

Instructions for use

HBV ELITe MGB® Kit

reagentes para PCR em tempo real do ADN



REF RTK602ING

UDI 08033891487027

CE
0123

IVD

HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES

Rev.	Aviso de alteração	Data (dd/mm/aa)
08-R	Expansão de utilização do produto em associação com o instrumento MyGenius PRO (REF INT050) com matrizes de Plasma EDTA ou ACD e soro. Atualização para o "Modelo 2 versão 4.0.2" dos protocolos de ensaio para os instrumentos ELITE InGenius® (REF INT030) e ELITE BeGenius® (REF INT040). Novos gráficos e definição de conteúdos das instruções de utilização.	16/09/26
07-R	Atualização do parágrafo "Outros produtos necessários" Atualização dos parágrafos: "Limitação do procedimento" e "Resolução de problemas"	05/03/26
06-R	Substituição do tubo de 2mL 953-217 e da tampa branca 953-223 pelo tubo de 2mL 953-065 relativo aos tubos de componentes de PCR Mix.	01/08/25
05-R	Atualização para conformidade com o Regulamento (UE) 2017/746 em matéria de requisitos de dispositivo médico para diagnóstico in vitro (IVDR). Upgrade dos desempenhos analíticos e de diagnóstico no parágrafo CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO NOTE A composição do produto permanece inalterada	20/06/25
04	Princípio do ensaio: Correção de um erro de digitação no nome da região do gene da polimerase do HBV. Outros produtos necessários: nota relativa à disponibilidade de HBV ELITE Standard (Ref STD602ING) e HBV - ELITE Positive Control (Ref CTR602ING) como produtos separados. Avisos e precauções específicos para os componentes: prolongamento do período de utilização de cada tubo de reagente até 60 dias a partir da primeira abertura. Descrição do produto: concentração de ADN do plasmídeo também correlacionada com "5th WHO International Standard for HBV DNA for NAT".	07/06/24
03	Extensão de utilização do produto em associação com o «Instrumento ELITE BeGenius®» (REF INT040).	08/08/22
00 — 02	Desenvolvimento de novo produto e alterações subsequentes	-

NOTE

Os lotes de produtos identificados pelos seguintes números de LOTE continuam disponíveis no mercado em virtude do IVDR até às suas datas de validade, de acordo com o Artigo 110 de IVDR. Caso esteja na posse desses lotes de produtos, contacte a equipa ELITechGroup para solicitar a revisão anterior das instruções de utilização.

REF. PRODUTO	Número de lote	Data de expiração
RTK602ING	C1224-002	31/10/2026
RTK602ING	C0225-002	31/12/2026

ÍNDICE

1 UTILIZAÇÃO PREVISTA	4
2 PRINCÍPIOS DO ENSAIO	4
3 DESCRIÇÃO DO PRODUTO	4
4 MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO	6
5 MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO	6
6 OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS	6
7 AVISOS E PRECAUÇÕES	7
8 AMOSTRAS E CONTROLOS para o ELiTe InGenius, ELiTe BeGenius E MyGenius PRO	9
9 PROCEDIMENTO do ELiTe InGenius	12
10 PROCEDIMENTO do ELiTe BeGenius	19
11 PROCEDIMENTO MyGenius PRO	24
12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELiTe InGenius, ELiTe BeGenius e MyGenius PRO	29
13 REFERÊNCIAS	45
14 LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO	46
15 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS	47
16 SÍMBOLOS	52
17 NOTIFICAÇÃO PARA OS UTILIZADORES	52
18 NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA	52
Appendix A QUICK START GUIDE	54
Appendix B QUICK START GUIDE	59

1 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®** e **MyGenius PRO®** (nome de registo ELIVERSE®), sistemas automatizados e integrados para a extração, PCR em tempo real e a interpretação dos resultados, usando amostras humanas de plasma colhido em EDTA ou em ACD e soro.

O produto está previsto para utilização como auxiliar na gestão de indivíduos infetados por 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.

2 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. **ELITe InGenius**, **ELITe BeGenius** e **MyGenius PRO** 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 extintos no estado de cadeia única de espiral aleatória da sonda. Os fluoróforos são ativados no duplex amplicon / sonda dado que o inativador está espacialmente separado do fluoróforo. Ressalva-se que o fluoróforo não é clivado durante a PCR e pode ser utilizado para a análise da dissociação e o cálculo da temperatura de fusão.

3 DESCRIÇÃO DO PRODUTO

O **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

AHBV PCR Mix também contém tampão, cloreto de magnésio, trifosfatos de nucleótido e ADN Polimerase de início a quente.

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**, no **ELITe BeGenius** e no **MyGenius PRO (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**, no **ELITe BeGenius** e no **MyGenius PRO** para calcular a curva de calibração do sistema (lote do produto e instrumento) para a quantificação de HBV.

NOTE

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

O **HBV ELITe Standard** contém reagentes suficientes para **2 sessões no ELITe InGenius**, no **ELITe BeGenius** e no **MyGenius PRO**, 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**, no **ELITe BeGenius** e no **MyGenius PRO** para gerar os gráficos de controlo para a verificação do sistema (lote do produto e instrumento).

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

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** tem de ser usado no **ELITe InGenius** e no **ELITe BeGenius** e é adicionado a reagentes de extração para validar os resultados de amostras negativas para HBV.

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

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

4 MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO

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

5 MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO

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

6 OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS

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

Table 1

Instrumentos e software	Produto e reagentes
ELiTe InGenius(ELiTechGroup S.p.A., EG SpA, ref. INT030) Software ELiTe InGenius versão 1.4.0 (ou mais recente) HBV ELiTe_PC, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Positive Control HBV ELiTe_NC, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Negative Control HBV ELiTe_STD, protocolo de ensaio com parâmetros para a análise dos Calibradores HBV ELiTe_PL_200_50, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de plasma HBV ELiTe_Se_200_50, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de soro	ELiTe InGenius SP200 (EG SpA, ref. INT032SP200) ELiTe InGenius e reagentes e consumíveis ELiTe BeGenius (ver instruções de utilização do ELiTe InGenius e do ELiTe BeGenius)
ELiTe BeGenius(EG SpA, ref. INT040) Software ELiTe BeGenius versão 2.3.0 (ou mais recente) HBV ELiTe_Be_PC, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Positive Control HBV ELiTe_Be_NC, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Negative Control HBV ELiTe_Be_STD, protocolo do ensaio com parâmetros para a análise dos Calibradores HBV ELiTe_Be_PL_200_50, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de plasma HBV ELiTe_Be_Se_200_50, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de soro	
MyGenius PRO (EG SpA ref: INT050). Software MyGenius Pro versão BB-04 (ou posterior) HBV ELiTe_My_STD, protocolo de ensaio com parâmetros para a análise dos Calibradores HBV ELiTe_My_PC, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Positive Control HBV ELiTe_My_NC, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Negative Control HBV ELiTe_My_PL_IU_200_50, protocolo de ensaio com parâmetros para análise da amostra de plasma e resultados em IU/mL HBV ELiTe_My_PL_cmL_200_50, protocolo de ensaio com parâmetros para análise da amostra de plasma e resultados com cópias/mL HBV ELiTe_My_Se_IU_200_50, protocolo de ensaio com parâmetros para análise da amostra de soro e resultado em IU/mL HBV ELiTe_My_Se_cmL_200_50, protocolo de ensaio com parâmetros para análise da amostra de soro e resultados com cópias/mL	Internal Control Maxi (EG SpA, ref. ICMAXI) Negative Control (EG SpA, ref. CTRNEG) Reagentes e consumíveis MyGenius PRO (ver manual de instruções de utilização do MyGenius PRO),

7 AVISOS E PRECAUÇÕES

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

7.1 Avisos e precauções gerais

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

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

7.2 Avisos e precauções para biologia molecular

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

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

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

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

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

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

7.3 Avisos e precauções específicos para os componentes

Table 2

Componente (Subcomponente)	Temperatura de armazenamento	Utilização a partir da primeira abertura	Ciclos de congelamento / descongelamento	Estabilidade no bloco (ELITe InGenius e ELITe BeGenius)	Estabilidade de bordo (MyGenius PRO)
HBV ELITe MGB Mix (HBV PCR Mix)	-20°C ou inferior (protegido da luz)	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)	até 7 horas consecutivas ou até 3 horas consecutivas por cinco vezes*
HBV ELITe Standard (HBV Q-PCR Standard)	-20°C ou inferior	60 dias	até duas	2 sessões separadas de 2 horas cada	até 2 horas por 4 vezes*
HBV ELITe – Positive Control (HBV Positive Control)	-20°C ou inferior	60 dias	até quatro	4 sessões separadas de 3 horas cada	até 3 horas por 4 vezes*
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 congelamento/descongelamento

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

8.1 Amostras e protocolos de ensaio

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

Table 3

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

EDTA, ácido etilenodiamino tetra-acético; d, dia.

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

Para realizar o teste das amostras no **ELITe InGenius** e no **ELITe BeGenius**, devem ser usados os seguintes protocolos de ensaio. Estes protocolos IVD foram especificamente validados com kits ELITe MGB e o **ELITe InGenius** ou o **ELITe BeGenius** com as matrizes indicadas.

Table 4 Protocolos de ensaio para oHBV ELITe MGB Kit

Amostra	Instrumento	Nome do protocolo de ensaio	Relatório	Características
Plasma ACD ou EDTA	ELITe InGenius	HBV ELITe_PL_200_50	cópias/mL / IU/mL	Volume inicial de extração: 200 µL Volume de eluição da extração: 50 µL Internal Control: 10 µL Sonicacão: NÃO Fator de diluição: 1 Volume da PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL
	ELITe BeGenius	HBV ELITe_Be_PL_200_50	cópias/mL / IU/mL	Volume inicial de extração: 200 µL Volume de eluição da extração: 50 µL Internal Control: 10 µL Sonicacão: NÃO Fator de diluição: 1 Volume da PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL
Soro	ELITe InGenius	HBV ELITe_Se_200_50	cópias/mL / IU/mL	Volume inicial de extração: 200 µL Volume de eluição da extração: 50 µL Internal Control: 10 µL Sonicacão: NÃO Fator de diluição: 1 Volume da PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL
	ELITe BeGenius	HBV ELITe_Be_Se_200_50	cópias/mL / IU/mL	Volume inicial de extração: 200 µL Volume de eluição da extração: 50 µL Internal Control: 10 µL Sonicacão: NÃO Fator de diluição: 1 Volume da PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL

UI, unidades internacionais

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

Table 5 Protocolos de ensaio para o HBV ELITE MGB Kit e o MyGeniusPRO

Amostra	Instrumento	Nome do protocolo de ensaio	Relatório	Características
Plasma ACD ou EDTA	MyGenius PRO	HBV ELITE_My_PL_IU_200_50	IU/mL	Volume inicial de extração: 200 µL Volume de eluição da extração: 50 µL Internal Control: 10 µL Sonicação: NÃO
		HBV ELITE_My_PL_cmL_200_50	cópias/mL	Fator de diluição: 1 Volume de PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL
Soro	MyGenius PRO	HBV ELITE_My_PL_IU_200_50	IU/mL	Volume inicial de extração: 200 µL Volume de eluição da extração: 50 µL Internal Control: 10 µL Sonicação: NÃO
		HBV ELITE_My_PL_cmL_200_50	cópias/mL	Fator de diluição: 1 Volume de PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL

NOTE

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

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

Se necessário, 200 µL de amostra devem ser transferidos para um tubo de extração (para o ELITE InGenius) ou para um tubo Sarstedt de 2 mL (para o ELITE BeGenius) e 260 µL de amostra devem ser transferidos para um tubo Sarstedt de 2 mL (para MyGenius PRO).

NOTE

A utilização da pipeta em amostras do tubo principal para o **tubo de extração** ou o **tubo 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 [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELITE InGenius, ELITE BeGenius e MyGenius PRO page 29](#) para verificar os dados relativos a substâncias interferentes.

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

8.2 Calibradores e controlos da PCR

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

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

NOTE

As concentrações de Q – PCR Standards são expressas em cópias/reação (10⁵ cópias / rxn, 10⁴ cópias / rxn, 10³ cópias / rxn, 10² cópias / rxn). Consulte “Incerteza da curva de standard” na secção 12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO page 29

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

NOTE

O **ELITE InGenius**, o **ELITE BeGenius** e o **MyGenius PRO** permitem a geração e o armazenamento da curva de calibração e a validação do controlo de PCR para cada lote de reagente de PCR. As curvas de validação expiram após **60 dias** e, nesse momento, é necessário voltar a executar a calibração. Os resultados do controlo da PCR expiram após **15 dias** e, nesse momento, é necessário voltar a executar os Positive e Negative Controls.

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

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

8.3 Controlos da qualidade

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

9 PROCEDIMENTO do ELITE InGenius

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

Table 6

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

9.1 PASSO 1 – Verificação da disponibilidade do sistema

Antes de iniciar a sessão:

- ligue o **ELITE InGenius** e inicie sessão no modo “**CLOSED**” (fechado),

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

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

9.2 PASSO 2 – Configuração da sessão

OHBV 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 de calibração (apenas PCR),
- Execução de Positive Control e Negative Control (PCR Only [apenas PCR]).

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

NOTE

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

Antes de configurar uma execução:

Descongele os tubos **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.

NOTE

Proteja a **PCR Mix** da luz enquanto a aquece, 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])
1	Identifique amostras e, se necessário, descongele à temperatura ambiente, misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Se necessário, transfira 200 µL da amostra para um tubo de extração anteriormente identificado. Descongele os tubos de CPE necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.	Descongele o Elution tube (Tubo de eluição) contendo os ácidos nucleicos extraídos à temperatura ambiente. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.
2	Selecione “ Perform Run ” (Executar) a partir do ecrã “Home”.	Selecione “ Perform Run ” (Executar) a partir do ecrã “Home”

	A. Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair +PCR])	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR])
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 Assay Protocol (Protocolo de ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").
6	Certifique-se de que o "Protocol" (Protocolo) apresentado é: "Extract + PCR"(Extrair + PCR).	Selecione "PCR Only" (Apenas PCR) na coluna "Protocol" (Protocolo).
7	Selecione a posição de carregamento da amostra como "Primary tube" (Tubo primário) ou "Extraction Tube" (Tubo de extração) na coluna "Sample Position" (Posição da amostra). Certifique-se de que o "Dilution factor" (Fator de diluição) é "1".	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	Carregue a CPE e PCR Mix 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 CPE and PCR Mix para cada tubo.	Carregue a PCR Mix 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.
10	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
11	Verifique as pontas no(s) "Tip Rack(s)" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua o(s) "Tip Rack(s)" (Suporte de Ponta), se necessário.	Verifique as pontas no(s) "Tip Rack(s)" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua o(s) "Tip Rack(s)" (Suporte de Ponta), se necessário.
12	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
13	Carregue a PCR Cassette, os cartuchos de extração Elite InGenius SP 200 e todos os consumíveis e amostras necessários para serem extraídos	Carregue a PCR Cassette e o Elution Tubes (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).
	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 tubes (Cal1: Q-PCR Standard 10 ² , Cal2: Q-PCR Standard 10 ³ , Cal3: Q-PCR Standard 10 ⁴ , Cal4: Q-PCR Standard 10 ⁵) à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.	Descongele os tubos de Positive Control à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Como 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".	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home".

	C. Execução da calibração (PCR only [Apenas PCR])	D. Execução de Positive Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR])
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" (Calha), selecione o Assay Protocol (Protocolo de ensaio) (ver "Amostras e Controlos") na coluna "Assay" (Ensaio) e introduza o número de lote e a data de expiração do reagente.	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos"). Introduza o número do lote e a data de validade do Positive Control e da água de grau biológico molecular.
5	Certifique-se de que "PCR Only" (Apenas PCR) está selecionado na coluna "Protocol" (Protocolo).	Certifique-se de que "PCR Only" (Apenas PCR) está selecionado na coluna "Protocol" (Protocolo).
6	Certifique-se de que a posição de carregamento da amostra na coluna "Sample Position" (Posição da amostra) é "Elution Tube (bottom row)" (Tubo de eluição [linha inferior]).	Certifique-se de que a posição de carregamento da amostra na coluna "Sample Position" (Posição da amostra) é "Elution Tube (bottom row)" (Tubo de eluição [linha inferior]).
7	Carregue a PCR Mix no "Inventory Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamento) e introduza o número de lote, data de validade e o número de reações da PCR Mix para cada tubo.	Carregue a PCR Mix no "Inventory Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamento) 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 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.
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, e o Positive Control e Negative Control.
12	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
13	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
14	Prima "Start" (Iniciar)	Prima "Start" (Iniciar).

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

NOTE

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

NOTE

No final da operação, 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 próxima sessão.

NOTE

No final da execução, a restante **Q-PCR Standard** pode ser removida do instrumento, fechada e guardada a -20 °C ou menos. Evite derramar o Q - PCR Standard.

NOTE

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

NOTE

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

NOTE

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

NOTE

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

9.3 PASSO 3 - Revisão e aprovação dos resultados

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

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

NOTE

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

O **ELITe InGenius** gera os resultados com o **HBV ELITe MGB Kit** através do seguinte procedimento:

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

9.3.1 Validação da Curva de calibração

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

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

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

NOTE

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

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

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

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

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

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

NOTE

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

NOTE

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

9.3.3 Validação dos resultados da amostra

O **software ELiTe InGenius** interpreta os resultados de PCR para o alvo (canal **HBV**) e o Internal Control (canal **IC**) com os parâmetros dos protocolos 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 “Results 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 Assay Protocol (Protocolo do ensaio). Estão listadas na tabela abaixo as possíveis mensagens de resultado.

Para cada amostra o sistema comunica uma combinação das seguintes mensagens a especificar se os 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)	Foi detetado ADN do HBV 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)	Foi detetado ADN do HBV 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)	Foi detetado ADN do HBV 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)	Não foi detetado ADN de HBV 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).	Resultado do ensaio inválido devido a falha do Controlo Interno (p. ex., extração incorreta, transferência de inibidores). O teste deve ser repetido.

Amostras indicadas como “Invalid-Retest Sample” (Inválido-Testar novamente amostra): neste caso, o ADN do Internal Control não foi detetado eficientemente devido a problemas nos passos de colheita, extração ou PCR da amostra (por ex. amostragem incorreta, degradação ou perda do 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” (Extrair+PCR). (ver [15 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS page 47](#))

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 [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELiTe InGenius, ELiTe BeGenius e MyGenius PRO page 29](#)).

Amostras positivas do ADN de HBV a uma concentração abaixo do Limite de Deteção (e Limite Inferior da Quantificação) do ensaio, se detetado, são relatados 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 [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELiTe InGenius, ELiTe BeGenius e MyGenius PRO page 29](#)).

São detetadas amostras positivas de ADN de HBV no Intervalo de Medição Linear (ver [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELiTe InGenius, ELiTe BeGenius e MyGenius PRO page 29](#)) e são relatadas 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.

NOTE

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

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

9.3.4 Elaboração do relatório do resultado da amostra

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

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

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

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

10 PROCEDIMENTO do ELITE BeGenius

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

Table 7

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

10.1 PASSO 1 - Verificação da disponibilidade do sistema

Antes de iniciar a sessão:

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

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

10.2 PASSO 2 – Configuração da sessão

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

- Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair+PCR]),
- Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR]),
- Execução de calibração (apenas PCR),

D. Execução de Positive Control e Negative Control (PCR Only [apenas PCR]).

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

NOTE

O **ELiTe 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 **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.

NOTE

Proteja a **PCR Mix** da luz enquanto a aquece, 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])
1	Identifique amostras e, se necessário, descongele à temperatura ambiente, misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Se necessário, transfira 200 µL da amostra para um tubo Sarstedt de 2 mL anteriormente identificado. Descongele os tubos de CPE necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Cada tubo é suficiente para 12 extrações.	Se necessário, descongele o Elution tube (Tubo de eluição) contendo os ácidos nucleicos extraídos à temperatura ambiente. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.
2	Selecione “Perform Run” (Executar) a partir do ecrã “Home”.	Selecione “Perform Run” (Executar) a partir do ecrã “Home”.
3	Retire os Suportes da “Cooler Unit” e coloque-os na mesa de preparação.	Retire os “Racks” de “Lane 1, 2 and 3” (L1, L2, L3) da “Cooler Unit” e coloque-os na mesa de preparação.
4	Selecione o “Run mode”: “Extract + PCR”(Extrair + PCR).	Selecione o “Run mode”: “PCR Only”.
5	Carregue as amostras no “Sample Rack” (Suporte da amostras). (Nota: quando os tubos secundários “2 mL Tubes” (Tubos de 2 mL) forem carregados, use adaptadores azuis para o “Sample Rack” (Suporte de amostras).	Carregue as amostras no “Elution Rack” (Rack de eluição).
6	Insira o “Sample Rack” (Suporte da amostra) 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, assinale “2 mL Tube” (Tubo de 2 mL). Se os tubos secundários não possuírem código de barras, digite manualmente a “Sample ID”).	Insira o “Elution Rack” (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.	Não aplicável

	A. Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair+PCR])	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR])
9	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").
10	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
11	Quando forem processadas mais de 12 amostras, repita o procedimento a partir do ponto 6.	Quando forem processadas mais de 12 amostras, repita o procedimento a partir do ponto 6.
12	Coloque os "Elution tubes" no "Elution Rack" (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
14	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Não aplicável
15	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).
16	Insira o "Reagent/Elution Rack" na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2) se estiver disponível, ou na "Lane 1" (L1). Se necessário, para cada PCR Mix e/ou CPE, insira o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações).	Insira o "Reagent/Elution Rack" na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2) se estiver disponível, ou na "Lane 1" (L1). Se necessário, para cada PCR Mix, insira o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações).
17	Selecione "Next" (Próximo) para continuar	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
18	Verifique as pontas nos "Tip 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.
19	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
20	Coloque o "PCR Rack" com a "PCR Cassette" na Inventory Area (área dos reagentes).	Coloque o "PCR Rack" com a "PCR Cassette" na Inventory Area (área dos reagentes).
21	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
22	Carregue o "Extraction Rack" (Rack de extração) com os cartuchos de extração "ELiTe InGenius SP 200" e os consumíveis de extração necessários.	Não aplicável
23	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
24	Prima "Start" (Iniciar).	Prima "Start" (Iniciar).
	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 tubes (Cal1: Q-PCR Standard 10 ² , Cal2: Q-PCR Standard 10 ³ , Cal3: Q-PCR Standard 10 ⁴ , Cal4: Q-PCR Standard 10 ⁵) durante 30 minutos à temperatura ambiente. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.	Descongele os tubos de Positive Control à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Como 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".	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Página inicial)

	C. Execução da calibração (PCR only [Apenas PCR])	D. Execução de Positive Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR])
3	Retire os "Racks" de "Lane 1, 2 and 3" (L1, L2, L3) da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação.	Retire os "Racks" de "Lane 1, 2 and 3" (L1, L2, L3) da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação.
4	Selecione o "Run mode: PCR Only".	Selecione o "Run mode": "PCR Only".
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" (Unidade refrigeradora) começando a partir da "Lane 3" (Via 3) (L3). Se necessário, para cada "Position" (Posição) introduza o "Reagent name" (Nome do reagente) e o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações).	Insira o "Elution Rack" (Rack de eluição) na "Cooler Unit" (Unidade refrigeradora) começando a partir da "Lane 3" (Via 3) (L3). Se necessário, para cada "Position" (Posição) introduza o "Reagent name" (Nome do reagente) e o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações).
7	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
8	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").
9	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
10	Carregue a PCR Mix no "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição).	Carregue a PCR Mix no "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição).
11	Insira o "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição) na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2). Se necessário, para cada PCR Mix, insira o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações).	Insira o "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição) na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2). Se necessário, para cada PCR Mix, insira o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações).
12	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
13	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua o suporte(s) de pontas, se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua o suporte(s) de pontas, se necessário.
14	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
15	Carregue o "PCR Rack" (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).
16	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
17	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
18	Prima "Start" (Iniciar).	Prima "Start" (Iniciar).

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

NOTE

No final da execução a restante amostra extraída no **"Elution tube"** (Tubo de eluição) deve ser removida do instrumento, tapada, identificada e guardada a $-20 \pm 10^{\circ}\text{C}$ durante não mais de um mês. Evite derramar a Amostra extraída.

NOTE

No final da operação, 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 próxima sessão.

NOTE

No final da execução, a restante **Q - PCR Standard** pode ser removida do instrumento, fechada e guardada a -20 °C ou menos. Evite derramar o Q - PCR Standard.

NOTE

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

NOTE

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

NOTE

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

NOTE

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

10.3 PASSO 3 - Revisão e aprovação dos resultados

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

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

NOTE

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

O **ELiTe BeGenius** gera os resultados com o **HBV ELiTe MGB Kit** através do seguinte procedimento:

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

NOTE

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

11 PROCEDIMENTO MyGenius PRO

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

Table 8

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

PASSO 1 - Verificação da disponibilidade do sistema

Antes de iniciar a sessão de testes:

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

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

PASSO 2 – Configuração do fluxo de trabalho no sistema

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

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

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

NOTE

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

Antes de configurar uma sessão de testes:

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

NOTE

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

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

	A. Sessão de testes de amostras (Extract + PCR [Extrair+PCR])	B. Sessão de testes de calibração (PCR Only [Apenas PCR])	C. Sessão de testes de Positive Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR])
1	Identifique amostras e, se necessário, descongele à temperatura ambiente, misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Se o tubo primário for compatível com os suportes MyGenius PRO, insira o tubo com as amostras nos suportes; se isso não for possível, transfira 260 µL da amostra para um tubo secundário (2 mL) previamente rotulado. Descongele os tubos Internal Control Maxi IC MAXI necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos. Cada tubo é suficiente para 72 testes.	Descongele os tubos de Q-PCR Standard necessários (Cal1: Q-PCR Standard 102, Cal2: Q-PCR Standard 103, Cal3: Q-PCR Standard 104, Cal4: Q-PCR Standard 105) à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.	Descongele os tubos de Positive Control à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Centrifugue os tubos de Negative Control durante 5 segundos.
2	Se o instrumento estiver ligado ao LIS, os códigos de barras das amostras são automaticamente lidos e reconhecidos pelo MyGenius PRO quando colocados na área de amostras. Se o instrumento não estiver ligado ao LIS, atribua manualmente as amostras utilizando as funções ASSIGN TEST (ATRIBUIR TESTE) ou ASSIGN SAMPLE (ATRIBUIR AMOSTRA) na página "Sample List" (Lista de amostras) da GUI, antes de as carregar no instrumento. Essas funções também permitem atribuir o protocolo de teste correto a cada amostra.	Carregue a PCR Mix e os tubos Q-PCR Standard no carrossel de reagentes refrigerado.	Carregue a PCR Mix e os tubos de Positive e Negative Controls no carrossel de reagentes refrigerado.
3	No modo STANDBY, verifique se há quantidade suficiente de consumíveis para concluir o teste e se os níveis de resíduos sólidos e líquidos são adequados para o funcionamento do instrumento. Se necessário, carregue os consumíveis necessários nas gavetas adequadas e esvazie a caixa de resíduos e o tanque de líquido. Para obter informações detalhadas sobre os procedimentos de carregamento, consulte o manual do utilizador do instrumento.	No modo STANDBY, verifique se há quantidade suficiente de consumíveis para concluir o teste e se os níveis de resíduos sólidos e líquidos são adequados para o funcionamento do instrumento. Se necessário, carregue os consumíveis necessários nas gavetas adequadas e esvazie a caixa de resíduos e o tanque de líquido. Para obter informações detalhadas sobre os procedimentos de carregamento, consulte o manual do utilizador do instrumento.	No modo STANDBY, verifique se há quantidade suficiente de consumíveis para concluir o teste e se os níveis de resíduos sólidos e líquidos são adequados para o funcionamento do instrumento. Se necessário, carregue os consumíveis necessários nas gavetas adequadas e esvazie a caixa de resíduos e o tanque de líquido. Para obter informações detalhadas sobre os procedimentos de carregamento, consulte o manual do utilizador do instrumento.
4	Prima Start (Iniciar) na página inicial e aguarde que o instrumento passe para o estado "Preparation" (Preparação) e depois para "Operation" (Funcionamento).	Prima Start (Iniciar) na página inicial e aguarde que o instrumento passe para o estado "Preparation" (Preparação) e depois para "Operation" (Funcionamento).	Prima Start (Iniciar) na página inicial e aguarde que o instrumento passe para o estado "Preparation" (Preparação) e depois para "Operation" (Funcionamento).
5	Carregue a PCR Mix no carrossel de reagentes refrigerado.	Selecione "Calibration" (Calibração) a partir do ecrã "Home"	Selecione "Controls" (Controlos) a partir do ecrã "Home"

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

NOTE

No final da sessão de testes, a **PCR Mix** pode ser retirada do instrumento, tapada e armazenada a -20 °C ou abaixo ou pode ser mantida no carrossel de reagente durante até 7 horas.

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

NOTE

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

NOTE

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

NOTE

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

NOTE

O **Positive Control** pode ser utilizado para 2 calibrações, deixando-o no instrumento durante um máximo de 3 horas para cada calibração.

NOTE

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

NOTE

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

PASSO 3 - Revisão e aprovação dos resultados

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

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

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

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

Validação da Curva de calibração

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

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

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

NOTE

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

Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control da amplificação

O **software MyGenius PRO** interpreta os resultados da PCR para o alvo do Positive Control e para o alvo do Internal Control (canal **IC**) das reações de Negative Control com os parâmetros dos protocolos de ensaio **HBV ELite_My_PC** e **HBV ELite_My_NC**. Os valores de Ct resultantes são convertidos em concentrações e usados para validar o sistema (lote de reagente e instrumento).

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

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

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

NOTE

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

NOTE

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

Validação dos resultados da amostra

O **software MyGenius PRO** interpreta os resultados de PCR para o alvo (Canal **EBV**) e do Internal Control (Canal **IC**) com os parâmetros dos protocolos de ensaio **HBV ELite_My_PL_IU_200_50**, **HBV ELite_My_Se_IU_200_50** e **HBV ELite_My_PL_cmL_200_50**, **HBV ELite_My_Se_cmL_200_50**. Os valores de Ct do alvo resultante são convertidos em concentração.

Os resultados são mostrados no ecrã “Results” (Resultados).

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

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

Estão listadas na tabela abaixo as possíveis mensagens de resultado.

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

Resultado da execução da amostra	Interpretação
HBV:DNA DETECTED, QUANTITY EQUAL TO XXX COPIES/ML OR IU/ML (HBV:DNA DETETADO, QUANTIDADE IGUAL A XXX CÓPIAS/ML OU IU/ML)	Foi detetado ADN do HBV 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)	Foi detetado ADN do HBV na amostra, a sua concentração é inferior ao ensaio Limite inferior de quantificação
HBV:DNA DETECTED, QUANTITY BEYOND “ULOQ” COPIES/ML OR IU/ML (HBV:DNA DETETADO, QUANTIDADE ALÉM DE “ULOQ” CÓPIAS/ML OU IU/ML)	Foi detetado ADN do HBV na amostra, a sua concentração é superior ao ensaio Limite superior de quantificação
HBV:DNA NOT DETECTED OR BELOW “LOD” COPIES/ML OR IU/ML (HBV:DNA DETETADO, QUANTIDADE ABAIXO “LOD” CÓPIAS/ML OU IU/ML)	Não foi detetado ADN de HBV na amostra. A amostra é negativa para ADN de HBV ou a sua concentração está abaixo do limite de deteção do ensaio.
INVALID - RETEST SAMPLE (INVÁLIDO - TESTAR NOVAMENTE A AMOSTRA)	Resultado do ensaio inválido devido a falha do Internal Control (devido, p.ex., a extração incorreta, transferência de inibidores). O teste deve ser repetido.

Amostras indicadas como “INVALID - RETEST SAMPLE” (INVÁLIDO - TESTAR NOVAMENTE AMOSTRA): caso, o ADN 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. Neste caso, a amostra deve ser novamente testada, a começar pela extração de uma nova amostra.

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” (ver [15 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS page 47](#)).

As amostras reportadas 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 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 [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELITe InGenius, ELITe BeGenius e MyGenius PRO](#) page 29).

Amostras positivas do ADN de HBV a uma concentração abaixo do Limite de Deteção (e Limite Inferior da Quantificação) do ensaio, se detetado, são relatados 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 [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELITe InGenius, ELITe BeGenius e MyGenius PRO](#) page 29).

Amostras positivas para ADN de HBV no intervalo de medição linear são detetadas e relatadas 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) (ver [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELITe InGenius, ELITe BeGenius e MyGenius PRO](#) page 29).

As amostras positivas de ADN de HBV que estejam acima do Limite Superior de Quantificação são relatadas como "HBV:DNA DETECTED, QUANTITY BEYOND "ULOQ" COPIES/ML OR IU/ML" (HBV:DNA DETETADO, QUANTIDADE ALÉM DE "ULOQ" CÓPIAS/ML OU IU/ML) (ver [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELITe InGenius, ELITe BeGenius e MyGenius PRO](#) page 29) e não são adequadas para quantificação. Se necessário a amostra pode ser diluída antes da extração e novamente testada de forma a serem obtidos resultados dentro do intervalo de medição linear do ensaio.

NOTE

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

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

Elaboração do relatório do resultado da amostra

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

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

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

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

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

12.1 Limite de deteção (LdD)

O limite de deteção (LdD) do ensaio foi determinado no instrumento ELITe InGenius, testando um painel de plasma em ACD negativo para o 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.

Table 9 Limite de detecção (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 reportado em [12.13 Fator de conversão para unidades internacionais page 40](#). A sensibilidade analítica como cópias/mL está reportada a seguir.

Table 10 Limite de detecção (cópias/mL) para amostras de plasma de ACD e ELITE InGenius

Alvo	LdD	intervalo de confiança de 95%	
		Limite inferior	Limite superior
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 indicada para o alvo do HBV ELITE MGB Kit no ELITE InGenius e no ELITE BeGenius.

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

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

A equivalência da matriz do 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 imunoensaio com marcação CE IVD, foram avaliados concordância de percentagem negativa (NPA) e o coeficiente de variação (%CV) dos valores Ct do Internal Control.

Os resultados são comunicados nas tabelas seguintes.

Table 11

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

Table 12

Amostra	N	Positivo	Negativo	NPA	%CV do Ct do CI	%CV do Ct do CI (controle interno) completo
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.

Table 13

Amostra	N	Positivo	Negativo	PPA	%CV do Ct do HBV	%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	

Table 14

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

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

12.3 Intervalo de medição linear

O intervalo de medição linear do ensaio foi determinado em associação com o ELITE InGenius e o ELITE BeGenius usando um painel de diluições de material de referência de HBV (ZeptoMetrix) em amostras de plasma em EDTA negativas.

Os resultados são comunicados nas figuras seguintes.

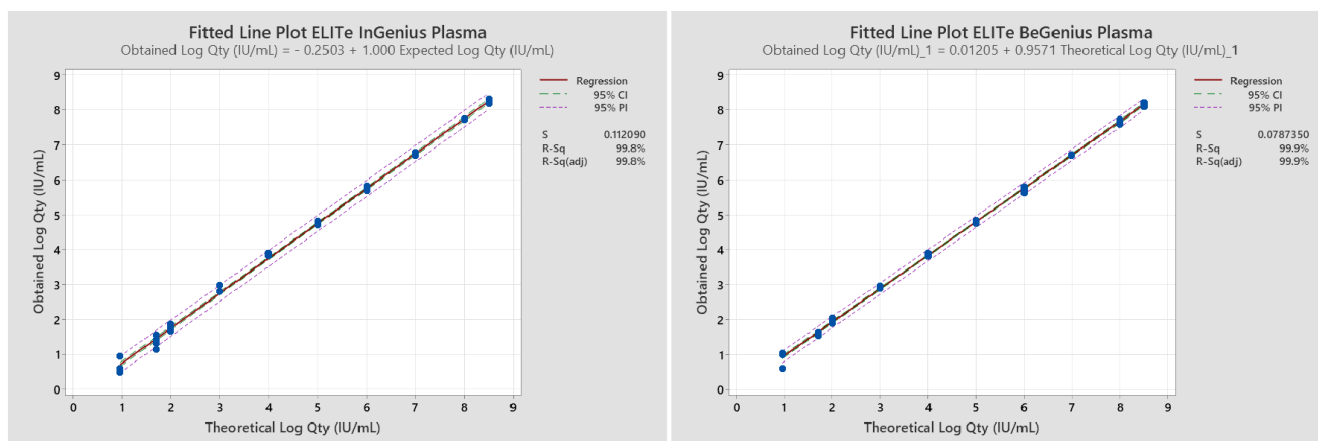


Fig. 1

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

Os resultados finais estão resumidos na tabela seguinte.

Table 15 Intervalo de medição linear para amostras de plasma e ELITE InGenius e ELITE BeGenius

Limite inferior	Limite superior
9 IU/mL	317.750.000 IU/mL
38 cópias/mL	1323958333 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.

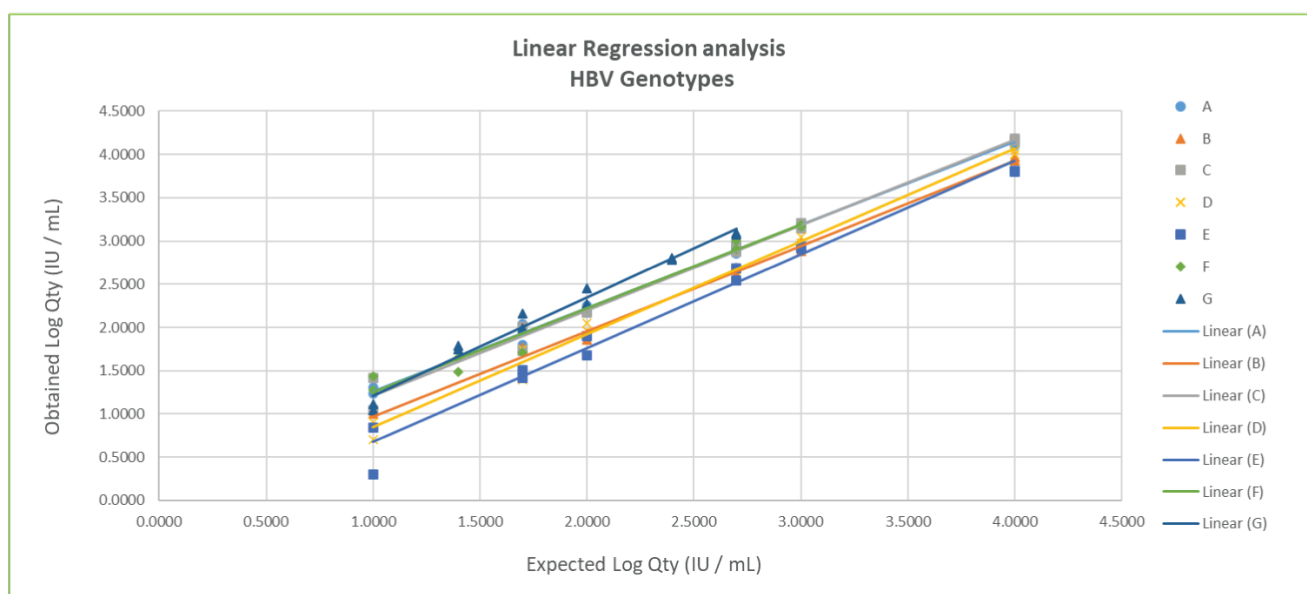


Fig. 2

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.

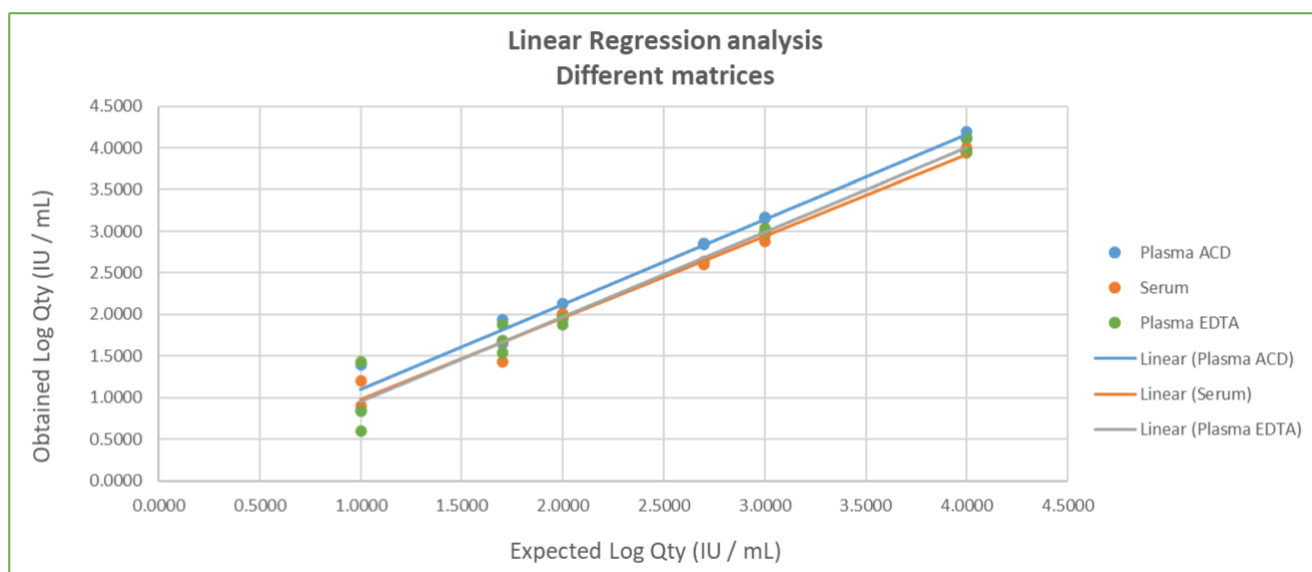


Fig. 3

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, respetivamente.

O intervalo de medição linear determinado para o ELITE InGenius também é válido para o MyGenius PRO.

12.4 Incerteza da curva de standard

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

Table 16

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

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

A inclusividade do ensaio, como eficiência de deteção 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 deteção 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.

Table 17 1.º Pannel 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 13/E	3/3	HBV detetado
HBV 14/F	3/3	HBV detetado
HBV 15/G	3/3	HBV detetado

Table 18 Pannel 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.

12.6 Organismos potencialmente interferentes: Reatividade cruzada

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

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Table 19

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

Table 20

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
HEV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HIV-1	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HIV-2	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Candida albicans	0 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Staphylococcus aureus</i>	0 / 3	Sem reatividade cruzada

Todos os organismos potencialmente interferentes testados não apresentaram reatividade cruzada para a amplificação do alvo HBV usando o HBV ELITE MGB Kit.

12.7 Organismos 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

Table 21

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

Todos os organismos potencialmente interferentes testados revelaram que não há inibição da detecção e quantificação do alvo de HBV usando o HBV ELITe MGB Kit.

12.8 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

Table 22

Identificação da amostra	Pos./Rep. HBV	Resultado
EDTA	3 / 3	Sem interferência
Heparina	1 / 3	Interferência

Table 22 (continued)

Identificação da amostra	Pos./Rep. HBV	Resultado
Sangue altamente hemolítico	3 / 3	Sem interferência
Plasma lipêmico	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 Internal Control.

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”.

12.9 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

Table 23

Identificação da amostra	N	Negativo	Positivo
Plasma em ACD enriquecido a 1×10^6 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.

12.10 Taxa de falha geral do sistema

A taxa de falha de todo o sistema para o ensaio foi avaliada no ELITe InGenius e ELITe BeGenius através do teste de um painel de amostras reforçadas com material de referência certificado (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.

Table 24 ELITe InGenius — Taxa de falha geral do sistema

Amostras	N	Positivo	Negativo	Taxa de falha geral do sistema
Plasma enriquecido em EDTA	100	100	0	0%
Plasma em ACD enriquecido	30	30	0	0%
Soro enriquecido	30	30	0	0%

Table 25 ELITe BeGenius — Taxa de falha geral do sistema

Amostras	N	Positivo	Negativo	Taxa de falha geral do sistema
Plasma enriquecido em EDTA	100	100	0	0%

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

12.11 Repetibilidade

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

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

Table 26 ELITe InGenius Repetibilidade intra-sessão (dia 1)

Amostra	HBV				% Concordância
	N	Ct médio	SD	% CV	
Negativo	8	-	—	—	100%
3 x LdD	8	38,90	0,50	1,29	100%
10 x LdD	8	36,50	0,16	0,44	100%

Table 27 ELITe BeGenius Repetibilidade intra-sessão (dia 1)

Amostra	HBV				% Concordância
	N	Ct médio	SD	% CV	
Negativo	8	-	-	-	100%
3 x LdD	8	38,64	0,46	1,19	100%
10 x LdD	8	36,83	0,34	0,93	100%

Table 28 ELITe InGenius Repetibilidade inter-sessões (dia 1 + dia 2)

Amostra	HBV				% Concordância
	N	Ct médio	SD	% CV	
Negativo	16	-	-	-	100%
3 x LdD	16	38,71	0,69	1,78	100%
10 x LdD	16	36,57	0,33	0,91	100%

Table 29 ELITe BeGenius Repetibilidade inter-sessões (dia 1 + dia 2)

Amostra	HBV				% Concordância
	N	Ct médio	SD	% CV	
Negativo	16	-	-	-	100%
3 x LdD	16	38,93	0,86	2,22	100%
10 x LdD	16	36,87	0,35	0,94	100%

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

12.12 Reprodutibilidade

A reprodutibilidade 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 seguintes:

Table 30 ELITe InGenius Reprodutibilidade interlocal

Amostra	HBV				%Concordância
	N	Ct médio	SD	%CV	
Negativo	24	Indet.	-	-	100%
3X LDD	24	37,60	0,68	1,80	100%
10X LDD	24	35,63	0,35	0,98	100%

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

Table 31 Reprodutibilidade inter-instrumento do ELITe InGenius

Amostra	HBV				%Concordância
	N	Ct médio	SD	%CV	
Negativo	24	-	-	-	100%
3X LDD	24	37,69	0,69	1,83	100%
10X LDD	24	36,04	0,55	1,53	100%

Table 32 Reprodutibilidade inter-instrumento do ELITE BeGenius

Amostra	HBV				%Concordância
	N	Ct médio	SD	%CV	
Negativo	24	-	-	-	100%
3X LDD	24	38,54	1,08	2,79	100%
10X LDD	24	36,53	0,76	2,09	100%

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

Table 33 Reprodutibilidade inter-lote ELITE InGenius

Amostra	HBV				%Concordância
	N	Ct médio	SD	%CV	
Negativo	48	-	-	-	100%
3X LDD	48	38,05	0,85	2,23	100%
10X LDD	48	35,99	0,53	1,47	100%

Table 34 Reprodutibilidade inter-lote ELITE BeGenius

Amostra	HBV				%Concordância
	N	Ct médio	SD	%CV	
Negativo	48	-	-	-	100%
3X LDD	48	38,19	0,85	2,24	100%
10X LDD	48	36,38	0,57	1,57	100%

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

12.13 Fator de conversão para unidades internacionais

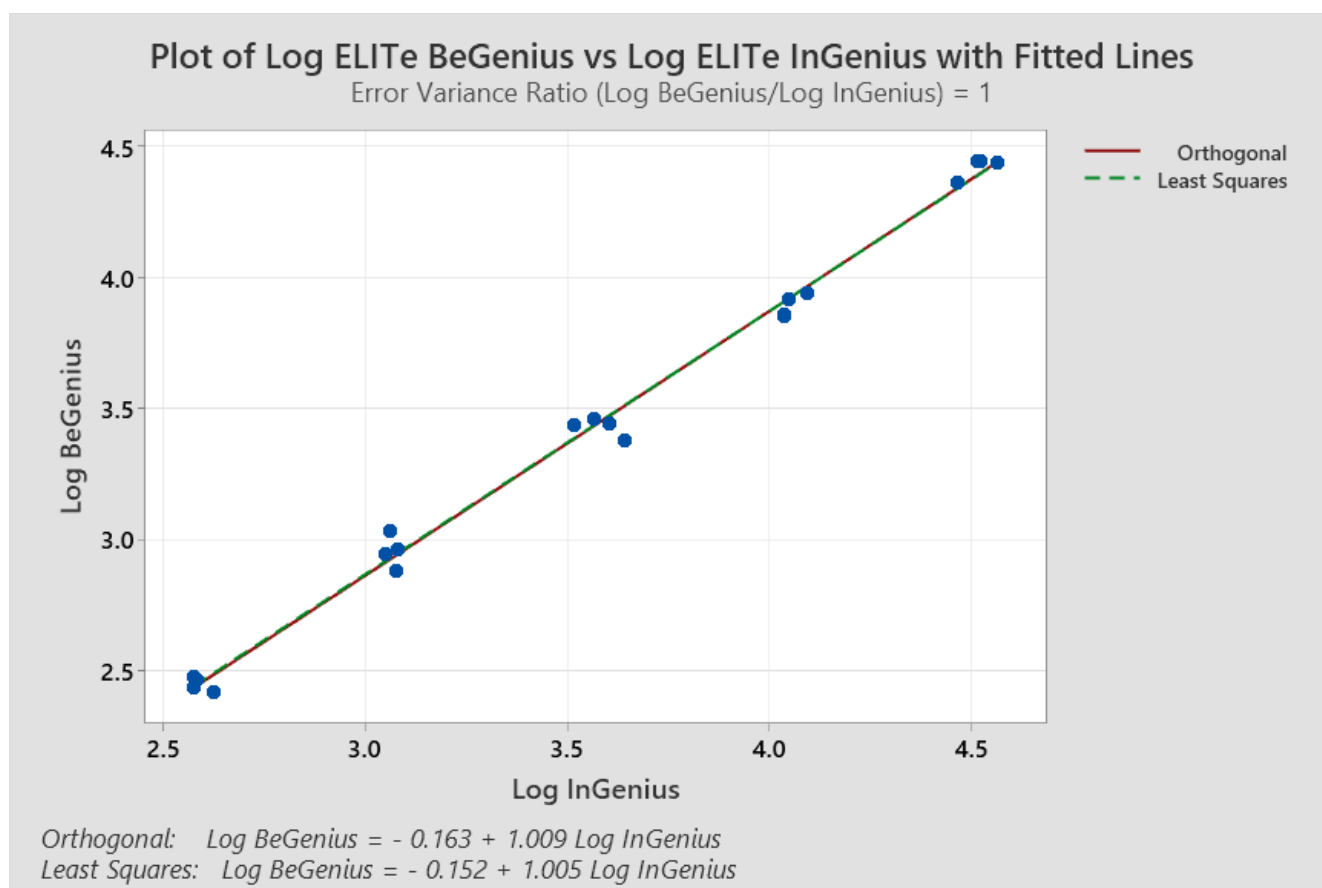
O fator de conversão para relatar os resultados quantitativos em unidades internacionais/mL a partir de cópias/mL, foi verificado usando material de referência calibrado e certificado "4th WHO HBV International Standard" (NIBSC). O fator de conversão foi determinado como **0,24 IU/cópia**.

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.

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

Os resultados estão resumidos na figura seguinte.

**Fig. 4**

A análise de regressão ortogonal gerou uma interceção igual a 0,163 (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 R^2 de 0,994.² of 0.994.

NOTE

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).

12.14 MyGenius PRO: correlação do método

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

O estudo de correlação foi efetuado num local em 105 amostras clínicas positivas de plasma em EDTA, certificadas como positivas para o ADN do HBV ou reforçadas com material de referência, utilizando o ELITE InGenius como comparador.

Os resultados estão resumidos na figura seguinte

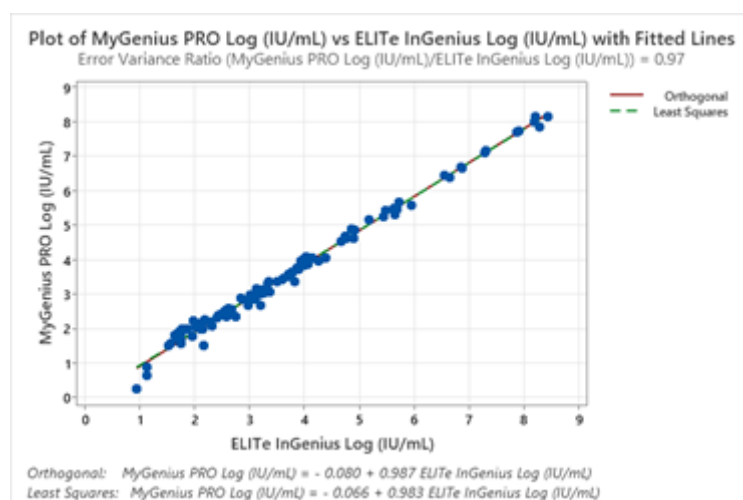


Fig. 5

A análise de regressão ortogonal gerou um declive igual a -0,080 (95% CI: -0,149695; 0,01074) e um declive igual a 0,98718 (95% IC: 0,970279; 1,00397). A análise de regressão linear gerou um R² de 0,9920.

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

12.15 Especificidade de diagnóstico: confirmação de amostras negativas

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

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

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

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

Table 35

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%

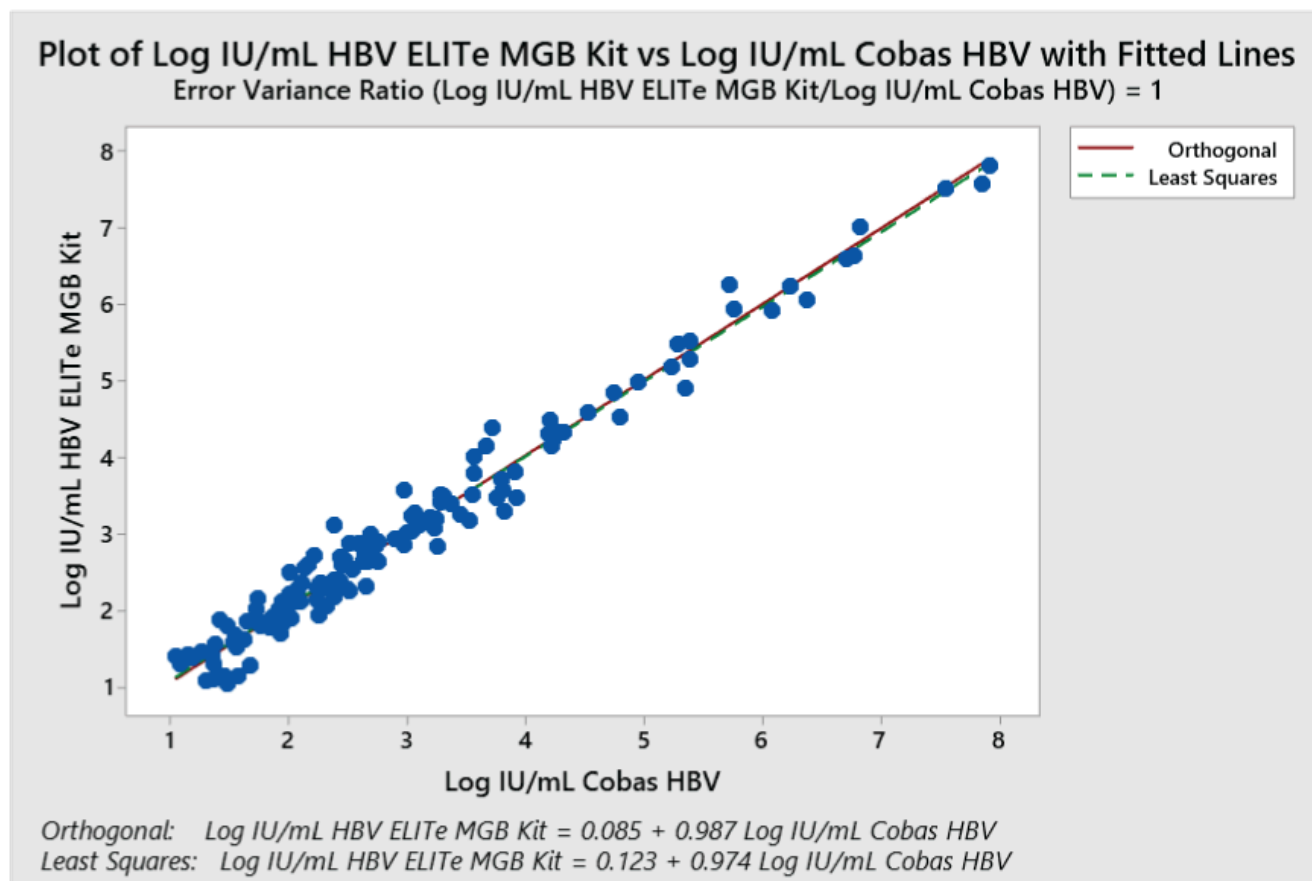
O valor-limite de Ct do IC para plasma em EDTA, plasma em ACD e soro foi definido para 31 quando testadas com o ELiTe InGenius e o MyGenius PRO e para 33 quando testadas com o ELiTe BeGenius.

12.16 Sensibilidade de diagnóstico: correlação do método

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

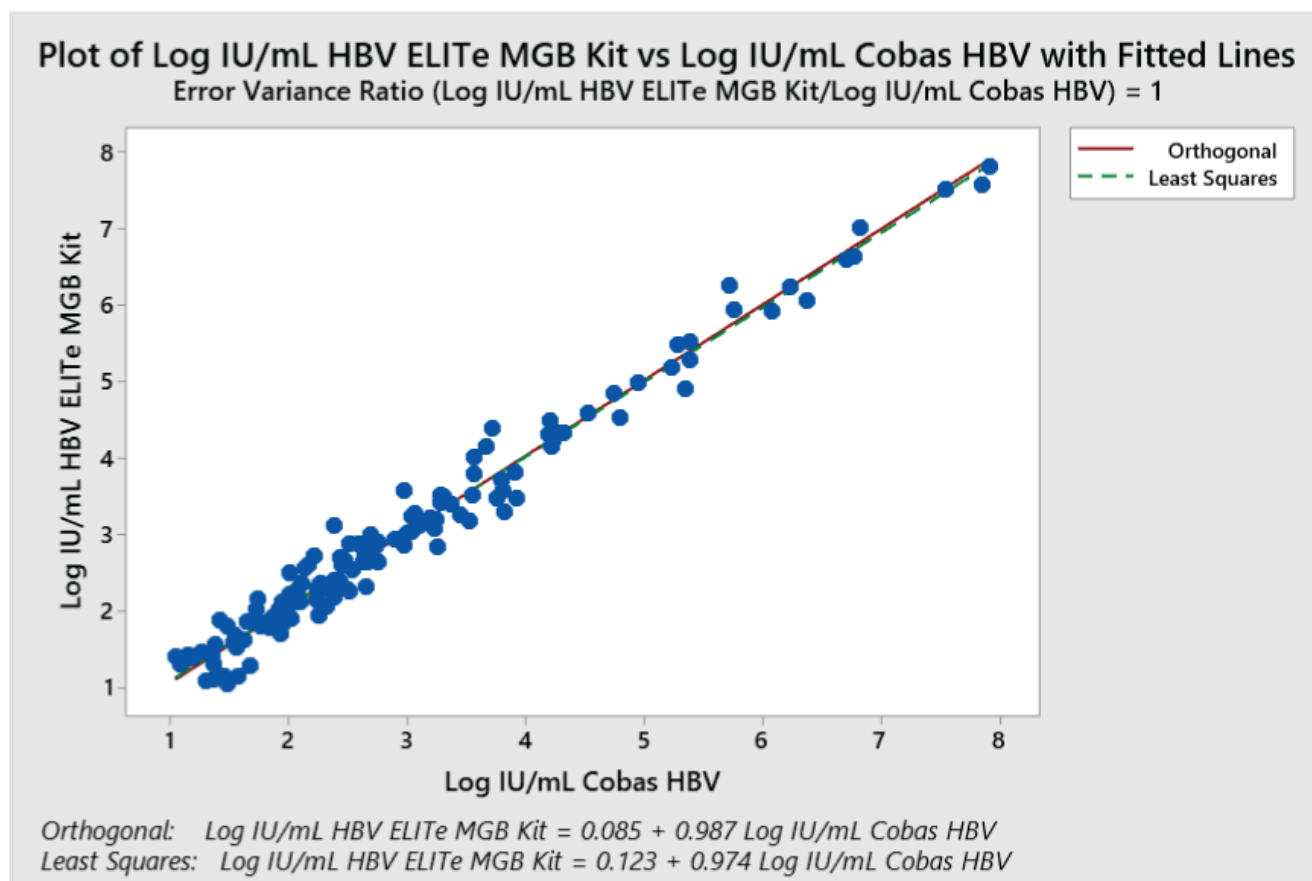
Os resultados estão resumidos na figura seguinte.



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.

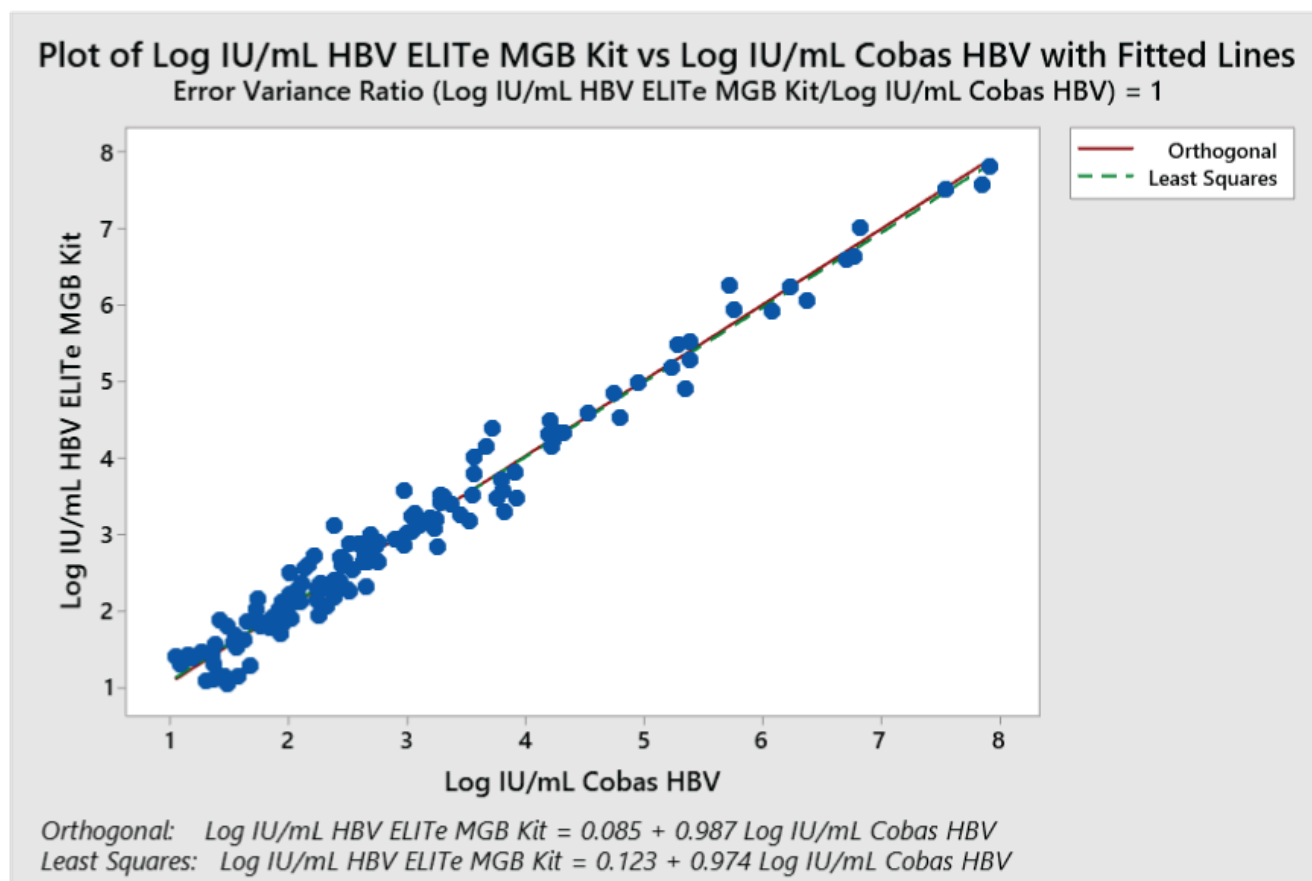
Os resultados estão resumidos na figura seguinte.



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 R^2 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 R^2 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 em associação com o ELITE InGenius também se aplica ao ELITE BeGenius.

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

NOTE

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

13 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 de teste HBVQN).

<https://ltd.aruplab.com> (número de teste 3000863).

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

14 LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

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

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

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

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 suscetível de contaminação a partir de amostras positivas, controlos positivos e produtos de PCR. Estas contaminações cruzadas podem causar resultados falsos positivos. O formato do produto foi concebido para reduzir este fenómeno, mas apenas as boas práticas laboratoriais e o cumprimento destas instruções de utilização o podem evitar.

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 ADN extraído da amostra; no entanto, não pode negligenciar-se o facto de o ADN do alvo ter um título mais baixo que o limite de deteção do produto (ver [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELITe InGenius, ELITe BeGenius e MyGenius PRO page 29](#)). 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, existe um risco residual de obter resultados inválidos ou errados com este produto. Este risco residual não pode ser eliminado ou ainda mais reduzido. Em alguns casos, este risco residual pode contribuir para decisões erradas com potenciais efeitos perigosos para o doente. No entanto, este risco residual associado à utilização prevista do produto foi ponderado em relação aos potenciais benefícios para o paciente e foi considerado aceitável.

15 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

ELiTe InGenius e ELiTe BeGenius

Table 36

Reação do Q-PCR Standard, curva standard ou reação do Positive Control inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição de PCR Mix, Q-PCR Standards e Positive Control. Verifique os volumes de PCR Mix, Q-PCR Standards e 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 um novo tubo de PCR Mix.
Degradação de Q-PCR Standards ou 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 novos tubos de Q-PCR Standards ou Positive Control.
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELiTechGroup.

Table 37

Reação de Negative Control inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição de PCR Mix e Negative Control. Verifique os volumes da PCR Mix e do Negative Control.
Contaminação do PCR Mix.	Utilize um novo tubo de PCR Mix.
Contaminação do Negative Control.	Não use o Negative Control para mais do que uma sessão. Utilize um novo tubo de água de grau de biologia molecular.
Contaminação da área de extração, dos Racks, do bloco de refrigeração da Inventory Area (área dos reagentes) ou na Cooler Unit	Limpe as superfícies com detergentes aquosos, lave as batas de laboratório, substitua os tubos e as pontas utilizadas.
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELiTechGroup.

Table 38

Reação da amostra inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da PCR Mix, do Internal Control e da amostra. Verifique os volumes de PCR Mix, Internal Control e da amostra.
Degradação da PCR Mix.	Não use a PCR Mix para 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 um novo tubo de PCR Mix.
Degradação do Controlo Interno.	Utilize um novo tubo de Internal Control.
Inibição devido a substâncias interferentes na amostra.	Repita a amplificação de amostra eluída como está ou com uma diluição 1:2 em água de grau de biologia molecular numa sessão "PCR Only" (apenas PCR). Repita a extração da amostra com uma diluição 1:2 em água de qualidade para biologia molecular numa sessão "Extract + PCR" (Extrair + PCR).
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Table 39

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.

Table 40

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.

Table 41

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

Table 42

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

MyGenius PRO

Table 43

Reação do Q-PCR Standard, curva standard ou reação do Controlo Positivo inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique os volumes da Q-PCR Mix, dos Q-PCR Standards e do Positive Control. É importante que os tubos utilizados no MyGenius PRO não tenham sido utilizados anteriormente por outras plataformas ou para definir sessões em plataformas abertas, pois o instrumento lê a etiqueta e atribui automaticamente o número máximo de réplicas que podem ser executadas se esse tubo nunca tiver sido carregado no MyGenius PRO. Portanto, se for utilizado um tubo que não seja novo, o volume poderá não ser suficiente.
Degradação da PCR Mix.	Não utilize a Q-PCR Mix durante mais de 7 horas no carrossel ou durante mais de 3 horas no carrossel por cinco vezes. Não deixe a Q-PCR Mix à temperatura ambiente durante mais do que 30 minutos. Utilize um novo tubo da Q-PCR Mix.

Table 43 (continued)

Reação do Q-PCR Standard, curva standard ou reação do Controlo Positivo inválida	
Causas possíveis	Soluções
Degradação dos Q-PCR Standards ou do Positive Control.	Não use o Q-PCR Standard durante mais de 2 sessões independentes (2 horas cada no carrocel). Não use o Positive Control para mais de 4 sessões independentes (3 horas cada no carrocel). Use tubos novos de Q-PCR Standards ou Positive Control.
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELiTechGroup.

Table 44

Reação de Negative Control inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique os volumes da Q-PCR Mix e do Negative Control. É importante que os tubos utilizados no MyGenius PRO não tenham sido utilizados anteriormente por outras plataformas ou para definir sessões em plataformas abertas, pois o instrumento lê a etiqueta e atribui automaticamente o número máximo de réplicas que podem ser executadas se esse tubo nunca tiver sido carregado no MyGenius PRO. Portanto, se for utilizado um tubo que não seja novo, o volume poderá não ser suficiente.
Contaminação do Negative Control.	Não use o Negative Control para mais do que 1 sessão e durante mais de 8 horas. Utilize um tubo novo de Negative Control.
Contaminação da PCR Mix.	Utilize um novo tubo da Q-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 batas de laboratório, substitua os tubos e as pontas utilizadas.
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELiTechGroup.

Table 45

Reação da amostra inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique os volumes da Q-PCR Mix, do Internal Control e das amostras. É importante que os tubos utilizados no MyGenius PRO não tenham sido utilizados anteriormente por outras plataformas ou para definir sessões em plataformas abertas, pois o instrumento lê a etiqueta e atribui automaticamente o número máximo de réplicas que podem ser executadas se esse tubo nunca tiver sido carregado no MyGenius PRO. Portanto, se for utilizado um tubo que não seja novo, o volume poderá não ser suficiente.
Degradação da PCR Mix.	Não utilize a Q-PCR Mix durante mais de 7 horas no carrossel ou durante mais de 3 horas no carrossel por cinco vezes. Não deixe a Q-PCR Mix à temperatura ambiente durante mais do que 30 minutos. Utilize um novo tubo da Q-PCR Mix.
Degradação do Controlo Interno.	Não use o Negative Control durante mais de 8 horas. Utilize um tubo novo de Internal Control.

Table 45 (continued)

Reação da amostra inválida	
Causas possíveis	Soluções
Inibição devido a substâncias interferentes na amostra.	Repita a extração e amplificação da amostra. Repita a extração e amplificação da amostra com uma diluição 1:2 em água de qualidade para biologia molecular.
Concentração demasiado alta do alvo na amostra ou amostra com sinal de fluorescência anómalo.	Se for necessário um valor de Ct, repita a extração e amplificação da amostra com uma diluição 1:10 em água de qualidade para biologia molecular.
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Table 46

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

Table 47

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

Table 48

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

16 SÍMBOLOS



Número de catálogo.



Limite máximo da temperatura.



Código de lote.



Prazo de validade (último dia do mês).



Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*.



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



Identificação única do dispositivo



Contém suficiente para "N" testes.



Consultar as instruções de utilização.



Conteúdo.



Manter afastado da luz solar.



Fabricante.

17 NOTIFICAÇÃO PARA OS UTILIZADORES

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

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

18 NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA

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

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

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

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

Appendix A HBV ELITE MGB Kit usado em associação com as plataformas Genius series®



CAUTION

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

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®** e **MyGenius PRO®** (nome de registo ELIVERSE®), sistemas automatizados e integrados para a extração, PCR em tempo real e a interpretação dos resultados, usando amostras humanas de plasma colhido em EDTA ou em ACD e soro.

O produto está previsto para utilização como auxiliar na gestão de indivíduos infetados por 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.

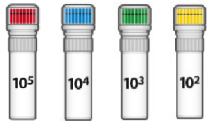
Sequência amplificada

Sequência	Gene	Fluoróforo	Canal
Alvo	Gene da polimerase do HBV (gene P)	FAM	HBV
Internal Control	IC2	AP525	CI

Matrizes validadas

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

Conteúdo do kit

HBV ELITe MGB Mix	HBV ELITe Standard	HBV Internal Control	HBV - ELITe Positive Control
 X 8	 X 1	 X 8	 X 2
PCR Mix pronta a utilizar 8 tubos de 280 µL 12 reações por tubo 96 reações por kit 7 ciclos de congelação-descongelação	Pronta a utilizar, 4 níveis: 10^5 , 10^4 , 10^3 , 10^2 1 conjuntos de 4 tubos de 160 µL 2 reações por tubo 2 reações por kit 2 ciclos de congelação-descongelação	IC pronto a utilizar 8 tubos de 160 µL 96 reações por kit 6 ciclos de congelação-descongelação	Ready-to-use PC 2 tubos de 160 µL 4 reações por tubo 8 reações por kit 4 ciclos de congelação-descongelação

Prazo de conservação máximo: **24 meses**

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

Outros produtos necessários não fornecidos no kit

- › Instrumento ELITe InGenius: INT030
- › Instrumento ELITe BeGenius: INT040
- › **ELITe InGenius SP200** (EG SpA, ref. INT032SP200)
- › **Reagentes e consumíveis ELITe InGenius and ELITe BeGenius** (ver instruções de utilização do ELITe InGenius e do ELITe BeGenius),

Protocolo do ELITe InGenius e do ELITe BeGenius

› Volume da amostra	200 µL	› Unidade do resultado quantitativo	Unidades internacionais: IU/mL
› Volume da HBV CPE	10 µL	› Frequência dos controlos	15 dias
› Volume de eluição total	50 µL	› Frequência da calibração	60 dias
› Volume de entrada de eluição PCR	20 µL		
› Volume da HBV PCR Mix	20 µL		

Desempenhos ELITe InGenius e ELITe BeGenius

Matriz	Limite de deteção	› Fator de conversão em IU	Sensibilidade de diagnóstico: Correlação do método	Especificidade do diagnóstico
Plasma / Soro	9 IU/mL 38 cópias/mL	0,24 IU/cópia	$R^2 = 0,974$ 131 amostras quantificadas	97,6% 124 amostras confirmadas/127 amostras testadas
			métodos de referência: "cobas® HBV para utilização nos sistemas 4800" e "cobas® HBV para utilização nos sistemas 6800", Roche Diagnostics.	

Preparação da amostra

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

Table 49

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

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

Procedimentos ELiTe InGenius

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

Antes da análise

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

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

1. Selecione "Perform Run" (Executar) no ecrã tátil	2. Verifique os volumes de extração: Entrada: "200 µL", eluição: "50 µL"	3. Leia os códigos de barras das amostras com um leitor de códigos de barras manual ou escreva a identificação da amostra
4. Selecione o protocolo de ensaio de interesse: HBV ELiTe_PL_200_50 ou HBV ELiTe_Se_200_50	5. Selecione o método "Extract + PCR" (Extrair+PCR) e a posição da amostra: Extraction Tube (Tubo de extração)	6. Carregue a PCR Mix e o Internal Control no Inventory Block (Gestor do reagente)
7. Carregue: PCR cassette, Cartucho de extração, Tubo de eluição, Cassete de pontas, Racks do tubo de extração	8. Feche a porta Iniciar a execução	9. Visualize, aprove e guarde os resultados

NOTE

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

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

1 a 4: Siga o procedimento de execução completa 1 descrito acima (selecione os Protocolos de ensaio: HBV ELITe_PC e HBV ELITe_NC ou HBV ELITe_STD, ou HBV ELITe_PL_200_50 ou HBV ELITe_Se_200_50)	5. Selecione o método “PCR Only” (Apenas PCR) e defina a posição da amostra “Elution Tube” (Tubo de eluição)	6. Carregue a PCR Mix no bloco de refrigeração do Inventory Block (Gestor do reagente)
7. Carregue: Rack de PCR Cassette e suporte de tubos de eluição com o ácido nucleico extraído, standards ou controlos.	8. Feche a porta Iniciar a execução	9. Visualize, aprove e guarde os resultados

Procedimentos ELITe BeGenius

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

Antes da análise

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

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

1. Selecione “Perform Run” (Executar) no ecrã tátil e, a seguir, clique no modo de execução “Extraction + PCR” (Extração+PCR).	2. Insira o Sample Rack (Suporte de amostras) com as amostras com código de barras na Cooler Unit. A leitura do código de barras já se encontra ativada	3. Verifique os volumes de extração: Entrada: “200 µL”, eluato: “50 µL”
4. Selecione o “Assay protocol” (Protocolo de ensaio) de interesse (HBV ELITe_Be_PL_200_50 ou HBV ELITe_Be_Se_200_50)	5. Imprima as etiquetas para colocar um código de barras nos tubos de eluição vazios. Carregue os tubos no rack de eluição e insira-o na Cooler Unit	6. Carregue a PCR Mix e o CTCPE no Reagent/Elution Rack (Rack de reagente/eluição), e insira-o na Cooler Unit
NOTE Se for realizada uma segunda extração, repita os passos 2 a 4		
7. Carregue: “PCR Rack” (rack de PCR) com a “PCR Cassette” e o “Extraction Rack” (Rack de extração) com os cartuchos de extração “ELITe InGenius SP 200” e os consumíveis de extração necessários	8. Feche a porta. Inicie a execução	9. Visualize, aprove e guarde os resultados

NOTE

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

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

1. Selecione “Perform Run” (Executar) no ecrã tátil e, a seguir, clique no modo de execução “PCR Only” (Apenas PCR)	2. Carregue os tubos com código de barras do ácido nucleico extraído ou dos controlos/calibradores no Elution Rack (rack de eluição) e insira-o na Cooler Unit	3. Para Standards e Controlos: para cada “Position” (Posição) introduza o “Reagent name” (Nome do reagente) e o “S/N” (número de série), o “Lot No.” (número de lote), a “Exp.Date” (data de validade) e o “T/R” (número de reações). Para os eluatos: para cada “Position” (Posição), insira a “Sample ID” (Identificação da amostra), a “Sample matrix” (Matriz da amostra), o “Extraction kit” (Kit de extração) e o “Extracted eluate vol.” (Volume de eluato extraído).
4. Selecione o “Assay protocol” (Protocolo de ensaio) de interesse (HBV ELITe_Be_PC e HBV ELITe_Be_NC ou HBV ELITe_Be_STD, ou HBV ELITe_Be_PL_200_50 ou HBV ELITe_Be_Se_200_50)	5. Carregue a PCR Mix no Reagent/Elution Rack (Rack de reagente/eluição). e insira-o na Cooler Unit. Carregue as pontas de filtro e o rack PCR com a “PCR Cassette”	6. Feche a porta. Inicie a execução
7. Visualize, aprove e guarde os resultados		

Appendix B HBV ELITE MGB Kit utilizado em associação com MyGeniusPRO



CAUTION

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

Utilização prevista

O produto **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®** e **MyGenius PRO®** (nome de registo ELIVERSE®), sistemas automatizados e integrados para a extração, PCR em tempo real e a interpretação dos resultados, usando amostras humanas de plasma colhido em EDTA ou em ACD e soro.

O produto está previsto para utilização como auxiliar na gestão de indivíduos infetados por 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.

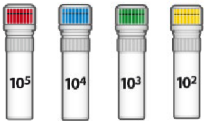
Sequência amplificada

Sequência	Gene	Fluoróforo	Canal
Alvo	Gene da polimerase do HBV (gene P)	FAM	HBV
Internal Control	IC2	AP525	CI

Matrizes validadas

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

Conteúdo do kit

HBV ELITe MGB Mix	HBV ELITe Standard	HBV Internal Control	HBV - ELITe Positive Control
 X 8	 X 1	 X 8	 X 2
PCR Mix pronta a utilizar 8 tubos de 280 µL 12 reações por tubo 96 reações por kit 7 ciclos de congelamento-descongelamento	Pronta a utilizar, 4 níveis: 10 ⁵ , 10 ⁴ , 10 ³ , 10 ² 1 conjuntos de 4 tubos de 160 µL 2 reações por tubo 2 reações por kit 2 ciclos de congelamento-descongelamento	IC pronto a utilizar 8 tubos de 160 µL 96 reações por kit 6 ciclos de congelamento-descongelamento	Ready-to-use PC 2 tubos de 160 µL 4 reações por tubo 8 reações por kit 4 ciclos de congelamento-descongelamento

Prazo de conservação máximo: **24 meses**Temperatura de armazenamento: **-20 °C**

Outros produtos necessários não fornecidos no kit

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

Protocolo MyGenius PRO

› Volume da amostra › Volume de IC › Volume de eluição total	200 µL 10 µL 50 µL	› Volume de entrada de PCR eluato › Q—PCR Mix volume › Frequência dos controlos › Frequência da calibração	20 µL 20 µL 15 dias 60 dias
--	--------------------------	---	--------------------------------------

Desempenhos MyGenius PRO

Matriz	Limite de detecção	› Fator de conversão em IU	Sensibilidade de diagnóstico: Correlação do método	Especificidade do diagnóstico
Plasma / Soro	9 IU/mL 38 cópias/mL	0,24 IU/cópia	R ² = 0,974 131 amostras quantificadas	97,6% 124 amostras confirmadas/127 amostras testadas
			métodos de referência: “cobas® HBV para utilização nos sistemas 4800” e “cobas® HBV para utilização nos sistemas 6800”, Roche Diagnostics.	

Preparação da amostra

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

Table 50

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

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

Procedimentos MyGenius PRO

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

1. Ligue o MyGenius PRO. Inicie sessão no modo STANDBY com o nome de utilizador e a palavra-passe.	2. Carregue todos os consumíveis nas gavetas e esvazie o depósito de resíduos líquidos e as caixas de resíduos sólidos, se necessário. Prima o botão Iniciar para efetuar a Preparação: após a preparação, o instrumento passa para o modo de Funcionamento.	3. Verifique os calibradores: Q-PCR Standard no menu "Calibration" (Calibração). Verifique os controlos: Positive Control e Negative Control no menu "Controls" (Controlos). Nota: Todos devem ter sido executados, aprovados e não ter expirado.
4. Descongele os tubos de PCR Mix e IC MAXI. Submeta a vórtice suave. Centrifugue durante 5 s	5. Carregue os tubos de misturas de PCR no carrossel de reagentes seguindo as indicações da GUI.	6. Carregue o(s) tubo(s) IC MAXI no suporte azul dedicado e coloque-o(s) na área do Auto Sampler.
7a. Se o instrumento estiver ligado ao LIS, insira as amostras na área do Auto Sampler utilizando suportes dedicados, consoante os diâmetros dos tubos utilizados. A extração inicia-se automaticamente. 7b. Se o instrumento não estiver ligado ao LIS, na lista de amostras, prima "Assign test" (Atribuir teste), leia o código de barras das amostras com o leitor de códigos de barras externo, selecione a matriz de plasma ou soro e atribua o protocolo de ensaio "HBV ELiTe_My_PL_IU_200_50" ou "HBV ELiTe_My_PL_cmL_200_50" ou HBV ELiTe_My_Se_IU_200_50" HBV ou ELiTe_My_Se_cmL_200_50", insira as amostras na área do Auto Sampler utilizando suportes dedicados, consoante os diâmetros dos tubos utilizados. A extração inicia-se automaticamente.		



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