



ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185
10149 Torino ITALIA

Uffici: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76 11
E-mail: emd.support@elitechgroup.com
Sito internet: www.elitechgroup.com

NOTICE of CHANGE dated 07/06/2024

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«HBV ELITe MGB Kit» Ref. RTK602ING

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

- *Assay Principle: Typo correction of region name of HBV polymerase gene.*
- *Other products required: note regarding availability of HBV ELITe Standard (Ref STD602ING) and HBV - ELITe Positive Control (Ref CTR602ING) as separate products.*
- *Warning and Precautions specific for the components: extension of the period of use of each reagent tube up to 60 days from first opening.*
- *Product Description: plasmid DNA concentration also correlated to the "5th WHO International Standard for HBV DNA for NAT".*

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



HBV ELITe MGB® Kit

reagentes para amplificação em tempo real do ADN

REF RTK602ING



ÍNDICE

UTILIZAÇÃO PREVISTA	página 1
PRINCÍPIOS DO ENSAIO	página 2
DESCRIÇÃO DO PRODUTO	página 3
MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO	página 4
MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO	página 4
OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS	página 4
AVISOS E PRECAUÇÕES	página 5
ELITE INGENIUS	página 7
AMOSTRAS E CONTROLOS	página 7
PROCEDIMENTO	página 8
ELITE BEGENIUS	página 16
AMOSTRAS E CONTROLOS	página 16
PROCEDIMENTO	página 17
CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO DO ELITE INGENIUS e ELITE BEGENIUS	página 23
REFERÊNCIAS	página 37
LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO	página 38
RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS	página 39
SÍMBOLOS	página 41
NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA	página 42
ANEXO - GUIA DE INICIAÇÃO RÁPIDA	página 4

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O **HBV ELITe MGB® Kit** é um ensaio de amplificação de ácidos nucleicos para a **deteção e a quantificação do ADN** do Vírus da Hepatite B (**HBV**) de ADN extraído de amostras clínicas.

O ensaio é capaz de detetar HBV pertencente aos genótipos A, B, C, D, E, F, G, H, I e RF.

O ensaio é validado em associação com o sistema **ELITe InGenius®** e **ELITe BeGenius®** usando plasma humano (colhido em EDTA ou em ACD) e soro.

O produto está previsto para utilização como auxiliar no acompanhamento de indivíduos infetados por HBV que estejam a realizar terapia antiviral. Os resultados devem ser interpretados em conjunto com todas as observações clínicas e resultados laboratoriais relevantes.

Este produto não se destina a ser usado como teste de rastreio da presença de HBV no sangue ou em produtos sanguíneos nem como um teste de diagnóstico para confirmar a presença de infeção por HBV.

HBV ELITe MGB® Kit

reagentes para amplificação em tempo real do ADN

REF RTK602ING

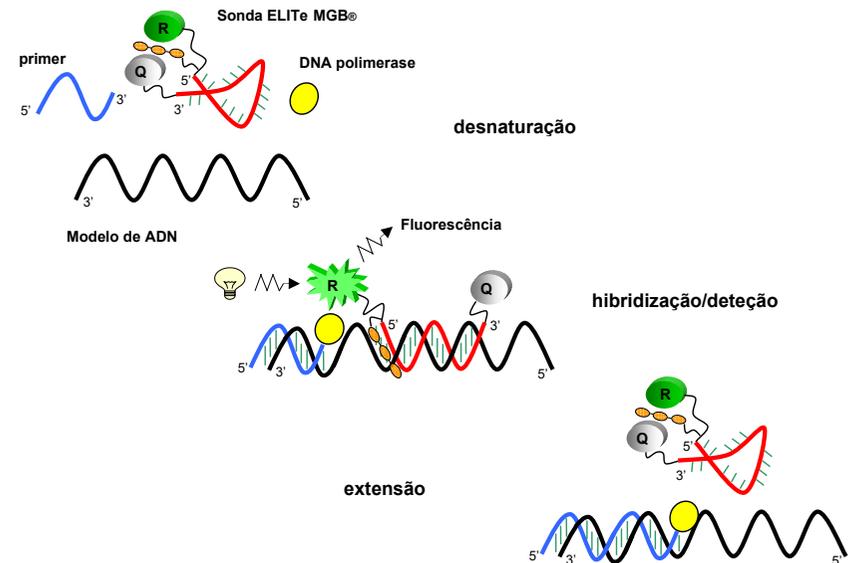
PRINCÍPIOS DO ENSAIO

O ensaio consiste na PCR em tempo real quantitativa validada no **ELITe InGenius** e **ELITe BeGenius**, sistemas automáticos e integrados para extração, amplificação e deteção de ácidos nucleicos e interpretação de resultados.

O ADN de HBV é isolado a partir de amostras de soro ou plasma (colhido em EDTA ou ACD) e em seguida é amplificado numa PCR em tempo real com a **HBV PCR Mix**. Os reagentes do ensaio contêm primers e sondas que têm como alvo o gene da polimerase do HBV (gene P). A sonda HBV utiliza tecnologia ELITe MGB e é marcada com fluoróforo FAM. Além disso, estão incluídos nos reagentes do ensaio primers e sondas específicos para um alvo de controlo interno heterólogo. A sonda de Controlo Interno utiliza a tecnologia ELITe MGB e é marcada com o corante AquaPhluor® 525 (AP525). O Controlo Interno exógeno, IC2, é adicionado ao tampão de lise e monitoriza a eficiência da extração e da PCR.

As sondas específicas de HBV e Controlo Interno são ativadas quando hibridizam com os correspondentes produtos da PCR. O ELITe InGenius monitoriza o aumento da fluorescência e calcula a Ct e a quantidade com base numa curva de calibração armazenada.

A tecnologia ELITe MGB é ilustrada na imagem seguinte. Os fluoróforos são inativados no estado de cadeia única de espiral aleatória da sonda. Os fluoróforos são ativados no amplicon da sonda duplex dado que o inativador está espacialmente separado do fluoróforo. Ressalva-se que o fluoróforo não é clivado durante a PCR.



DESCRIÇÃO DO PRODUTO

O produto **HBV ELITe MGB Kit** contém os seguintes componentes:

• **HBV ELITe MGB Mix**

A **HBV ELITe MGB Mix** contém o subcomponente **HBV PCR Mix**, uma mistura de PCR otimizada e estabilizada, aliquotada em **oito tubos prontos a utilizar**. Cada tubo contém **280 µL** e é suficiente para **12 testes** no **ELITe InGenius** e **ELITe BeGenius** se processar, pelo menos, 2 amostras por sessão.

Os primers e a sonda de HBV são específicos para o gene da polimerase (gene P) do **HBV**. A sonda de HBV é estabilizada por **MGB®**, inativado pelo Eclipse Dark Quencher® e é marcada com o fluoróforo FAM para deteção no Canal 1 do **ELITe InGenius** e **ELITe BeGenius**.

Os primers e a sonda de Controlo Interno exógeno são específicos para a sequência artificial de **IC2**. A sonda de IC2 é estabilizada por **MGB**, inativado pelo Eclipse Dark Quencher e é marcada com o fluoróforo AP525 para deteção no Canal 2 do **ELITe InGenius** e **ELITe BeGenius**.

A **HBV PCR Mix** também contém tampão, cloreto de magnésio, trifosfatos de nucleótido e hot-start DNA Polimerase.

A **HBV ELITe MGB Mix** contém reagentes suficientes para **96 testes** no **ELITe InGenius** e **ELITe BeGenius**, sendo usados 20 µL por reação.

• **HBV ELITe Standard**

O **HBV ELITe Standard** contém os subcomponentes **HBV Q-PCR Standards**, quatro soluções estabilizadas de ADN de plasmídeo com a região do gene da polimerase de HBV a **título conhecido** aliquotado em **tubos prontos a utilizar**. Cada tubo contém **160 µL** de solução, suficiente para **2 sessões**. O **HBV Q-PCR Standards** tem de ser usado com a **HBV PCR Mix** no **ELITe InGenius** e **ELITe BeGenius** para gerar a curva de calibração no sistema (lote do produto e instrumento) para a quantificação de HBV.

A concentração de ADN de plasmídeo foi determinada por espectroscopia de UV como cópias/mL, que estava relacionada com a "4.^a Norma internacional da OMS para ADN de HBV para NAT" (NIBSC, RU, código 10/266) por um fator de conversão permitindo a quantificação de HBV em Unidades Internacionais/mL (IU/mL).

A concentração de ADN do plasmídeo também esteve correlacionada com "5th WHO International Standard for HBV DNA for NAT" (NIBSC, Reino Unido, código 22/120) em consonância com o fator de conversão para unidades internacionais, conforme indicado na secção Características de desempenho.

A **HBV ELITe Standard** contém material suficiente para **2 sessões** no **ELITe InGenius** e **ELITe BeGenius**, sendo usados 20 µL por reação.

• **HBV - ELITe Positive Control**

O **HBV - ELITe Positive Control** contém o subcomponente **HBV Positive Control**, uma solução estabilizada de ADN de plasmídeo com a região do gene da polimerase de HBV aliquotada em **dois tubos prontos a utilizar**. Cada tubo contém **160 µL** de solução, suficiente para **4 sessões**. O **HBV Positive Control** tem de ser usado com a **HBV PCR Mix** no **ELITe InGenius** e **ELITe BeGenius** para gerar os gráficos de controlo para a verificação do sistema (lote do produto e instrumento).

A **HBV - ELITe Positive Control** contém material suficiente para **8 sessões** no **ELITe InGenius** e **ELITe BeGenius**, sendo usados 20 µL por reação.

• **HBV Internal Control**

O **HBV Internal Control** contém o subcomponente **HBV CPE** (Controlo Interno exógeno), uma solução estabilizada de ADN de plasmídeo com a sequência artificial de IC2 aliquotada em **oito tubos prontos a utilizar**. Cada tubo contém **160 µL** de solução, suficiente para **12 amostras** (processamento de, pelo menos, 2 amostras por sessão). O **HBV CPE** é adicionado aos reagentes de extração, purificado juntamente com os ácidos nucleicos da amostra e subsequentemente combinado com a **HBV PCR Mix** para a PCR em tempo real validar os resultados das amostras negativas de HBV.

O **HBV Internal Control** contém material suficiente para **96 testes** no **ELITe InGenius** e **ELITe BeGenius**, sendo usados 10 µL por extração.

MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO

Componente	Subcomponente	Descrição	Quantidade	Classificação dos perigos
HBV ELITe MGB Mix Ref. RTS602ING	HBV PCR Mix Ref. RTS602ING	Mistura de reagentes para PCR em tempo real com tampa BRANCA	8 x 280 µL	-
HBV ELITe Standard Ref. STD602ING	HBV Q-PCR Standard 10 ⁵ Ref. STD602ING-5	solução de plasmídeo no tubo com tampa VERMELHA	1 x 160 µL	-
	HBV Q-PCR Standard 10 ⁴ Ref. STD602ING-4	solução de plasmídeo no tubo com tampa AZUL	1 x 160 µL	
	HBV Q-PCR Standard 10 ³ Ref. STD602ING-3	solução de plasmídeo no tubo com tampa VERDE	1 x 160 µL	
	HBV Q-PCR Standard 10 ² Ref. STD602ING-2	solução de plasmídeo no tubo com tampa AMARELA	1 x 160 µL	
HBV - ELITe Positive Control Ref. CTR602ING	HBV Positive Control Ref. CTR602ING	Solução de plasmídeo no tubo com tampa PRETA	2 x 160 µL	-
HBV Internal Control Ref. CPE602ING	HBV CPE Ref. CPE602ING	Solução de ADNs de plasmídeo e ARN genómico do fago MS2 com tampa NEUTRA	8 x 160 µL	-

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO

- Câmara de fluxo laminar.
- Luvas de nitrilo sem pó descartáveis ou material semelhante.
- Misturador de vórtice.
- Microcentrifuga de bancada (12.000 - 14.000 RPM).
- Micropipetas e pontas estéreis com filtro de aerossol ou pontas de deslocção positiva estéreis (0,5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Água de grau de biologia molecular.

OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS

Os reagentes para a extração do ADN da amostra e os consumíveis **não** são fornecidos com este kit.

Para a extração de ácidos nucleicos e a análise da amostra com o «**ELITe InGenius**» (ELITechGroup S.p.A., ref. INT030) é necessário o seguinte:

- Cartuchos de extração «**ELITe InGenius® SP 200**» (ELITechGroup S.p.A., ref. INT032SP200)
- «**ELITe InGenius® SP 200 Consumable Set**» (ELITechGroup S.p.A., ref. INT032CS)
- «**ELITe InGenius® Waste Box**» (ELITechGroup S.p.A., ref. F2102-000)
- «**ELITe InGenius® PCR Cassette**» (ELITechGroup S.p.A., ref. INT035PCR)
- «**300 µL Filter Tips Axygen**» (Axygen BioScience Inc., CA, USA, ref. TF-350-L-R-S)
- Protocolos de ensaio (ELITechGroup S.p.A.)
 - Padrões de calibração **HBV ELITe_STD**,
 - Controlo positivo de PCR **HBV ELITe_PC**,
 - Controlo negativo de PCR **HBV ELITe_NC**,
 - Um dos seguintes para a análise da amostra: **HBV ELITe_PL_200_50**, **HBV ELITe_Se_200_50**.

HBV ELITe MGB® Kit
reagentes para amplificação em tempo real do
ADN

REF RTK602ING

Para a extração de ácidos nucleicos e a análise da amostra com o «ELITe BeGenius» (ELITechGroup S.p.A., ref. INT040) é necessário o seguinte:

- Cartuchos de extração **ELITe InGenius® SP 200** (ELITechGroup S.p.A., ref. INT032SP200)
- **ELITe InGenius® SP 200 Consumable Set** (ELITechGroup S.p.A, ref. INT032CS)
- **ELITe InGenius® Waste Box** (ELITechGroup S.p.A, ref. F2102-000)
- **ELITe InGenius® PCR Cassette** (ELITechGroup S.p.A, ref. INT035PCR)
- **1000 µL Filter Tips Tecan** (Tecan, Switzerland, ref. 30180118)
- Protocolos de ensaio (ELITechGroup S.p.A.)
 - Padrões de calibradores **HBV ELITe_Be_STD**,
 - Controlo positivo de PCR **HBV ELITe_Be_PC**,
 - Controlo negativo de PCR **HBV ELITe_Be_NC**,
 - Um dos seguintes para a análise da amostra: **HBV ELITe_Be_PL_200_50**, **HBV ELITe_Be_Se_200_50**.

Nota: em caso de necessidade, os calibradores e o Positive Control também estão disponíveis como produtos separados: **HBV ELITe Standard**, ref. STD602ING e **HBV - ELITe Positive Control**, ref. CTR602ING.

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. Os 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. Não permita que os reagentes de extração entrem em contacto com hipoclorito de sódio (lixívia).

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 desperdícios líquidos que contenham ácidos ou bases 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.

Leia atentamente todas as instruções fornecidas antes de efetuar o ensaio.
Durante a realização do ensaio, siga as instruções fornecidas com o produto.
Não utilize o produto após a data de validade indicada.
Use apenas os reagentes fornecidos com o produto e os recomendados pelo fabricante.
Não use reagentes de lotes diferentes.
Não use reagentes de outros fabricantes, exceto onde indicado.

HBV ELITe MGB® Kit
reagentes para amplificação em tempo real do
ADN

REF RTK602ING

Avisos e precauções para biologia molecular

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

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

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

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

Os produtos de extração devem ser manuseados de modo a reduzir a dispersão para o ambiente, para evitar a possibilidade de contaminação. As pipetas usadas no manuseamento de produtos de extração devem ser usadas exclusivamente para este fim.

As Cassetes PCR 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 do produto

- **HBV ELITe MGB Mix**
 - A **HBV PCR Mix** deve ser guardada a uma temperatura inferior a -20 °C e ao abrigo da luz.
 - A **HBV PCR Mix** deve ser utilizada no prazo de 60 dias após a primeira abertura.
 - A **HBV PCR Mix** pode ser congelada e descongelada no máximo **sete vezes**: quaisquer ciclos de congelação/descongelação adicionais podem causar um menor desempenho do produto.
 - A **HBV PCR Mix** pode ser mantida no bloco de refrigeração da área de inventário até **sete sessões separadas de três horas cada** (modo Extract + PCR) (Extract + PCR), com congelação/descongelação intermédios) ou durante **três sessões consecutivas de três horas cada** (modo Extract + PCR) (Extract + PCR).
- **HBV ELITe Standard**
 - **HBV Q-PCR Standard** deve ser guardado a uma temperatura inferior a -20 °C.
 - **HBV Q-PCR Standard** deve ser utilizada no prazo 60 dias após a primeira abertura.
 - **HBV Q-PCR Standard** pode ser congelado e descongelado no máximo **duas vezes**: quaisquer ciclos de congelação/descongelação adicionais podem causar uma perda no título.
 - **HBV Q-PCR Standard** pode ser mantido na área de extração até **duas sessões separadas de duas horas cada** (modo PCR Only).
- **HBV - ELITe Positive Control**
 - **HBV Positive Control** deve ser guardado a uma temperatura inferior a -20 °C.
 - **HBV Positive Control** deve ser utilizado no prazo de 60 dias após a primeira abertura.
 - **HBV Positive Control** pode ser congelado e descongelado no máximo **quatro vezes**: quaisquer ciclos de congelação/descongelação adicionais podem causar uma diminuição do desempenho do produto.
 - **HBV Positive Control** pode ser mantido na área de extração até **quatro sessões separadas de três horas cada** (modo Extract + PCR) (Extract + PCR).
- **HBV Internal Control**
 - **HBV CPE** deve ser guardado a uma temperatura inferior a -20 °C.
 - **HBV CPE** deve ser utilizado no prazo de 60 dias após a primeira abertura.
 - **HBV CPE** pode ser congelado e descongelado no máximo **doze vezes**: quaisquer ciclos de congelação/descongelação adicionais podem causar uma diminuição do desempenho do produto.
 - **HBV CPE** pode ser mantido no bloco de frio da área do inventário até **seis sessões separadas de três horas cada** (modo Extract + PCR) (Extract + PCR).

ELITe InGenius

AMOSTRAS E CONTROLOS

Amostras

O produto destina-se a ser utilizado com as seguintes amostras clínicas:

Plasma colhido em EDTA ou ACD

As amostras de plasma para extração de ácido nucleico devem ser colhidas em EDTA ou ACD, identificadas de acordo com as diretrizes laboratoriais e transportadas e armazenadas à temperatura ambiente (~+25 °C) durante um período máximo de três dias ou a +2/+8 °C durante um período máximo de cinco dias. Em alternativa, devem ser congeladas e armazenadas a ~-20 °C durante um período máximo de um mês ou a ~-70 °C durante seis 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.

Nota: É realizada a extração de ácido nucleico do plasma em EDTA ou do plasma em ACD no **ELITe InGenius** com o **ELITe InGenius Software** versão 1.3 (ou superior) usando o protocolo de ensaio **HBV ELITe_PL_200_50** para processar 200 µL de amostra, adicionando 10 µL de **HBV CPE** (controlo interno) a cada extração e eluindo os ácidos nucleicos em 50 µL.

Os ácidos nucleicos purificados podem ser guardados a ~-20 °C durante um mês.

Soro

As amostras de soro para extração de ácido nucleico devem ser colhidas e identificadas de acordo com as diretrizes laboratoriais e transportadas e armazenadas à temperatura ambiente (~+25 °C) durante um período máximo de três dias ou a +2/+8 °C durante um período máximo de cinco dias. Em alternativa, devem ser congeladas e armazenadas a ~-20 °C durante um período máximo de um mês ou a ~-70 °C durante seis 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.

Nota: É realizada a extração de ácido nucleico do soro no **ELITe InGenius** com o **ELITe InGenius Software** versão 1.3 (ou superior) usando o protocolo de ensaio **HBV ELITe_Se_200_50** para processar 200 µL de amostra, adicionando 10 µL de **HBV CPE** (controlo interno) a cada extração e eluindo o ácido nucleico em 50 µL.

Os ácidos nucleicos purificados podem ser guardados a ~-20 °C durante um mês.

Outras amostras

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

Substâncias interferentes

Os dados disponíveis relativos à inibição causada por fármacos e outras substâncias são comunicados em Potenciais substâncias interferentes no capítulo Características de desempenho.

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

Curva de calibração e controlos da amplificação

Antes de analisar qualquer amostra, é necessário gerar a curva de calibração e os controlos de amplificação para cada lote do reagente de PCR:

- para a curva de calibração, use os quatro níveis de **HBV ELITe Standard** fornecidos com este kit e o protocolo de ensaio **HBV ELITe_STD**,
- para o Controlo Positivo, use o produto **HBV - ELITe Positive Control** fornecido com este kit e o protocolo do ensaio **HBV ELITe_PC**,
- para o Controlo Negativo, use água de grau de biologia molecular (não fornecida com este kit) e o protocolo de ensaio **HBV ELITe_NC**.

Nota: O **ELITe InGenius** requer uma curva de calibração e controlos da amplificação aprovados e válidos para cada lote de reagente de PCR.

As curvas de calibração armazenadas na base de dados expiram após **60 dias**, e nesse momento é necessário voltar a executar o **HBV Standard** com o lote de reagente de PCR apropriado.

Os resultados de controlo da amplificação armazenados na base de dados expiram após **15 dias**, e nesse momento é necessário voltar a executar os controlos positivo e negativo com o lote de reagente de PCR apropriado.

Para além disso, os calibradores e os controlos da amplificação devem ser novamente executados quando:

- for iniciado 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 instrumento **ELITe InGenius**.

Controlos da qualidade

Recomenda-se a validação 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

O uso do **HBV ELITe MGB Kit** com o **ELITe InGenius** consiste em três passos:

- Verificação da prontidão do sistema,
- Configuração da sessão,
- Revisão e exportação de resultados.

Verificação da prontidão do sistema

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

- ligue o **ELITe InGenius** e inicie sessão no modo "**CLOSED**",
- verifique se os Calibradores (**HBV Q-PCR Standards**) estão aprovados e válidos (Estado) para o lote da **HBV PCR Mix** a ser utilizada. Caso não haja calibradores válidos para o lote **HBV PCR Mix**, realize a calibração conforme descrito de seguida,
- verifique se os controlos da amplificação (**HBV Positive Control**, **HBV Negative Control**) estão aprovados e válidos (estado) para o lote de **HBV PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja controlos de amplificação válidos disponíveis para o lote da **HBV PCR Mix**, execute os controlos da amplificação conforme descrito de seguida,
- 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 ELITechGroup S.p.A. Estes protocolos IVD foram especificamente validados com os **ELITe MGB Kits** e o instrumento **ELITe InGenius** com as matrizes indicadas.

Os protocolos de ensaio disponíveis para teste da amostra com o produto **HBV ELITe MGB Kit** estão descritos na tabela seguinte:

Protocolo de ensaio para o HBV ELITe MGB Kit			
Nome	Matriz	Unidade do relatório	Características
HBV ELITe_PL_200_50	Amostras de plasma	Positivo / IU/mL / cópias/mL / Negativo	“Extraction Input Volume” (Volume inicial de extração): 200 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
HBV ELITe_Se_200_50	Amostras de soro	Positivo / IU/mL / cópias/mL / Negativo	“Extraction Input Volume” (Volume inicial de extração): 200 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

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

Configuração da sessão

O **HBV ELITe MGB Kit** pode ser usado no **ELITe InGenius** para realizar:

- Execução integrada (Extract + PCR) (Extrair+PCR),
- Execução de amplificação (PCR Only) (apenas PCR),
- Execução da calibração (PCR Only) (apenas PCR),
- Execução de amplificação para Controlo Positivo e Controlo Negativo (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 sistema **ELITe InGenius** pode ser ligado ao “Laboratory Information System” (servidor de informação da localização - LIS), que permite carregar a informação da sessão. Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

Os passos principais para a preparação dos três tipos de execução estão descritos abaixo.

A. Execução integrada

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

- Aqueça as amostras à temperatura ambiente (+18 / 25 °C) e processe-as de acordo com as diretrizes laboratoriais e a secção “Amostras e controlos”.
- Descongele os tubos da **HBV PCR Mix** necessários à temperatura ambiente (~+25 °C) durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para 12 reações em condições otimizadas (2 ou mais testes por sessão). Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.

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

- Descongele os tubos de **HBV CPE** necessários à temperatura ambiente (~+25 °C) durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para 12 extrações. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.
- Selecione “Perform Run” (Executar) a partir do ecrã “Home” (Página inicial).
- Certifique-se de que o “Extraction Input Volume” (Volume inicial de extração) é de 200 µL e que o “Extracted Elute Volume” (“Volume de eluição extraído”) é de 50 µL.
- Para cada amostra, atribua um Rastreamento e introduza a “SampleID” (SID) digitando ou lendo o código de barras da amostra.
- Selecione o protocolo de ensaio a ser usado na coluna “Assay” (Ensaio) (por ex., **HBV ELITe_PL_200_50**).
- Certifique-se de que o “Protocol” (Protocolo) apresentado é: “Extract + PCR”(Extrair + PCR)
- Selecione a posição de carregamento da amostra como “Extraction Tube” (“Tubo de extração) na coluna “Sample Position” (Posição da amostra). Selecione “Next” (Próximo) para continuar.
- Carregue o **HBV CPE** e a **HBV PCR Mix** no “Inventory Block” designado, consultando a lista de carga e introduzindo o número de lote de reagente e a data de expiração. Selecione “Next” (Próximo) para continuar.
- Verifique as pontas nos Tip Racks na “Inventory Area” (área dos reagentes) e substitua o Rack(s) de pontas, se necessário. Selecione “Next” (Próximo) para continuar.
- Carregue as **PCR Cassettes**, os cartuchos de extração **ELITe InGenius SP 200** e todos os consumíveis necessários e amostras a serem extraídas, seguindo as instruções na GUI. Selecione “Next” (Próximo) para continuar.
- Feche a porta do instrumento.
- Pressione “Start” (Iniciar) para iniciar a execução.

Quando a sessão tiver terminado, 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” deve ser removida do instrumento, fechada, rotulada e guardada a -20 °C durante um mês. Evite derramar a Amostra extraída.

Nota: No final da execução, as **PCR Cassettes** e os consumíveis têm de ser eliminados seguindo todos os regulamentos governamentais e ambientais. Evite derramar os produtos de reação.

Nota: A **PCR Mix** pode ser utilizada para 7 sessões separadas de 3 horas cada ou pode ser mantida guardada no bloco refrigerado durante um máximo de 3 sessões consecutivas de 3 horas cada. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos antes de iniciar a sessão seguinte.

B. Execução da amplificação

Para preparar a execução de amplificação a iniciar a partir do ácido nucleico extraído, realize os passos seguintes consultando a GUI:

1. Descongele os tubos da **HBV PCR Mix** necessários à temperatura ambiente (~+25 °C) durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para 12 reações em condições otimizadas (2 ou mais testes por sessão). Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.

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

2. Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Página inicial).
3. Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" (Volume de eluição do extraído) é de 50 µL, inclusive se a extração não estiver a ser realizada.
4. Para cada amostra, atribua um Rastreamento e introduza a SID digitando ou lendo o código de barras da amostra.
5. Selecione o protocolo de ensaio a ser usado na coluna "Assay" (Ensaio) (por ex., HBV ELITe_PL_200_50).
6. Selecione "PCR Only" (Apenas PCR) na coluna "Protocol" (Protocolo).
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]). Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
8. Carregue a **HBV PCR Mix** no "Inventory Block" designado, consultando a lista de carregamento e introduzindo o número de lote de reagente e a data de expiração. Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
9. Verifique as pontas nos Tip Racks na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua o Rack(s) de pontas, se necessário. Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
10. Carregue as **PCR Cassette** e amostras de ácido nucleico extraídas seguindo as instruções na GUI. Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
11. Feche a porta do instrumento.
12. Pressione "Start" (Iniciar) para iniciar a execução.

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

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

Nota: No final da execução, as PCR Cassettes e os consumíveis têm de ser eliminados seguindo todos os regulamentos governamentais e ambientais. Evite derramar os produtos de reação.

Nota: A PCR Mix pode ser utilizada para 7 sessões separadas de 3 horas cada ou pode ser mantida guardada no bloco refrigerado durante um máximo de 3 sessões consecutivas de 3 horas cada. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos antes de iniciar a sessão seguinte.

C. Execução de calibração

Para configurar a execução de calibração para Q-PCR Standards, realize os passos seguintes consultando a GUI:

1. Descongele os tubos da **HBV PCR Mix** necessários à temperatura ambiente (~+25 °C) durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para 12 reações em condições otimizadas (2 ou mais testes por sessão). Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.

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

2. Descongele os tubos de **HBV Q-PCR Standard** (Cal1: HBV Q-PCR Standard 10², Cal2: HBV Q-PCR Standard 10³, Cal3: HBV Q-PCR Standard 10⁴, Cal4: HBV Q-PCR Standard 10⁵) à temperatura ambiente (~+25 °C) durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para 2 reações. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.
3. Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Página inicial).
4. Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" (Volume de eluição do extraído) é de 50 µL, inclusive se a extração não estiver a ser realizada.
5. Para o **HBV Q-PCR Standard**, atribua o Rastreamento, selecione o Protocolo do Ensaio "HBV ELITe_STD" na coluna "Assay" e introduza o número de lote e a data de expiração do reagente. Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
6. Carregue a **HBV PCR Mix** no "Inventory Block" designado, consultando a lista de carregamento e introduzindo o número de lote de reagente e a data de expiração. Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
7. Verifique as pontas nos Tip Racks na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua o Rack(s) de pontas, se necessário. Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
8. Carregue as **PCR Cassettes** e os tubos de **HBV Q-PCR Standard** seguindo as instruções na GUI. Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
9. Feche a porta do instrumento.
10. Pressione "Start" (Iniciar) para iniciar a execução.

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

Nota: No final da execução os restantes Q-PCR Standards podem ser removidos do instrumento, fechados e guardados a -20 °C.

Nota: No final da execução, as PCR Cassettes e os consumíveis têm de ser eliminados seguindo todos os regulamentos governamentais e ambientais. Evite derramar os produtos de reação.

Nota: Os Q-PCR Standards podem ser usados para 2 sessões separadas de 2 horas cada.

Nota: A PCR Mix pode ser utilizada para 7 sessões separadas de 3 horas cada ou pode ser mantida guardada no bloco refrigerado durante um máximo de 3 sessões separadas de 3 horas cada. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos antes de iniciar a sessão seguinte.

D. Execução de amplificação para Controlo Positivo e Controlo Negativo

Para configurar a execução da amplificação para o Positive Control e o Negative Control, execute os passos seguintes consultando a GUI:

1. Descongele os tubos da **HBV PCR Mix** necessários à temperatura ambiente (~+25 °C) durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para 12 reações em condições otimizadas (2 ou mais testes por sessão). Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.

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

2. Descongele os tubos de **HBV Positive Control** à temperatura ambiente (~+25 °C) durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para 4 reações. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.
3. Prepare o **HBV Negative Control** transferindo pelo menos 50 µL de água de grau de biologia molecular para um "Elution tube", fornecido com o **ELiTe InGenius SP 200 Consumable Set**.
4. Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Página inicial).
5. Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" (Volume de eluição extraído) é de 50 µL, inclusive se a extração não estiver a ser realizada.
6. Para o Controlo Positivo, atribua o Rastreamento, selecione o Protocolo do Ensaio "HBV ELiTe_PC" na coluna "Assay" e introduza o número de lote e a data de expiração do reagente.
7. Para o Controlo Negativo, atribua o Rastreamento, selecione o Protocolo do Ensaio "HBV ELiTe_NC" na coluna "Assay" e introduza o número de lote e a data de expiração do reagente. Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
8. Carregue a **HBV PCR Mix** no "Inventory Block" designado, consultando a lista de carregamento e introduzindo o número de lote de reagente e a data de expiração. Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
9. Verifique as pontas nos Tip Racks na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua o Rack(s) de pontas, se necessário. Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
10. Carregue as "PCR Cassettes", o tubo de HBV - Positive Control e o tubo de negative control seguindo as instruções na GUI. Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
11. Feche a porta do instrumento.
12. Pressione "Start" (Iniciar) para iniciar a execução.

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

Nota: No final da execução o Controlo Positivo restante pode ser removido do instrumento, fechado e guardado a -20 °C. O Controlo Negativo restante deve ser eliminado.

Nota: No final da execução, as PCR Cassettes e os outros consumíveis têm de ser eliminados seguindo todos os regulamentos governamentais e ambientais. Evite derramar os produtos de reação.

Nota: O Controlo Positivo pode ser usado para 4 sessões separadas de 3 horas cada.

Nota: A PCR Mix pode ser utilizada para 7 sessões separadas de 3 horas cada ou pode ser mantida guardada no bloco refrigerado durante um máximo de 3 sessões consecutivas de 3 horas cada. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos antes de iniciar a sessão seguinte.

Revisão e aprovação de resultados

O **ELiTe InGenius** 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 sistema **ELiTe InGenius** pode ser ligado ao "Laboratory Information System" (servidor de informação da localização - 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 **HBV ELiTe MGB Kit** através do seguinte procedimento:

- A. Validação da Curva de calibração,
- B. Validação dos resultados do Controlo Positivo e Controlo Negativo,
- 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 a sonda HBV ("HBV" de canal) das reações do calibrador com os parâmetros do protocolo de ensaio **HBV ELiTe_STD**. A Ct resultante versus a concentração produz a curva da calibração.

As curvas de calibração, específicas para o lote do reagente de PCR, são registadas na base de dados (Calibração) e podem ser visualizadas e aprovadas pelos utilizadores "Administrator" ou "Analyst" 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 **ELiTe InGenius software** interpreta os resultados da PCR para a sonda HBV ("HBV" de canal) das reações de Controlo Positivo e Controlo Negativo com os parâmetros do protocolo de ensaio **HBV ELiTe_PC** e **HBV ELiTe_NC**. Os valores de Ct resultantes são convertidos em concentração e usados para validar o sistema (lote de reagente e instrumento).

Os resultados do Controlo Positivo e Controlo Negativo, 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**.

Antes de analisar qualquer amostra, é obrigatório verificar que os resultados do Positive Control e Negative Control sejam aprovados e válidos para o lote de reagente da PCR. O estado dos resultados do Positive Control e Negative Control para cada lote de reagente de PCR é mostrado no módulo "Controls". Se os resultados do Positive Control e/ou do Negative Control estiverem em falta ou expirados, execute o controlo(s) anteriormente descrito.

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 Controlo Positivo e do Controlo Negativo aprovados para preparar o "Gráfico de controlo" inicial. Para controlos posteriores, os resultados são analisados pelo software para garantir que os desempenhos do sistema se encontram dentro dos critérios de aceitação, mostrados nos gráficos Gráfico de Controlo. Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

HBV ELiTe MGB® Kit
reagentes para amplificação em tempo real do ADN

REF RTK602ING

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 podem ser aprovados e as execuções de Controlo Positivo e do Controlo Negativo 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 da PCR para a sonda HBV (canal "HBV") e a sonda de Controlo Interno (Canal "IC") com os parâmetros do protocolo do ensaio **HBV ELiTe_PL_200_50** e **HBV ELiTe_Se_200_50**. Os valores Ct do HBV resultante são convertidos em concentração.

Os resultados estão mostrados no módulo "Result Display".

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

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

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

Resultado da execução da amostra	Interpretação
HBV: ADN detetado, quantidade igual a XXX IU/mL ou cópias/mL	Foi detetado ADN de HBV na amostra dentro do intervalo de medição do ensaio, quantidade como mostrado.
HBV: ADN detetado, quantidade inferior a LLoQ IU/mL ou cópias/mL	Foi detetado ADN de HBV na amostra abaixo do limite inferior de quantificação do ensaio.
HBV: ADN detetado, quantidade superior à ULoQ IU/mL ou cópias/mL	Foi detetado ADN de HBV na amostra acima do limite superior de quantificação do ensaio.
HBV: ADN não detetado ou inferior a LoD IU/mL ou cópias/mL	Não foi detetado ADN de HBV na amostra. A amostra é negativa para ARN de HBV ou a sua concentração está abaixo do Limite de deteção do ensaio.
Inválido - Voltar a testar a amostra.	Resultado do ensaio inválido devido a falha do Controlo Interno (extração incorreta, transferência de inibidores). O teste deve ser repetido.

As amostras reportadas como "ADN detetado, quantidade inferior ao LIdQ" não são adequadas para quantificação. A concentração de ADN de HBV detetada na amostra é inferior ao nível a que pode ser quantificada com precisão. Se a amostra tiver sido diluída antes da extração ou PCR, pode ser novamente testada sem diluição.

As amostras reportadas como "ADN detetado, quantidade superior ao LSdQ" não são adequadas para quantificação. A concentração de ADN de HBV detetada na amostra é superior ao nível a que pode ser quantificada com precisão. A amostra pode ser diluída antes da extração ou PCR e novamente testada para oferecer resultados dentro do intervalo linear do ensaio.

As amostras reportadas como "HBV DNA Not Detected or below LoD" são adequadas para análise mas não foi detetado ADN de HBV. Neste caso, a amostra pode ser negativa para ADN de HBV ou o ADN de HBV está presente numa concentração abaixo do limite de deteção do ensaio (ver "Características de desempenho").

As amostras positivas para ADN de HBV a uma concentração inferior ao LoD, são comunicadas como "HBV: ADN detetado, quantidade inferior ao LLoQ" (consulte "Características de desempenho").

As amostras reportadas como "Invalid - Retest Sample" não são adequadas para a interpretação

HBV ELiTe MGB® Kit
reagentes para amplificação em tempo real do ADN

REF RTK602ING

dos resultados. Neste caso, o ADN do Controlo Interno não foi detetado eficientemente devido a problemas no passo de PCR ou extração (degradação ou perda do ADN durante a extração ou inibidores na eluição), que pode causar resultados incorretos.

Se subsistir volume da eluição suficiente, o eluato pode ser novamente testado (tal como está ou diluído) através de uma execução da amplificação no modo "PCR Only" (Apenas PCR). Se o segundo resultado for inválido, a amostra deve ser novamente testada começando a partir da extração de uma nova amostra utilizando o modo "Extract + PCR" (Extract+PCR).

Nota: Os resultados obtidos com este ensaio devem ser interpretados juntamente com todos os outros 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 (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 da calha).

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

O "Track Report" (Relatório da calha) apresenta os detalhes do resultado pelo Rastreo selecionado.

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

ELiTe BeGenius

AMOSTRAS E CONTROLOS

Amostras

O produto destina-se a ser utilizado com as seguintes amostras clínicas:

Plasma colhido em EDTA ou ACD

As amostras de plasma para extração de ácido nucleico devem ser colhidas em EDTA ou ACD, identificadas de acordo com as diretrizes laboratoriais e transportadas e armazenadas à temperatura ambiente (~+25 °C) durante um período máximo de três dias ou a +2/+8 °C durante um período máximo de cinco dias. Caso contrário, devem ser congeladas e armazenadas a ~-20 °C durante um período máximo de um mês ou a ~-70 °C durante seis meses.

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

Nota: A extração de ADN de plasma colhido em EDTA ou ACD é realizada com o sistema **ELiTe BeGenius** e com o **Software ELiTe BeGenius** versão 2.1.0 (ou versões equivalentes mais recentes), utilizando o Protocolo de ensaio **HBV ELiTe_Be_PL_200_50**. Este protocolo processa 200 µL de amostra, adiciona 10 µL por extração do **HBV CPE** (Internal Control) e elui os ácidos nucleicos em 50 µL.

Os ácidos nucleicos purificados podem ser guardados a ~-20 °C durante um mês.

Soro

As amostras de soro para extração de ácido nucleico devem ser colhidas e identificadas de acordo com as diretrizes laboratoriais e transportadas e armazenadas à temperatura ambiente (~+25 °C) durante um período máximo de três dias ou a +2/+8 °C durante um período máximo de cinco dias. Caso contrário, devem ser congeladas e armazenadas a ~-20 °C durante um período máximo de um mês ou a ~-70 °C durante seis meses.

HBV ELiTe MGB® Kit
reagentes para amplificação em tempo real do
ADN

REF RTK602ING

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

Nota: A extração de ADN de soro é realizada com o sistema **ELiTe BeGenius** e com o **Software ELiTe BeGenius** versão 2.1.0 (ou versões equivalentes mais recentes), utilizando o Protocolo de ensaio **HBV ELiTe_Be_Se_200_50**. Este protocolo processa 200 µL de amostra, adiciona 10 µL por extração do **HBV CPE** (Internal Control) e elui os ácidos nucleicos em 50 µL.

Os ácidos nucleicos purificados podem ser guardados a ~-20 °C durante um mês.

Outras amostras

Não existem dados disponíveis relativos ao desempenho do produto com outras amostras clínicas, como sangue total.

Substâncias interferentes

Os dados disponíveis relativos à inibição causada por fármacos e outras substâncias são comunicados no parágrafo "Potenciais substâncias interferentes" do capítulo "Características de desempenho".

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

Controlos de amplificação

Antes de analisar qualquer amostra, é obrigatório criar e aprovar a curva de calibração e os controlos de amplificação para cada lote do reagente de amplificação:

- como conjunto calibrador, use os quatro níveis de concentração do produto **HBV ELiTe Standard** fornecido com este kit, em associação com o Protocolo do ensaio **HBV ELiTe_Be_STD**,
- como positive control da amplificação, use o produto **HBV - ELiTe Positive Control** fornecido com este kit, em associação com o Protocolo do ensaio **HBV ELiTe_Be_PC**,
- como negative control da amplificação, use água de qualidade para biologia molecular (não fornecida com este kit) em associação com o Protocolo do ensaio **HBV ELiTe_Be_NC**.

Nota: O sistema **ELiTe BeGenius** requer resultados aprovados e válidos da curva de calibração e dos controlos da amplificação para cada lote de reagente de amplificação guardado na respetiva base de dados.

As curvas da calibração, aprovadas e guardadas na base de dados, irão expirar após **60 dias**. Na data de fim da validade será necessário fazer uma nova execução dos Q-PCR Standards em associação com o lote do reagente de amplificação.

Os resultados do controlo da amplificação, 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 Positive e Negative Controls em associação com o lote do reagente de amplificação.

Para além disso, os calibradores e os controlos da amplificação devem ser novamente executados quando:

- for iniciado um novo lote de reagentes,
- os resultados da análise de controlo da qualidade (ver o parágrafo seguinte) se encontrarem fora da especificação,
- for realizado qualquer serviço de manutenção significativo no instrumento **ELiTe BeGenius**.

Controlos da qualidade

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

O uso do **HBV ELiTe MGB Kit** com o **ELiTe BeGenius** consiste em três passos:

- Verificação da prontidão do sistema,
- Preparação da sessão,
- Revisão e exportação de resultados.

Verificação da prontidão do sistema

HBV ELiTe MGB® Kit
reagentes para amplificação em tempo real do
ADN

REF RTK602ING

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

- ligue o **ELiTe InGenius** e inicie sessão no modo "**CLOSED**", verifique se os Calibradores (**HBV Q-PCR Standards**) estão aprovados e válidos (Estado) para o lote do **HBV ELiTe MGB Kit** a ser utilizada. Caso não haja calibradores válidos para o lote do **HBV ELiTe MGB Kit**, realize a calibração conforme descrito de seguida,
- verifique se os controlos da amplificação (**HBV Positive Control**, **HBV Negative Control**) estão aprovados e válidos (estado) para o lote de **HBV ELiTe MGB Kit** a ser utilizado. Se não houver controlos da amplificação válidos disponíveis para o lote de **HBV ELiTe MGB Kit**, execute os controlos da amplificação conforme descritos de seguida,
- 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 **ELiTechGroup S.p.A.** Estes protocolos IVD foram especificamente validados com os **ELiTe MGB kits** e o instrumento **ELiTe BeGenius** com as matrizes indicadas.

Os protocolos de ensaio disponíveis para teste da amostra com o produto **HBV ELiTe MGB Kit** estão descritos na tabela seguinte:

Protocolo de ensaio para o HBV ELiTe MGB Kit			
Nome	Matriz	Unidades do relatório	Características
HBV ELiTe_Be_PL_200_50	Amostras de plasma	Positivo / IU/mL / cópias/mL / Negativo	"Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração): 200 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
HBV ELiTe_Be_Se_200_50	Amostras de soro	Positivo / IU/mL / cópias/mL / Negativo	"Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração): 200 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

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

Configuração da sessão

O **HBV ELiTe MGB Kit** pode ser usado no **ELiTe BeGenius** para realizar:

- Execução integrada (Extract + PCR) (Extract+PCR),
- Execução de amplificação (PCR Only) (apenas PCR),
- Execução da calibração (PCR Only) (apenas PCR),
- Execução de amplificação para Controlo Positivo e Controlo Negativo (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 sistema **ELiTe BeGenius** pode ser ligado ao "Laboratory Information System" (servidor de informação da localização - LIS), que permite carregar a informação da sessão. Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

Os passos principais para a preparação dos três tipos de execução estão descritos abaixo.

A. Execução integrada (Extract + PCR) (Extrair+PCR)

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

1. Aqueça as amostras à temperatura ambiente (~+25 °C) e manuseie-as de acordo com as diretrizes laboratoriais e com a secção “Amostras e Controlos”.
2. Descongele os tubos da **HBV PCR Mix** necessários à temperatura ambiente (~+25 °C) durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para 12 reações em condições otimizadas (2 ou mais testes por sessão). Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.

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

3. Descongele os tubos de **HBV CPE** necessários à temperatura ambiente (~+25 °C) durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para 12 extrações. Misture suavemente, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.
4. Selecione “Perform Run” (Executar) a partir do ecrã “Home” (Página inicial).
5. Retire os suportes da “Cooler Unit” e coloque-os na mesa de preparação.
6. Selecione o “run mode”: “Extract + PCR”(Extrair + PCR)
7. Carregue as amostras nos suportes 5 e 4 (começando sempre pelo suporte 5), usando adaptadores para um encaixe adequado, se necessário.
8. Insira o suporte na “Cooler Unit”. Selecione “Next” (Próximo) para continuar.

Nota: Se forem carregados tubos secundários, assinale “Tubo de 2 mL”. Se os tubos secundários não possuírem código de barras, digite manualmente a identificação da amostra.

9. Certifique-se de que o “Extraction Input Volume” (Volume inicial de extração) é de 200 µL e que o “Volume de eluição da extração” é de 100 µL.
10. Selecione o Protocolo de ensaio a ser usado na coluna “Assay” (isto é, HBV ELiTe_Be_PL_200_50). Selecione “Next” (Próximo) para continuar.
11. Se for usado o suporte 4, repita os passos 7 a 9.
12. Carregue os tubos de eluato nos Racks 3 e 2 (comece sempre com o Rack 3).

Nota: Os tubos de eluição podem ser etiquetas para melhorar a rastreabilidade.

13. Insira o suporte na “Cooler Unit”. Selecione “Next” (Próximo) para continuar.
14. Se for usado o suporte 2, repita o passo 12.
15. Carregue o **CPE** e a **HBV-PCR Mix** no suporte 1.
16. Insira o Rack 1 na “Cooler Unit”. Selecione “Next” (Próximo) para continuar.
17. Verifique as pontas nos Tip Racks na “Inventory Area” (área dos reagentes) e substitua o Rack(s) de pontas, se necessário. Selecione “Next” (Próximo) para continuar.
18. Carregue o Cesto com **PCR Cassette** na “Inventory Area” (área dos reagentes) seguindo as instruções na GUI. Selecione “Next” (Próximo) para continuar.
19. Carregue o Cesto com os cartuchos de extração **ELiTe InGenius SP 200** e os consumíveis de extração necessários seguindo as instruções na GUI. Selecione “Next” (Próximo) para continuar.
20. Feche a porta do instrumento.
21. Pressione “Start” (Iniciar) para iniciar a execução.

Quando a sessão tiver terminado, 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” deve ser removida do instrumento, tapada, identificada e guardada a -20 °C

Nota: No final da execução, as **PCR Cassettes** e os consumíveis têm de ser eliminados em conformidade com todos os regulamentos governamentais e ambientais seguintes. Evite derramar o produto de reação.

Nota: A PCR Mix pode ser utilizada para 7 sessões de trabalho independentes de 3 horas cada ou pode ser mantida guardada no bloco refrigerado durante um máximo de 3 sessões de trabalho consecutivas de 3 horas cada. Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos antes de iniciar a sessão seguinte.

B. Execução da amplificação

Para preparar a execução de amplificação a iniciar a partir de ADN extraído, realize os passos seguintes consultando a GUI:

1. Descongele os tubos da **HBV PCR Mix** necessários à temperatura ambiente (~+25 °C) durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para 24 reações em condições otimizadas (2 ou mais testes por sessão). Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.

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

2. Selecione “Perform Run” (Executar) a partir do ecrã “Home” (Página inicial).
3. Retire os Suportes 1, 2 e 3 da “Cooler Unit” e coloque-os na mesa de preparação.
4. Selecione o modo de execução: “PCR Only”.
5. Carregue as amostras nos Racks 3 e 2 (comece sempre com o Rack 3).
6. Insira o suporte na “Cooler Unit”. Selecione “Next” (Próximo) para continuar.
7. Certifique-se de que o “Extraction Input Volume” (Volume inicial de extração) é de 200 µL e que o “Extraction Elute Volume” é de 100 µL, mesmo se a extração não estiver a ser realizada.
8. Selecione o protocolo de ensaio a ser usado na coluna “Assay” (por ex., HBV ELiTe_Be_PL_200_50). Selecione “Next” (Próximo) para continuar.
9. Se for usado o suporte 2, repita os passos 7 a 9.
10. Carregue a **HBV PCR Mix** no suporte 1.
11. Insira o suporte na “Cooler Unit”. Selecione “Next” (Próximo) para continuar.
12. Verifique as pontas nos Tip Racks na “Inventory Area” (área dos reagentes) e substitua o Rack(s) de pontas, se necessário. Selecione “Next” (Próximo) para continuar.
13. Carregue o cesto com **PCR Cassette** na “Inventory Area” (área dos reagentes) seguindo as instruções na GUI. Selecione “Next” (Próximo) para continuar.
14. Feche a porta do instrumento.
15. Pressione “Start” (Iniciar) para iniciar a execução.

Quando a sessão tiver terminado, 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 “Tubo de eluição” deve ser removida do instrumento, tapada, identificada e guardada a -20 °C. Evite derramar a amostra extraída.

Nota: No final da execução, as **Cassettes PCR** e os consumíveis têm de ser eliminados seguindo todos os regulamentos governamentais e ambientais. Evite derramar os produtos de reação.

Nota: A PCR Mix pode ser utilizada para 7 sessões de trabalho independentes de 3 horas cada ou pode ser mantida guardada no bloco refrigerado durante um máximo de 3 sessões de trabalho consecutivas de 3 horas cada. Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos antes de iniciar a sessão seguinte.

C. Execução de calibração (apenas PCR)

Para configurar a execução de calibração com padrões de Q-PCR, realize os passos seguintes consultando a GUI:

1. Descongele os tubos de **HBV PCR Mix** necessários à temperatura ambiente (~+25 °C) durante 30 minutos para a sessão. Cada tubo é suficiente para 12 reações em condições ideais de utilização (pelo menos 2 testes por sessão). Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.

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

2. Descongele os tubos de **HBV Q-PCR Standard** (Cal1: HBV Q-PCR Standards 10², Cal2: HBV Q-PCR Standards 10³, Cal3: HBV Q-PCR Standards 10⁴, Cal4: HBV Q-PCR Standards 10⁵) à temperatura ambiente (~+25 °C) durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para 2 reações. Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.
3. Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Página inicial).
4. Retire os Suportes 1, 2 e 3 da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação.
5. Selecione o "run mode": "PCR Only".
6. Carregue os padrões do calibrador nos suportes 3.
7. Insira o suporte na "Cooler Unit". Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
8. Selecione o protocolo de ensaio a ser usado na coluna "Assay" (HBV ELITe_Be_STD). Clique no botão "Next" para continuar.
9. Carregue a **HBV PCR Mix** no suporte 2.
10. Insira o suporte 2 na "Cooler Unit". Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
11. Verifique as pontas nos Tip Racks na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua o Rack(s) de pontas, se necessário. Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
12. Carregue o cesto com **PCR Cassette** na "Inventory Area" (área dos reagentes) seguindo as instruções na GUI. Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
13. Feche a porta do instrumento.
14. Pressione "Start" (Iniciar) para iniciar a execução.

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

Nota: No final da execução, os restantes Calibradores podem ser removidos do instrumento, tapados e guardados a -20 °C. Evite derramar os Q-PCR Standards.

Nota: No final da execução, as PCR Cassettes e os consumíveis têm de ser eliminados seguindo todos os regulamentos governamentais e ambientais. Evite derramar os produtos de reação.

Nota: A PCR Mix pode ser utilizada para 7 sessões de trabalho independentes de 3 horas cada ou pode ser mantida guardada no bloco refrigerado durante um máximo de 3 sessões de trabalho consecutivas de 3 horas cada. Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos antes de iniciar a sessão seguinte.

D. Execução de amplificação para o positive control e o negative control (apenas PCR)

Para configurar a execução da amplificação para o Positive Control e o Negative Control, execute os passos seguintes consultando a GUI:

1. Descongele os tubos da **HBV PCR Mix** necessários à temperatura ambiente (~+25°C) durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para 12 reações em condições otimizadas (2 ou mais testes por sessão). Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.

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

2. Descongele os tubos de **HBV Positive Control** à temperatura ambiente (~+25 °C) durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para 4 reações. Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.
3. Transfira ≥50 µL de água de qualidade para biologia molecular (como negative control) num tubo de eluição, fornecido com o **ELITE InGenius SP Consumable Set**.
4. Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Página inicial).
5. Retire os Suportes 1, 2 e 3 da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação.
6. Selecione o modo de execução: "PCR Only".
7. Carregue os tubos de positive control e negative control nos suportes 3.
8. Insira o suporte na "Cooler Unit". Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
9. Selecione o protocolo de ensaio a ser usado na coluna "Assay" (por ex., (HBV ELITe_Be_PC e HBV ELITe_Be_NC). Clique no botão "Next" para continuar.
10. Carregue a **HBV PCR Mix** no suporte 2.
11. Insira o Rack 2 na "Cooler Unit". Selecione "Next" para continuar a preparação.
12. Verifique as pontas nos Tip Racks na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua o Rack(s) de pontas, se necessário. Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
13. Carregue o Cesto com **PCR Cassette** na "Inventory Area" (área dos reagentes) seguindo as instruções na GUI. Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
14. Feche a porta do instrumento.
15. Pressione "Start" (Iniciar) para iniciar a execução.

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

Nota: No final da execução, o restante positive control pode ser removido do instrumento, tapado e guardado a -20 °C. Evite derramar os positive controls.

Nota: No final da execução, as PCR Cassettes e os outros consumíveis têm de ser eliminados seguindo todos os regulamentos governamentais e ambientais. Evite derramar os produtos de reação.

Nota: A PCR Mix pode ser utilizada para 7 sessões de trabalho independentes de 3 horas cada ou pode ser mantida guardada no bloco refrigerado durante um máximo de 3 sessões de trabalho consecutivas de 3 horas cada. Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos antes de iniciar a sessão seguinte.

Revisão e aprovação de 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.

HBV ELITe MGB® Kit
reagentes para amplificação em tempo real do ADN

REF RTK602ING

Nota: O sistema **ELITe InGenius** pode ser ligado ao "Laboratory Information System" (servidor de informação da localização - 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 **HBV ELITe MGB Kit** através do seguinte procedimento:

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

Nota: Consulte os mesmos capítulos do **ELITe BeGenius** para obter mais informações.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO
ELITe InGenius e ELITe BeGenius

Limite de deteção (LdD)

O limite de deteção (LdD) do **HBV ELITe MGB® Kit** foi determinado com amostras de plasma no **ELITe InGenius**.

O LoD foi determinado através de testes de um painel de Plasma negativo para HBV colhido em ACD enriquecido com material de referência certificado HBV (4.ª Norma internacional da OMS, NIBSC) a títulos conhecidos. Foram preparados seis níveis de diluição, desde 18 IU/mL até 1 IU/mL. Cada nível de diluição foi processado em 24 réplicas no **ELITe InGenius** no modo "Extract + PCR" (Extract+PCR). 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 na tabela seguinte

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
HBV	9	6	18

O LoD como cópias/mL para Plasma de ACD foi calculado através da aplicação do fator de conversão específico reportado na página 23. A sensibilidade analítica como cópias/mL está reportada a seguir.

Limite de deteção (cópias/mL) para amostras de plasma de ACD e ELITe InGenius			
Alvo	LdD	intervalo de confiança de 95%	
		Limite inferior	Limite superior
HBV	38	27	73

O valor LoD calculado foi verificado através de testes a 30 réplicas de Plasma em ACD, 30 réplicas de Plasma em EDTA e 30 réplicas de amostras de soro reforçadas por material de referência certificado HBV (4.ª Norma internacional da OMS, NIBSC) a uma concentração conhecida. O LoD é confirmado se, pelo menos, 27 em 30 réplicas derem resultado positivo.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Limite de deteção para amostras de plasma e soro e ELITe InGenius					
Amostra	Título	Alvo	N	Positivo	Negativo
Plasma em ACD	9 IU/mL	HBV	30	30	0
Plasma em EDTA	9 IU/mL	HBV	30	28	2
Soro	9 IU/mL	HBV	30	29	1

O valor de LoD para o alvo HBV foi confirmado a 9 IU/mL para Plasma em ACD, Plasma em EDTA e Soro.

HBV ELITe MGB® Kit
reagentes para amplificação em tempo real do ADN

REF RTK602ING

O valor do LdD calculado em associação com o **ELITe BeGenius** foi verificado através de testes a 30 réplicas de plasma em ACD, 30 réplicas de plasma em EDTA e 30 réplicas de amostras de soro reforçadas com material de referência de HBV certificado (4.ª Norma internacional da OMS, NIBSC) a uma concentração conhecida. O LoD é confirmado se, pelo menos, 27 em 30 réplicas derem resultado positivo.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Limite de deteção para amostras de plasma e soro e ELITe BeGenius					
Amostra	Título	Alvo	N	Positivo	Negativo
Plasma em ACD	9 IU/mL	HBV	30	28	2
Plasma em EDTA	9 IU/mL	HBV	30	28	2
Soro	9 IU/mL	HBV	30	30	0

O valor de LoD para o alvo HBV foi confirmado a 9 IU/mL para Plasma em ACD, Plasma em EDTA e Soro.

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

A equivalência da matriz do **HBV ELITe MGB Kit** foi verificada usando amostras de plasma em ACD, plasma em EDT e soro no **ELITe InGenius**.

Foi realizado um teste em 30 amostras de Plasma em EDTA e 30 amostras de Plasma em ACD a partir dos mesmos 30 dados individuais (amostras emparelhadas), com teste negativo para HBV por um imunoenensaio com marcação CE IVD. As amostras foram testadas no **ELITe InGenius** no modo "Extract + PCR" (Extract+PCR). Foi avaliada a concordância da percentagem negativa (NPA). O Coeficiente de Variabilidade (%CV) dos valores de Ct do Controlo Interno foi calculado para avaliar a equivalência das duas matrizes.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Amostra	N	Positivo	Negativo	NPA	%CV do Ct do CI	%CV do Ct do CI (controlo interno completo)
Plasma em EDTA	30	0	30	100%	0,86	0,98
Plasma em ACD	30	0	30		1,01	

Foi realizado um teste em 30 amostras emparelhadas de Plasma e de Soro em EDTA, com teste negativo para HBV através de um imunoenensaio com marcação CE IVD. As amostras foram testadas no **ELITe InGenius** no modo "Extract + PCR" (Extract+PCR). Foi avaliada a concordância da percentagem negativa. O Coeficiente de Variabilidade (%CV) dos valores de Ct do Controlo Interno foi calculado para avaliar a equivalência das duas matrizes.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Amostra	N	Positivo	Negativo	NPA	%CV do Ct do CI	%CV do Ct do CI (controlo interno completo)
Plasma em EDTA	30	0	30	97%	0,90	0,86
Soro	30	1	29		0,82	

A amostra de soro positiva demonstrou um título muito baixo (inferior a 9 IU/mL) que é consistente com um resultado negativo obtido com um ensaio IVD CE imunológico usado para certificar a negatividade da amostra.

Foi realizado um teste em 30 amostras emparelhadas de Plasma em EDTA e Plasma em ACD, com teste negativo para HBV usando um imunoenensaio com marcação CE IVD e enriquecido com material de referência certificado (4.ª Norma internacional HBV da OMS, NIBSC) a uma concentração de 3 x LdD (cerca de 27 IU/mL). As amostras foram testadas no **ELITe InGenius** no modo "Extract + PCR" (Extract+PCR). Foi avaliada a concordância da percentagem positiva (PPA). O Coeficiente de Variabilidade (%CV) dos valores de Ct alvo de HBV foi calculada para avaliar a equivalência das duas matrizes.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

HBV ELITe MGB® Kit
reagentes para amplificação em tempo real do ADN

REF RTK602ING

Amostra	N	Positivo	Negativo	PPA	%CV do Ct do HBV	%CV do Ct do HBv completo	ΔQtd (Log IU/mL)
Plasma em EDTA	30	30	0	100%	1,75	1,81	0,0458
Plasma em ACD	30	30	0		1,88		

Foi realizado um teste em 30 amostras emparelhadas de Plasma e Soro em EDTA, com teste negativo para HBV através de um imunoenensaio com marcação CE IVD e enriquecido com material de referência certificado (4.ª Norma internacional HBV da OMS, NIBSC) a uma concentração de 3 x LdD (cerca de 27 IU/mL). As amostras foram testadas no ELITe InGenius no modo "Extract + PCR" (Extract+PCR). Foi avaliada a concordância da percentagem positiva. O Coeficiente de Variabilidade (%CV) dos valores de Ct alvo de HBV foi calculada para avaliar a equivalência das duas matrizes.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Amostra	N	Positivo	Negativo	PPA	%CV do Ct do HBV	%CV do Ct do HBv completo	ΔQtd (Log IU/mL)
Plasma em EDTA	30	30	0	100%	1,59	1,49	0,0910
Soro	30	30	0		1,29		

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 HBV 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 página 23.

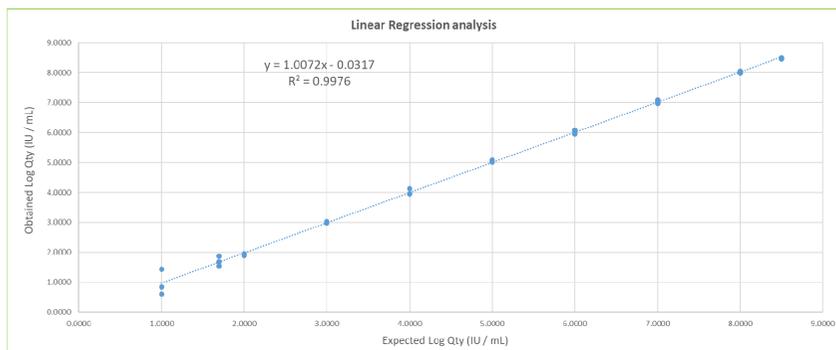
Intervalo de medição linear

O intervalo de medição linear do HBV ELITe MGB Kit foi determinado com amostras de plasma no ELITe InGenius.

O intervalo de medição linear foi determinado com recurso a um painel de diluições do material de referência HBV (ZepetoMetrix) em amostras de Plasma em EDTA negativas. O painel era constituído por dez pontos de diluição a partir de 3,2x10⁸ IU/mL e até 10 IU/mL. Cada amostra do painel foi testada em triplicado no ELITe InGenius no modo "Extract + PCR" (Extract+PCR).

Os dados foram analisados por regressão linear e análise do polinómio e os resultados demonstraram que o ensaio apresenta uma resposta linear para todas as diluições com um Coeficiente de Correlação Quadrado (R2) igual a 0,998.

Os resultados são comunicados na figura seguinte.



HBV ELITe MGB® Kit
reagentes para amplificação em tempo real do ADN

REF RTK602ING

O Limite Inferior de Quantificação (LLOQ) foi determinado como sendo de 9 IU/mL, o mesmo valor que o LdD, nos quais os resultados medidos se encontravam num intervalo de ±0,5 Log IU/mL da concentração alvo. A precisão e a exatidão do LLOQ foram calculadas com o desvio padrão = 0,2813 Log IU/mL e declive = 0,2767 Log IU/mL.

O limite superior de quantificação (ULOQ) foi determinado como sendo de 317.750.000 IU/mL, nos quais os resultados medidos se encontravam dentro de um intervalo de ±0,5 Log IU/mL da concentração alvo. A precisão e a exatidão do LSdQ foram calculadas com o desvio padrão = 0,0275 Log IU/mL e declive = 0,0175 Log IU/mL.

O intervalo de medição linear como cópias/mL para o plasma em EDTA é calculado através da aplicação do fator de conversão específico reportado na página 31.

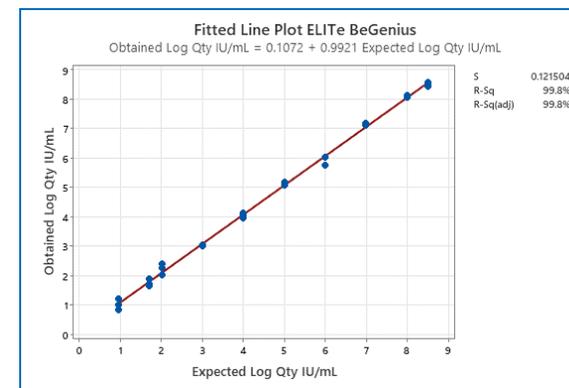
Os resultados finais estão resumidos na tabela seguinte.

Intervalo de medição linear para amostras de plasma em EDTA e o ELITe InGenius	
Limite inferior	Limite superior
9 IU/mL	317.750.000 IU/mL
38 cópias/mL	1323958333 cópias/mL

O intervalo de medição linear do HBV ELITe MGB® Kit foi verificado em associação com amostras de plasma e o sistema **ELITe BeGenius** usando um painel de diluições de material de referência de HBV (ZepetoMetrix) em amostras de plasma em EDTA negativas. O painel era constituído por dez pontos de diluição a partir de 3,2x10⁸ IU/mL até 9 IU/mL. Cada amostra do painel foi testada em 3 réplicas no sistema ELITe BeGenius no modo "Extract + PCR".

A análise dos dados obtidos, realizada por análise de regressão linear, demonstrou que o ensaio mostra uma resposta linear para todas as diluições com um coeficiente de correlação quadrado (R2) igual a 0,998.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte



O Limite Inferior de Quantificação (LIdQ) foi confirmado como sendo de 9 IU/mL, o mesmo valor que o LdD, no qual os resultados medidos se encontravam num intervalo de ±0,5 Log IU/mL da concentração alvo. A precisão e a exatidão do LIdQ foram calculadas com o desvio padrão = 0,1939 Log IU/mL e declive = 0,0709 Log IU/mL.

O limite superior de quantificação (LSdQ) foi confirmado como sendo de 317.750.000 IU/mL, no qual os resultados medidos se encontravam dentro de um intervalo de ±0,5 Log IU/mL da concentração alvo. A precisão e a exatidão do LSdQ foram calculadas com o desvio padrão = 0,0579 Log IU/mL e declive = 0,0131 Log IU/mL.

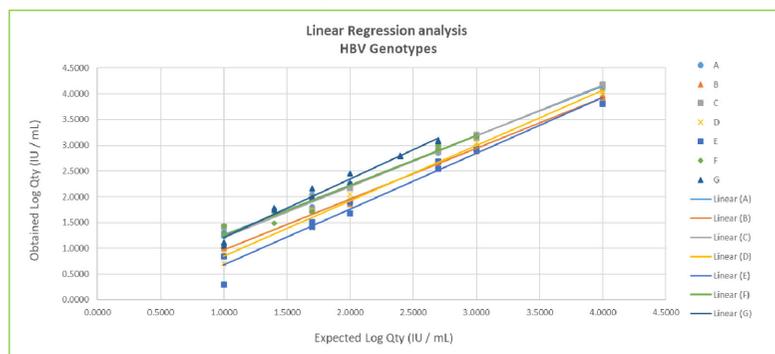
O intervalo de medição linear como cópias/mL para o plasma em EDTA é calculado através da aplicação do fator de conversão específico reportado na página 31.

Os resultados finais estão resumidos na tabela seguinte.

Intervalo de medição linear para amostras de plasma em EDTA e o ELiTe BeGenius	
Limite inferior	Limite superior
9 IU/mL	317.750.000 IU/mL
38 cópias/mL	1.323.958.333 cópias/mL

O intervalo de medição linear foi verificado através da análise de plasma em EDTA negativo enriquecido por material de referência HBV (1.º Painel de referência internacional da OMS para genótipos HBV, PEI) para os genótipos HBV principais (A, B, C, D, E, F, G). Cada genótipo HBV foi testado num painel de 6 níveis de diluição. Cada nível de diluição foi testado em duplicado no ELiTe InGenius no modo "Extract + PCR" (Extrair + PCR).

Os resultados são comunicados na figura seguinte.



A linearidade do ensaio foi confirmada para os genótipos HBV principais (A, B, C, D, E, F, G) fornecendo resultados quantitativos dentro do intervalo $\pm 0,5$ Log IU/mL e R2 de 0,979 a 0,996.

O intervalo de medição linear foi verificado através da análise de plasma em ACD negativo e soro negativo enriquecido com material de referência HBV (4.ª Norma internacional da OMS, NIBSC). Cada matriz foi testada num painel de 6 níveis de diluição. Cada nível de diluição foi testado em duplicado no ELiTe InGenius no modo "Extract + PCR" (Extrair + PCR). Os resultados de teste correspondentes com plasma em EDTA foram comunicados como referência.

Os resultados são comunicados na figura seguinte.



A linearidade do ensaio foi confirmada para o plasma em ACD e soro, fornecendo resultados quantitativos dentro do intervalo de $\pm 0,5$ Log IU/mL e um R2 de 0,982 e 0,988, respetivamente.

Inclusividade: Eficiência de deteção e eficiência de quantificação em diferentes genótipos

A eficiência de deteção de diferentes genótipos de HBV foi avaliada por comparação *in silico* das sequências disponíveis nas bases de dados de nucleótidos.

A análise das regiões específicas para a hibridização dos primers e da sonda no gene de polimerase (gene P) demonstrou a conservação da sequência e a ausência de mutações significativas nos genótipos HBV A, B, C, D, E, F, G, H, I e RF para todas as sequências disponíveis na base de dados de nucleótidos. Por isso, é esperada uma deteção e quantificação eficientes para os diferentes genótipos HBV.

A inclusividade do ensaio, avaliada pela eficiência de deteção e quantificação em diferentes genótipos, foi verificada através de testes ao 1.º Painel de referência internacional da OMS para genótipos HBV (PEI) incluindo os genótipos HBV principais (A, B, C, D, E, F, G).

Cada amostra do painel foi preparada a uma concentração de 3 x LoD (cerca de 27 IU/mL) em amostras de Plasma em ACD negativas e testadas no ELiTe InGenius no modo "Extract + PCR" (Extrair + PCR).

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

1.º Painel de referência internacional da OMS para genótipos HBV (PEI)				
Identificação da amostra	Genótipo	Pos. / Rep.	Ct HBV médio	IU/mL HBV médio
HBV 1/A	A	3 / 3	37,71	25
HBV 2/A		3 / 3	37,76	25
HBV 3/A		3 / 3	38,20	17
HBV 4/B	B	3 / 3	38,15	17
HBV 5/B		3 / 3	38,56	17
HBV 6/B		3 / 3	38,23	18
HBV 7/B	C	3 / 3	37,75	24
HBV 8/C		3 / 3	38,01	20
HBV 9/C		3 / 3	38,12	18
HBV 10/D	D	3 / 3	37,84	22
HBV 11/D		3 / 3	37,97	20
HBV 12/D		3 / 3	38,29	16
HBV 13/E	E	3 / 3	38,02	19
HBV 14/F	F	3 / 3	37,81	22
HBV 15/G	G	3 / 3	37,08	37

A inclusividade do ensaio foi também verificada através de testes com o "AccuSet™ HBV DNA Genotype Performance Panel" (SeraCare) incluindo os genótipos HBV A, B, C, D, E, F, G, H.

Cada amostra do painel foi preparada a uma concentração de 3 x LoD (cerca de 27 IU/mL) em amostras de Plasma em ACD negativas e testadas no ELiTe InGenius no modo "Extract + PCR" (Extrair + PCR).

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

"AccuSet™ HBV DNA Genotype Performance Panel" (SeraCare)				
Identificação da amostra	Genótipo	Pos. / Rep.	Ct HBV médio	IU/mL HBV médio
A	A	3 / 3	38,01	19
B	B	3 / 3	37,99	20
C	C	3 / 3	38,14	18
D	D	3 / 3	38,16	18
E	E	3 / 3	38,15	17
F	F	3 / 3	37,92	21
H	H	3 / 3	37,80	22

Todas as amostras foram corretamente detetadas e quantificadas dentro do intervalo de $\pm 0,5$ Log IU/mL (9 – 85 IU/mL) pelo HBV ELiTe MGB Kit no ELiTe InGenius.

Marcadores potencialmente interferentes: reatividade cruzada

A reatividade cruzada potencial do ensaio com outros organismos não pretendidos foi avaliada através da análise *in silico* de sequências disponíveis nas bases de dados de nucleótidos.

As sequências de primer e sonda foram avaliadas por homologia com as sequências de outros organismos disponíveis nas bases de dados de nucleótidos. Os resultados demonstraram a ausência de homologias significativas e, por conseguinte, não se espera reatividade cruzada.

A ausência de reatividade cruzada com outros organismos que podem ser encontrados nas amostras clínicas de Plasma e Soro também foi verificada através de testes a um painel de materiais de referência certificados.

As amostras de ADN ou ARN genômico de diferentes marcadores potencialmente interferentes (ATCC, NIBSC, ZeptoMetrix) foram analisadas a uma concentração elevada (pelo menos 10⁵ cópias/reacção) em triplicado no ELiTe InGenius no modo "PCR Only" (apenas PCR). Ao ADN ou ARN genômico de cada organismo foram adicionados 80.000 cópias de Controlo Interno por reacção para imitar a amostra clínica extraída.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Amostra	Pos./Rep. HBV	Resultado
Adenovirus 2	0 / 3	Sem reatividade cruzada
CMV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
EBV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HHV6	0 / 3	Sem reatividade cruzada
VZV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HSV1	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HSV2	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HTLVI	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HTLVII	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Parvovirus B19	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Echovirus 4	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Virus do dengue tipo 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
WNV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Virus Influenza A (H1N1)	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Virus Influenza B (Florida)	0 / 3	Sem reatividade cruzada
RSV A2	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HAV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HCV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HEV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HIV-1	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HIV-2	0 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Candida albicans</i>	0 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Staphylococcus aureus</i>	0 / 3	Sem reatividade cruzada

Todos os marcadores potencialmente interferentes testados revelaram que não há reatividade cruzada para o alvo HBV utilizando o HBV ELiTe MGB Kit.

Marcadores potencialmente interferentes: Interferência

A ausência de interferência causada pela presença de outros organismos nas amostras clínicas de plasma também foi verificada através de testes ao painel de materiais de referência certificados.

As amostras de ADN ou ARN genômico de marcadores potencialmente interferentes (ATCC, NIBSC, ZeptoMetrix) a uma elevada concentração (pelo menos 10⁵ cópias/reacção) foram enriquecidas com ADN genômico de HBV (NIBSC) a baixa concentração (cerca de 10 cópias/reacção). As amostras foram analisadas em triplicado no ELiTe InGenius no modo "PCR Only" (apenas PCR). A cada amostra foram adicionados 80.000 cópias de Controlo Interno por reacção para imitar a amostra clínica extraída.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Amostra	Pos./Rep. HBV	Resultado
Adenovirus 2	3 / 3	Sem interferência
CMV	3 / 3	Sem interferência
EBV	3 / 3	Sem interferência
HHV6	3 / 3	Sem interferência
VZV	3 / 3	Sem interferência
HSV1	3 / 3	Sem interferência
HSV2	3 / 3	Sem interferência
HTLVI	3 / 3	Sem interferência
HTLVII	3 / 3	Sem interferência
Parvovirus B19	3 / 3	Sem interferência
Echovirus 4	3 / 3	Sem interferência
Virus do dengue tipo 3	3 / 3	Sem interferência
WNV	3 / 3	Sem interferência
Virus Influenza A (H1N1)	3 / 3	Sem interferência
Virus Influenza B (Florida)	3 / 3	Sem interferência
RSV A2	3 / 3	Sem interferência
HAV	3 / 3	Sem interferência
HCV	3 / 3	Sem interferência
HEV	3 / 3	Sem interferência
HIV-1	3 / 3	Sem interferência
HIV-2	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 revelaram que não há inibição da amplificação do alvo HBV utilizando o HBV ELiTe MGB Kit.

Substâncias potencialmente interferentes

O efeito de substâncias potencialmente interferentes foi avaliado através da análise do "AcroMetrix® Inhibition Panel" (Thermo Fisher Scientific Inc.) contendo substâncias endógenas, resultantes de hemólise, icterícia e lipemia, e substâncias exógenas, anticoagulantes EDTA e Heparina.

As amostras do painel de inibição foram enriquecidas com material de referência certificado HBV (4.ª Norma internacional HBV da OMS, NIBSC) a uma concentração de 3 x LdD (cerca de 27 IU/mL).

Além disso, foram testadas outras 6 substâncias potencialmente interferentes, fármacos, a uma concentração relevante: Ganciclovir, Azitromicina, Glecaprevir, Entecavir, Tenofovir, Lamivudina. As substâncias foram adicionadas uma a uma ao plasma em ACD enriquecido com material de referência certificado HBV (4.ª Norma internacional HBV da OMS, NIBSC) a uma concentração de 3 x LoD (cerca de 27 IU/mL).

As amostras foram processadas em triplicado no ELiTe InGenius no modo "Extract + PCR" (Extract+PCR). Os valores Ct (amostras de referência e teste) do alvo HBV e do Controlo Interno foram usados para calcular o Coeficiente de Variabilidade (%CV) para avaliar a possível interferência.

HBV ELITe MGB® Kit
reagentes para amplificação em tempo real do
ADN

REF RTK602ING

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Amostra	Pos. / Rep.	%CV HBV Ct	%CV CI Ct
EDTA	3 / 3	1,78	0,87
Heparina	1 / 3	N.A.	7,11
Sangue altamente hemolítico	3 / 3	1,11	0,90
Plasma lipémico	3 / 3	1,30	0,72
Plasma icterico	3 / 3	1,13	1,41
Ganciclovir	3 / 3	0,96	0,76
Azitromicina	3 / 3	0,88	0,85
Glecaprevir	3 / 3	1,04	0,57
Entecavir	3 / 3	1,07	0,88
Tenofovir	3 / 3	0,88	0,76
Lamivudina	3 / 3	1,13	0,78

O teste demonstrou que EDTA, Hemoglobina, Triglicéridos, Bilirubina, Ganciclovir, Azitromicina, Glecaprevir, Entecavir, Tenofovir e Lamivudina não interferem com a amplificação do HBV ou do Controlo Interno. O valor da Ct de HBV e CI em %CV foi inferior a 2%.

A heparina foi confirmada como sendo capaz de inibir a amplificação do HBV; no entanto, graças ao valor-limite de Ct do Controlo Interno (CI Ct < 31), os resultados da amostra são "inválidos" em vez de "falsos negativos".

Ausência de contaminação cruzada

A ausência de contaminação cruzada foi testada através da análise dos resultados de cinco sessões, em que as amostras de plasma negativas para ADN de HBV foram alternadas com amostras de plasma enriquecidas por material de referência certificado HBV (ZeptoMetrix) a uma concentração de 1x10⁶ IU/mL.

Foram testados cinco conjuntos de amostras, alternando seis amostras positivas com seis amostras negativas, no ELITe InGenius no modo "Extract + PCR" (Extrair + PCR).

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Amostras	N	Negativo	Positivo
Plasma em ACD enriquecido a 1x10 ⁶ HBV IU/mL	30	0	30
Plasma em ACD negativo para HBV	30	30	0

Nenhuma das amostras negativas para HBV testadas deu resultados falsos positivos. Neste teste, não foi detetada contaminação cruzada dentro de uma sessão nem entre sessões.

Taxa de falha de todo o sistema

A taxa de falha geral do sistema foi verificada, em associação com o **ELITe InGenius**, analisando um painel de amostras enriquecidas para ADN de HBV a um título baixo e determinando a frequência dos resultados "falsos negativos".

100 amostras individuais de plasma em EDTA, 30 amostras individuais de Plasma em ACD e 30 amostras individuais de Soro (tendo todas elas testado negativo para ADN do HBV) foram enriquecidas com material de referência certificado (4.^a Norma internacional HBV da OMS, NIBSC) a uma concentração de 3 x LoD (cerca de 27 IU/mL). As amostras foram testadas no ELITe InGenius no modo "Extract + PCR" (Extrair+PCR).

Os resultados estão resumidos na tabela seguinte.

Amostras	N	Negativo	Positivo	IU/mL HBV médio
Plasma enriquecido em EDTA	100	0	100	26
Plasma enriquecido em ACD	30	0	30	27
Soro enriquecido	30	0	30	23

Nenhuma das amostras positivas para HBV testadas deu resultados falsos negativos. Neste teste, a taxa de falha geral do sistema foi igual a 0%.

HBV ELITe MGB® Kit
reagentes para amplificação em tempo real do
ADN

REF RTK602ING

A taxa de falha geral do sistema foi verificada, em associação com o **ELITe BeGenius**, analisando um painel de amostras reforçadas com ADN de HBV a um título baixo e determinando a frequência dos resultados "falsos negativos".

100 amostras individuais de plasma em EDTA que testaram negativo para ADN do HBV foram reforçadas com material de referência certificado (4.^a Norma internacional HBV da OMS, NIBSC) a uma concentração de 3 x LoD (cerca de 27 IU/mL). As amostras foram testadas no ELITe BeGenius no modo "Extract + PCR" (Extrair + PCR).

Os resultados estão resumidos na tabela seguinte.

Amostras	N	Negativo	Positivo	IU/mL HBV médio
Plasma enriquecido em EDTA	100	0	100	15

Nenhuma das amostras positivas para HBV testadas deu resultados falsos negativos. Neste teste, a taxa de falha geral do sistema foi igual a 0%.

Repetibilidade

A repetibilidade dos resultados obtidos com o HBV ELITe MGB Kit no **ELITe InGenius** foi avaliada através da análise de um painel de amostras de plasma. O painel incluiu uma amostra negativa e duas amostras enriquecidas com material de referência certificado HBV (4.^a Norma internacional HBV da OMS, NIBSC) a concentrações de 3 x LoD (cerca de 27 IU/mL) e de 10 x LoD (cerca de 90 IU/mL).

A repetibilidade foi determinada através da análise de membros de painel em quatro réplicas, em duas execuções por dia, um lote de produto por dia, em dois dias diferentes. O teste foi realizado com um total de três lotes de produto, todos usando o mesmo instrumento, e pelo mesmo operador. As amostras foram processadas em posições aleatórias no ELITe InGenius no modo "Extract + PCR" (Extrair+PCR).

Os valores Ct do alvo HBV e do Controlo Interno foram usados para calcular a %CV para avaliar a repetibilidade como imprecisão.

Nas tabelas seguintes é apresentado um resumo dos resultados.

Amostra	Repetibilidade intra-sessão				Controlo Interno			
	Pos. / Rep.	Ct médio	SD	% CV	Pos. / Rep.	Ct médio	SD	% CV
Negativo	0 / 8	N.A.	N.A.	N.A.	24 / 24	28,89	0,23	0,79
3 x LoD	8 / 8	38,07	0,38	1,00				
10 x LoD	8 / 8	36,26	0,25	0,69				

Amostra	Repetibilidade inter-sessão				Controlo Interno			
	Pos. / Rep.	Ct médio	SD	% CV	Pos. / Rep.	Ct médio	SD	% CV
Negativo	0 / 16	N.A.	N.A.	N.A.	48 / 48	28,79	0,28	0,97
3 x LoD	16 / 16	38,01	0,41	1,08				
10 x LoD	16 / 16	36,18	0,28	0,77				

No teste de Repetibilidade, o ensaio detetou o alvo HBV como esperado e mostrou valores de Ct com %CV abaixo de 1,1% para HBV e 1% para o Controlo Interno.

A repetibilidade dos resultados obtidos pelo produto HBV ELITe MGB Kit no sistema **ELITe BeGenius** foi avaliada através da análise de um painel de amostras de plasma. O painel incluiu uma amostra negativa e duas amostras reforçadas com material de referência certificado HBV (4.^a Norma internacional HBV da OMS, NIBSC) a uma concentração de 3 x LoD (cerca de 27 IU/mL) e de 10 x LoD (cerca de 90 IU/mL).

A repetibilidade foi obtida através da análise de amostras do painel em oito réplicas, em uma execução por dia, com o mesmo lote de produto, em dois dias diferentes. Foram usados três lotes de produtos no mesmo instrumento pelo mesmo operador. As amostras foram processadas em posições aleatórias no sistema **ELITe BeGenius** no modo "Extract + PCR" (Extrair + PCR).

Os valores de Ct do alvo e do Internal Control foram usados para calcular a %CV para avaliar a Repetibilidade como imprecisão.

HBV ELITe MGB® Kit
reagentes para amplificação em tempo real do ADN

REF RTK602ING

Nas tabelas seguintes é apresentado um resumo dos resultados.

Repetibilidade intra-sessão								
Amostra	HBV				Controlo Interno			
	Pos. / Rep.	Ct médio	SD	% CV	Pos. / Rep.	Ct médio	SD	% CV
Negativo	0 / 8	N.A.	N.A.	N.A.	24 / 24	30,06	0,37	1,24
3 x LoD	8 / 8	38,64	0,46	1,19				
10 x LoD	8 / 8	36,83	0,34	0,93				

Repetibilidade inter-sessão								
Amostra	HBV				Controlo Interno			
	Pos. / Rep.	Ct médio	SD	% CV	Pos. / Rep.	Ct médio	SD	% CV
Negativo	0 / 16	N.A.	N.A.	N.A.	48 / 48	30,04	0,54	1,80
3 x LoD	16 / 16	38,93	0,86	2,22				
10 x LoD	16 / 16	36,87	0,35	0,94				

No teste da Capacidade de repetição, o ensaio detetou o HBV alvo como esperado e mostrou uma baixa %CV dos valores Ct que não excederam 2,2% para HBV e 1,8% para o Controlo Interno.

Reprodutibilidade

A Reprodutibilidade dos resultados obtidos pelo HBV ELITe MGB Kit no **ELITe InGenius** foi avaliada através da análise de um painel de amostras de plasma. O painel incluiu uma amostra negativa e duas amostras enriquecidas com material de referência certificado HBV (4.^a Norma internacional HBV da OMS, NIBSC) a concentrações de 3 x LoD (cerca de 27 IU/mL) e de 10 x LoD (cerca de 90 IU/mL).

A reprodutibilidade foi determinada através da análise de membros de painel em quatro réplicas, numa execução por dia, em dois dias por local. Foram usados três lotes diferentes do produto em três locais diferentes com três instrumentos diferentes e por três operadores diferentes. As amostras foram processadas em posições aleatórias no ELITe InGenius no modo "Extract + PCR" (Extrair+PCR).

Os valores de Ct do alvo e do Controlo Interno foram usados para calcular a %CV para avaliar a reprodutibilidade como imprecisão.

Na tabela seguinte é apresentado um resumo dos resultados.

Reprodutibilidade entre locais								
Amostra	HBV				Controlo Interno			
	Pos. / Rep.	Ct médio	SD	% CV	Pos. / Rep.	Ct médio	SD	% CV
Negativo	0 / 24	N.A.	N.A.	N.A.	72 / 72	28,73	0,45	1,58
3 x LoD	24 / 24	37,60	0,68	1,80				
10 x LoD	24 / 24	35,63	0,35	0,98				

Capacidade de reprodução entre lotes								
Amostra	HBV				Controlo Interno			
	Pos. / Rep.	Ct médio	SD	% CV	Pos. / Rep.	Ct médio	SD	% CV
Negativo	0 / 48	N.A.	N.A.	N.A.	144 / 144	28,67	0,41	1,44
3 x LoD	48 / 48	38,19	0,44	1,16				
10 x LoD	48 / 48	36,25	0,38	1,06				

No teste de reprodutibilidade, o ensaio detetou o alvo HBV como esperado e mostrou valores de Ct com %CV abaixo de 1,8% para HBV e 1,6% para o Controlo Interno.

A reprodutibilidade dos resultados obtidos pelo produto HBV ELITe MGB Kit no sistema **ELITe BeGenius** foi avaliada através da análise de um painel de amostras de plasma. O painel incluiu uma amostra negativa e duas amostras reforçadas com material de referência certificado HBV (4.^a Norma internacional HBV da OMS, NIBSC) a uma concentração de 3 x LoD (cerca de 27 IU/mL) e de 10 x LoD (cerca de 90 IU/mL).

A reprodutibilidade foi obtida através da análise de amostras de painel em quatro réplicas, numa execução por dia, em dois dias por instrumento. Foram usados três lotes diferentes do produto com três instrumentos diferentes e por três operadores diferentes. As amostras foram processadas em posições aleatórias no sistema **ELITe BeGenius** no modo "Extract + PCR" (Extrair + PCR).

Os valores de Ct do alvo e do Controlo Interno foram usados para calcular a %CV para avaliar a reprodutibilidade como imprecisão.

Na tabela seguinte é apresentado um resumo dos resultados.

HBV ELITe MGB® Kit
reagentes para amplificação em tempo real do ADN

REF RTK602ING

Reprodutibilidade inter-instrumento								
Amostra	HBV				Controlo Interno			
	Pos. / Rep.	Ct médio	SD	% CV	Pos. / Rep.	Ct médio	SD	% CV
Negativo	0 / 24	N.A.	N.A.	N.A.	72 / 72	30,67	0,86	2,80
3 x LoD	24 / 24	38,54	1,08	2,79				
10 x LoD	24 / 24	36,53	0,76	2,09				

Capacidade de reprodução entre lotes								
Amostra	HBV				Controlo Interno			
	Pos. / Rep.	Ct médio	SD	% CV	Pos. / Rep.	Ct médio	SD	% CV
Negativo	0 / 48	N.A.	N.A.	N.A.	144 / 144	29,89	0,51	1,71
3 x LoD	48 / 48	38,19	0,85	2,24				
10 x LoD	48 / 48	36,38	0,57	1,57				

No teste da Capacidade de reprodução, o ensaio detetou o HBV alvo como esperado e mostrou uma baixa %CV dos valores Ct que não excederam 2,8% para HBV e 2,8% para o Internal Control.

Fator de conversão para unidades internacionais

O fator de conversão, para reportar os resultados quantitativos em Unidades internacionais (IU)/mL a partir de cópias/mL, foi calculado com recurso a um painel de quatro diluições (0,5 Log entre diluições) do material de referência calibrado certificado "4.^a Norma internacional HBV da OMS (NIBSC) no plasma em EDTA com teste negativo para ADN de HBV.

Cada ponto do painel foi testado em 27 réplicas com três lotes de produto diferentes, em três instrumentos diferentes, em três dias diferentes. As amostras foram processadas em posições aleatórias no ELITe InGenius no modo "Extract + PCR" (Extrair+PCR).

O fator de conversão foi determinado calculando a diferença de concentração logarítmica entre o título de referência em IU/mL e os resultados obtidos em cópias/mL, resultando em 0,24 IU/cópia.

Na tabela seguinte é apresentado um resumo dos resultados.

Fator de conversão para unidades internacionais, Fc = 0,24 IU/cópia						
Amostra	Resultado			Log diferença (ref. - teste)		
	IU/mL	Registo IU/mL	N			
31600	4,5000	27	133240	31748	4,4877	+0,0123
10000	4,0000	27	41965	9999	3,9917	+0,0083
3160	3,5000	27	14275	3401	3,5187	-0,0187
1000	3,0000	27	4337	1033	3,0020	-0,0020

Como a equivalência entre o plasma em EDTA, plasma em ACD e soro foi demonstrada (páginas 15 e 16), o fator de conversão pode ser aplicado às três matrizes.

O fator de conversão do HBV ELITe MGB® Kit em associação com o plasma em EDTA foi verificado em associação com o **ELITe BeGenius** e **ELITe InGenius** usando um painel de cinco diluições (0,5 Log entre diluições) do material de referência calibrado certificado "4.^a Norma internacional de HBV da OMS" (NIBSC) no plasma em EDTA com teste negativo para ADN de HBV. O painel era constituído por cinco pontos de diluição a partir de cerca de 4,5 Log IU/mL a 2,5 Log IU/mL. Cada amostra do painel foi testada em 4 réplicas.

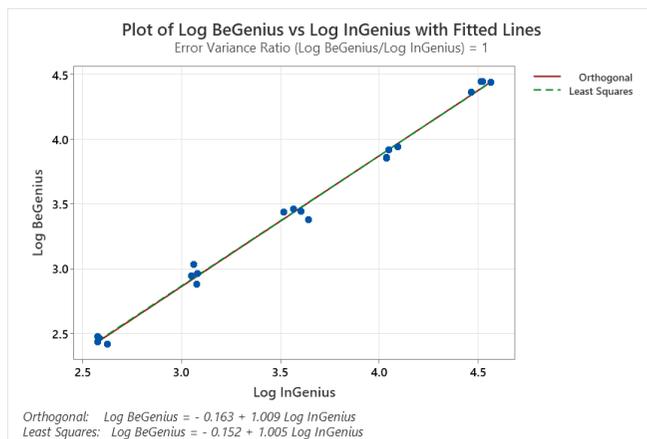
A precisão da quantificação do alvo, como um desvio padrão de Log IU/mL, foi menor que 0,5 Log.

A precisão da quantificação do alvo, como uma diferença entre as concentrações teóricas e medidas em Log IU/mL, foi menor que 0,5 Log.

Estes resultados confirmaram o fator de conversão calculado para plasma com o **ELITe InGenius**.

Os resultados obtidos pelo **ELITe InGenius** e **ELITe BeGenius** e os métodos de referência foram analisados por regressão ortogonal e linear para calcular a correlação entre os métodos.

Os resultados estão resumidos na figura seguinte.



A análise de regressão ortogonal gerou uma interceção igual a 0,163 (95% CI: 0,294; -0,032) e um declive igual a 1,009 (95% CI: 0,973 – 1,045). A análise de regressão linear gerou um R2 de 0,994.

Nota: Os fatores de conversão para o standard internacional (0,24 UI/cópias), calculados com a 4ª Standard Internacional da OMS para ADV para HBV para NAT, também podem ser aplicados para a "5th WHO International Standard for HBV DNA for NAT" (NIBSC, Reino Unido, código 22/120)

Reprodutibilidade com material de referência

A Reprodutibilidade dos resultados do ensaio comparada com outros métodos em laboratórios diferentes foi verificada através de testes ao painel de estudo de proficiência "QCMD 2020 Hepatitis B Virus DNA EQA Programme" (QCMD).

Cada membro do painel foi testado em duplicado no ELITe InGenius no modo "Extract + PCR" (Extract + PCR).

Os resultados são comunicados na tabela seguinte, onde os valores de consenso foram retirados de sistemas de amplificação em tempo real comercialmente disponíveis.

Código da amostra	Conteúdo da amostra	Consenso Log IU/mL	SD Log IU/mL	Resultados do teste Log IU/mL	Diferença (cons. – teste)
HBVDNA101S-01	HBV Tipo A	2,823	0,130	2,695	+0,128
HBVDNA101S-02	HBV Tipo D	2,673	0,148	2,625	+0,048
HBVDNA101S-03	HBV Tipo D	3,642	0,155	3,579	+0,063
HBVDNA101S-04	HBV Negativo	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
HBVDNA101S-05	HBV Tipo A	1,869	0,229	1,688	+0,181
HBVDNA101S-06	HBV Tipo A	3,803	0,156	3,781	+0,022
HBVDNA101S-07	HBV Tipo A	2,848	0,176	2,696	+0,152
HBVDNA101S-08	HBV Tipo D	1,724	0,227	1,422	+0,302

Neste teste, o ensaio detetou corretamente todos os membros do painel. Foram detetadas sete amostras no intervalo de ± 1 desvio padrão (DP) dos valores do consenso. A amostra de HBVDNA101S-08 (53 IU/mL) foi subestimada, e os resultados encontra-se dentro do intervalo ± 2 DP e $\pm 0,5$ Log IU/mL do valor de consenso.

Sensibilidade de diagnóstico: correlação do método

A sensibilidade de diagnóstico do ensaio, determinada através da análise de correlação de diferentes métodos, foi avaliada pela análise de amostras clínicas positivas para ADN de HBV de pacientes submetidos a terapia antiviral em associação com o **ELITe InGenius**. 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 obtido em associação com o ELITe InGenius também se aplica ao ELITe BeGenius.

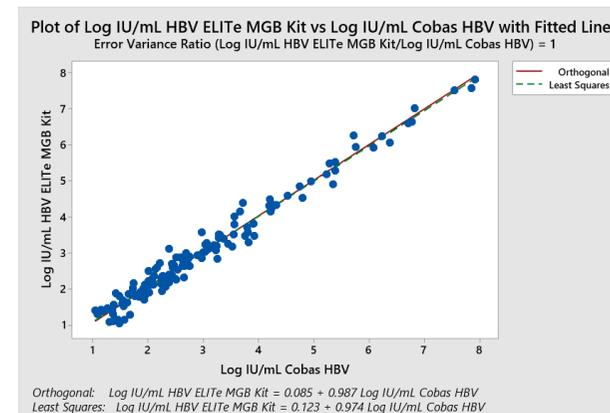
Os níveis do ADN de HBV das amostras encontravam-se dentro do intervalo de medição do HBV ELITe MGB Kit e de métodos de referência de diagnóstico molecular com marcação CE IVD ("cobas® HBV para utilização nos sistemas 4800" e "cobas® HBV para utilização nos sistemas 6800", Cobas HBV, Roche Diagnostics).

O estudo de correlação foi realizado em três locais diferentes nas seguintes 131 amostras de plasma em EDTA:

- local 1: 92 amostras clínicas de plasma em EDTA positivas para ADN de HBV,
- local 2: 17 amostras clínicas de plasma em EDTA positivas para ADN de HBV,
- local 3: 22 amostras clínicas de plasma em EDTA positivas para ADN de HBV.

Cada amostra foi sujeita a todo o procedimento de análise, incluindo à extração, amplificação, deteção e interpretação de resultados pelos produtos ELITechGroup S.p.A. e pelos métodos de referência. Os resultados obtidos pelo HBV ELITe MGB Kit e os métodos de referência foram analisados por regressão ortogonal e linear para calcular a correlação entre os métodos.

Os resultados estão resumidos na figura seguinte.



Neste teste, foi realizada uma análise de regressão ortogonal e foi gerado um declive equivalente a 0,987, 95% CI [0,959, 1,015] e uma interceção igual a 0,085; 95% CI [-0,009; 0,179]. A análise de regressão linear gerou um R2 de 0,974.

Especificidade de diagnóstico: confirmação de amostras negativas

A especificidade de diagnóstico do ensaio, avaliada pela concordância da percentagem negativa de métodos diferentes, foi avaliada em associação com o **ELiTe InGenius** através da análise de amostras clínicas negativas para ADN de HBV testadas por métodos de referência de diagnóstico molecular com marcação CE IVD (Roche Diagnostics).

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 obtido em associação com o **ELiTe InGenius** também se aplica ao **ELiTe BeGenius**.

O estudo de especificidade de diagnóstico foi realizado em três locais diferentes nas seguintes 127 amostras de plasma em EDTA:

- local 1: 93 amostras clínicas de plasma em EDTA negativas para ADN de HBV,
- local 2: 13 amostras clínicas de plasma em EDTA negativas para ADN de HBV,
- local 3: 21 amostras clínicas de plasma em EDTA negativas para ADN de HBV.

Cada amostra foi sujeita a todo o procedimento de análise, incluindo à extração, amplificação, deteção e interpretação de resultados pelos produtos **ELiTechGroup S.p.A.** Os resultados obtidos pelo **HBV ELiTe MGB Kit** foram usados para calcular a concordância de percentagem negativa com os métodos de referência.

Os resultados, após análise da discrepância, estão resumidos na tabela seguinte.

Amostras	N	Positivo	Negativo	Inválido	Especificidade do diagnóstico
Plasma em EDTA negativo para ADN de HBV	127	3	124	0	97,6%

Neste teste, 124 amostras foram confirmadas negativas. Três amostras deram um resultado positivo discordante com títulos mais baixos que o LdD do **HBV ELiTe MGB Kit** e dos métodos de referência. Estas amostras deram títulos muito baixos que podem aleatoriamente gerar resultados positivos. A especificidade de diagnóstico do **HBV ELiTe MGB Kit** foi igual a 97,6%.

Nota: Os dados e resultados completos dos testes realizados para avaliação das características de desempenho do produto com matrizes e os instrumentos estão registados na Secção 7 do Ficheiro técnico do produto "HBV ELiTe MGB Kit", FTP 602ING.

REFERÊNCIAS

- S. Velkov et al. (2018) *Genes*. 9: 495.
D. N. Clark et al. (2017) *J. of Virology*. 91: e01785-16.
E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e30

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

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

Plasma colhido em EDTA ou em ACD e Soro podem ser obtidos a partir de sangue total armazenado a +2/+25 °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.

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

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

Devido à sua elevada sensibilidade analítica, o método de PCR em tempo real usado neste produto é sensível a contaminações cruzadas a partir de amostras 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, qualificado e com formação em técnicas de biologia molecular, como extração, PCR e deteção de ácidos nucleicos.

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 ADN alvo não foi detetado no ADN extraído da amostra; no entanto, 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.

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 ADN de HBV alvo abrangida pelos primers do produto e pelas sondas podem prejudicar a deteção e quantificação do ADN alvo.

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

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

RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

Reação do Q-PCR Standard, curva standard ou reação do Controlo Positivo inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da Mistura de PCR, dos Q-PCR Standards e do Controlo Positivo (Positive Control). Verifique os volumes da Mistura PCR, dos Q-PCR Standards e do Controlo Positivo (Positive Control).
Degradação da PCR Mix.	Não use a Mistura de PCR durante mais de 7 sessões independentes (3 horas cada no bloco de refrigeração da área de inventário). Não deixe a PCR Mix à temperatura ambiente durante mais do que 30 minutos. Utilize uma nova alíquota da PCR Mix.
Degradação dos Q-PCR Standards ou do Controlo Positivo.	Não use o Q-PCR Standard durante mais de 2 sessões independentes (2 horas cada na área de Extração). Não use o Controlo Positivo para mais de 4 sessões independentes (3 horas cada na área de extração). Use novas alíquotas dos Q-PCR Standards ou do Controlo positivo (Positive Control).
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Reação de Negative Control inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da PCR Mix e do Negative Control. Verifique os volumes da PCR Mix e do Negative Control.
Contaminação do Controlo Negativo	Não use o Negative Control para mais do que 1 sessão. Utilize uma nova alíquota de água de grau de biologia molecular.
Contaminação da PCR Mix.	Utilize uma nova alíquota da PCR Mix.
Contaminação da área de extração, de Racks ou do Inventory Block.	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 PCR, do Controlo Interno e da amostra. Verifique os volumes da PCR Mix do Controlo Interno e da amostra.
Degradação da PCR Mix.	Não use a Mistura PCR durante mais de 7 sessões independentes (3 horas cada na "Inventory Area" (área dos reagentes)). Não deixe a PCR Mix à temperatura ambiente durante mais do que 30 minutos. Prepare uma nova alíquota da PCR Mix.
Degradação do modelo do Controlo Interno.	Utilize uma nova alíquota de Controlo Interno.
Inibição devido a substâncias interferentes na amostra.	Repita a amplificação com uma diluição 1:2 em água de grau de biologia molecular de amostra eluída numa sessão "PCR Only" (apenas PCR). Repita a extração com uma diluição 1:2 em água de grau de biologia molecular da amostra numa sessão "Extract + PCR" (Extrair+ PCR).
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Erro 30103	
Causas possíveis	Soluções
Concentração demasiado alta do alvo na amostra.	Se for observada uma amplificação significativa no gráfico de PCR: - seleccione o rastreio relacionado com a amostra e aprove manualmente o resultado. 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) ou - repita a extração da amostra principal com uma diluição 1:10 em água de grau de biologia molecular numa sessão "Extract + PCR" (Extrair + PCR).

Erro TH, Erro SDM, Erro Ct	
Causas possíveis	Soluções
Amostra com formato anómalo da curva.	Se for observada uma amplificação significativa no lote PCR: - repita a amplificação de amostra eluída com uma diluição 1:10 em água de grau de biologia molecular numa sessão "PCR Only" (apenas PCR) ou - repita a extração da amostra principal com uma diluição 1:10 em água de grau de biologia molecular numa sessão "Extract + PCR" (Extrair + PCR).

SÍMBOLOS

**NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA
LIMITADA**

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 da Diretiva Europeia 98/79/CE relativa a dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro*. Certificação publicada pela DEKRA Certification B.V., Holanda.



Contém materiais suficientes para "N" testes.



Atenção, consulte as instruções de utilização.

CONT

Conteúdo.

Manuseio cuidadoso da luz solar.



Fabricante.

Este produto contém reagentes produzidos pela Thermo Fisher Scientific e são vendidos ao abrigo de contratos de licenciamento celebrados entre a ELITechGroup 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 6972339, 7112684, 7319022, 7348146, 7381818, 7541454, 7582739, 7601851, 7671218, 7718374, 7723038, 7759126, 7767834, 7851606, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8569516, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529 e números de patente EP 1430147, 1687609, 1781675, 1789587, 2689031, 2714939, 2736916, 2997161 bem como pedidos que estejam atualmente pendentes.

A tecnologia ELITe InGenius® e ELITe BeGenius® está protegida 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. ELITe MGB®, o logotipo ELITe MGB®, ELITe InGenius® e ELITe BeGenius® são marcas comerciais registadas do ELITechGroup na União Europeia.



Caution, this document is a simplified version of the official instruction for use. This document is available only in English. Please refer to the complete document before use: www.elitechgroup.com

Intended use

The HBV ELITe MGB® Kit is a nucleic acid amplification assay for the detection and the quantification of Hepatitis B Virus (HBV) DNA extracted from clinical specimens.

The assay is able to detect the DNA of HBV belonging to genotypes A, B, C, D, E, F, G, H, I and RF.

The assay is validated in association with “ELITe InGenius®” and “ELITe BeGenius®” systems starting from human plasma collected in EDTA or in ACD and serum samples.

The product is intended for use as an aid in managing of HBV-infected individuals undergoing antiviral therapy. The results must be interpreted in combination with all relevant clinical observations and laboratory results.

This product is not intended for use as a screening test for the presence of HBV in blood or blood products or as a diagnostic test to confirm the presence of HBV infection.

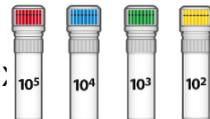
Amplified sequence

Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
Target	HBV polymerase gene (P gene)	FAM	HBV
Internal Control	IC2	AP525	IC

Validated matrix

- › Plasma EDTA or Plasma ACD
- › Serum

Kit content

HBV ELITe MGB Mix	HBV ELITe Standard	HBV Internal Control	HBV - ELITe Positive Control
 X 8		 X 8	 X 2
Ready-to-use PCR Mix 8 tubes of 280 µL 96 reactions per kit 7 freeze-thaw cycles	Ready-to-use 4 levels: 10 ⁵ , 10 ⁴ , 10 ³ , 10 ² 1 set of 4 tubes of 160 µL 2 freeze-thaw cycles	Ready-to-use IC 8 tubes of 160 µL 96 reactions per kit 12 freeze-thaw cycles	Ready-to-use PC 2 tubes of 160 µL 8 reactions per kit 4 freeze-thaw cycles

Maximum shelf-life: **24 months**

Storage Temperature: **-20 °C**

Material required not provided in the kit

- › ELITe InGenius instrument: INT030
- › ELITe InGenius SP 200 Extraction Cartridge: INT032SP200
- › ELITe InGenius PCR Cassette: INT035PCR
- › ELITe InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS
- › ELITe InGenius Waste Box: F2102-000
- › Filter Tips 300: TF-350-L-R-S
- › 1000 µL Filter Tips Tecan : 30180118

ELITe InGenius and ELITe BeGenius protocol

› Sample volume	200 µL	› Unit of quantitative result	International Unit: IU/mL
› HBV CPE volume	10 µL	› Conversion factor to IU	0.24 IU/copy
› Total elution volume	50 µL	› Frequency of controls	15 days
› PCR elution input volume	20 µL	› Frequency of calibration	60 days
› HBV PCR Mix volume	20 µL		

ELITe InGenius and ELITe BeGenius Performance

Matrix	Limit of Detection	Method Correlation	Diagnostic Specificity
Plasma / Serum	9 IU / mL 38 copies / mL	R² = 0.974 131 quantified samples	97.6% 124 confirmed samples / 127 tested samples

reference methods:

“cobas® HBV for use on the 4800 Systems” and

“cobas® HBV for use on the 6800 Systems”, Roche Diagnostics.

Sample preparation

Plasma samples collected in EDTA or ACD and Serum samples must be identified according to laboratory guidelines, transported and stored at room temperature (~+25 °C) for a maximum of three days or at +2 / +8 °C for a maximum of five days. Otherwise, they must be frozen and stored at ~-20 °C for a maximum of one month or at ~-70 °C for six months. Do not use Plasma collected in heparin in order to prevent inhibition of amplification reaction and frequent invalid results.

ELITE InGenius Procedures

The user is guided step-by-step by the ELITE InGenius software to prepare the run. All the steps: extraction, amplification and result interpretation are automatically performed. Three operational modes are available: complete run, or extraction only, or PCR only.

Before analysis

1. Switch on ELITE InGenius. Log in with username and password. Select the mode "Closed".	2. Verify calibrators: HBV Q-PCR Standard in the "Calibration" menu. Verify controls: HBV Positive Control and HBV Negative Control in the "Controls" menu. <i>Note:</i> Both must have been run, approved and not expired.	3. Thaw the HBV PCR Mix and the HBV CPE tubes. Vortex gently. Spin down 5 sec.
--	--	---

Procedure 1 - Complete run: Extraction + PCR

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", elution: "50 µL"	3. Scan the sample barcodes with hand-held barcode reader or type the sample ID
4. Select the "Assay protocol" of interest: HBV ELITE_PL_200_50, HBV ELITE_Se_200_50	5. Select the method "Extract + PCR" and the sample position: Extraction Tube	6. Load the PCR Mix and the Internal Control in the inventory block
7. Load: PCR cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip Cassette, Extraction Tube racks	8. Close the door Start the run	9. View, approve and store the results

Procedure 2 - PCR only

1 to 4: Follow the Complete Run procedure described above	5. Select the method "PCR only" and set the sample position "Elution Tube"	6. Load the PCR Mix in the inventory block
7. Load: PCR cassette rack and the Elution tube rack with the extracted nucleic acid	8. Close the door Start the run	9. View, approve and store the results

Procedure 3 - Extraction only

1 to 4: Follow the Complete Run procedure described above	5. Select the method "Extraction Only" and set the sample position: Extraction Tube	6. Load the Internal Control in the inventory block
7. Load: Extraction cartridge, Elution tube, Tip cassette, Extraction Tube racks	8. Close the door Start the run	9. Archive the eluate sample

ELiTe BeGenius Procedures

The user is guided step-by-step by the ELiTe BeGenius software to prepare the run. All the steps: extraction, amplification and result interpretation are automatically performed. Three operational mode are available: complete run, or extraction only, or PCR only.

Before analysis

1. Switch on ELiTe BeGenius.
Log in with username and password.
Select the mode "Closed".
2. Verify calibrators: **HBV Q-PCR Standard** in the "Calibration" menu.
Verify controls: **HBV Positive Control** and **HBV Negative Control** in the "Controls" menu.
Note: Both must have been run, approved and not expired.
3. Thaw the **HBV PCR Mix** and the **HBV CPE** tubes.
Vortex gently.
Spin down 5 sec.

Procedure 1 - Complete run: Extraction + PCR

1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «Extraction and PCR»



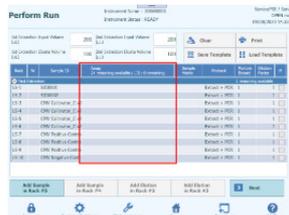
2. Insert the Sample Rack with the barcoded samples in the cooling area. The barcode scan is already active



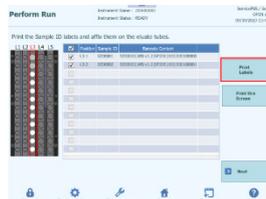
3. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "50 µL"



4. Select the "Assay protocol" of interest



5. Print the labels to barcode the empty elution tubes. Load the tubes in the Elution Control in Reagent Rack and insert it in the cooling area



6. Load the PCR-Mix and the CPE Internal Control in Reagent Rack and insert it in the cooling area



Note: if a second extraction is performed repeat steps from 2 to 4

7. Load: Filter Tips, Extraction rack, and PCR rack



8. Close the door. Start the run



9. View, approve and store the results



Procedure 2 - PCR only

<p>1. Select “Perform Run” on the touch screen and the click on the run mode «PCR Only»</p>	<p>2. Load the extracted nucleic acid barcoded tubes in the Elution Rack and insert it in the cooling area</p>	<p>3. Select the “Assay protocol” of interest</p>
<p>4. Load the PCR-Mix in Reagent Rack and insert it in the cooling area Load filter tips and the PCR rack</p>	<p>5. Close the door. Start the run</p>	<p>6. View, approve and store the results</p>

Procedure 3 - Extraction only

<p>1 to 4 : Follow the Complete Run procedure described above</p>	<p>5. Select the protocol “Extraction Only” in the Assay Protocol selection screen.</p>	<p>6. Load the CPE Internal Control in the Elution Rack and insert it in the cooling area</p>
<p>7. Load : Filter Tips and the Extraction Rack</p>	<p>8. Close the door Start the run</p>	<p>9. Archive the eluate sample</p>