



## NOTICE of CHANGE dated 05/03/2026

### 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 change:

- *Update of the paragraph "Other product required".*
- *Update of the paragraph "Notice to the users".*
- *Update of the paragraph "Troubleshooting".*
- *Update of the paragraph "Procedure limitations".*
- *Update of the paragraph "Materials provided in the product".*

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

### PLEASE NOTE

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

PRODUCT REF.	Lot Number	Expiry date
RTK602ING	C1224-002	31/10/2026
RTK602ING	C0225-002	31/12/2026



## HBV ELITE MGB® Kit

reagentes para PCR em tempo real do ADN

REF RTK602ING

UDI 08033891487027



### ÍNDICE

UTILIZAÇÃO PREVISTA .....	1
PRINCÍPIOS DO ENSAIO .....	2
DESCRIÇÃO DO PRODUTO .....	2
MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO .....	3
MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO .....	3
OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS .....	4
AVISOS E PRECAUÇÕES .....	5
AMOSTRAS E CONTROLOS .....	6
PROCEDIMENTO do ELITE InGenius .....	8
PROCEDIMENTO do ELITE BeGenius .....	13
CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO .....	17
REFERÊNCIAS .....	28
LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO .....	28
RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS .....	30
NOTIFICAÇÃO PARA OS UTILIZADORES .....	32
SÍMBOLOS .....	33
NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA .....	33

### UTILIZAÇÃO PREVISTA

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

O ensaio é validado em associação com os instrumentos **ELITE InGenius®** e **ELITE BeGenius®**, sistemas automatizado e integrado para a extração, PCR em tempo real e a interpretação dos resultados, usando amostras humanas de plasma colhido em EDTA ou ACD e soro.

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

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

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

HBV ELITE MGB® Kit

reagentes para PCR em tempo real do ADN

REF TK602ING

### PRINCÍPIOS DO ENSAIO

O ensaio consiste na PCR em tempo real para a deteção de ADN de HBV, isolado de amostras, amplificado usando o reagente de ensaio **HBV PCR Mix** que contém primers e sondas com tecnologia ELITE MGB®.

As sondas ELITE MGB são ativadas quando hibridizam com os correspondentes produtos da PCR. O **ELITE InGenius** e o **ELITE BeGenius** monitorizam o aumento da fluorescência e calculam os ciclos de limiar (Ct) e as temperaturas de fusão (Tm). A quantidade de HBV é calculada com base numa curva de calibração armazenada.

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

### DESCRIÇÃO DO PRODUTO

O **HBV ELITE MGB Kit** fornece os seguintes componentes:

#### • HBV ELITE MGB Mix

Este componente fornece o subcomponente **HBV PCR Mix**, uma mistura de PCR otimizada e estabilizada que contém os primers e sonda específicos para:

- Gene da polimerase do **HBV** (gene P), detetado no Canal **HBV**; a sonda é estabilizada por MGB®, inativada pelo Eclipse Dark Quencher® e identificada com corante FAM.
- Internal Control (IC), específico para a sequência artificial IC2, detetado no Canal **IC**; a sonda é estabilizada por MGB, inativada pelo Eclipse Dark Quencher e identificada pelo corante AquaPhluor® AP525.
- A **HBV PCR Mix** também contém tampão, cloreto de magnésio, trifosfatos de nucleótido e hot-start DNA Polimerase. Cada tubo contém **280 µL** de solução e é suficiente para **12 testes**, se processar, pelo menos, 2 amostras por sessão.

A **HBV ELITE MGB Mix** contém reagentes suficientes para **96 testes** no **ELITE InGenius** e no **ELITE BeGenius (12 testes em cada tubo)**, com 20 µL usados por reação.

#### • HBV ELITE Standard

Este componente fornece os subcomponentes **HBV Q-PCR Standard**, quatro soluções estabilizadas de ADN de plasmídeo com a região do gene da polimerase do HBV amplificada a **título conhecido**. O **HBV ELITE Standard** tem de ser usado com **HBV PCR Mix** no **ELITE InGenius** e no **ELITE BeGenius** para calcular 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 espectrofotómetro de UV como cópias/mL, que estava relacionada com a "4th WHO International Standard for HBV DNA for NAT" (NIBSC, Reino Unido, 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 no **ELITE BeGenius**, sendo usados 20 µL por reação.

#### • HBV – ELITE Positive Control

Este componente contém o subcomponente **HBV Positive Control**, uma solução estabilizada de ADN de plasmídeo com a região do gene da polimerase do HBV amplificada a **título conhecido**. O **HBV Positive Control** tem de ser usado com a **HBV PCR Mix** no **ELITE InGenius** e no **ELITE BeGenius** para gerar os gráficos de controlo para a verificação do sistema (lote do produto e instrumento).

O **HBV - Positive Control** contém reagentes suficientes para **8 sessões** no **ELITE InGenius** e no **ELITE BeGenius (4 sessões por tubo)**, sendo usados 20 µL por reação.

**HBV ELITE MGB® Kit**

reagentes para PCR em tempo real do ADN

REF TK602ING

• **HBV Internal Control**

Este componente contém o subcomponente **HBV CPE** (Internal Control exógeno), uma solução estabilizada de ADN do plasmídeo contendo a sequência artificial IC2. O **HBV CPE** é adicionado aos reagentes de extração, para validar os resultados de amostras negativas para o HBV.

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

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

**MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO**

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

**MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO**

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

**HBV ELITE MGB® Kit**

reagentes para PCR em tempo real do ADN

REF TK602ING

**OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS**

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

Instrumentos e software	Produtos e reagentes
<b>ELITE InGenius</b> (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, ref. INT030) <b>Software ELITE InGenius</b> versão 1.3.0.17 (ou superior) <b>HBV ELITE_PC</b> , protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Positive Control <b>HBV ELITE_NC</b> , protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Negative Control <b>HBV ELITE_STD</b> , protocolo de ensaio com parâmetros para a análise dos calibradores <b>HBV ELITE_PL_200_50</b> , protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de plasma <b>HBV ELITE_Se_200_50</b> , protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de soro	<b>ELITE InGenius SP 200</b> (EG SpA, ref. INT032SP200) Reagentes e consumíveis <b>ELITE InGenius</b> e <b>ELITE BeGenius</b> (ver instruções de utilização do <b>ELITE InGenius</b> e do <b>ELITE BeGenius</b> )
<b>ELITE BeGenius</b> (EG SpA, ref. INT040) <b>ELITE BeGenius Software</b> versão 2.1.0 (ou superior) <b>HBV ELITE_Be_PC</b> , Protocolo de Ensaio com parâmetros para análise do Positive Control <b>HBV ELITE_Be_NC</b> , protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Negative Control <b>HBV ELITE_Be_STD</b> , protocolo do ensaio com parâmetros para a análise dos Calibradores <b>HBV ELITE_Be_PL_200_50</b> , protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de plasma <b>HBV ELITE_Be_Se_200_50</b> , protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de soro	

## AVISOS E PRECAUÇÕES

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

## Avisos e precauções gerais

Manuseie e elimine todas as amostras biológicas como se fossem infecciosas. Evite o contacto direto com as amostras biológicas. Evite salpicos ou vaporizações. Tubos, pontas e outros materiais que entrarem em contacto com as amostras biológicas devem ser tratados durante, pelo menos, 30 minutos com hipoclorito de sódio (lixívia) a 3% ou em autoclave durante uma hora a 121 °C antes da eliminação.

Manuseie e elimine todos os reagentes e todos os materiais usados na realização do ensaio como se fossem infecciosos. Evite o contacto direto com os reagentes. Evite salpicos ou vaporizações. Os resíduos devem ser manuseados e eliminados em conformidade com as normas de segurança adequadas. Os materiais combustíveis descartáveis devem ser incinerados. Os resíduos líquidos que contenham ácidos ou bases devem ser neutralizados antes da eliminação. Não permita que os reagentes de extração entrem em contacto com hipoclorito de sódio (lixívia).

Use vestuário e luvas de proteção adequados e proteja os olhos e o rosto.

Nunca deve pipetar soluções com a boca.

Não coma, beba, fume ou aplique produtos cosméticos nas áreas de trabalho.

Lave cuidadosamente as mãos após manusear amostras e reagentes.

Elimine os reagentes remanescentes e os desperdícios em conformidade com os regulamentos em vigor.

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

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

Não utilize o produto após a data de validade indicada.

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

Não use reagentes de lotes diferentes.

Não use reagentes de outros fabricantes.

## Avisos e precauções para biologia molecular

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

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

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

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, livres de DNases e RNases e livres de ADN e ARN.

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

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

## Avisos e precauções específicos para os componentes

Componente (Subcomponente)	Temperatura de armazenamento	Utilização a partir da primeira abertura	Ciclos de congelação / descongelação	Estabilidade no bloco (ELITe InGenius e ELITe BeGenius)
HBV ELITe MGB Mix (HBV PCR Mix)	-20 °C ou menos (ao abrigo da luz solar)	60 dias	até sete	até 7 sessões separadas* de 3 horas cada ou até 7 horas consecutivas (2 sessões consecutivas de 3 horas cada e o tempo necessário para iniciar uma terceira sessão)
HBV ELITe Standard (HBV Q-PCR Standard)	-20°C ou inferior	60 dias	até duas	2 sessões separadas de 2 horas cada
HBV ELITe – Positive Control (HBV Positive Control)	-20°C ou inferior	60 dias	até quatro	4 sessões separadas de 3 horas cada
HBV ELITe Internal Control (HBV CPE)	-20°C ou inferior	60 dias	até seis	6 sessões separadas de 3 horas cada

\* com ciclos intermédios de congelação/dcongelação

## AMOSTRAS E CONTROLOS

## Amostras

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

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

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

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

## Protocolos de ensaio para o HBV ELITe MGB Kit

Amostra	Instrumento	Nome do protocolo de ensaio	Relatório	Características
Plasma ACD ou EDTA	ELITe InGenius	HBV ELITe_PL_200_50	Positivo/ cópias/mL/ IU/mL/ Negativo	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

Protocolos de ensaio para o HBV ELITe MGB Kit				
Amostra	Instrumento	Nome do protocolo de ensaio	Relatório	Características
	ELITe BeGenius	HBV ELITe_Be_PL_200_50	Positivo/ cópias/mL/ IU/mL/ Negativo	Volume inicial de extração: 200 µL Volume de eluição da extração: 50 µL Internal Control: 10 µL Sonicção: NÃO Fator de diluição: 1 Volume de PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL
	ELITe InGenius	HBV ELITe_Se_200_50	Positivo/ cópias/mL/ IU/mL/ Negativo	Volume inicial de extração: 200 µL Volume de eluição da extração: 50 µL Internal Control: 10 µL Sonicção: NÃO Fator de diluição: 1 Volume de PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL
Soro	ELITe BeGenius	HBV ELITe_Be_Se_200_50	Positivo/ cópias/mL/ IU/mL/ Negativo	Volume inicial de extração: 200 µL Volume de eluição da extração: 50 µL Internal Control: 10 µL Sonicção: NÃO Fator de diluição: 1 Volume de PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL

Para todos os protocolos, 200 µL de amostra devem ser transferidos para o tubo de extração (para o ELITe InGenius) ou para o tubo de 2 mL (para o ELITe BeGenius).

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

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

Consulte "Substâncias Potencialmente Interferentes" na secção Características de Desempenho para verificar os dados relativos a substâncias interferentes.

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

#### Calibradores e controlos da PCR

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

- Para a curva de calibração, utilize os quatro níveis do produto **HBV ELITe Standard**, fornecido com este kit, com os protocolos do ensaio **HBV ELITe\_STD** ou **HBV ELITe\_Be\_STD**.

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

- Para o Positive Control, use o produto **HBV – ELITe Positive Control**, fornecido com este kit, com os protocolos de ensaio **HBV ELITe\_PC** ou **HBV ELITe\_Be\_PC**.
- Para o Negative Control, utilize água de grau biológico molecular (não fornecida com este kit) com os protocolos de ensaio **HBV ELITe\_NC** ou **HBV ELITe\_Be\_NC**.

**Nota:** O **ELITe InGenius** e o **ELITe BeGenius** permitem a geração e o armazenamento da curva de calibração e a validação do controlo de PCR para cada lote de reagente de PCR. As curvas de validação expiram após **60 dias** e, nesse momento, é necessário voltar a executar a calibração. Os resultados do controlo da PCR expiram **após 15** e, nesse momento, é necessário voltar a executar os controlos positivos e negativos.

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

- for usado um novo lote de reagentes
- os resultados da análise de controlo da qualidade se encontrarem fora da especificação (ver o parágrafo seguinte)

- se for realizada qualquer reparação ou manutenção significativa nos instrumentos **ELITe InGenius** ou **ELITe BeGenius**.

#### Controlos da qualidade

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

### PROCEDIMENTO do ELITe InGenius

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

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

#### PASSO 1 - Verificação da disponibilidade do sistema

Antes de iniciar a sessão:

- ligue o **ELITe InGenius** e inicie sessão no modo "**CLOSED**" (Fechado),
- no menu "Calibrations" (Calibrações) na página inicial, verifique se os Calibradores (**HBV Q-PCR Standard**) estão aprovados e válidos (Estado) para o lote de **HBV PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja calibradores válidos para o lote de **HBV PCR Mix**, realize a calibração conforme descrito nas secções seguintes,
- no menu "Controls" (Controlos) na página inicial, verifique se os controlos de PCR (**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 PCR válidos disponíveis para o lote de **HBV PCR Mix** execute os controlos de PCR conforme descrito nas secções seguintes.
- escolha o tipo de execução, seguindo as instruções na Interface Gráfica do Utilizador (GUI) para a preparação da sessão e utilizando os Protocolos de ensaio fornecidos pela EG SpA (consulte "Amostras e Controlos").

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

#### PASSO 2 - Configuração da sessão

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

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

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

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

**Antes de configurar uma execução:**

Descongele os tubos de **HBV PCR Mix** necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para 12 testes em condições otimizadas (2 ou mais testes por sessão). Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.

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

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

	<b>A. Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair+PCR])</b>	<b>B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [apenas PCR])</b>
1	Identifique amostras e, se necessário, descongele à temperatura ambiente, misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Para este ensaio, 200 µL da amostra devem ser transferidos para um tubo de extração anteriormente identificado. <b>Descongele os tubos de CPE</b> necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.	<b>Descongele o Elution tube</b> (Tubo de eluição) contendo os ácidos nucleicos extraídos à temperatura ambiente. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.
2	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Início).	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Início).
3	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição do extraído") é de 50 µL.	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição do extraído") é de 50 µL.
4	Para cada amostra, atribua um Track e introduza a "SampleID" (SID) digitando ou lendo o código de barras da amostra.	Para cada amostra, atribua um Track e introduza a "SampleID" (SID) digitando ou lendo o código de barras da amostra.
5	Selecione o <b>Assay Protocol</b> (Protocolo de ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").	Selecione o <b>Assay Protocol</b> (Protocolo de ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").
6	Certifique-se de que o "Protocol" (Protocolo) apresentado é: "Extract + PCR" (Extrair + PCR).	Selecione "PCR Only" (apenas PCR) na coluna "Protocol" (Protocolo).
7	Selecione a posição de carregamento da amostra como "Extraction Tube" (Tubo de extração) na coluna "Sample Position" (Posição da amostra). Certifique-se de que o "Dilution factor" (Fator de diluição) é "1".	Certifique-se de que a posição de carregamento da amostra na coluna "Sample Position" (Posição da amostra) é "Elution Tube (bottom row)" (Tubo de eluição [linha inferior]). Certifique-se de que o "Dilution factor" (Fator de diluição) é "1".
8	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
9	<b>Carregue a CPE e PCR Mix</b> no "Inventory Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza o número de lote, data de validade e o número de reações da CPE e PCR Mix para cada tubo.	<b>Carregue a PCR Mix</b> no "Inventory Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza o número de lote, data de validade e o número de reações da PCR Mix para cada tubo.
10	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
11	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de ponta) na "Inventory Area" (Área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de ponta) na "Inventory Area" (Área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.
12	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
13	Carregue a PCR Cassette, os cartuchos de extração <b>Elite InGenius</b> SP 200 e todos os consumíveis e amostras necessários para serem extraídos.	Carregue a PCR Cassette, os tubos de eluição com as amostras extraídas
14	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
15	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
16	Prima "Start" (Iniciar).	Prima "Start" (Iniciar).

	<b>C. Execução da calibração (PCR only [Apenas PCR])</b>	<b>D. Execução de Positivo Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR])</b>
1	<b>Descongele os tubos de Q-PCR Standard</b> necessários (Cal1: Q-PCR Standard 10 <sup>2</sup> , Cal2: Q-PCR Standard 10 <sup>3</sup> , Cal3: Q-PCR Standard 10 <sup>4</sup> , Cal4: Q-PCR Standard 10 <sup>5</sup> ) à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.	<b>Descongele os tubos de Positivo Control</b> à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. <b>Prepare o Negative Control</b> , transfira pelo menos 50 µL de água de qualidade para biologia molecular para um "Elution tube" (Tubo de eluição), fornecido com o <b>ELITE InGenius</b> SP 200 Consumable Set.
2	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Início).	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Início).
3	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição do extraído") é de 50 µL.	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição do extraído") é de 50 µL.
4	Para o Q-PCR Standard, atribua a "Track", <b>selecione o Assay Protocol</b> (Protocolo de ensaio) (ver "Amostras e Controlos") na coluna "Assay" (Ensaio) e introduza o número de lote e a data de validade do reagente.	Selecione o <b>Assay Protocol</b> (Protocolo de ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos"). Introduza o número de lote e a data de validade do Positivo Control e da água de grau biológico molecular.
5	Certifique-se de que "PCR Only" (Apenas PCR) está selecionado na coluna "Protocol" (Protocolo).	Certifique-se de que "PCR Only" (apenas PCR) está selecionado na coluna "Protocol".
6	Certifique-se de que a posição de carregamento da amostra na coluna "Sample Position" (Posição da amostra) é "Elution Tube (bottom row)" (Tubo de eluição [linha inferior]).	Certifique-se de que a posição de carregamento da amostra na coluna "Sample Position" (Posição da amostra) é "Elution Tube (bottom row)" (Tubo de eluição [linha inferior]).
7	<b>Carregue a PCR Mix</b> no "Inventory Block" (Gestor do reagente) em referência a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza o número de lote, data de validade e o número de reações da PCR Mix para cada tubo.	<b>Carregue a PCR Mix</b> no "Inventory Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza o número de lote, data de validade e o número de reações da PCR Mix para cada tubo.
8	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
9	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de ponta) na "Inventory Area" (Área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de ponta) na "Inventory Area" (Área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.
10	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
11	Carregue a PCR Cassette e os tubos de Q-PCR Standard.	Carregue a PCR Cassette, o Positivo Control e o Negative Control.
12	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
13	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
14	Prima "Start" (Iniciar).	Prima "Start" (Iniciar).

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

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

**Nota:** No final da execução, a **PCR Mix** pode ser retirada do instrumento, tapada e armazenada a -20 °C ou abaixo ou pode ser mantida no bloco frigorífico durante até 7 horas (2 sessões de 3 horas cada e o tempo necessário para iniciar uma terceira sessão). Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos antes de iniciar a sessão seguinte.

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

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

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

### PASSO 3 - Revisão e aprovação dos resultados

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

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

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

O **ELITE InGenius** gera os resultados utilizando o **HBV ELITE MGB Kit** através do seguinte procedimento:

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

#### A. Validação da Curva de calibração,

O **ELITE InGenius software** interpreta os resultados do PCR para o alvo das reações do Calibrador com os parâmetros do protocolo de ensaio **HBV ELITE STD**. A Ct resultante versus a concentração produz a curva da calibração.

As curvas de calibração, específicas para o lote de reagente da PCR, são guardadas na base de dados (Calibração).

Podem ser visualizados e aprovados pelos utilizadores "Administrator" (Administrador) ou "Analyst" (Analista), seguindo as instruções na GUI.

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

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

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

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

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

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

O **software ELITE InGenius** processa os resultados do Positive Control e do Negative Control e gera os Gráficos de Controlo. São usados quatro resultados de Positive Control e de Negative Control aprovados para preparar o Gráfico de Controlo inicial. Para controlos subsequentes, os resultados são analisados pelo software para garantir que os desempenhos do sistema se encontram dentro dos critérios de aceitação, mostrados nos traçados do Gráfico de controlo. Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

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

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

### C. Validação dos resultados da amostra

O **ELITE InGenius software** interpreta os resultados de PCR para o alvo (Canal **HBV**) e do Controlo Interno (Canal **IC**) com os parâmetros do protocolo de ensaio **HBV ELITE\_PL\_200\_50** e **HBV ELITE\_Se\_200\_50**. Os valores de Ct do alvo resultante são convertidos em concentração.

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

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

1) Curva de calibração	Estado
HBV Q-PCR Standard	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 **software ELITE InGenius** usando os parâmetros do protocolo do ensaio. Estão listadas na tabela abaixo as possíveis mensagens de resultado.

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

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

Amostras indicadas como "Invalid - Retest Sample" (Inválido - testar novamente amostra): caso, o ARN do Controlo Interno não foi detetado eficientemente devido a problemas nos passos de colheita, extração ou PCR da amostra (por ex. amostragem incorreta, 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). (ver "Resolução de problemas")

As amostras comunicadas como "HBV:DNA Not detected or below "LoD" copies / mL or IU / mL" (HBV:DNA não detetado ou abaixo de "LoD" cópias/mL ou IU/mL) 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").

Amostras positivas do ADN de HBV a uma concentração abaixo do Limite de Detecção (e Limite Inferior da Quantificação) do ensaio, se detetado, são comunicadas como "HBV:DNA Detected, quantity below "LLOQ" copies/mL or IU / mL" (HBV:DNA detetado, quantidade abaixo de "LLOQ" cópias/mL ou IU/mL) (ver "Características de desempenho").

São detetadas amostras positivas de ADN de HBV no Intervalo de Medição Linear (ver "Características de desempenho") e são comunicadas como HBV:DNA Detected, quantity equal to "XXX" copies/mL or IU / mL (HBV:DNA detetado, quantidade igual a "XXX" cópias/mL ou IU/mL).

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

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

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

**D. Elaboração do relatório do resultado da amostra.**

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

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

O "Track Report" (Relatório do track) apresenta os detalhes do resultado pelo Track selecionado.

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

**PROCEDIMENTO do ELITe BeGenius**

O procedimento para utilização do **HBV ELITe MGB Kit** com o **ELITe BeGenius** consiste em três passos:

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

**PASSO 1 - Verificação da disponibilidade do sistema**

Antes de iniciar a sessão:

- ligue o **ELITe BeGenius** e inicie sessão no modo "CLOSED" (fechado),
- no menu "Calibrations" (Calibrações) na página inicial, verifique se os Calibradores (**HBV Q-PCR Standard**) estão aprovados e válidos (Estado) para o lote de **HBV PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja calibradores válidos para o lote de **HBV PCR Mix**, realize a calibração conforme descrito nas secções seguintes,
- no menu "Controls" (Controlos) na página inicial, verifique se os controlos de PCR (**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 PCR válidos disponíveis para o lote da **HBV PCR Mix** execute os controlos de PCR conforme descrito nas secções seguintes,

- escolha o tipo de execução, seguindo as instruções na Interface Gráfica do Utilizador (GUI) para a preparação da sessão e utilizando os Protocolos de ensaio fornecidos pela EG SpA (consulte "Amostras e Controlos").

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

**PASSO 2 - Configuração da sessão**

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

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

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

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

Antes de configurar uma execução:

Descongele os tubos de **HBV PCR Mix** necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para **12 testes** em condições otimizadas (2 ou mais testes por sessão). Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.

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

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

	A. Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair+PCR])	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [apenas PCR])
<b>1</b>	<b>Identifique amostras</b> e, se necessário, descongele à temperatura ambiente, misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Para este ensaio, 200 µL da amostra devem ser transferidos para um tubo Sarstedt de 2 mL previamente identificado. <b>Descongele os tubos de CPE</b> necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração	Se necessário, <b>descongele os tubos de eluição</b> contendo os ácidos nucleicos extraídos à temperatura ambiente. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.
<b>2</b>	Selecione " <b>Perform Run</b> " (Executar) a partir do ecrã "Home".	Selecione " <b>Perform Run</b> " (Executar) a partir do ecrã "Home"
<b>3</b>	Retire os Suportes da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação.	Retire os "Racks" de "Lane 1, 2 and 3" (L1, L2, L3) da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação
<b>4</b>	Selecione o "Run mode" (Modo de execução): "Extract + PCR" (Extrair+PCR).	Selecione o "Run mode" (Modo de execução): "PCR Only" (Apenas PCR).
<b>5</b>	<b>Carregue as amostras</b> no "Sample Rack" (Suporte da amostras). ( <b>Nota:</b> quando os tubos secundários "2 mL Tubes" (Tubos de 2 mL) forem carregados, use adaptadores azuis para o "Sample Rack" (Suporte de amostras).	<b>Carregue as amostras</b> no "Elution Rack" (Rack de eluição).

	A. Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair+PCR])	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [apenas PCR])
6	Insira o "Sample Rack" (Suporte de amostras) na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 5" (L5). Se necessário, insira a "Sample ID" (Identificação da amostra) (SID) para cada "Position" usada. (Se forem carregados tubos secundários, assinala "2 mL Tube" (Tubo de 2 mL). Se os tubos secundários não possuírem código de barras, digite manualmente a "Sample ID" (Identificação da amostra)).	Insira o "Elution Rack" (Rack de eluição) na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 3" (L3). Se necessário, para cada "Position" (Posição), insira a "Sample ID" (Identificação da amostra), a "Sample matrix" (Matriz da amostra), o "Extraction kit" (Kit de extração) e o "Extracted eluate vol." (Volume de eluato extraído).
7	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
8	Certifique-se de que o "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.	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.
9	Selecione o <b>Assay Protocol</b> (Protocolo de ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").	Selecione o <b>Assay Protocol</b> (Protocolo de ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").
10	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
11	Quando forem processadas mais de 12 amostras, repita o procedimento a partir do ponto 6	Quando forem processadas mais de 12 amostras, repita o procedimento a partir do ponto 6.
12	Carregue os "Elution tubes" (Tubo de eluição) no "Elution Rack" (rack de eluição) (os tubos de eluição podem ser etiquetados com código de barras para melhorar a capacidade de localização).	Não aplicável
13	Insira o "Elution Rack" na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 3" (L3). Quando mais de 12 amostras forem processadas, repita usando a "Lane 2" (L2).	Não aplicável
15	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Não aplicável
16	Carregue o CPE e a PCR Mix no "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição).	Carregue a PCR Mix no "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição).
17	Insira o "Reagent/Elution Rack" na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2) se estiver disponível, ou na "Lane 1" (L1). Se necessário, para cada reagente de PCR Mix e/ou CPE, insira o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de validade) e o "T/R" (número de reações).	Insira o "Reagent/Elution Rack" na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2) se estiver disponível, ou na "Lane 1" (L1). Se necessário, para cada reagente de PCR Mix, insira o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de validade) e o "T/R" (número de reações).
18	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
19	Verifique as pontas nos "Tip Rack(s)" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua o suporte(s) de pontas, se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Rack(s)" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua o suporte(s) de pontas, se necessário.
20	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
21	Carregue o "PCR Rack" (Rack de PCR) com a "PCR Cassette" na Inventory Area (área dos reagentes).	Carregue o "PCR Rack" (Rack de PCR) com a "PCR Cassette" na Inventory Area (área dos reagentes).
22	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
23	Carregue o "Extraction Rack" (Rack de extração) com os cartuchos de extração "ELITE InGenius SP 200" e os consumíveis de extração necessários.	Não aplicável
24	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
25	Prima "Start" (Iniciar).	Prima "Start" (Iniciar).

	C. Execução da calibração (PCR only [Apenas PCR])	D. Execução de Positive Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR])
1	Descongele os tubos de Q-PCR Standard necessários (Cal1: Q-PCR Standard 102, Cal2: Q-PCR Standard 103, Cal3: Q-PCR Standard 10 <sup>4</sup> , Cal4: Q-PCR Standard 10 <sup>5</sup> ) durante 30 minutos à temperatura ambiente. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.	Descongele os tubos de Positive Control à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Prepare o Negative Control, transfira pelo menos 50 µL de água de qualidade para biologia molecular para um "Elution tube", fornecido com o ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.
2	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Início).	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Início).
3	Retire os "Racks" de "Lane 1, 2 and 3" (L1, L2, L3) da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação.	Retire os "Racks" de "Lane 1, 2 and 3" (L1, L2, L3) da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação.
4	Selecione o "Run mode: PCR Only" (Modo de execução: Apenas PCR).	Selecione o "Run mode" (Modo de execução): "PCR Only" (Apenas PCR).
5	Carregue os tubos de standard de Q-PCR no "Elution Rack" (Rack de eluição).	Carregue os tubos de Positive Control e Negative Control no "Elution Rack" (Rack de eluição).
6	Insira o "Elution Rack" (Rack de eluição) na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 3" (L3). Se necessário, para cada "Position" introduza o "Reagent name" e o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de validade) e o "T/R" (número de reações).	Insira o "Elution Rack" (Rack de eluição) na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 3" (L3). Se necessário, para cada "Position" introduza o "Reagent name" e o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de validade) e o "T/R" (número de reações).
7	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
8	Verifique o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) (200 µL) e o "Extracted Elute Volume" (Volume de eluato do extraído) (50 µL).	Verifique o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) (200 µL) e o "Extracted Elute Volume" (Volume de eluato do extraído) (50 µL).
9	Selecione o <b>Assay Protocol</b> (Protocolo de ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").	Selecione o <b>Assay Protocol</b> (Protocolo de ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").
10	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
11	Carregue a PCR Mix no "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição).	Carregue a PCR Mix no "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição).
12	Insira o "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição) na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2). Se necessário, para cada PCR Mix, insira o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de validade) e o "T/R" (número de reações).	Insira o "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição) na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2). Se necessário, para cada PCR Mix, insira o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de validade) e o "T/R" (número de reações).
13	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
14	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua o suporte(s) de pontas, se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua o suporte(s) de pontas, se necessário.
15	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
16	Carregue o "PCR Rack" (Rack de PCR) com a "PCR Cassette" na Inventory Area (área dos reagentes).	Carregue o "PCR Rack" (Rack de PCR) com a "PCR Cassette" na Inventory Area (área dos reagentes).
17	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
18	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
19	Prima "Start" (Iniciar).	Prima "Start" (Iniciar).

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

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

**Nota:** No final da execução, a PCR Mix pode ser retirada do instrumento, tapada e armazenada a -20 C ou abaixo ou pode ser mantida no bloco frigorífico durante até 7 horas (2 sessões de 3 horas cada e o tempo

necessário para iniciar uma terceira sessão). Misture suavemente e centrifugue os conteúdos durante 5 segundos antes de iniciar a sessão seguinte.

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

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

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

**PASSO 3 - Revisão e aprovação dos resultados**

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

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

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

O **ELITe BeGenius** gera os resultados utilizando o **HBV ELITe MGB Kit** através do seguinte procedimento:

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

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

**CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO**

**Limite de deteção (LoD)**

O limite de deteção (LdD) do ensaio foi determinado no instrumento ELITe InGenius, testando um painel de plasma em ACD negativo para o HBV reforçado com material de referência certificado de HBV (4th WHO HBV International Standard, NIBSC). Foi executada a análise de regressão Probit nos resultados, e estimou-se como LdD a concentração correspondente a 95% de probabilidade de um resultado positivo.

Os resultados são comunicados nas tabelas seguintes.

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 LdD como cópias/mL para plasma em ACD foi calculado através da aplicação do fator de conversão específico (0,24 IU/cópia). 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 do LdD calculado foi verificado testando no ELITe InGenius e no ELITe BeGenius um painel de plasma em ACD, um painel de plasma em EDTA e um painel de soro reforçados com material de referência certificado de HBV à concentração indicada.

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

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

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

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

Os resultados são comunicados nas tabelas seguintes.

Amostra	N	Positivo	Negativo	NPA	Ct Ct %CV	Ct do IC completo %CV
Plasma em EDTA	30	0	30	100%	0,86	0,98
Plasma em ACD	30	0	30		1,01	

Amostra	N	Positivo	Negativo	NPA	Ct Ct %CV	Ct do IC completo %CV
Plasma em EDTA	30	0	30	97%	0,90	0,86
Soro	30	1	29		0,82	

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

Para 30 amostras reforçadas com material de referência certificado (4th WHO HBV International Standard, NIBSC), foram avaliados concordância de percentagem negativa (PPA) e o coeficiente de variação (%CV) dos valores Ct do HBV.

Os resultados são comunicados nas tabelas seguintes.

Amostra	N	Positivo	Negativo	PPA	HBV Ct %CV	%CV do Ct do HBV completo
Plasma em EDTA	30	30	0	100%	1,75	1,81
Plasma em ACD	30	30	0		1,88	

Amostra	N	Positivo	Negativo	PPA	HBV Ct %CV	HBV completo Ct %CV
Plasma em EDTA	30	30	0	100%	1,59	1,49
Soro	30	30	0		1,29	

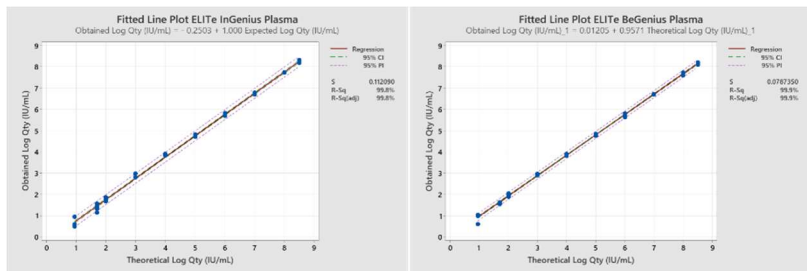
Nestes testes, as 30 amostras emparelhadas de Plasma em EDTA e de Plasma em ACD e das 30 amostras emparelhadas de Plasma e de Soro em EDTA demonstraram um desempenho equivalente quando analisadas pelo HBV ELITe MGB Kit em associação com o ELITe InGenius.

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

**Intervalo de medição linear**

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

Os resultados são comunicados nas figuras seguintes.



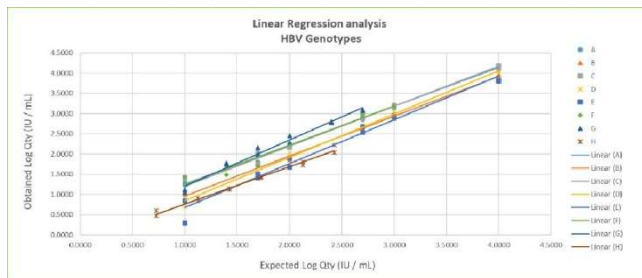
O intervalo de medição linear como cópias/mL para o plasma em ACD é calculado através da aplicação do fator de conversão específico reportado na seção seguinte.

Os resultados finais estão resumidos na tabela seguinte.

Intervalo de medição linear para o HBV ELITE MGB Kit e o ELITE InGenius e ELITE BeGenius	
Limite inferior	Limite superior
9 IU/mL	317750000 IU/mL
38 cópias/mL	1.323.958.333 cópias/mL

Para os principais genótipos do HBV (A, B, C, D, E, F, G), o intervalo de medição linear foi verificado através da análise de plasma em EDTA negativo reforçado com material de referência do HBV (1.o Painel de referência internacional da OMS para genótipos do HBV, PEI).

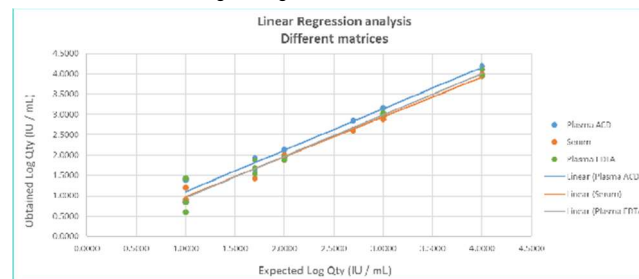
Os resultados são comunicados na figura seguinte.



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.

Para as três matrizes, o intervalo de medição linear foi verificado através da análise de plasma em EDTA negativo, plasma em ACD negativo e soro negativo reforçado com material de referência de HBV (4th WHO International Standard, NIBSC).

Os resultados são comunicados na figura seguinte.



A linearidade do ensaio foi verificada para plasma em EDTA, plasma em ACD e soro, fornecendo resultados quantitativos dentro do intervalo de  $\pm 0,5$  Log IU/mL e um R2 de 0,974, 0,982 e 0,988, respectivamente.

**Incerteza da curva de standard**

O valor da incerteza da curva de standard foi calculado combinando os erros aleatórios (DP) das quantificações de todos os níveis e multiplicando o fator de cobertura k = 2 (incerteza combinada alargada) e é igual a 0,2832 Log cópias / reação.

Níveis da curva de standard	Log c/rxn teórico	SD	Incerteza combinada alargada
HBV Q - PCR Standard 10 <sup>5</sup>	5,0000	0,0652	0,2832
HBV Q - PCR Standard 10 <sup>4</sup>	4,0000	0,0641	
HBV Q - PCR Standard 10 <sup>3</sup>	3,0000	0,0489	
HBV Q - PCR Standard 10 <sup>2</sup>	2,0000	0,0964	

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

A inclusividade do ensaio, como eficiência de detecção para diferentes genótipos do HBV foi avaliada por análise *in silico*. A análise revelou a conservação da sequência e a ausência de mutações significativas. Assim, espera-se uma detecção eficiente para as diferentes estirpes ou isolados.

A inclusividade do ensaio foi verificada testando dois painéis de materiais de referência do HBV (PEI e SeraCare) a 3x LdD.

Os resultados são comunicados nas tabelas seguintes.

1.º Painel de referência internacional da OMS para HBV		
Identificação da amostra	Pos. / Rep.	Resultado
HBV 1/A	3 / 3	HBV detetado
HBV 2/A	3 / 3	HBV detetado
HBV 3/A	3 / 3	HBV detetado
HBV 4/B	3 / 3	HBV detetado
HBV 5/B	3 / 3	HBV detetado
HBV 6/B	3 / 3	HBV detetado
HBV 7/B	3 / 3	HBV detetado
HBV 8/C	3 / 3	HBV detetado
HBV 9/C	3 / 3	HBV detetado
HBV 10/D	3 / 3	HBV detetado
HBV 11/D	3 / 3	HBV detetado
HBV 12/D	3 / 3	HBV detetado

**HBV ELITe MGB® Kit**

reagentes para PCR em tempo real do ADN

REF TK602ING

1.º Painel de referência internacional da OMS para HBV		
Identificação da amostra	Pos. / Rep.	Resultado
HBV 13/E	3 / 3	HBV detetado
HBV 14/F	3 / 3	HBV detetado
HBV 15/G	3 / 3	HBV detetado

Painel de desempenho do genótipo de ADN de HBV AccuSet™		
Identificação da amostra	Pos. / Rep.	Resultado
A	3 / 3	HBV detetado
B	3 / 3	HBV detetado
C	3 / 3	HBV detetado
D	3 / 3	HBV detetado
E	3 / 3	HBV detetado
F	3 / 3	HBV detetado
H	3 / 3	HBV detetado

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

**Marcadores potencialmente interferentes: Reatividade cruzada**

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

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Identificação da amostra	Pos./Rep. HBV	Resultado
Adenovírus 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

Identificação da amostra	Pos./Rep. HBV	Resultado
HTLVII	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Parvovírus B19	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Echovírus 4	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Vírus do dengue tipo 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
WNV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Vírus Influenza A (H1N1)	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Vírus 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

**HBV ELITe MGB® Kit**

reagentes para PCR em tempo real do ADN

REF TK602ING

Identificação da amostra	Pos./Rep. HBV	Resultado
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 organismos potencialmente interferentes testados revelaram que não há reatividade cruzada para a amplificação do alvo HBV utilizando o HBV ELITe MGB Kit.

**Marcadores potencialmente interferentes: Inibição**

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Identificação da amostra	Pos./Rep. HBV	Resultado
Adenovírus 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
Parvovírus B19	3 / 3	Sem interferência
Echovírus 4	3 / 3	Sem interferência
Vírus do dengue tipo 3	3 / 3	Sem interferência
WNV	3 / 3	Sem interferência
Vírus Influenza A (H1N1)	3 / 3	Sem interferência
Vírus 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 não revelaram qualquer inibição da deteção e quantificação do alvo HBV utilizando o HBV ELITe MGB Kit.

**Substâncias potencialmente interferentes: Inibição**

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Amostra	Pos./Rep. HBV	Resultado
EDTA	3 / 3	Sem interferência
Heparina	1 / 3	Interferência
Sangue altamente hemolítico	3 / 3	Sem interferência
Plasma lipémico	3 / 3	Sem interferência
Plasma icterico	3 / 3	Sem interferência
Ganciclovir	3 / 3	Sem interferência
Azitromicina	3 / 3	Sem interferência
Glecaprevir	3 / 3	Sem interferência
Entecavir	3 / 3	Sem interferência
Tenofovir	3 / 3	Sem interferência
Lamivudina	3 / 3	Sem interferência

A maioria das substâncias testadas não interfere com a amplificação de HBV ou do Controlo Interno.

A heparina foi confirmada como sendo capaz de inibir a amplificação do HBV. No entanto, graças ao valor-limite de Ct do Internal Control (IC Ct < 31), os resultados das amostras são "inválidos" em vez de "falsos negativos".

#### Contaminação cruzada

A possível contaminação cruzada foi avaliada através da análise de 30 amostras de plasma negativas para o ADN do HBV, alternadas com 30 amostras de plasma reforçadas com material de referência certificado para HBV (Zeptomatrix) em título alto.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

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

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

#### Taxa de falha de todo o sistema

A taxa de falha de todo o sistema para o ensaio foi avaliada no ELITe InGenius e no ELITe BeGenius através do teste de um painel de amostras reforçadas com material de referência certificado (4th WHO HBV International Standard, NIBSC) a uma concentração de 3 x LdD (cerca de 27 IU/mL).

Os resultados estão resumidos nas tabelas seguintes.

ELITe InGenius - Taxa de falha de todo o sistema				
Amostras	N	Positivo	Negativo	Taxa de falha de todo o sistema
Plasma enriquecido em EDTA	100	100	0	0%
Plasma enriquecido em ACD	30	30	0	0%
Soro enriquecido	30	30	0	0%

ELITe BeGenius - Taxa de falha de todo o sistema				
Amostras	N	Positivo	Negativo	Taxa de falha de todo o sistema
Plasma enriquecido em EDTA	100	100	0	0%

Neste teste com o HBV ELITe MGB Kit, nenhuma das amostras de HBV positivas testadas deu resultados falsos negativos. Neste teste, a taxa de falha geral do sistema foi igual a 0%.

#### Repetibilidade

A repetibilidade intra-sessão e inter-sessão do ensaio foi avaliada no ELITe InGenius e no ELITe BeGenius através da análise de um painel de amostras de plasma, incluindo uma amostra negativa e duas amostras enriquecidas com material de referência certificado de HBV (4th WHO HBV International Standard, NIBSC).

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

Repetibilidade intra-sessão do ELITe InGenius (dia 1)								
Amostra	HBV				%Concordância	Internal Control		
	N	Ct médio	SD	%CV		Ct médio	SD	%CV
Negativo	8	-	-	-	100%	29,10	0,23	0,79
3X LOD	8	38,90	0,50	1,29	100%			
10X LOD	8	36,50	0,16	0,44	100%			

Repetibilidade intra-sessão do ELITe BeGenius (dia 1)								
Amostra	HBV				%Concordância	Internal Control		
	N	Ct médio	SD	%CV		Ct médio	SD	%CV
Negativo	8	-	-	-	100%	30,06	0,37	1,24
3X LOD	8	38,64	0,46	1,19	100%			
10X LOD	8	36,83	0,34	0,93	100%			

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

Repetibilidade inter-sessão do ELITe InGenius (dia 1 + dia 2)								
Amostra	HBV				%Concordância	Internal Control		
	N	Ct médio	SD	%CV		Ct médio	SD	%CV
Negativo	16	-	-	-	100%	29,15	0,51	1,74
3X LOD	16	38,71	0,69	1,78	100%			
10X LOD	16	36,57	0,33	0,91	100%			

Repetibilidade inter-sessão do ELITe BeGenius (dia 1 + dia 2)								
Amostra	HBV				%Concordância	Internal Control		
	N	Ct médio	SD	%CV		Ct médio	SD	%CV
Negativo	16	-	-	-	100%	30,04	0,54	1,80
3X LOD	16	38,93	0,86	2,22	100%			
10X LOD	16	36,87	0,35	0,94	100%			

No teste de repetibilidade, o HBV ELITe MGB Kit detetou corretamente o alvo e apresentou uma variabilidade máxima dos valores de Ct do alvo como %CV igual a 2,22%.

#### Reprodutibilidade

A reprodutibilidade intralocal, inter-instrumento e inter-lote do ensaio foi avaliada no ELITe InGenius e no ELITe BeGenius através da análise de um painel de amostras de plasma, incluindo uma amostra negativa e

duas amostras reforçadas com material de referência certificado de HBV (4th WHO HBV International Standard, NIBSC).

Um resumo de reprodutibilidade interlocal (em três locais) é mostrado nas tabelas abaixo.

Reprodutibilidade interlocal do ELITe InGenius								
Amostra	HBV				%Concordância	Internal Control		
	N	Ct médio	SD	%CV		Ct médio	SD	%CV
Negativo	24	Indet.	-	-	100%	28,73	0,45	1,58
3X LOD	24	37,60	0,68	1,80	100%			
10X LOD	24	35,63	0,35	0,98	100%			

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

Reprodutibilidade inter-instrumento do ELITe InGenius								
Amostra	HBV				%Concordância	Internal Control		
	N	Ct médio	SD	%CV		Ct médio	SD	%CV
Negativo	24	-	-	-	100%	29,08	0,31	1,05
3X LOD	24	37,69	0,69	1,83	100%			
10X LOD	24	36,04	0,55	1,53	100%			

Reprodutibilidade inter-instrumento do ELITe BeGenius								
Amostra	HBV				%Concordância	Internal Control		
	N	Ct médio	SD	%CV		Ct médio	SD	%CV
Negativo	24	-	-	-	100%	30,67	0,86	2,80
3X LOD	24	38,54	1,08	2,79	100%			
10X LOD	24	36,53	0,76	2,09	100%			

Um resumo de reprodutibilidade inter-lote (em três lotes) é mostrado nas tabelas abaixo.

Reprodutibilidade inter-lote do ELITe InGenius								
Amostra	HBV				%Concordância	Internal Control		
	N	Ct médio	SD	%CV		Ct médio	SD	%CV
Negativo	48	-	-	-	100%	29,01	0,38	1,31
3X LOD	48	38,05	0,85	2,23	100%			
10X LOD	48	35,99	0,53	1,47	100%			

Reprodutibilidade inter-lote do ELITe BeGenius								
Amostra	HBV				%Concordância	Internal Control		
	N	Ct médio	SD	%CV		Ct médio	SD	%CV
Negativo	48	-	-	-	100%	29,89	0,51	1,71
3X LOD	48	38,19	0,85	2,24	100%			
10X LOD	48	36,38	0,57	1,57	100%			

No teste de reprodutibilidade, o HBV ELITe MGB Kit detetou corretamente todas as amostras conforme esperado e apresentou uma variabilidade máxima dos valores de Ct do alvo como %CV igual a 2,79%.

**Fator de conversão para unidades internacionais**

O fator de conversão para relatar os resultados quantitativos em unidades internacionais/mL a partir de cópias/mL, foi verificado usando material de referência calibrado e certificado "4th WHO HBV International Standard" (NIBSC). O fator de conversão foi determinado como 0,24 IU/cópia.

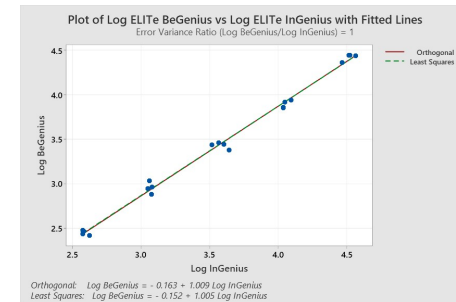
Na tabela seguinte é apresentado um resumo dos resultados.

Fator de conversão para unidades internacionais, Fc = 0,24 IU/cópia						
Amostra			Resultado			Diferença de Log (ref. - teste)
IU/mL	Registo IU/mL	N	Média c/mL	Média IU/mL	Média Log IU/mL	
31.600	4,5000	27	133.240	31.748	4,4877	+0,0123
10.000	4,0000	27	41.965	9.999	3,9917	+0,0083
3.160	3,5000	27	14.275	3.401	3,5187	-0,0187
1.000	3,0000	27	4.337	1.033	3,0020	-0,0020

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

O fator de conversão do HBV ELITe MGB Kit em associação com plasma em EDTA foi verificado em associação com os instrumentos ELITe BeGenius e ELITe InGenius utilizando o material de referência calibrado certificado "4th WHO HBV International Standard" (NIBSC). Os resultados obtidos foram analisados por regressão ortogonal e linear para calcular a sua correlação.

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.

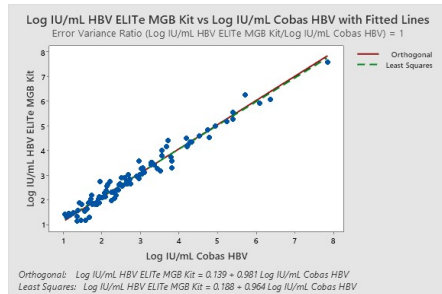
**Nota:** Os fatores de conversão para o standard internacional (0,24 UI/cópias), calculados com o 4th WHO International Standard for HBV DNA for NAT, também podem ser aplicados para o "5th WHO International Standard for HBV DNA for NAT" (NIBSC, Reino Unido, código 22/120).

**Sensibilidade de diagnóstico: correlação do método**

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

O estudo de correlação foi realizado num local em 93 amostras clínicas positivas para ADN do HBV de plasma colhido em EDTA usando o "cobas® HBV para utilização no sistema 6800" como comparador.

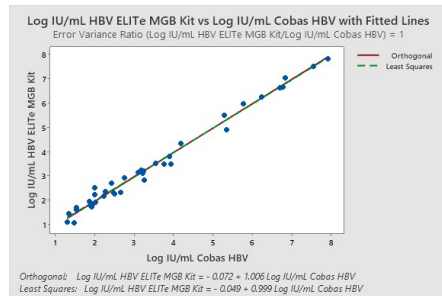
Os resultados estão resumidos na figura seguinte.



Neste teste, a análise da regressão ortogonal gerou um declive igual a 0,981 (95% IC: 0,943; 1,020) e uma interceção igual a 0,139 (95% CI: 0,018 – 0,259). A análise de regressão linear gerou um R2 de 0,964.

O estudo de correlação foi realizado noutros dois locais em 38 amostras clínicas positivas para ADN do HBV de plasma colhido em EDTA usando o "cobas® HBV para utilização no sistema 4800" como comparador.

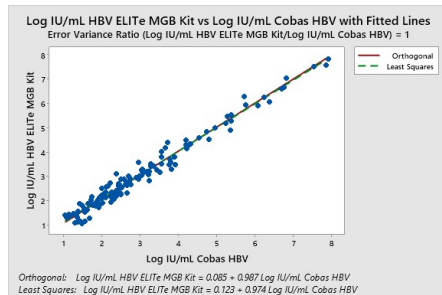
Os resultados estão resumidos na figura seguinte.



Neste teste, a análise da regressão ortogonal gerou um declive igual a 1,006 (95% IC: 0,968; 1,043) e uma interceção igual a -0,072 (95% CI: -0,219 – 0,080). A análise de regressão linear gerou um R2 de 0,987.

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

Os resultados estão resumidos na figura seguinte.



Neste teste, a análise da regressão ortogonal gerou um declive igual a 0,987 (95% IC: 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.

Dado que o ELITe BeGenius tem desempenhos analíticos equivalentes ao ELITe InGenius, os desempenhos de diagnóstico do ensaio realizados nos dois instrumentos também foram considerados equivalentes. Por conseguinte, a sensibilidade do diagnóstico do ensaio obtida no ELITe InGenius também se aplica ao ELITe BeGenius.

#### Especificidade de diagnóstico: confirmação de amostras negativas

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

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

Amostras de plasma em EDTA negativo para ADN de HBV	N	Positivo	Negativo	Especificidade do diagnóstico
Referência: cobas HBV para utilização no sistema 6800	93	3	90	96,8%
Referência: cobas HBV para utilização no sistema 4800	34	0	34	100%
Resultados unidos	127	3	124	97,6%

Três amostras deram resultados positivos discordantes com títulos abaixo do LdD do HBV ELITe MGB Kit e dos métodos de referência. Estas amostras podem gerar aleatoriamente resultados positivos.

Dado que o ELITe BeGenius tem desempenhos analíticos equivalentes ao ELITe InGenius, os desempenhos de diagnóstico do ensaio realizados nos dois instrumentos também foram considerados equivalentes. Por conseguinte, a especificidade do diagnóstico do ensaio obtida no ELITe InGenius também se aplica ao ELITe BeGenius.

**Nota:** Os dados e resultados completos dos testes realizados para avaliação das características de desempenho do produto com matrizes e o instrumento estão registados no Ficheiro técnico do produto para o "HBV ELITe MGB® Kit", FTP602ING.

#### 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.

<https://www.mayocliniclabs.com> (ID do teste HBVQN).

<https://ltd.aruplab.com> (test number 3000863).

<https://ltd.clevelandcliniclabs.com> (número do teste 87517).

#### LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

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

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

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

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

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

O produto não se destina a ser utilizado como teste de diagnóstico para confirmar a presença de infeção pelo 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 contaminação a partir de amostras clínicas positivas, dos controlos positivos e dos produtos de PCR. A contaminação cruzada causa resultados falsos positivos. O formato do produto foi concebido para limitar a contaminação cruzada. No entanto, as contaminações cruzadas podem ser evitadas simplesmente através de boas práticas laboratoriais e do cumprimento destas instruções de utilização.

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

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

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

Para evitar resultados incorretos, este produto deve ser manuseado por profissionais, 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 do alvo não foi detetado no ARN extraído da amostra; no entanto, não pode negligenciar-se o facto de o ARN do 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.

Embora a região da polimerase viral, selecionada como alvo deste ensaio molecular, seja a mais conservada no genoma do HBV, são possíveis, na natureza, polimorfismos, inserções ou deleções dentro desta região. Se estas mutações afetarem a região do ADN abrangida pelos primers e pela sonda do ensaio, a precisão da deteção e quantificação do ADN alvo poderá ser alterada de forma variável.

Tal como acontece com qualquer outro dispositivo médico de diagnóstico que tenha como alvo uma sequência genética, os resultados quantitativos obtidos com este produto não podem ser avaliados de forma absoluta com base numa única amostra, mas sim com base na evolução dos valores de várias amostras biológicas consecutivas, devendo ser interpretados em conjunto com todas as observações clínicas e resultados laboratoriais relevantes. Mais concretamente, o ensaio quantitativo do HBV-ADN é essencial para o acompanhamento terapêutico de doentes HBV-positivos, independentemente de terem ou não recebido terapia antiviral; no entanto, tal como indicado nas Diretrizes EASL 2025, para uma avaliação correta da eficácia da terapia e das regras de interrupção do tratamento, é necessário combinar os resultados da cinética do HBV-DNA com o ensaio quantitativo das transaminases e do HBsAg.

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

Tal como acontece com qualquer outro dispositivo médico de diagnóstico, existe um risco residual de obter resultados inválidos ou errados com este produto. Este risco residual não pode ser eliminado ou ainda mais reduzido. Em alguns casos, este risco residual pode contribuir para decisões erradas com potenciais efeitos

perigosos para o paciente. No entanto, este risco residual associado à utilização prevista do produto foi ponderado em relação aos potenciais benefícios para o paciente e foi considerado aceitável.

## RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

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

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 Negative Control.	Não use o Negative Control para mais do que 1 sessão. Utilize uma nova alíquota de água de grau de biologia molecular.
Contaminação da PCR Mix.	Utilize uma nova alíquota da PCR Mix.
Contaminação da área de extração, dos Racks, do Inventory Block (Gestor do reagente) ou da Cooler Unit.	Limpe as superfícies com detergentes aquosos, lave as batatas 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 PCR Mix durante mais de 7 sessões independentes (3 horas cada na Inventory Area (área dos reagentes) ou na Cooler Unit). Não utilize a PCR Mix durante mais de 3 sessões consecutivas (7 horas no bloco de refrigeração da Inventory Area (área dos reagentes) ou na Cooler Unit). Não deixe a PCR Mix à temperatura ambiente durante mais do que 30 minutos. Utilize 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 de 1:2 em água de grau para biologia molecular de amostra de eluato numa sessão "PCR only" (Apenas PCR). Repita a extração com uma diluição 1:2 em água de grau de biologia molecular da amostra numa sessão "Extract + PCR" (Extrair+ PCR).
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

**Cálculo do Ct na presença de uma curva de dissociação anómala**

Causas possíveis	Soluções
Pico definido mas Tm diferente do de outras amostras e dos Standards ou Positive Control: -elevada quantidade de produtos de reação de amplificação	Uma elevada quantidade de produtos de reação de amplificação pode interferir na análise da curva de fusão: se o valor Ct alvo for inferior a 15, a amostra pode ser considerada positiva.
Pico definido mas Tm diferente do de outras amostras e dos Standards ou Positive Control: -baixa quantidade de produtos de reação de amplificação	Uma baixa quantidade de produtos de reação de amplificação no final da reação pode tornar a análise da curva de fusão inadequada: se o valor Ct do alvo for inferior a 35, a amostra pode ser considerada positiva.
Pico definido mas Tm diferente do de outras amostras e dos Standards ou Positive Control: -presença de uma ou mais mutações na sequência-alvo detetadas pela sonda	Se o valor Ct do alvo estiver entre 15 e 35, a amostra pode ser considerada positiva, e a diferença na Tm pode ser atribuída à variabilidade genotípica do vírus. Para confirmar a presença do alvo com uma possível mutação, repita a reação de amplificação da amostra. O alvo na amostra pode ser sequenciado para confirmar a mutação.

**Não se efetua o cálculo do Ct na presença de uma curva de dissociação anómala**

Causas possíveis	Soluções
Pico definido mas Tm diferente do de outras amostras e 6 °C ou mais inferior à dos standards ou controlo positivo. - presença de uma ou mais mutações na sequência-alvo detetadas pela sonda	Repita a reação de amplificação da amostra para confirmar a presença do alvo com uma possível mutação. O alvo na amostra deve ser sequenciado para confirmar a mutação.

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

**Elevada taxa anómala de resultados positivos na mesma sessão (reações com valores de Ct recentes semelhantes)**










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

**NOTIFICAÇÃO PARA OS UTILIZADORES**

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

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

## SÍMBOLOS

	Número de catálogo.
	Limite máximo da temperatura.
	Código de lote.
	Prazo de validade (último dia do mês).
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Cumprimento dos requisitos do Regulamento IVDR 2017/746/CE relativo a dispositivos médicos de diagnóstico <i>in vitro</i> Certificação emitida pela TÜV Süd Product Service GmbH, Alemanha.
	Identificação única de dispositivo
	Contém suficiente para "N" testes.
	Atenção, consulte as instruções de utilização.
	Conteúdo.
	Manter afastado da luz solar.
	Fabricante.

## NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA

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

Os reagentes de deteção ELITe MGB® são abrangidos por um ou mais dos números de patente dos 7319022, 7348146, 7381818, 7541454, 7671218, 7718374, 7723038, 7759126, 7767834, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529 e números de patente EP 1687609, 1781675, 1789587, 2689031, 2714939, 2736916, 2997161 bem como pedidos que estejam atualmente pendentes.

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

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

cobas® é uma marca comercial registada da Roche Diagnostics.

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



Caution, this document is a simplified version of the official instruction for use.  
Please refer to the complete document before use: [www.elitechgroup.com](http://www.elitechgroup.com)

## Intended use

The product **HBV ELITe MGB® Kit** is an *in vitro* diagnostic medical device intended to be used by healthcare professionals as quantitative nucleic acids Real-Time PCR assay for the detection and the quantification of the DNA of Hepatitis B Virus (HBV), extracted from clinical specimens.

The assay is validated in association with **ELITe InGenius®** and **ELITe BeGenius®** instruments, automated and integrated systems for extraction, Real-Time PCR and results interpretation, using human specimens of plasma collected in EDTA or in ACD and serum.

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 outcomes.

The product is not intended to be used for screening or to detect the presence or the exposure to transmissible agents in blood, blood components, cells, tissues, organs or any of their derivatives in order to assess their suitability for transfusion, transplantation or cell administration. The product is not intended for use as a diagnostic test to confirm the presence of HBV infection.

## Amplified sequence


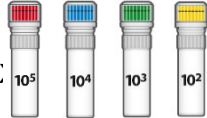


Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
Target	HBV polymerase gene (P gene)	FAM	HBV
Internal Control	IC2	AP525	IC

## 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 1	 X 8	 X 2
Ready-to-use PCR Mix 8 tubes of 280 µL 12 reactions per tube 96 reactions per kit 7 freeze-thaw cycles	Ready-to-use Calibrators: 4 levels 1 set of 4 tubes of 160 µL 2 reactions per tube 2 reactions per kit 2 freeze-thaw cycles	Ready-to-use IC 8 tubes of 160 µL 96 reactions per kit 6 freeze-thaw cycles	Ready-to-use Positive Control 2 tubes of 160 µL 4 reactions per tube 8 reactions per kit 4 freeze-thaw cycles

Maximum shelf-life: **24 months**

Storage Temperature: **-20 °C**

## Other product required not provided in the kit

- › ELITe InGenius instrument: INT030
- › ELITe BeGenius instrument: INT040
- › ELITe InGenius SP 200: INT032SP200.  
ELITe InGenius PCR Cassette: INT035PCR.
- › ELITe InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS
- › ELITe InGenius Waste Box: F2102-000
- › 300 µL Filter Tips Axigen: TF-350-L-R-S (ELITe InGenius only)
- › 1000 µL Filter Tips Tecan : 30180118 (ELITe BeGenius only)

## 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 Performances

Matrix	Limit of Detection	Diagnostic Sensitivity: Method Correlation	Diagnostic Specificity
Plasma / Serum	9 IU / mL 38 copies / mL	<b>R<sup>2</sup> = 0.974</b> <small>131 quantified samples</small>	<b>97.6%</b> <small>124 confirmed samples / 127 tested samples</small>
reference methods: "cobas® HBV for use on the 4800 Systems" and "cobas® HBV for use on the 6800 Systems", Roche Diagnostics.			

### Sample preparation

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

Sample type	Transport/Storage conditions			
	+16 / +26 °C (room temperature)	+2 / +8 °C	-20 ±10 °C	-70 ±15 °C
Plasma samples collected in EDTA or ACD	≤ 3 days	≤ 5 days	≤ 1 month	≤ 6 months
Serum	≤ 3 days	≤ 5 days	≤ 1 month	≤ 6 months

Do not use Plasma collected in heparin to prevent inhibition of amplification reaction and frequent invalid results.

### ELITE InGenius Procedures

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

#### Before analysis

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

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", elution: "50 µL"	3. Scan the sample barcodes with handheld barcode reader or type the sample ID
4. Select the "Assay Protocol" of interest: HBV ELITE_PL_200_50 or 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

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

#### Procedure 2 - PCR Only (e.g., eluates, standards, controls)

1 to 4: Follow the Procedure 1 described above (select the Assay Protocol: HBV ELITE_PC and HBV ELITE_NC or HBV ELITE_STD)	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, standards or controls	8. Close the door Start the run	9. View, approve and store the results

## ELITE BeGenius Procedures

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

### Before analysis

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

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

<p><b>1.</b> Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «Extract + PCR»</p>	<p><b>2.</b> Insert the Sample Rack with the barcoded samples in the Cooler Unit. The barcode scan is already active</p>	<p><b>3.</b> Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "50 µL"</p>
<p><b>4.</b> Select the "Assay Protocol" of interest (HBV ELITE_Be_PL_200_50 or HBV ELITE_Be_Se_200_50)</p> <p><b>Note:</b> if a second extraction is performed repeat steps from 2 to 4</p>	<p><b>5.</b> Print the labels to barcode the empty elution tubes. Load the tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit.</p>	<p><b>6.</b> Load the PCR-Mix and the CPE in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit.</p>
<p><b>7.</b> Load: "PCR Rack" with "PCR Cassette" and the "Extraction Rack" with the "ELITE InGenius SP 200" extraction cartridges and the required extraction consumables</p>	<p><b>8.</b> Close the door. Start the run</p>	<p><b>9.</b> View, approve and store the results</p>

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

### Procedure 2 - PCR Only (e.g., eluates, standards, controls)

<p><b>1.</b> Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «PCR Only»</p>	<p><b>2.</b> Load the extracted nucleic acid or controls/calibrators barcoded tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit</p>	<p><b>3.</b> Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "50 µL"</p>
<p><b>4.</b> Select the "Assay protocol" of interest (HBV ELITE_Be_PC and HBV ELITE_Be_NC or HBV ELITE_Be_STD)</p>	<p><b>5.</b> Load the PCR-Mix in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit</p>	<p><b>6.</b> Load "PCR Rack" with "PCR Cassette"</p>
<p><b>7.</b> <b>4.</b> Close the door. Start the run</p>	<p><b>8.</b> . View, approve and store the results</p>	