser repetido.

As amostras reportadas como "Invalid - Retest Sample" pelo **software ELITE InGenius** não são adequadas para interpretação dos resultados. Neste caso, o ADN do Controlo Interno não foi detetado eficientemente devido a problemas no passo de amplificação ou extração (degradação do ADN, perda de ADN durante a extração ou transferência de inibidores na eluição), que pode causar resultados incorretos.

Quando o volume da eluição é suficiente, a amostra extraída pode ser novamente testada através de uma execução da amplificação no modo "PCR only". No caso de um segundo resultado inválido, a amostra deve ser novamente testada começando a partir da extração de uma nova alíquota utilizando o modo "Extract + PCR".

As amostras reportadas como "HSV1 DNA Not Detected or below the LoD" e "HSV2 DNA Not Detected or below the LoD" são adequadas para análise mas não foi possível detetar ADN alvos. Neste caso não pode excluir-se que os ADN alvos estão presentes a uma concentração abaixo dos limites de detecção do ensaio (ver "Performance characteristics").

Nota: Os resultados obtidos com este ensaio devem ser interpretados tendo em conta todos os dados clínicos e os outros resultados de testes laboratoriais relativos ao doente.

Os resultados da execução da amostra são guardados na base de dados e, se válidos, podem ser aprovados (Result Display) por pessoal qualificado como "Administrator" ou "Analyst", seguindo as instruções na GUI. A partir da janela "Result Display" é possível imprimir e guardar os resultados da execução da amostra como "Sample Report" e "Track Report".

C. Elaboração do relatório do resultado da amostra

Os resultados da amostra são guardados na base de dados e podem ser exportados como "Sample Report" e "Track Report".

O "Sample Report" apresenta os detalhes de uma sessão de trabalho ordenada pela amostra selecionada (SID).

O "Track Report" apresenta os detalhes de uma sessão de trabalho ordenados pelo Rastreo selecionado.

O "Sample Report" e o "Track Report" podem ser impressos e assinados por pessoal autorizado.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Capacidade de reprodução

A capacidade de reprodução do HSV 1&2 ELITE MGB® Kit foi avaliada numa investigação em múltiplos locais com recurso a amostras clínicas forçadas. Os painéis de teste HSV foram preparados pelo reforço do vírus HSV1 (estirpe MacIntyre) ou HSV2 (estirpe MS) num UTM (Universal Transport Media) às concentrações de <1× LoD, 1× LoD e 3× LoD. Foram incluídos membros do painel negativo HSV1 e HSV2 como controlos de membro do painel. É mostrado na tabela seguinte a composição do painel de capacidade de reprodução:

Painel de capacidade de reprodução

Nome	Descrição dos conteúdos	Carga viral	Taxa de positividade esperada
M1	HSV1 C ₅₀ (Alto negativo) no UTM	<1× LOD	20-80% positivo
M2	HSV1 C ₉₅ (Baixo positivo) no UTM	1× LOD	≥95% positivo
M3	HSV1 C ₁₀₀ (Moderado positivo) no UTM	2-3 × LOD	100% positivo
M4	HSV2 C ₅₀ (Alto negativo) no UTM	<1× LOD	20-80% positivo
M5	HSV2 C ₉₅ (Baixo positivo) no UTM	1× LOD	≥95% positivo
M6	HSV2 C ₁₀₀ (Moderado positivo) no UTM	2-3 × LOD	100% positivo
M7	HSV negativo no UTM	Negativo	100% negativo

Os painéis foram testados em 3 locais por 2 operadores por local com 1 execução por operador por dia, durante 10 dias não consecutivos utilizando um único lote do HSV 1&2 ELITE MGB® Kit. O teste foi realizado num mínimo de 90 réplicas (30 por local) por membro do painel. A variabilidade lote-a-lote foi avaliada apenas na ELITechGroup Inc. MDx (local interno) utilizando 3 lotes do HSV 1&2 ELITE MGB® Kit. Os controlos foram executados diariamente e foram incluídos na primeira execução do dia.

A % de concordância, os Cts médios e a %CV para cada membro do painel e por cada local estão apresentados na tabela seguinte.

Resultados da capacidade de reprodução do Kit HSV 1&2 ELITE MGB®

Alvo	Amostra	Local - 1			Local - 2			Local - 3			% concordância com os resultados esperados	95% CI
		% concordância com os resultados esperados	Méd. Ct	Total %CV	% concordância com os resultados esperados	Méd. Ct	Total %CV	% concordância com os resultados esperados	Méd. Ct	Total %CV		
Resultado HSV1	HSV1 Baixo Pos	100,0% (30/30)	38,9	1,70%	100,0% (30/30)	38,3	2,10%	100,0% (30/30)	38,0	2,00%	100,0% (90/90)	95,9 a 100,0%
	HSV1 Mod Pos	100,0% (30/30)	36,4	1,30%	100,0% (30/30)	35,5	5,20%	100,0% (30/30)	35,6	1,50%	100,0% (90/90)	95,9 a 100,0%
	HSV2 Baixo Pos	100,0% (30/30) ^a	N/A	N/A	100,0% (29/29) ^a	N/A	N/A	100,0% (30/30) ^a	N/A	N/A	100,0% (89/89)	95,6 a 100,0%
	HSV2 Mod Pos	100,0% (30/30) ^a	N/A	N/A	100,0% (30/30) ^a	N/A	N/A	100,0% (30/30) ^a	N/A	N/A	100,0% (90/90)	95,9 a 100,0%
	HSV Neg	100,0% (60/60) ^a	N/A	N/A	100,0% (38/38) ^a	41,4	2,50%	100,0% (40/40) ^a	N/A	N/A	100,0% (138/138)	97,3 a 100,0%
	Controlo Pos	100,0% (30/30)	27,5	1,30%	100,0% (5/5)	27,5	1,20%	100,0% (5/5)	27,0	0,80%	100,0% (40/40)	91,2 a 100,0%
	Concordância total		100,0% (210/210)			100,0% (162/162)			100,0% (165/165)			100,0% (537/537)

^a Os resultados esperados das amostras de HSV2 Baixo positivo, HSV2 Moderado positivo e HSV Negativo são "Negativos" para HSV1.

Continuação na página seguinte.

Alvo	Amostra	Local – 1			Local – 2			Local – 3			% concordância com os resultados esperados	95% CI	
		%	Méd. Ct	Total %CV	%	Méd. Ct	Total %CV	%	Méd. Ct	Total %CV			
Resultado HSV2	HSV1 Baixo Pos	100,0% (30/30) ^b	N/A	N/A	100,0% (30/30) ^b	N/A	N/A	100,0% (30/30) ^b	N/A	N/A	100,0% (90/90)	95,9 a 100,0%	
	HSV1 Mod Pos	100,0% (30/30) ^b	N/A	N/A	100,0% (30/30) ^b	N/A	N/A	100,0% (30/30) ^b	N/A	N/A	100,0% (90/90)	95,9 a 100,0%	
	HSV2 Baixo Pos	100,0% (30/30)	36,8	3,10%	100,0% (29/29)	37,8	2,30%	100,0% (30/30)	36,6	1,90%	100,0% (89/89)	95,9 a 100,0%	
	HSV2 Mod Pos	100,0% (30/30)	35,2	1,30%	100,0% (30/30)	35,95	1,60%	100,0% (30/30)	34,6	2,30%	100,0% (90/90)	95,9 a 100,0%	
	HSV Neg	100,0% (60/60) ^b	N/A	N/A	100,0% (38/38) ^b	N/A	N/A	100,0% (40/40) ^b	N/A	N/A	100,0% (138/138)	95,9 a 100,0%	
	Controlo Pos	100,0% (30/30)	27,0	1,30%	100,0% (5/5)	27,4	1,50%	100,0% (5/5)	26,8	1,40%	100,0% (40/40)	95,9 a 100,0%	
	Concordância total	100,0% (210/210)			100,0% (162/162)			100,0% (165/165)			100,0% (537/537)		

^b Os resultados esperados das amostras de HSV1 Baixo positivo, HSV1 Moderado positivo e HSV Negativo são "Negativos" para HSV2.

Alvo	Amostra	Local – 1			Local – 2			Local – 3			% concordância com os resultados esperados	95% CI	
		%	Méd. Ct	Total %CV	%	Méd. Ct	Total %CV	%	Méd. Ct	Total %CV			
Resultado CI	HSV1 Baixo Pos	100,0% (30/30)	30,4	3,80%	100,0% (30/30)	30,3	2,00%	100,0% (30/30)	30,2	1,70%	100,0% (90/90)	95,9 a 100,0%	
	HSV1 Mod Pos	100,0% (30/30)	30,2	2,30%	100,0% (30/30)	30,4	2,80%	100,0% (30/30)	30,1	0,90%	100,0% (90/90)	95,9 a 100,0%	
	HSV2 Baixo Pos	100,0% (30/30)	29,9	0,50%	100,0% (29/29)	30,4	2,20%	100,0% (30/30)	30,2	0,60%	100,0% (89/89)	95,9 a 100,0%	
	HSV2 Mod Pos	100,0% (30/30)	29,7	0,80%	100,0% (30/30)	30,4	1,20%	100,0% (30/30)	30,1	0,60%	100,0% (90/90)	95,9 a 100,0%	
	HSV Neg	100,0% (60/60)	30,2	1,10%	100,0% (40/40)	30,2	1,90%	100,0% (38/38)	30,1	0,90%	100,0% (138/138)	97,3 a 100,0%	
	Controlo Pos	100,0% (30/30)	29,3	1,40%	100,0% (5/5)	30,2	2,10%	100,0% (5/5)	29,4	0,90%	100,0% (40/40)	91,2 a 100,0%	
	Concordância total	100,0% (210/210)			100,0% (164/164)			100,0% (163/163)			100,0% (537/537)		

A variabilidade mais alta do HSV 1&2 ELITE MGB® Kit Local-a-Local (medida como %CV baseada nos valores de C_T) é de 2,19%; a mais alta Lote-a-Lote é de 0,23%, e a variabilidade mais alta Operador-a-Operador é de 0,93% para os membros do painel Moderado positivo.

Limite de deteção (LoD)/Sensibilidade analítica

O Limite de deteção do HSV 1&2 ELITE MGB® Kit foi avaliado utilizando isolados quantificados positivos para HSV comercialmente positivos (dois HSV1 e dois HSV2) indicados na Tabela 13, abaixo. Os isolados foram diluídos no UTM para 100 TCID₅₀/mL e depois mais diluídos utilizando diluições de 1:3 no UTM. Os resultados do LoD foram determinados utilizando software Logit Data Analysis (Analyse-it para Microsoft Excel v4.80.2, modelo com função de logística). O LoD foi determinado como a concentração mais baixa do HSV alvo que pode ser consistentemente detetada em ≥95% de amostras testadas em condições laboratoriais normais em espécime de esfregaço mucocutâneo. O LoD foi confirmado através de testes a vinte (20) réplicas adicionais à concentração de LoD e a demonstrar que o vírus foi detetado 95% das vezes.

Lista de isolados do LoD HSV e resultados

Organismo	Isolado/Estirpe	Linha da célula	Resultados qualitativos #detetados/Total	Média de C _T ±SD de réplicas detetadas	1×LoD TCID ₅₀ /mL
HSV1	Estirpe MacIntyre	Vero	20/20	37,91 ± 0,69	59,0 TCID ₅₀ /mL
HSV1	Isolado #15 (ZeptoMetrix)	Vero	20/20	39,94 ± 0,95	1,5 TCID ₅₀ /mL
HSV2	Estirpe MS	Vero	20/20	37,90 ± 0,92	5,4 TCID ₅₀ /mL
HSV2	Isolado #2 (ZeptoMetrix)	Vero	20/20	38,67 ± 1,03	0,3 TCID ₅₀ /mL

O limite de Branco (LoB) também foi confirmado como sendo zero para ambos os alvos HSV1 e HSV2 utilizando 60 réplicas de matriz de colheita na bochecha de humanos HSV negativo.

A eficiência de eluição do esfregaço regular Copan em TCID₅₀/unidades de esfregaço foi determinada como sendo ~100% e diretamente proporcional ao TCID₅₀/mL dependendo apenas do volume do suporte no dispositivo de colheita.

Corte do ensaio

A análise do corte do ensaio foi realizada num conjunto separado de 141 amostras clínicas colhidas a partir de 3 locais clínicos. Cada amostra clínica foi avaliada utilizando o HSV 1&2 ELITE MGB® Kit em conjunto com o instrumento ELITE InGenius e um método de referência composto (ensaio de PCR em tempo real autorizado pela FDA combinado com amplificação de PCR e sequenciação bidirecional). Ambos os alvos nas amostras clínicas foram detetados até ao ciclo 45. Por isso, o C_T de 45 foi estabelecido como um corte do ensaio de diagnóstico para ambos os alvos HSV1 e HSV2.

Reatividade analítica (Inclusividade)

A reatividade analítica (Inclusividade) foi avaliada através da preparação de 44 isolados de HSV1 ou HSV2 (22 HSV1 e 22 HSV2) quantificados comercialmente disponíveis indicados na Tabela 14, abaixo. Cada isolado foi diluído no UTM a uma concentração de 3×LoD (177 TCID₅₀/mL para HSV1 e 16,2 TCID₅₀/mL para HSV2) e depois avaliado utilizando o HSV 1&2 ELITE MGB® Kit em conjunto com o instrumento ELITE InGenius. Todos os isolados de HSV1 e HSV2 testados na tabela seguinte foram detetados pelo HSV 1&2 ELITE MGB® Kit em concentrações de 16,2 – 354 TCID₅₀/mL.

Resumo dos resultados da reatividade analítica HSV (Inclusividade)

#	Isolado	Calculado 1×LoD (TCID ₅₀ /mL)	xLoD Testado	Conc. teste final (TCID ₅₀ /mL)	Positividade
1	HSV1 Estirpe MacIntyre	59	3×	177	3/3
2	HSV1 Isolado #1	59	3×	177	3/3
3	HSV1 Isolado #2	59	3×	177	3/3
4	HSV1 Isolado #3	59	3×	177	3/3
5	HSV1 Isolado #4	59	3×	177	3/3
6	HSV1 Isolado #5	59	3×	177	3/3
7	HSV1 Isolado #6	59	3×	177	0/3
		59	6×	354	3/3
8	HSV1 Isolado #7	59	3×	177	3/3
9	HSV1 Isolado #8	59	3×	177	3/3
10	HSV1 Isolado #9	59	3×	177	3/3
11	HSV1 Isolado #10	59	3×	177	3/3
12	HSV1 Isolado #11	59	3×	177	3/3
13	HSV1 Isolado #12	59	3×	177	3/3
14	HSV1 Isolado #13	59	3×	177	3/3
15	HSV1 Isolado #14	59	3×	177	3/3
16	HSV1 Isolado #15	59	3×	177	3/3
17	HSV1 Isolado #16	59	3×	177	3/3
18	HSV1 Isolado #17	59	3×	177	3/3
19	HSV1 Isolado #18	59	3×	177	3/3
20	HSV1 Isolado #19	59	3×	177	3/3
21	HSV1 Isolado #20	59	3×	177	0/3
		59	6×	354	3/3
22	HSV1 Isolado #21	59	3×	177	3/3
23	HSV2 Estirpe MS	5,4	3×	16,2	3/3
24	HSV2 Isolado #1	5,4	3×	16,2	3/3
25	HSV2 Isolado #2	5,4	3×	16,2	3/3
26	HSV2 Isolado #3	5,4	3×	16,2	3/3
27	HSV2 Isolado #4	5,4	3×	16,2	3/3
28	HSV2 Isolado #5	5,4	3×	16,2	3/3
29	HSV2 Isolado #6	5,4	3×	16,2	3/3
30	HSV2 Isolado #7	5,4	3×	16,2	3/3
31	HSV2 Isolado #8	5,4	3×	16,2	2/3
		5,4	3×	16,2	3/3

#	Isolado	Calculado 1xLoD (TCID ₅₀ /mL)	xLoD Testado	Conc. teste final (TCID ₅₀ /mL)	Positividade
32	HSV2 Isolado #9	5,4	3x	16,2	3/3
33	HSV2 Isolado #10	5,4	3x	16,2	3/3
34	HSV2 Isolado #11	5,4	3x	16,2	2/3
		5,4	6x	32,4	3/3
35	HSV2 Isolado #12	5,4	3x	16,2	1/3
		5,4	6x	32,4	3/3
36	HSV2 Isolado #13	5,4	3x	16,2	0/3
		5,4	6x	32,4	2/3
		5,4	12x	64,8	2/3
		5,4	24x	129,6	3/3
37	HSV2 Isolado #14	5,4	3x	16,2	1/3
		5,4	6x	32,4	3/3
38	HSV2 Isolado #15	5,4	3x	16,2	0/3
		5,4	6x	32,4	3/3
39	HSV2 Isolado #16	5,4	3x	16,2	1/3
		5,4	6x	32,4	3/3
40	HSV2 Isolado #17	5,4	3x	16,2	1/3
		5,4	6x	32,4	1/3
		5,4	12x	64,8	3/3
41	HSV2 Isolado #18	5,4	3x	16,2	3/3
		5,4	6x	32,4	1/3
42	HSV2 Isolado #19	5,4	3x	16,2	2/3
		5,4	6x	32,4	1/3
		5,4	12x	64,8	3/3
43	HSV2 Isolado #20	5,4	3x	16,2	0/3
		5,4	6x	32,4	1/3
44	HSV2 Isolado #21	5,4	6x	32,4	3/3
		5,4	12x	64,8	3/3

Especificidade analítica (Reatividade cruzada)

A potencial reatividade cruzada do HSV 1&2 ELITE MGB® Kit foi avaliada através de testes a organismos de grande proximidade ao HSV ou que causem sintomas clínicos semelhantes ou possam estar presentes nos locais cutâneos e mucocutâneos anogenitais e orais testados por este dispositivo. Foram avaliados 49 elementos de potencial reatividade cruzada. Para cada organismo, a amostra a ser testada foi preparada a partir de um stock quantificado diluído na concentração pretendido utilizando o Suporte de Transporte Universal (UTM). Os elementos de potencial reatividade cruzada testados, as concentrações avaliadas e os resultados estão apresentados na tabela 15 abaixo:

Resultados do teste de reatividade cruzada

Não.	Elementos de potencial reatividade cruzada	Concentração testada	Resultado qualitativo (#Detetado/#Total)	
			HSV1	HSV2
1	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
2	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
3	Adenovírus tipo 2	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3
4	<i>Bacteroides fragilis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
5	<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
6	<i>Candida glabrata</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
7	<i>Candida guilliermondii</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
8	<i>Candida krusei</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
9	<i>Candida lusitanae</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
10	<i>Candida parapsilosis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
11	<i>Candida tropicalis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
12	<i>Chlamydia trachomatis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
13	Citomegalovírus	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3
14	<i>Enterobacter cloacae</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
15	Enterovírus	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3

Não.	Elementos de potencial reatividade cruzada	Concentração testada	Resultado qualitativo (#Detetado/#Total)	
			HSV1	HSV2
16	Vírus Epstein-Barr	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3
17	<i>Escherichia coli</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
18	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
19	<i>Gardnerella vaginalis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
20	<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
21	ADN genómico humano	500 ng/esfregação	0/3	0/3
22	Herpes vírus humano 6	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3
23	Herpes vírus humano 7	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3
24	Vírus papiloma humano 16	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3
25	Vírus papiloma humano 18	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3
26	Vírus de herpes simples 1 (HSV1), isolado 20, ZMC	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	3/3	0/3
27	Vírus de herpes simples 2 (HSV2), isolado 20 ZMC	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	3/3
28	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
29	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
30	<i>Mobiluncus curtisii</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
31	<i>Mobiluncus mulieris</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
32	<i>Moraxella catarrhalis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
33	<i>Mycoplasma hominis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
34	<i>Neisseria gonorrhoea</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
35	<i>Neisseria meningitides</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
36	<i>Prevotella melaninogenica</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
37	Vírus da rubéola	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3
38	<i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA)	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
39	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (MRSE)	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
44	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
41	<i>Streptococcus mitis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
42	<i>Streptococcus mutans</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
43	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
44	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
45	<i>Streptococcus salivarius</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
46	<i>Toxoplasma gondii</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
47	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3
48	Vírus varicela-zoster (VZV)	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3
49	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3

Interferência microbiana

A interferência microbiana foi avaliada na presença de HSV1 ou HSV2 reforçado a 3xLoD no UTM e os 49 organismos indicados na Tabela 15, acima. Cada microrganismo foi testado a 1x10⁶ CFU/mL ou superior para isolados bacterianos, ou a 1x10⁵ TCID₅₀/mL ou superior para vírus. Nenhum dos organismos não alvo, que previsivelmente serão encontrados em amostras de esfregaços cutâneos e mucocutâneos normais, interferiu com a deteção da espécie HSV1 ou HSV2.

Interferência competitiva do HSV1 e HSV2

A interferência competitiva foi estudada para avaliar os efeitos de uma possível coinfeção clinicamente relevante com ambos os HSV1 e HSV2 utilizando o HSV 1&2 ELITE MGB® Kit.

O estudo avaliou de uma elevada concentração de um vírus na amostra podia potencialmente afetar o desempenho do HSV 1&2 ELITE MGB® Kit para o outro alvo presente a níveis baixos. Uma amostra baixa positiva foi forçada a aproximadamente 3xLoD para cada alvo (HSV1 estirpe MacIntyre e HSV2 estirpe MS), e foi determinado um Ct de linha de base para cada amostra. Cada potencial vírus de infeção concomitante foi reforçado na amostra de nível baixo e avaliado em triplicado. A interferência competitiva do HSV2 foi observada nos níveis 1x10⁵, 1x10⁴ e 1x10³ HSV2. Não foi observada qualquer interferência competitiva do HSV1 em todos os níveis. Os resultados dos testes estão mostrados na tabela abaixo.

Interferência competitiva dos alvos HSV1 e HSV2 em concentrações desiguais

Linha de base (Nível baixo)		Interferente competitivo (Alta concentração)		Resultados qualitativos (#Detetados/#Total)	
Estirpe	Concentração (TCID ₅₀ /mL)	Estirpe	Concentração (TCID ₅₀ /mL)	HSV1	HSV2
HSV1 MacIntyre	177	HSV2 MS	1×10 ⁵	0/3	3/3
HSV1 MacIntyre	177	HSV2 MS	1×10 ⁴	1/3	3/3
HSV1 MacIntyre	177	HSV2 MS	1×10 ³	1/3	3/3
HSV1 MacIntyre	177	HSV2 MS	1×10 ²	3/3	3/3
HSV1 MacIntyre	177	HSV2 MS	0	3/3	0/3
HSV2 MS	16,2	HSV1 MacIntyre	1×10 ⁵	3/3	3/3
HSV2 MS	16,2	HSV1 MacIntyre	1×10 ⁴	3/3	3/3
HSV2 MS	16,2	HSV1 MacIntyre	1×10 ³	3/3	3/3
HSV2 MS	16,2	HSV1 MacIntyre	1×10 ²	3/3	3/3
HSV2 MS	16,2	HSV1 MacIntyre	0	0/3	3/3

Adicionalmente, num estudo separado foram testadas ambas as estirpes a concentrações semelhantes ou iguais de 3×LoD, 1×10³ e 1×10⁵, e não foi observada interferência competitiva.

Interferência competitiva dos alvos HSV1 e HSV2 em concentrações iguais

Concentração HSV1		Concentração HSV2		Resultados qualitativos (#Detetados/#Total)		Resultados quantitativos (%CV)	
Estirpe	Concentração (TCID ₅₀ /mL)	Estirpe	Concentração (TCID ₅₀ /mL)	HSV1	HSV2	HSV1	HSV2
HSV1 MacIntyre	1×10 ⁵	HSV2 MS	1×10 ⁵	5/5	5/5	3,02 %	1,64 %
HSV1 MacIntyre	1×10 ³	HSV2 MS	1×10 ³	5/5	5/5	1,09 %	2,95 %
HSV1 MacIntyre	177 (3×LoD)	HSV2 MS	16,2 (3×LoD)	5/5	5/5	1,74 %	1,88 %

Substâncias interferentes

O desempenho do HSV 1&2 ELITE MGB® Kit foi avaliado com potenciais substâncias interferentes que podem ser encontradas em espécimes de esfregaços em lesões obtidos em locais cutâneos e mucocutâneos. A interferência da substância foi avaliada na presença de HSV1 ou HSV2 reforçado a 3×LoD no UTM para 33 substâncias potencialmente interferentes nas concentrações indicadas na Tabela 18, abaixo. Cada membro do painel foi testado em triplicado. Não foi observada qualquer interferência com a deteção de HSV1 ou HSV2.

Painel de teste de substâncias interferentes

Potencial interferente	Concentração interferente	#Detetada/#Total		
		HSV1	HSV2	CI
Sangue completo com EDTA	5% v/v	3/3	3/3	3/3
Camada leuco-plaquetária	5% v/v	3/3	3/3	3/3
Acyclovir	2,5 mg/mL	3/3	3/3	3/3
Albumina	5 mg/mL	3/3	3/3	3/3
Caseína	7 mg/mL	3/3	3/3	3/3
Urina feminina	10% v/v	3/3	3/3	3/3
Urina masculina	10% v/v	3/3	3/3	3/3
Gelatina marca K-Y	5% w/v	3/3	3/3	3/3
Duche	10% v/v	3/3	3/3	3/3
Espemicida	5% w/v	3/3	3/3	3/3
Yeast-Gard	1% w/v	3/3	3/3	3/3
Monistat 1	5% w/v	3/3	3/3	3/3
Monistat 3	5% w/v	3/3	3/3	3/3
Creme Vagisil	1% w/v	3/3	3/3	3/3
Tioconazole 1	5% w/v	3/3	3/3	3/3
Lavagem feminina Rite Aid, pele sensível	10% v/v	3/3	3/3	3/3
Creme vaginal Clotrimazole-7	1% w/v	3/3	3/3	3/3

Gel analgésico oral	5% w/v	3/3	3/3	3/3
Colutório antisséptico Listerine	10% v/v	3/3	3/3	3/3
Abreva	10% v/v	3/3	3/3	3/3
Bálsamo para os lábios Carmex	1% w/v	3/3	3/3	3/3
Tratamento para aftas Releev	1% v/v	3/3	3/3	3/3
Lisina Lip Clear	1% w/v	3/3	3/3	3/3
Pasta dos dentes	5% w/v	3/3	3/3	3/3
Acetaminofeno	5 mg/mL	3/3	3/3	3/3
Wal-Finate	5 mg/mL	3/3	3/3	3/3
Cold-Eeze	7% w/v	3/3	3/3	3/3
Amido de milho não-GMO	1,25 mg/mL	3/3	3/3	3/3
Pomada de óxido de zinco	7% w/v	3/3	3/3	3/3
DM para a tosse	10 mg/mL	3/3	3/3	3/3
Creme anti-comichão Lanacane força máx.	7% w/v	3/3	3/3	3/3
Fluido seminal	7% v/v	3/3	3/3	3/3
Sódio Foscarnet	5% v/v	3/3	3/3	3/3

Transferência e contaminação cruzada

A transferência e a contaminação cruzada foram avaliadas com o HSV 1&2 ELITE MGB® Kit em conjunto com o instrumento ELITE InGenius, através de testes alternados a amostras HSV1 positivas altas e HSV1 e HSV2 negativas. Não foram encontrados sinais de contaminação cruzada durante o estudo.

Resultados da transferência e contaminação cruzada

Descrição da execução	Amostras positivas		Amostras negativas	
	# Neg	% Neg.	# Pos.	% Pos.
Execução #1, EM BRANCO	0 / 0	N/A	0 / 10	0 %
Execução #2, Xadrez	0 / 5	0 %	0 / 6	0 %
Execução #3, Xadrez	0 / 6	0 %	0 / 6	0 %
Execução #4, EM BRANCO	0 / 0	N/A	0 / 10	0 %
Execução #5, Xadrez	0 / 6	0 %	0 / 6	0 %
Execução #6, Xadrez	0 / 6	0 %	0 / 6	0 %
Execução #7, Xadrez	0 / 6	0 %	0 / 6	0 %
Todas as execuções	0 / 29	0 %	0 / 50	0 %

Estabilidade da amostra

Este estudo avaliou a estabilidade da amostra e a estabilidade de congelação-descongelação da amostra. As amostras para avaliação da estabilidade foram preparadas através do reforço de stocks virais de HSV1 e HSV2 quantificados pelo fornecedor (HSV1 estirpe MacIntyre e HSV2 estirpe MS) em suportes UTM, M4, M4RT, M5 e M6. Cada conjunto de amostra de estabilidade era composto por:

- 5 réplicas reforçadas a 3×LoD,
- 5 réplicas reforçadas a 1×10³ TCID₅₀/mL, e
- 5 réplicas reforçadas a 1×10⁵ TCID₅₀/mL (total de 15 réplicas para cada conjunto de amostra).

A estabilidade de cada conjunto de amostra foi avaliada e confirmada pela incubação a ~+4 °C durante 1 semana. Todas as amostras de HSV1 e HSV2 foram confirmadas como estáveis nos suportes UTM, M4, M4RT, M5 e M6 durante 1 semana a ~+4 °C.

As condições de armazenamento também foram validadas através de novos testes a amostras clínicas previamente analisadas e guardadas num congelador a -80 °C (≤ -70 °C) durante um mínimo de 4 meses. As concentrações de amostra abrangeram o intervalo clínico de HSV. Foram testadas dez amostras HSV1 ou HSV2 positivas para cada suporte (exceto M6, para a qual apenas estavam disponíveis 7 amostras HSV positivas). A positividade de todas as amostras foi confirmada após um armazenamento de 4 meses num congelador a -80 °C (≤ -70 °C).

5 conjuntos de amostras preparados como acima nos suportes UTM, M4, M4RT, M5 e M6 foram sujeitos a 3 ciclos de congelação-descongelação. Todas as amostras foram testadas com o Kit HSV 1&2 ELITE MGB® no ELITE InGenius. Os dados obtidos mostram que os vírus HSV1 e HSV2 estavam estáveis após 3 ciclos de congelação-descongelação em suportes UTM, M4, M4RT, M5 e M6.

Resumo dos dados de estabilidade

Suporte\ Condições	+4 °C (1 semana)	-70 °C (4 meses)	3 ciclos de congelação-descongelação
UTM	+	+	+
M4	+	+	+
M4RT	+	+	+
M5	+	+	+
M6	+	+	+

Estudo de comparação da matriz

Como todos os estudos analíticos foram realizados no UTM (Suporte de Transporte Universal) e os estudos clínicos foram realizados utilizando suportes UTM, M4, M4RT, M5 e M6, foi realizado o Estudo de comparação da matriz.

O estudo de comparação da matriz foi realizado com recurso a um painel de amostra forçada constituído por estirpes virais de HSV1 e HSV2 quantificadas em cada um dos suportes recomendados: UTM, M4, M4RT, M5 e M6. Cada conjunto de mostras era composto por 3 réplicas reforçadas a 3xLoD, 3 réplicas reforçadas a 1x10³ TCID₅₀/mL e 3 réplicas reforçadas a 1x10⁵ TCID₅₀/mL (total de 9 réplicas para cada conjunto de amostras). Cada amostra foi processada no InGenius utilizando o HSV 1&2 ELITE MGB® Kit. Todas as réplicas em todos os suportes foram detetadas e revelaram resultados comparáveis. Os resultados da comparação de suportes estão mostrados na Tabela 21 abaixo:

Resultados do estudo de comparação da matriz

Alvo/ Canal	Título amostra TCID ₅₀ /mL	Matriz da amostra					C _T méd. todos os suportes	DesvStd todos os suportes	%CV todos os suportes
		UTM, C _T méd.	M4, C _T méd.	M4RT, C _T méd.	M5, C _T méd.	M6, C _T méd.			
HSV2	1.00E+05	27,15	26,76	26,42	26,82	27,23	26,88	0,33	1,21%
CH1, FAM	1.00E+03	33,86	33,59	33,76	33,51	34,15	33,77	0,25	0,74%
	3xLoD	36,32	35,56	35,96	35,54	36,14	35,91	0,35	0,97%
HSV1	1.00E+05	22,02	21,13	20,82	20,77	20,63	21,08	0,56	2,66%
CH4, AP593	1.00E+03	28,01	28,47	27,97	28,58	26,72	27,95	0,74	2,64%
	3xLoD	35,84	36,07	37,02	35,43	34,69	35,81	0,86	2,39%

Todos os suportes testados revelaram um desempenho comparável e podem ser recomendados para recolha da amostra e teste com o HSV 1&2 ELITE MGB® Kit.

Avaliação clínica

Descrição do estudo

Para avaliar o desempenho clínico do HSV 1&2 ELITE MGB® Kit, o desempenho do dispositivo foi comparado com um método de referência composto. Consistiu num ensaio autorizado pela FDA e num PCR HSV 1&2 validado seguindo pela sequenciação bidirecional de amostras de eletroforese de gel positivas). Regiões genómicas alvo HSV 1&2 PCR validadas distintas do HSV 1&2 ELITE MGB® Kit. Um resultado positivo pelo método de referência composto é definido como positivo pelo PCR autorizado pela FDA ou a sequenciação validada. São necessários dois resultados negativos para confirmar um negativo)

Foram colhidas e avaliadas no estudo um total de 1.174 amostras de esfregaços arquivados colhidos de lesões cutâneas (546) e mucocutâneas (628) de doentes sintomáticos.

As amostras foram testadas com o HSV 1&2 ELITE MGB® Kit e o Método de referência composto. Nas 1.174 amostras testadas 2 amostras foram consideradas inválidas pelo ELITE MGB® Kit e foram excluídas das tabelas de análise do desempenho.

Das restantes 1172 amostras, mais 1 amostra teve resultado inválido para HSV1 e mais 2 amostras tiveram resultado inválido para HSV2 pelo método de referência composto, sendo removidas das tabelas de análise do desempenho.

Por isso, para HSV1 foram analisadas 1171 amostras, e para HSV2 foram analisadas 1170 amostras.

Resultados: Valores esperados/Intervalo de referência

Predomínio HSV 1&2

Os valores esperados observados para HSV1 e HSV2 na população em estudo utilizando o HSV 1&2 ELITE MGB Kit foram calculados para espécimes cutâneos e mucocutâneos e estão resumidos nas tabelas seguintes para o conjunto de amostras combinado por grupo etário, por género e por fonte do espécime. Um total de 6 positivos duplos para HSV1 e HSV2 detetados pelo ELITE MGB® Kit e uma das amostras foi confirmada positiva pelo método de referência composto.

Predomínio de HSV 1&2 cutâneo e mucocutâneo por idade e género

Género	Grupo etário	Total	Resultados de HSV1 do HSV 1&2 ELITE MGB® Kit		Resultados de HSV2 do HSV 1&2 ELITE MGB® Kit	
			Positivo	Predomínio	Positivo	Predomínio
Feminino	<20	42	18	42,9%	12	28,6%
	20-29	244	68	27,9%	70	28,7%
	30-39	143	24	16,8%	45	31,5%
	40-49	97	14	14,4%	25	25,8%
	50-59	88	18	20,5%	24	27,3%
	≥60	123	21	17,1%	30	24,4%
	Tudo	737	163	22,1%	206	28,0%
Masculino	<20	20	4	20,0%	2	10,0%
	20-29	144	25	17,4%	33	22,9%
	30-39	117	15	12,8%	25	21,4%
	40-49	48	5	10,4%	15	31,3%
	50-59	44	6	13,6%	9	20,5%
	≥60	61	5	8,2%	13	21,3%
	Tudo	434	60	13,8%	97	22,4%
O género não está identificado		1	0	0%	0	0%
TUDO		1172	223	19,0%	303	25,9%

Predomínio de HSV 1&2 cutâneo por fonte da lesão

Fonte da lesão	Total	Resultados de HSV1 do HSV 1&2 ELITE MGB® Kit		Resultados de HSV2 do HSV 1&2 ELITE MGB® Kit	
		Positivo	Predomínio	Positivo	Predomínio
Genital/Anogenital	248	38	15,3%	78	31,5%
Lesão da pele	297	47	15,8%	53	17,8%
TUDO	545	85	15,6%	131	24,0%

Predomínio de HSV 1&2 mucocutâneo por fonte da lesão

Fonte da lesão	Total	HSV 1&2 ELITE MGB® Kit Resultados HSV1		HSV 1&2 ELITE MGB® Kit Resultados HSV2	
		Positivo	Predomínio	Positivo	Predomínio
Genital/Vaginal/ Cervical	501	109	21,8%	163	32,5%
Oral	74	21	28,4%	2	2,7%
Outro	27	5	18,5%	2	7,4%
Anorretal	12	2	16,7%	5	41,7%
Uretra	6	0	0%	0	0%
Ocular	5	0	0%	0	0%
Nasal	2	1	50,0%	0	0%
Tudo	627	138	22,0%	172	27,4%

Resultados: Desempenho clínico

Acordos percentuais positivos/negativos (PPA/NPA) de HSV1 - Resumo dos resultados:

O desempenho PPA/NPA do HSV 1&2 ELITE MGB® Kit quando comparado com o Método de referência composto na detecção de ADN HSV1 em lesões cutâneas e mucocutâneas está resumido na tabela abaixo:

Resumo dos resultados de HSV1 para amostras de lesões cutâneas válidas (N=545)

HSV 1&2 ELITE MGB® Kit	Método de referência composto		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	78	7	85
Negativo	1	459	460
Total	79	466	545
	Resultados	95% CI	
PPA	98,7% (78/79)	93,2-99,8%	
NPA	98,5% (459/466)	96,9-99,3%	

Resumo dos resultados de HSV1 para amostras de lesões mucocutâneas válidas (N=626)

HSV 1&2 ELITE MGB® Kit	Método de referência composto		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	126	12	138
Negativo	1	487	488
Total	127	499	626
	Resultados	95% CI	
PPA	99,2% (126/127)	95,7-99,9%	
NPA	97,6% (487/499)	95,8-98,6%	

HSV2 PPA/NPA - Resumo dos resultados:

Os desempenhos do Acordo percentual positivo e Acordo percentual negativo (PPA/NPA) do HSV 1&2 ELITE MGB® Kit quando comparado com o Método de referência composto na detecção de ADN HSV2 em lesões cutâneas e mucocutâneas está resumido na tabela abaixo:

Resumo dos resultados de HSV2 para amostras de lesões cutâneas válidas (N=545)

HSV 1&2 ELITE MGB® Kit	Método de referência composto		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	125	6	131
Negativo	5	409	414
Total	130	415	545
	Resultados	95% CI	
PPA	96,2% (125/130)	91,3-98,3%	
NPA	98,6% (409/415)	96,9-99,3%	

Resumo dos resultados de HSV2 para amostras de lesões mucocutâneas válidas (N=625)

HSV 1&2 ELITE MGB® Kit	Método de referência composto		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	164	8	172
Negativo	4	449	453
Total	168	457	625
	Resultados	95% CI	
PPA	97,6% (164/168)	94,0-99,1%	
NPA	98,2% (449/457)	96,6-99,1%	

Estudo do painel oral forçado HSV2

Devido à dificuldade em obter suficientes amostras orais positivas para HSV2, os testes para HSV2 foram complementados por um painel forçado. O painel foi composto por 75 amostras individuais negativas de esfregaços na bochecha colhidas no Suporte de Transporte Universal (UTM) e reforçadas com HSV1 e HSV2 em várias concentrações (como mostrado na tabela abaixo).

Painel de amostra forçada oral HSV

Nível	# amostra	Título da amostra forçada	× LoD
Nível 1	10	HSV2 positivo a 5.400 TCID ₅₀ /mL	1 000×LoD
Nível 2	10	HSV2 positivo a 1.080 TCID ₅₀ /mL	200×LoD
Nível 3	10	HSV2 positivo a 216 TCID ₅₀ /mL	40×LoD
Nível 4	10	HSV2 positivo a 43,2 TCID ₅₀ /mL	8×LoD
Nível 5	10	HSV2 positivo a 16,2 TCID ₅₀ /mL	3×LoD
Nível 6	10	HSV1 positivo a 590 TCID ₅₀ /mL	10×LoD
Nível 7	15	Amostras orais negativas HSV1/HSV2	
Total	75		

Todos os membros do painel foram aleatórios, ocultos para o dispositivo de teste e testados com o HSV 1&2 ELITE MGB® Kit no instrumento ELITE InGenius de acordo com o protocolo de estudo clínico.

O estudo do painel forçado oral HSV2 revelou que 49 em 50 amostras forçadas HSV2 orais foram positivas utilizando o HSV 1&2 ELITE MGB® Kit (98% de detecção).

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 "HSV1&2 ELITE MGB® Kit", FTP RTK403ING.

REFERÊNCIAS

J Schiffer et al. (2015) *Principles and Practice of Infectious Diseases* 2: 1713-30
S. Vanjeri et al. (2012) *J Glob Infect Dis.* 4(3): 139-40
E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e30

LIMITAÇÕES AO PROCEDIMENTO

Use este produto apenas com as seguintes amostras clínicas: amostras de esfregaços de lesões em doentes guardadas num meio UTM e M4, M4RT, M5 ou M6.

Os desempenhos do dispositivo não foram avaliados no líquido cefalorraquidiano (LCR), amostras de lesões mucocutâneas da uretra, oculares e nasais.

Os resultados obtidos com este produto dependem de uma identificação, uma recolha, um armazenamento de transporte e um processamento adequados das amostras. Os resultados obtidos com este produto dependem igualmente do uso dos produtos associados adequados. Para evitar resultados incorretos, é por isso necessário ter cuidado durante estes passos e seguir cuidadosamente as instruções de utilização fornecidas com os produtos para extração de ácido nucleico.

Devido à sua elevada sensibilidade analítica, o método de amplificação em Tempo real usado neste produto é sensível a contaminações cruzadas a partir de amostras positivas, dos controlos positivos e dos mesmos produtos de amplificação. Contaminações cruzadas causadas por falsos resultados positivos. O formato do produto é capaz de limitar contaminações cruzadas. 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 vestuário e áreas de trabalho que sejam adequados 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 vestuário especial e instrumentos específicos para preparação da sessão de trabalho, 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.

Observou-se que a deteção de HSV1 foi inibida na presença de títulos de ADN HSV2 de 1×10^3 TCID₅₀/mL ou superiores no estudo de interferência analítica.

Um resultado negativo obtido com este produto significa que o ADN alvo não foi detetado no ADN extraído da amostra; mas não pode negligenciar-se o facto de o ADN 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.

Potenciais interferências causadas por condições particulares do doente podem causar resultados incorretos.

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, que pode levar a um atraso na obtenção dos resultados finais.

Possíveis polimorfismos na região do genoma viral abrangida pelos primários do produto e as sondas podem prejudicar a deteção do ADN do vírus HSV1 e/ou HSV2.

Tal como acontece com qualquer outro dispositivo médico de diagnóstico, os resultados obtidos com este produto devem ser interpretados tendo em conta todos os dados clínicos e outros testes laboratoriais efetuados ao doente.

Tal como acontece com qualquer outro dispositivo médico de diagnóstico, existe um risco residual de resultados inválidos, falsos positivos e falsos negativos obtidos com este produto. Este risco residual não pode ser eliminado ou ainda mais reduzido. Em alguns casos, este risco residual pode contribuir para decisões erradas com potenciais efeitos perigosos para o doente.

RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

Reação de Controlo positivo inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na preparação da sessão.	Verifique a posição da PCR Mix e do controlo positivo. Verifique os volumes da PCR Mix e do controlo positivo.
Degradação do controlo positivo.	Utilize uma nova alíquota de controlo positivo.
Degradação da PCR Mix.	Utilize uma nova alíquota da PCR Mix.
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Reação de Controlo negativo inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na preparação da sessão.	Verifique a posição da PCR Mix e do controlo negativo. Verifique os volumes da PCR Mix e do controlo negativo.
Contaminação do controlo negativo	Utilize uma nova alíquota de água de qualidade para biologia molecular.
Contaminação da PCR Mix	Utilize uma nova alíquota da PCR Mix.
Contaminação da área de extração, de Suportes ou do Bloco de inventário.	Limpe as superfícies com detergentes aquosos, lave as batatas de laboratório, substitua os tubos de ensaio e as pontas em utilização.
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Reação da amostra inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na preparação da sessão.	Verifique a posição da PCR Mix e da amostra. Verifique os volumes da PCR Mix e da amostra.
Degradação do Controlo Interno.	Utilize novas alíquotas de Controlo Interno.
Inibição devido a substâncias que interferem na amostra.	Repita a amplificação com uma diluição 1:2 em água de qualidade para biologia molecular de amostra eluída numa sessão "PCR only". Repita a extração e amplificação com uma diluição 1:2 em água de qualidade para biologia molecular da amostra numa sessão "Extract + PCR".
Degradação da PCR Mix.	Utilize uma nova alíquota da PCR Mix.
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Erro 30103	
Causas possíveis	Soluções
Concentração demasiado alta do alvo na amostra.	Se for observada uma amplificação significativa no lote PCR: - seleccione o rastreio relacionado com a amostra e aprove manualmente o resultado. Se for necessário um valor Ct: - repita a amplificação com uma diluição 1:10 em água de qualidade para biologia molecular de amostra eluída numa sessão "PCR only" ou - repita a extração com uma diluição 1:10 no tampão de diluição da amostra da amostra numa sessão "Extract + PCR".

SÍMBOLOS

	Número do catálogo.
	Limite máximo da temperatura.
	Código do lote.
	Usar até (último dia do mês).
	Dispositivo de diagnóstico médico In vitro.
	Cumprimento dos requisitos da Diretiva Europeia 98\79\CE relativa a dispositivos médicos de diagnóstico <i>in vitro</i> .
	Contém suficiente para "N" testes.
	Atenção, consulte as instruções de utilização.
	Conteúdo.
	Controlo
	Controlo positivo
	Controlo negativo
	Manter afastado da luz solar.
	Fabricante.
	Advertência
	País de fabrico

NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA

Os reagentes de deteção ELITE MGB® são abrangidos por um ou mais dos números de patente dos EUA 6.127.121, 6.485.906, 6.660.845, 6.699.975, 6.727.356, 6.790.945, 6.949.367, 6.972.328, 7.045.610, 7.319.022, 7.368.549, 7.381.818, 7.662.942, 7.671.218, 7.715.989, 7.723.038, 7.759.126, 7.767.834, 7.897.736, 8.008.522, 8.067.177, 8.163.910, 8.389.745, 8.969.003, 8.980.855, 9.056.887, 9.085.800, 9.169.256 e números de patente EP 1068358, 1144429, 1232157, 1261616, 1430147, 1781675, 1789587, 1975256, 2714939 bem como pedidos que estejam atualmente 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, apenas para diagnóstico humano. Nem o ELITechGroup S.p.A. nem os respetivos licenciantes concedem quaisquer outras licenças, expressas ou implícitas, para quaisquer outros fins.

A tecnologia ELITE InGenius® está protegida por patentes e pedidos de patentes.