

Instructions for use

Parvovirus B19 ELITe MGB® Kit

reagentes para PCR em tempo real do ADN



REF RTS070PLD

UDI 08033891483623

CE
0123

IVD

HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES

Rev.	Aviso de alteração	Data (dd/mm/aa)
17-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 Atualização da utilização prevista: Validação dos produtos em associação com os instrumentos ELiTe InGenius (REF INT030) e ELiTe BeGenius (REF INT040) com matrizes de sangue total colhido em EDTA e líquido amniótico.	30/01/26
	NOTE A composição do produto permanece inalterada Novos gráficos e definição de conteúdos das instruções de utilização.	
16	Utilização alargada do instrumento automatizado e integrado ELiTe BeGenius e matriz de líquido amniótico Adição da informação UDI	03/06/24
15	Atualização para a utilização do produto em associação com o instrumento «ELiTe BeGenius®» (REF INT040).	28/01/22
14	<i>Atualização dos nomes AP para serem utilizados com os sistema ELiTe InGenius®</i>	30/01/20
13	Utilização alargada com matriz de líquido amniótico em associação com o instrumento ELiTe InGenius® .	11/10/17
00-12	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
RTS070PLD	U0624-073	30/04/26
RTS070PLD	U1124-016	30/06/26
RTS070PLD	U0625-043	30/06/27

Os lotes de produto de Positive Control e Standard ainda disponíveis no mercado em virtude do IVDR (identificados pelos números de LOTE indicados nas instruções de utilização do Positive Control e do Standard) são tecnicamente compatíveis com a nova versão IVDR do kit de amplificação e podem ser utilizados, até ao seu esgotamento, em associação com a nova versão IVDR do kit de amplificação e de acordo com a utilização prevista.

ÍNDICE

1 UTILIZAÇÃO PREVISTA	4
2 PRINCÍPIOS DO ENSAIO.....	4
3 DESCRIÇÃO DO PRODUTO	4
4 MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO.....	5
5 MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO	5
6 OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS	6
7 AVISOS E PRECAUÇÕES	6
8 AMOSTRAS E CONTROLOS	7
9 PROCEDIMENTO do ELiTe InGenius	10
10 PROCEDIMENTO do ELiTe BeGenius	18
11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO	24
12 REFERÊNCIAS	32
13 LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO	33
14 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS	34
15 SÍMBOLOS.....	36
16 NOTIFICAÇÃO PARA OS UTILIZADORES.....	37
17 NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA	37
Appendix A QUICK START GUIDE.....	38

1 UTILIZAÇÃO PREVISTA

O produto **Parvovirus B19 ELITE MGB® Kit** consiste num dispositivo médico de diagnóstico *in vitro* que se destina a ser usado por profissionais de saúde como um ensaio qualitativo de PCR em tempo real de ácidos nucleicos para a **deteção e a quantificação de ADN do vírus humano Parvovirus B19 (PVB19)**, extraído de amostras clínicas.

O ensaio é válido em associação com os instrumentos **ELITE InGenius®** e **ELITE BeGenius®**, sistemas automatizados e integrados para extração, PCR em tempo real e interpretação dos resultados, usando amostras humanas de sangue total colhido em EDTA e líquido amniótico.

Este produto destina-se a ser utilizado como um auxílio no diagnóstico e monitorização de infeções por Parvovirus B19 em pacientes com suspeita de infeção ou sujeitos a monitorização de infeção por Parvovirus B19.

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.

2 PRINCÍPIOS DO ENSAIO

O ensaio é uma PCR em tempo real quantitativa que deteta ADN de Parvovirus, isolado de amostras e amplificado usando o reagente de ensaio **PVB19 Q — PCR Mix**, que contém primers e sondas com tecnologia ELITE MGB.

As sondas ELITE MGB são ativadas quando hibridizam com os correspondentes produtos da PCR. O **ELITE InGenius** e o **ELITE BeGenius** monitorizam o aumento da fluorescência e calculam os ciclos de limiar (Ct) e as temperaturas de fusão (Tm). A quantidade de ADN de **PVB19** é calculada com base numa curva de calibração armazenada.

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

NOTE

Um fator de conversão (Fc) permite exprimir os resultados da análise quantitativa em Unidades Internacionais (IU) do PVB19 da "3rd WHO International Standard for Parvovirus B19 DNA for Nucleic Acid Amplification (NAT) Assay" (NIBSC ref. 12/208, Reino Unido).

3 DESCRIÇÃO DO PRODUTO

O **Parvovirus B19 ELITE MGB Kit** fornece o reagente do ensaio **PVB19 Q — PCR Mix**, uma mistura de PCR otimizada e estabilizada que contém os primers e sondas específicos de:

- PVB19 região **VP1**, detetado no Canal **PVB19**; a sonda é estabilizada por MGB, inativada pelo Eclipse Dark Quencher® e identificada com corante FAM.
- Controlo Interno (IC), específico para o **promotor e a região 5' UTR** do gene da **betaglobina humana**, detetado no Canal **IC**; a sonda é estabilizada pelo MGB, inativada pelo Eclipse Dark Quencher® e identificada pelo corante AquaPhluor® 525 (AP525).

A **PVB19 Q — PCR Mix** contém também tampão, cloreto de magnésio, trifosfatos nucleótidos, fluoróforo AP593 (análogo do ROX ou Cy5) como referência passiva para normalização da fluorescência, a enzima Uracil-N-glicosidase (UNG) para inativar a contaminação pelo produto de amplificação e a polimerase de ADN de início a quente.

O produto **Parvovirus B19 ELITE MGB Kit** contém reagentes suficientes para 96 testes (**24 testes em cada tubo**), com 20 µL usados por reação.

4 MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO

Table 1

Componente	Descrição	Quantidade	Classificação dos perigos
PVB19 Q - PCR Mix ref. RTS070PLD	Mistura de reagentes para o tubo de PCR em tempo real com tampa natural	4 x 540 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 extração do ADN de amostra, o controlo interno da extração e inibição, o positive control e o negative control de amplificação, os standards de ADN e os consumíveis **não** são fornecidos com este produto.

Para a extração automática de ácidos nucleicos, a PCR em tempo real e a interpretação dos resultados das amostras, são necessários os produtos seguintes:

Instrumentos e software	Produtos e reagentes
ELiTe InGenius (ELiTechGroup S.p.A., EG SpA ref. INT030) Software ELiTe InGenius versão 1.3.0.19 (ou superior) PVB19 ELiTe STD , protocolo do ensaio com parâmetros para a análise dos Calibradores PVB19 ELiTe PC , protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Positive Control PVB19 ELiTe NC , protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Negative Control PVB19 ELiTe WB_200_100 , Assay Protocol (Protocolo de ensaio) com parâmetros para análise de amostra do sangue total PVB19 ELiTe AF_200_100 , Assay Protocol (Protocolo de ensaio) com parâmetros para análise de amostra do líquido amniótico.	Parvovirus B19 ELiTe Standard (EG SpA, ref. STD070PLD) Parvovirus B19 – ELiTe Positive Control (EG SpA, ref. CTR070PLD) CPE – Internal Control (EG SpA, ref. CTRCPE) ELiTe InGenius SP200 (EG SpA, ref. INT032SP200) Consumíveis ELiTe InGenius e ELiTe BeGenius (ver instruções de utilização do ELiTe InGenius e do ELiTe BeGenius)
ELiTe BeGenius (EG SpA ref. INT040) ELiTe BeGenius Software versão 2.3.0. (ou superior) PVB19 ELiTe Be STD , protocolo do ensaio com parâmetros para a análise dos Calibradores PVB19 ELiTe Be PC , protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Positive Control PVB19 ELiTe Be NC , protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Negative Control PVB19 ELiTe Be WB_200_100 , protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra do sangue total PVB19 ELiTe Be AF_200_100 , protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra do líquido amniótico	

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	Temperatura de armazenamento	Utilização a partir da primeira abertura	Ciclos de congelação/descongelação	Estabilidade de bordo (ELITE InGenius e ELITE BeGenius)
PVB19 Q — PCR Mix	-20°C ou inferior (protegido da luz)	um mês	até cinco	até cinco sessões separadas* de três horas cada ou até 7 horas consecutivas (2 sessões de 3 horas cada e o tempo necessário para iniciar uma terceira sessão)

*com congelamento intermédio

8 AMOSTRAS E CONTROLOS

8.1 Amostras e protocolos de ensaio

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

Table 3

Amostra	Requisitos de colheita	Condições de transporte/armazenamento			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ±10 °C	-70 ±15 °C
sangue total	EDTA	≤ 24 horas	≤ 3 dias	≤ 30 dias	≤ 30 dias
Líquido amniótico	colhidas sem conservantes	≤ 4 horas	≤ 4 horas	≤ 30 dias	≤ 30 dias

EDTA, ácido etilenodiamino tetra-acético

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

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

Table 4 Protocolos de ensaio para o Parvovirus B19 ELITE MGB Kit

Amostra	Instrumento	Nome do Assay Protocol (Protocolo de ensaio)	Relatório	Características
Sangue total	ELITE InGenius	PVB19 ELITE_WB_200_100	cópias/mL ou IU/ /mL	Volume inicial de extração: 200 µL Volume de eluição da extração: 100 µL Internal Control: 10 µL Sonicacão: NÃO Fator de diluição: 1 Volume de PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL
	ELITE BeGenius	PVB19 ELITE_Be_WB_200_100	cópias/mL ou IU/ /mL	Volume inicial de extração: 200 µL Volume de eluição da extração: 100 µL Internal Control: 10 µL Sonicacão: NÃO Fator de diluição: 1 Volume de PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL
Líquido amniótico	ELITE InGenius	PVB19 ELITE_AF_200_100	cópias/mL ou IU/ /mL	Volume inicial de extração: 200 µL Volume de eluição da extração: 100 µL Internal Control: 10 µL Sonicacão: NÃO Fator de diluição: 1 Volume de PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL
	ELITE BeGenius	PVB19 ELITE_Be_AF_200_100	cópias/mL ou IU/ /mL	Volume inicial de extração: 200 µL Volume de eluição da extração: 100 µL Internal Control: 10 µL Sonicacão: NÃO Fator de diluição: 1 Volume de PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL

IU: unidades internacionais

NOTE

Verifique se o tubo primário e o volume da amostra são compatíveis com o ELITE InGenius ou o ELITE BeGenius, seguindo as instruções de utilização do kit de extração **ELITE InGenius SP200** (EG SpA, ref. INT032SP200).

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 o tubo de extração (para o ELITE InGenius) ou para o tubo Sarstedt de 2 mL (para o ELITE BeGenius).

NOTE

A pipetagem de amostras para o **Extraction Tube (Tubo de extração)** ou para o **tubo Sarstedt de 2 mL** pode **gerar contaminação**. Utilize as pipetas adequadas e siga todas as recomendações reportadas na secção 7 AVISOS E PRECAUÇÕES page 6.

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

Consulte "Substâncias Potencialmente Interferentes" na secção **11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO** page 24 para verificar os dados relativos a substâncias interferentes.

8.2 Calibradores e controlo 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 de produto **Parvovirus B19 ELITE Standard** (não fornecido com este kit) com os protocolos do ensaio **PVB19 ELITE_STD** ou **PVB19 ELITE_Be_STD**.

NOTE

As concentrações de Q – PCR Standards são expressas em cópias/reação (10^5 cópias / rxn, 10^4 cópias / rxn, 10^3 cópias / rxn, 10^2 cópias / rxn). Consulte "Incerteza da curva de standard" em 11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO page 24

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 **Parvovirus B19 - ELITE Positive Control** (não fornecido com este kit) com os protocolos de ensaio **PVB19 ELITE_PC** ou **PVB19 ELITE_Be_PC**.
- Para o Negative Control, utilize água de grau biológico molecular (não fornecida com este kit) com os protocolos de ensaio **PVB19 ELITE_NC** ou **PVB19 ELITE_Be_NC**.

NOTE

O **ELITE InGenius** e o **ELITE BeGenius** permitem a geração e o armazenamento da curva de calibração e a validação do controlo de PCR para cada lote de reagente de PCR.

As curvas de validação expiram após **60 dias** e, nesse momento, é necessário voltar a executar a calibração.

Os resultados do controlo da PCR expiram **após 15** e, nesse momento, é necessário voltar a executar os controlos positivos e negativos.

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

- se for usado um novo lote de reagentes,
- os resultados da análise de controlo da qualidade se encontrarem fora da especificação (ver o parágrafo seguinte),
- se for realizada qualquer reparação ou manutenção significativa nos instrumentos **ELITE InGenius** ou **ELITE BeGenius**.

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 utilização do **Parvovirus B19 ELITE MGB Kit** com o sistema **ELITE InGenius** consiste em três passos:

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

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

O **Parvovirus B19 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 **24 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 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. Cada tubo é suficiente para 12 extrações.	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	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 100 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 100 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 nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.
12	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
13	Carregue a PCR Cassette, os cartuchos de extração Elite InGenius SP 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.

	A. Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair +PCR])	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR])
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".
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 100 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 100 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 4 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 **Parvovirus B19 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 **PVB19**) e do Internal Control (Canal **IC**) com os parâmetros do protocolo de ensaio **PVB19 ELiTe_WB_200_100** e **PVB19 ELiTe_AF_200_100**. Os valores de Ct do alvo resultante são convertidos em concentração.

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

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

1) Curva de calibração	Estado
PVB19 Q-PCR Standard	APROVADO
2) Positive Control	Estado
PVB19 Positive Control	APROVADO

3) Negative Control	Estado
Negative Control de PVB19	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
PVB19:DNA Detected, quantity equal to XXX copies / mL or IU / mL (PVB19:DNA detetado, quantidade igual a "XXX" cópias/mL ou IU/mL)	Foi detetado ADN de PVB19 na amostra no intervalo de medição de ensaio, a sua concentração é mostrada.
PVB19:DNA Detected, quantity below LLoQ copies / mL or IU / mL (PVB19:DNA detetado, quantidade abaixo "LLoQ" cópias/mL ou IU/mL)	Foi detetado ADN de PV B19 na amostra, a sua concentração é inferior ao ensaio - limite inferior de quantificação
PVB19:DNA Detected, quantity beyond ULoQ copies / mL or IU / mL (PVB19:DNA detetado, quantidade além de "ULoQ" cópias/ mL ou IU/mL)	Foi detetado ADN do PVB 19 na amostra, a sua concentração é superior ao ensaio Limite superior de quantificação
PVB19:DNA Not detected or below LoD copies / mL or IU / mL (PVB19:DNA não detetado ou abaixo de "LoD" cópias/mL ou IU/ mL)	Não foi detetado ADN de PVB19 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 a amostra): caso, o ARN do Controlo Interno não foi detetado eficientemente devido a problemas nos passos de colheita, extração ou PCR da amostra (por ex. amostragem incorreta, degradação ou perda do ADN durante a extração ou inibidores na eluição), que pode causar resultados incorretos.

Se subsistir volume da eluição suficiente, o eluato pode ser novamente testado (tal como está ou diluído) através de uma execução da amplificação no modo "PCR Only" (Apenas PCR). Se o segundo resultado for inválido, a amostra deve ser novamente testada começando a partir da extração de uma nova amostra utilizando o modo "Extract + PCR" (Extrair+PCR) (ver [14 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS page 34](#))

Amostras reportadas como "PVB19:DNA Not detected or below "LoD" copies/mL" (PVB19:DNA não detetado ou abaixo de "LoD" cópias/mL) são adequadas para análise mas não foi detetado PVB19. Neste caso, a amostra pode ser negativa para ADN de PVB19 ou o ADN de PVB19 está presente numa concentração abaixo do limite de deteção do ensaio (ver [11 "Características de desempenho" page 24](#)).

Amostras positivas do ADN de PVB19 a uma concentração abaixo do Limite de Deteção (e Limite Inferior da Quantificação) do ensaio, se detetado, são relatados como "PVB19:DNA Detected, quantity below "LLoQ" copies/mL" (PVB19:DNA detetado, quantidade abaixo "LLoQ" cópias/mL) (consulte [11 "Características de desempenho" page 24](#)).

São detetadas amostras positivas de ADN de PVB19 no Intervalo de Medição Linear que são relatadas como "PVB19:DNA Detected, quantity equal to "XXX" copies / mL" (PVB19:DNA detetado, quantidade igual a "XXX" cópias/mL) (ver [11 "Características de desempenho" page 24](#)).

Amostras positivas de ADN de PVB19 que estão acima do Limite Superior de Quantificação são relatadas como "PVB19:DNA Detected, quantity beyond "ULoQ" copies/mL" (PVB19:DNA detetado, quantidade além de "ULoQ" cópias/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 (ver [11 Características de desempenho page 24](#)).

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).

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 utilização do **Parvovirus B19 ELITE MGB Kit** com o sistema **ELITE BeGenius** consiste em três passos:

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

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 **Parvovirus B19 ELiTe MGB Kit** pode ser usado no **ELiTe BeGenius** para realizar:

- A. Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair+PCR]),
- B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR]),
- C. Execução 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 **24 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 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.	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).

	A. Execução da amostra (Extract + PCR) [Extrair +PCR]	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR])
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 100 µL.	Não aplicável
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) 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".
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 ± 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 4 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 **Parvovirus B19 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 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

11.1 Sensibilidade analítica: Limite de detecção (LdD)

O Limite de detecção (LoD) da amplificação de ADN permite detetar a presença de cerca de 10 cópias em 20 µL de ADN adicionado à reação de amplificação.

Sangue total colhido em EDTA

O valor do LdD teórico foi verificando testando no ELITE InGenius e no ELITE BeGenius um universo de amostras de sangue total colhido em EDTA reforçadas com material de referência do Parvovirus B19 (3rd WHO International Standard, NIBSC) à concentração declarada (125 IU/mL).

Os resultados são comunicados nas tabelas seguintes.

Table 5 Limite de detecção com ELITE InGenius e ELITE BeGenius em sangue total

Limite de detecção para amostras de sangue total no ELITE InGenius e no ELITE BeGenius	
Amostra	LdD
Sangue Total colhido em EDTA	125 IU/mL
	250 cópias/mL

Os resultados obtidos confirmaram a concentração indicada para o alvo do Parvovirus B19 ELITE MGB Kit no ELITE InGenius e no ELITE BeGenius. O valor do LdD para o alvo de PVB19 em associação com as amostras de sangue total foi confirmado como 125 IU/mL, correspondente a 250 cópias/mL. O valor em cópias/mL é calculado através da aplicação do fator de conversão específico (0,5 IU/cópia) reportado no parágrafo “[11.10 Fator de conversão para unidades internacionais page 30](#)”.

Líquido amniótico

O LdD do ensaio usado em associação com líquido amniótico foi determinado no instrumento ELITE InGenius, testando um painel de amostras de líquido amniótico negativo para Parvovirus B19 (PVB19) e reforçado com material de referência de PVB19 (3rd WHO 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 6 Limite de detecção com ELITE InGenius e ELITE BeGenius em líquido amniótico

Limite de detecção para amostras de líquido amniótico e ELITE InGenius			
Alvo	LdD	intervalo de confiança de 95%	
		Limite inferior	Limite superior
PVB19	40 IU/mL	24 IU/mL	51 IU/mL
	40 cópias/mL	24 cópias/mL	51 cópias/mL

O LdD como cópias/mL para líquido amniótico foi calculado através da aplicação do fator de conversão específico (1 IU/cópia) reportado no parágrafo “[11.10 Fator de conversão para unidades internacionais page 30](#)”.

O valor do LdD calculado foi verificado testando no ELITE InGenius e no ELITE BeGenius um universo de amostras de líquido amniótico reforçado com material de referência certificado PVB19 (3rd WHO International Standard, NIBSC) à concentração declarada.

11.2 Intervalo de medição linear e limites de quantificação

O intervalo de medição linear do ensaio foi determinado em associação com amostras de sangue total com EDTA e de líquido amniótico no **ELITE InGenius** e no **ELITE BeGenius**, utilizando um painel de materiais de referência do PVB19 (vírus inativado da estirpe B19 do parvovírus humano NATrol™, ZeptoMetrix) em associação com sangue total com EDTA; e (estirpe do parvovírus humano: B19 concentrado 1mL, ZeptoMetrix) em associação com líquido amniótico, em matrizes negativas de ADN do PVB19.

Os resultados de cada matriz são comunicados nos parágrafos seguintes.

Sangue total colhido em EDTA

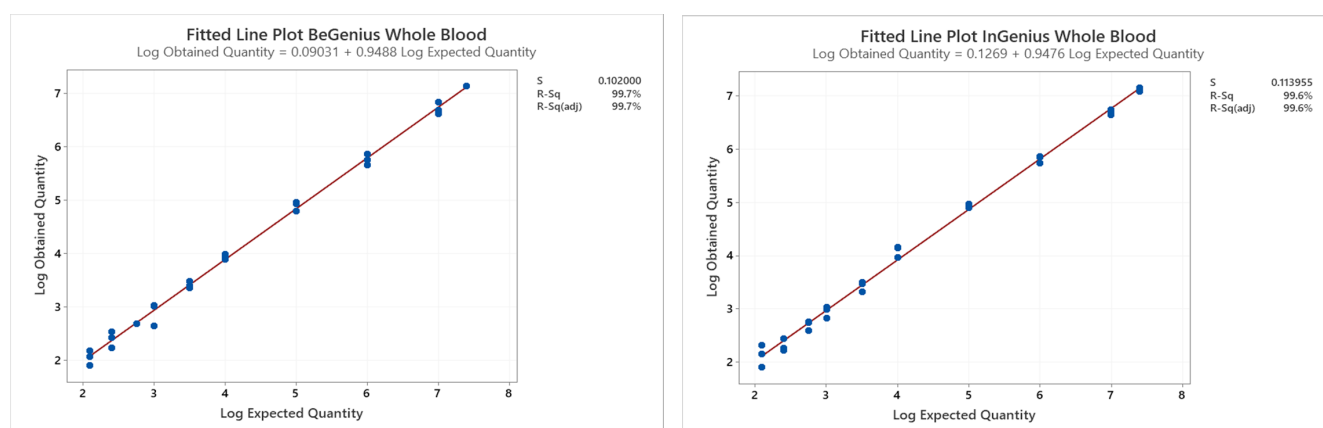


Fig. 1

O intervalo de medição linear como cópias/mL para sangue total em EDTA é calculado através da aplicação do fator de conversão específico reportado em [11.10 Fator de conversão para unidades internacionais](#) [page 30](#)

Os resultados finais estão resumidos na tabela seguinte.

Table 7 Intervalo de medição linear para amostras de sangue total e o ELITE InGenius e ELITE BeGenius

Unidade	Limite inferior	Limite superior
IU/mL	125	25000000
cópias/mL	250	50000000

Líquido amniótico

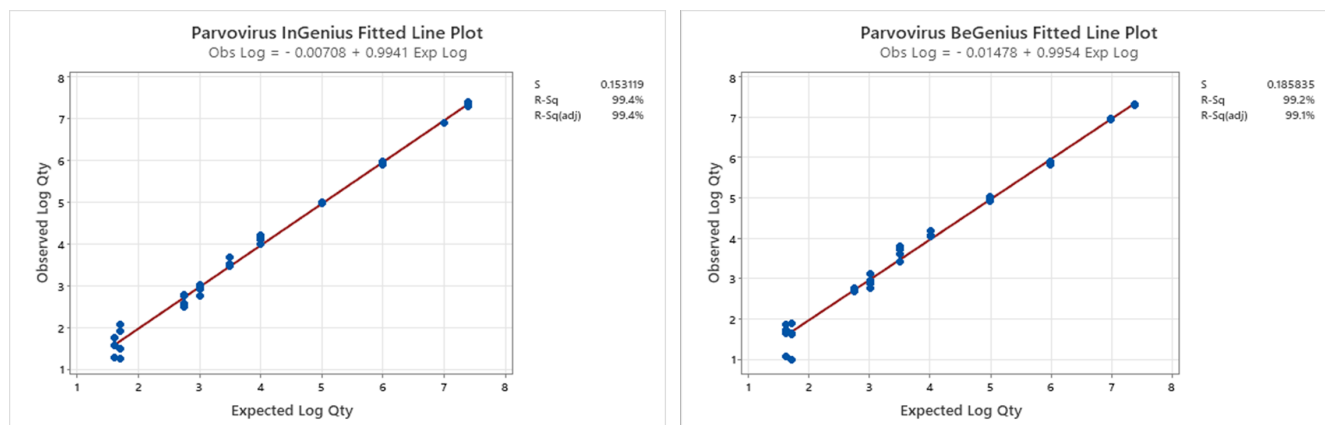


Fig. 2

O intervalo de medição linear como cópias/mL para líquido amniótico é calculado através da aplicação do fator de conversão específico reportado em [11.10 Fator de conversão para unidades internacionais](#) [page 30](#).

Os resultados finais estão resumidos na tabela seguinte.

Table 8 Intervalo de medição linear para amostras de líquido amniótico e o ELITE InGenius e ELITE BeGenius

Unidade	Limite inferior	Limite superior
IU/mL	40	25000000
cópias/mL	40	25000000

11.3 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 0,2535 Log cópias / reação.

Table 9 Incerteza da curva de standard

Níveis da curva de standard	Teórico	Medido	SD	Incerteza combinada alargada
	Log c/rxn	Log c/rxn		
PVB19Q - PCR Standard 10^5	5,0000	4,9961	0,0539	0,2535
PVB19Q - PCR Standard 10^4	4,0000	4,0176	0,0783	
PVB19 Q - PCR Standard 10^3	3,0000	2,9765	0,0548	
PVB19Q - PCR Standard 10^2	2,0000	2,0098	0,0635	

11.4 Inclusividade: Eficiência de deteção e quantificação em diferentes genótipos

A inclusividade do ensaio, como eficiência de deteção de diferentes estirpes de PVB19 foi avaliada por análise *in silico* das sequências disponíveis nas bases de dados de nucleótidos. A análise revelou a conservação da sequência e a ausência de mutações significativas. Assim, espera-se uma deteção eficiente para as diferentes estirpes ou isolados.

11.5 Organismos potencialmente interferentes: Reatividade cruzada

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

11.6 Organismos potencialmente interferentes: Inibição

A potencial inibição de organismos não pretendidos que podem ser encontrados em amostras clínicas foi avaliada através de análise *in silico*. A análise não demonstrou homologias significativas com outros organismos não pretendidos (vírus, procariotos, invertebrados, fungos, fagos e humanos). Por conseguinte, não é esperada qualquer inibição.

11.7 Substâncias potencialmente interferentes: Inibição

A potencial inibição por substâncias interferentes (endógenas e exógenas) que podem ser encontradas em amostras clínicas foi avaliada para o ensaio através da análise de um painel de substâncias em concentração relevante em amostras positivas para PVB19.

Os resultados de cada matriz são comunicados nas tabelas seguintes.

Table 10 Sangue total em EDTA

Amostra	Pos./Rep. PVB19	Resultado
Etanol	5/5	Ausência de inibição
Azitromicina	5/5	Ausência de inibição
Ampicilina	5/5	Ausência de inibição
Vancomicina	5/5	Ausência de inibição
Ganciclovir	5/5	Ausência de inibição
Aciclovir	5/5	Ausência de inibição
Fluconazol	5/5	Ausência de inibição
Ciclosporina A	5/5	Ausência de inibição
EDTA	5/5	Ausência de inibição
Heparina	5/5	Ausência de inibição

As substâncias testadas não interferem com a amplificação do PVB19 ou do Internal Control utilizando o B19 ELITE MGB Kit em amostras de sangue total em EDTA.

Table 11 líquido amniótico

Amostra	Pos./Rep. PVB19	Resultado
Azitromicina	5/5	Ausência de inibição
Aciclovir	5/5	Ausência de inibição
ST humano	5/5	Ausência de inibição

As substâncias testadas não interferem com a amplificação do PVB19 ou do Internal Control utilizando o Parvovirus B19 ELITE MGB Kit em amostras de líquido amniótico

11.8 Repetibilidade

A repetibilidade intra-sessão e inter-sessão do ensaio foi avaliada nos instrumentos ELITE InGenius e ELITE BeGenius através da análise de um painel de amostras de sangue total colhido em EDTA, incluindo uma amostra negativa e duas amostras enriquecidas com material de referência certificado de PVB19 (3rd WHO International Standard, NIBSC).

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

Table 12 Repetibilidade intra-sessão ELITE InGenius

Amostra	PVB19				
	Nº	Ct médio	SD	% CV	% Concordância
Negativo	8	N.A.	N.A.	N.A.	100%
3 x LdD	8	35,81	0,52	1,46	100%
10 x LdD	8	34,31	0,28	0,83	100%

Table 13 Repetibilidade intra-sessão ELITE BeGenius

Amostra	PVB19				
	Nº	Ct médio	SD	% CV	% Concordância
Negativo	8	N.A.	N.A.	N.A.	100%
3 x LdD	8	36,53	0,53	1,46	100%
10 x LdD	8	34,79	0,21	0,61	100%

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

Table 14 Repetibilidade inter-sessão ELITE InGenius

Amostra	PVB19				
	Nº	Ct médio	SD	% CV	% Concordância
Negativo	16	N.A.	N.A.	N.A.	100%
3 x LdD	16	35,87	0,44	1,23	100%
10 x LdD	16	34,19	0,28	0,83	100%

Table 15 Repetibilidade inter-sessão ELITE BeGenius

Amostra	PVB19				
	Nº	Ct médio	SD	% CV	% Concordância
Negativo	16	N.A.	N.A.	N.A.	100%
3 x LdD	16	36,40	0,45	1,23	100%
10 x LdD	16	34,68	0,27	0,79	100%

No teste de repetibilidade, o Parvovirus B19 ELITE MGB Kit detetou o alvo e apresentou uma variabilidade máxima dos valores de Ct do alvo como %CV inferior a 5%.

11.9 Reprodutibilidade

A reprodutibilidade inter-instrumentos e inter-lote do ensaio foi avaliada no ELITE InGenius e no ELITE BeGenius através da análise de um painel de amostras de sangue total, colhido em EDTA, incluindo uma amostra negativa e duas amostras enriquecidas com material de referência certificado de PVB19 (3rd WHO International Standard, NIBSC).

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

Table 16 Capacidade de reprodução inter-instrumento ELITE InGenius

Amostra	PVB19				
	Nº	Ct médio	SD	% CV	% Concordância
Negativo	8	N.A.	N.A.	N.A.	100%
3 x LdD	8	36,89	0,62	1,68	100%
10 x LdD	8	34,85	0,26	0,74	100%

Table 17 Capacidade de reprodução inter-instrumento ELITE BeGenius

Amostra	PVB19				
	Nº	Ct médio	SD	% CV	% Concordância
Negativo	8	N.A.	N.A.	N.A.	100%
3 x LdD	8	37,00	0,37	1,00	100%
10 x LdD	8	35,14	0,51	1,46	100%

Um resumo de reprodutibilidade inter-lote (em dois lotes diferentes) é mostrado nas tabelas seguintes:

Table 18 Repetibilidade interlote ELITE InGenius

Amostra	PVB19				
	Nº	Ct médio	SD	% CV	% Concordância
Negativo	8	N.A.	N.A.	N.A.	100%
3 x LdD	8	36,80	0,67	1,82	100%
10 x LdD	8	35,18	0,71	2,02	100%

Table 19 Repetibilidade interlote ELITE BeGenius

Amostra	PVB19				
	Nº	Ct médio	SD	% CV	% Concordância
Negativo	8	N.A.	N.A.	N.A.	100%
3 x LdD	8	37,41	0,27	0,72	100%
10 x LdD	8	35,31	0,32	0,90	100%

No teste de reprodutibilidade inter-instrumento e inter-lote, o Parvovirus B19 ELITE MGB Kit detetou corretamente todas as amostras conforme esperado e apresentou uma variabilidade máxima dos valores de Ct do alvo como %CV inferior a 5%.

11.10 Fator de conversão para unidades internacionais

O fator de conversão (Fc) para relatar os resultados quantitativos em Unidades internacionais (IU)/mL a partir de cópias/mL, foi calculado no ELITE InGenius utilizando material de referência calibrado certificado de PVB19 (NIBSC).

Sangue Total colhido em EDTA

O fator de conversão foi determinado como sendo 0,5 IU/cópia no ELITE InGenius usando um painel de diluições de material de referência de PVB19 (2th WHO International Standard, NIBSC) em amostras de sangue total em EDTA negativas.

Na tabela seguinte é apresentado um resumo dos resultados.

Table 20 Fator de conversão para o cálculo de unidades internacionais com o ELITE InGenius

Amostra			Resultado			Log diferença (ref. - teste)
IU/mL	IU/mL de Registo	N	Média de cópias/mL	Média IU / mL	Média Registo IU / mL	
100000	5,0000	10	214661	107331	5,0210	-0,0210
10000	4,0000	10	21433	10716	4,0080	-0,0080
1000	3,0000	10	2136	1068	2,9850	+0,0150

O valor do fator de conversão foi verificado no **ELITE InGenius** e no **ELITE BeGenius** usando material de referência calibrado certificado (3th WHO International Standard, NIBSC), verificado de 5,0000 Log IU/mL a 2,0970 Log IU/mL. Os resultados obtidos foram analisados por regressão ortogonal e linear para calcular a sua correlação.

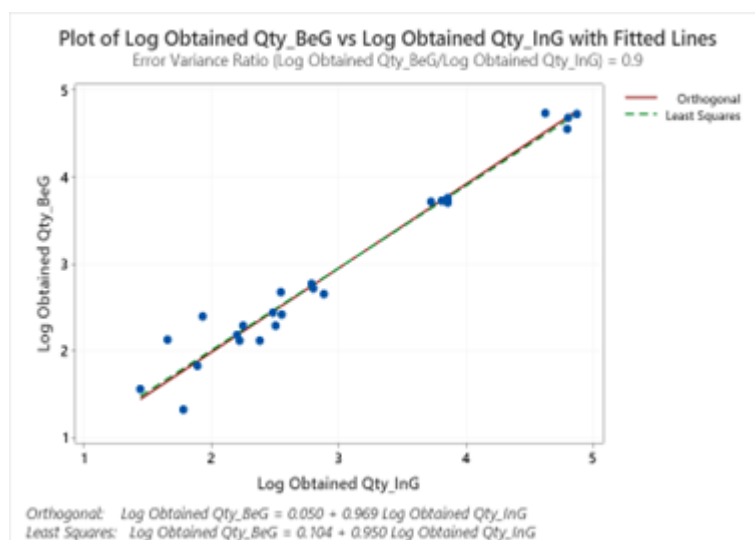


Fig. 3

A análise de regressão ortogonal gerou um declive igual a 0,050 (95% CI: 0,197; 0,296) e um declive igual a 0,969 (95% CI: 0,889 – 1,048). A análise de regressão linear gerou um R² de 0,963.

Líquido amniótico

O fator de conversão foi determinado como sendo 1 IU/cópia no ELITE InGenius usando um painel de diluições de material de referência de PVB19 (3rd WHO International Standard, NIBSC) em amostras de líquido amniótico negativas.

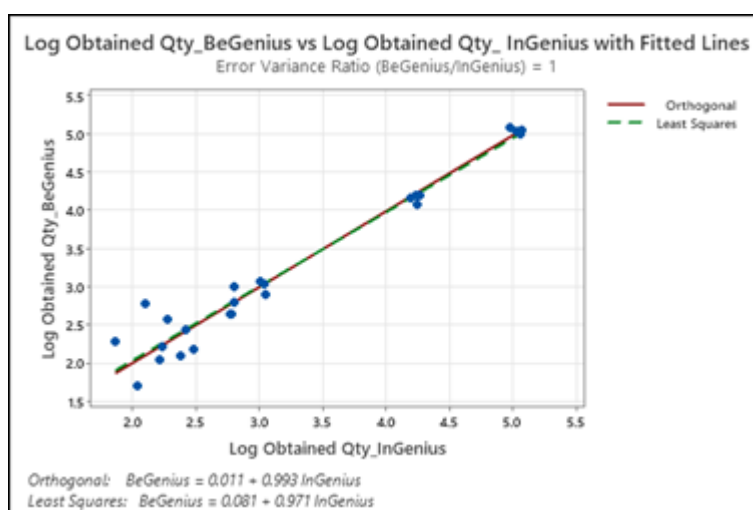
Na tabela seguinte é apresentado um resumo dos resultados.

Table 21 Fator de conversão para o cálculo de unidades internacionais com o ELITE InGenius

Amostra			Resultado			Log diferença (ref. - teste)
IU/mL	IU/mL de Registo	N	Média de cópias/mL	Média IU / mL	Média Registo IU / mL	
316228	5,5000	16	273604	273604	5,4360	0,0640
100000	5,0000	16	88997	88997	4,9470	0,0530
31623	4,5000	16	34559	34559	4,5340	-0,0340
10000	4,0000	16	11089	11089	4,0390	-0,0390
3162	3,5000	15*	3704	3704	3,5580	-0,0580
1000	3,0000	16	932	932	2,9520	0,0480

*Uma amostra que resultou num valor atípico foi excluída da análise.

O valor do fator de conversão foi verificado no **ELITE InGenius** e no **ELITE BeGenius** usando material de referência calibrado certificado (3th WHO International Standard, NIBSC), verificado de 5,0000 Log IU/mL a 2,0970 Log IU/mL. Os resultados obtidos foram analisados por regressão ortogonal e linear para calcular a sua correlação.

**Fig. 4**

A análise de regressão ortogonal gerou um declive igual a 0,0112 (95% CI: 0,2879; 0,3103) e um declive igual a 0,9928 (95% CI: 0,9046; 1,0810). A análise de regressão linear gerou um R² de 0,957.

Os resultados de cada matriz são resumidos na tabela seguinte.

Table 22 Fator de conversão para unidades internacionais com o ELITE InGenius e ELITE BeGenius

Matriz	Fc (IU/cópias)
sangue total	0,5
líquido amniótico	1,0

11.11 Especificidade de diagnóstico: confirmação de amostras negativas

A Especificidade de Diagnóstico do ensaio, como confirmação de amostras negativas, foi avaliada em associação com o ELITE InGenius através da análise de amostras clínicas de sangue total colhido em EDTA e líquido amniótico certificadas negativas ou presumivelmente negativas para o alvo. 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 de diagnóstico do ensaio obtido em associação com o ELITE InGenius também se aplica ao ELITE BeGenius.

Os resultados estão resumidos na tabela seguinte.

Table 23 Especificidade do diagnóstico

Amostras	N	Positivo	Negativo	% de especificidade do diagnóstico
sangue total colhido em EDTA e negativo para ADN de PVB19	53	0	53	100
líquido amniótico negativo para ADN de PVB19	70	0	70	100

O valor-limite de Ct do CI foi definido para 35 para as amostras de sangue total colhidas em EDTA e líquido amniótico quando testadas com o ELITE InGenius e o ELITE BeGenius

11.12 Sensibilidade de diagnóstico: confirmação de amostras positivas

A Sensibilidade de Diagnóstico do ensaio, como confirmação de amostras clínicas positivas, foi avaliada em associação com o ELITE InGenius através da análise de amostras clínicas de sangue total colhido em EDTA e líquido amniótico certificadas positivas para o alvo ou reforçadas com material de referência. Dado que o ELITE BeGenius tem desempenhos analíticos equivalentes ao ELITE InGenius, os desempenhos de diagnóstico do ensaio realizados nos dois instrumentos também foram considerados equivalentes. Por conseguinte, a sensibilidade do diagnóstico do ensaio obtido em associação com o ELITE InGenius também se aplica ao ELITE BeGenius.

Os resultados estão resumidos na tabela seguinte.

Table 24 Sensibilidade de diagnóstico

Amostras	N	Positivo	Negativo	% Sensibilidade de diagnóstico
Sangue total colhido em EDTA, positivo para ADN de PVB19	51	51	0	100
Líquido amniótico reforçado para PVB19	56	56	0	100

NOTE

Os dados e resultados completos dos testes realizados para avaliação das características de desempenho do produto com matrizes e instrumentos estão registados no Ficheiro técnico do produto PARVOVIRUS ELITE MGB® Kit, FTP 070PLD.

12 REFERÊNCIAS

F. McOmish et al. (1993) J. Clin. Microbiol. 31: 323 - 328.

E. A. Lukhtanov et al. (2007) Nucleic Acids Res. 35: e30.

C. N. Kotton et al. (2025) Transplantation 109: 1066-1110

13 LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Utilize este produto apenas com as seguintes amostras clínicas: sangue total colhido em EDTA e líquido amniótico.

Não use o ADN extraído de amostras que contêm heparina com este produto: a heparina inibe a reação de amplificação de ácidos nucleicos e causa resultados inválidos.

Não use com este produto ADN extraído contendo uma elevada quantidade de ADN genómico humano que possa inibir a reação de amplificação de ácidos nucleicos.

Não existem dados disponíveis relativos a uma inibição causada por fármacos antivirais, antibióticos, quimioterapêuticos ou imunossupressores.

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

Devido à sua elevada sensibilidade analítica, o método de PCR em tempo real usado neste produto é sensível a contaminação a partir de amostras clínicas positivas, dos positive controls e dos produtos de PCR. A contaminação cruzada causa resultados falsos positivos. O formato do produto foi concebido para limitar a contaminação cruzada. No entanto, as contaminações cruzadas podem ser evitadas simplesmente através de boas práticas laboratoriais e do cumprimento destas instruções de utilização.

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

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

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

Para evitar resultados incorretos, este produto deve ser manuseado por profissionais, qualificado e com formação em técnicas de biologia molecular, como extração, PCR e deteção de ácidos nucleicos.

Devido a diferenças inerentes entre tecnologias, é recomendado que os utilizadores realizem estudos de correlação do método para calcular diferenças tecnológicas antes de mudar para uma nova tecnologia.

Um resultado negativo obtido com este produto indica que o ADN do alvo não foi detetado no ARN extraído da amostra; no entanto, não pode negligenciar-se o facto de o ARN do alvo ter um título mais baixo que o limite de deteção do produto (Ver "Características de desempenho"). Neste caso, o resultado podia ser um falso negativo.

Os resultados obtidos com este produto podem, por vezes, ser inválidos devido a uma falha do controlo interno. Neste caso, a amostra deve ser retestada, começando pela extração; o que pode causar um atraso na obtenção dos resultados finais.

Possíveis polimorfismos, inserções ou deleções na região do ADN do alvo abrangida pelos primers do produto e pelas sondas podem prejudicar a deteção e quantificação do ADN alvo.

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

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

14 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

Table 25

Reação do Q-PCR Standard, curva standard ou reação do Controlo Positivo 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 5 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 3 sessões consecutivas (7 horas no bloco de refrigeração da Inventory Area (área dos reagentes) ou na Cooler Unit) Não deixe a PCR Mix à temperatura ambiente durante mais do que 30 minutos. Utilize uma nova alíquota da PCR Mix.
Degradação dos Q-PCR Standards ou do Positive Control.	Não use o Q-PCR Standard para mais de 4 sessões independentes (2 horas cada na área de extração ou na Cooler Unit). Não use o Positive Control para mais de 4 sessões independentes (3 horas cada na área de extração ou na Cooler Unit). Use novas alíquotas dos Q-PCR Standards ou do Controlo positivo (Positive Control).
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Table 26

Reação de Negative Control inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da PCR Mix e do Negative Control. Verifique os volumes da PCR Mix e do Negative Control.
Contaminação do Negative Control.	Não use o Negative Control para mais do que 1 sessão. Utilize uma nova alíquota de água de grau de biologia molecular.
Contaminação do PCR Mix.	Utilize uma nova alíquota da PCR Mix.
Contaminação da área de extração, dos Racks, do Inventory Block (Gestor do reagente) ou da Cooler Unit.	Limpe as superfícies com detergentes aquosos, lave as batas de laboratório, substitua os tubos e as pontas utilizadas.
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Table 27

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 5 sessões independentes (3 horas cada na Inventory Area (área dos reagentes) ou na Cooler Unit). Não utilize a PCR Mix durante mais de 3 sessões consecutivas (7 horas no bloco de refrigeração da Inventory Area (área dos reagentes) ou na Cooler Unit). Não deixe a PCR Mix à temperatura ambiente durante mais do que 30 minutos. Utilize uma nova alíquota da PCR Mix.
Degradação do modelo de Internal Control.	Utilize uma nova alíquota da Internal Control.
Inibição devido a substâncias interferentes na amostra.	Repita a amplificação com uma diluição de 1:2 em água de qualidade para biologia molecular de amostra eluída numa sessão "PCR only". Repita a extração com uma diluição 1:2 em água de grau de biologia molecular da amostra numa sessão "Extract + PCR" (Extrair + PCR).
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Table 28

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

Table 29

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

Table 30

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. Introduzir 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 da PCR Mix e/ou CPE.

15 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.

16 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., o 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.

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

Os reagentes de deteção ELiTe MGB® são abrangidos por um ou mais dos números de patente dos 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® e ELiTe BeGenius® estão cobertas por patentes e candidaturas 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.

MGB®, Eclipse Dark Quencher®, AquaPhluor®, ELiTe MGB®, o logotipo ELiTe MGB®, ELiTe InGenius® e ELiTe BeGenius® são marcas registadas do ELiTechGroup na União Europeia.

Minitip Flocked Swab® é marca comercial registada da COPAN Italia S.p.A., FecalSwab™ é marca comercial da COPAN Italia S.p.A.

Appendix A Parvovirus B19 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: www.elitechgroup.com

Utilização prevista

O produto **Parvovirus B19 ELITE MGB® Kit** consiste num dispositivo médico de diagnóstico *in vitro* que se destina a ser usado por profissionais de saúde como um ensaio qualitativo de PCR em tempo real de ácidos nucleicos para **adeteção e a quantificação de ADN do vírus humano Parvovirus B19 (PVB19)**, extraído de amostras clínicas.

O ensaio é válido em associação com os instrumentos **ELITE InGenius®** e **ELITE BeGenius®**, sistemas automatizados e integrados para extração, PCR em tempo real e interpretação dos resultados, usando amostras humanas de sangue total colhido em EDTA e líquido amniótico.

Este produto destina-se a ser utilizado como um auxílio no diagnóstico e monitorização de infeções por Parvovirus B19 em pacientes com suspeita de infeção ou sujeitos a monitorização de infeção por Parvovirus B19.

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.

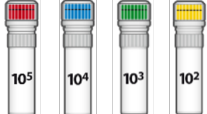
Sequência amplificada

Sequência	Gene	Fluoróforo	Canal
Alvo	Proteína do capsídeo VP1	FAM	PVB19
Internal Control	Gene beta globina humana	AP525	IC

Matrizes validadas

- Sangue total colhido em EDTA
- Líquido amniótico

Conteúdo do Kit e produtos relacionados

PARVOVIRUS ELiTe MGB Kit	PARVOVIRUS ELiTe Standard	PARVOVIRUS- ELiTe Positive Control
 X 4	 X 2	 X 2
PCR Mix pronta a utilizar 4 tubos de 540 µL 96 reações por kit 5 ciclos de congelação-descongelação	Pronta a utilizar, 4 níveis: 10 ⁵ , 10 ⁴ , 10 ³ , 10 ² 1 conjuntos de 4 tubos de 200 µL 4 reações por kit 4 ciclos de congelação-descongelação	Ready-to-use PC 2 tubos de 160 µL 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 SP 200: INT032SP200.	- CPE - Internal Control: CTRCPE - Consumíveis do ELiTe InGenius e ELiTe BeGenius (ver instruções de utilização do ELiTe InGenius e do ELiTe BeGenius)
---	---

Protocolo ELiTe InGenius e ELiTe BeGenius

- Volume da amostra - Volume CPE - Volume de eluição total	200 µL 10 µL 100 µL	- Volume de entrada de PCR eluato - Volume de PCR Mix - Frequência dos controlos	20 µL 20 µL 15 dias
--	---	--	---

Desempenhos ELiTe InGenius e ELiTe BeGenius

Matriz	Limite de deteção		Sensibilidade de diagnóstico	Especificidade do diagnóstico
	IU/mL	cópias/mL		
sangue total	125	250	100%	100%
líquido amniótico	40	40	100%	100%

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 e manuseadas de acordo com as diretrizes laboratoriais, e colhidas, transportadas e armazenadas sob as condições seguintes:

Table 31

Amostra	Requisitos de colheita	Condições de transporte/armazenamento			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ±10 °C	-70 ±15 °C
Sangue Total	EDTA	≤ 24 horas	≤ 3 dias	≤ 30 dias	≤ 30 dias
Líquido amniótico	colhidas sem conservantes	≤ 4 horas	≤ 4 horas	≤ 30 dias	≤ 30 dias

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 CTCRPE Submeta a vórtice suave. Centrifugue durante 5 s.
---	--	---

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

1. Selecione "Perform Run" (Executar) no ecrã tátil	2. Verifique os volumes de extração: Entrada: "200 µL", eluição: "100 µL"	3. Leia os códigos de barras das amostras com um leitor de códigos de barras manual ou escreva a identificação da amostra
4. Selecione o "Assay protocol" (Protocolo de ensaio) de interesse: PVB19 ELITE_WB_200_100 ou PVB19 ELITE_AF_200_100	5. Selecione o método "Extract + PCR" (Extrair+PCR) e a posição da amostra: Tubo primário ou tubo de extração	6. Carregue a PCR Mix e o Internal Control no Inventory Block (Gestor do reagente)
7. Carregar: PCR Cassette, cartucho de extração, tubo de eluição, pontas, racks do tubo de extração e racks de amostra primária	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: PCR Only (Apenas PCR) (p. ex., eluatos, standards, controlos)

1. Selecione "Perform Run" (Executar) no ecrã tátil	2. Verifique os volumes de extração: Entrada: "200 µL", eluição: "100 µL"	3. Leia os códigos de barras das amostras com um leitor de códigos de barras manual ou escreva a identificação da amostra
4. Selecione o "Assay protocol" (Protocolo de ensaio) de interesse: PVB19 ELITE_PC e PVB19 ELITE_NC ou PVB19 ELITE_STD ou PVB19 ELITE_WB_200_100 ou PVB19 ELITE_AF_200_100	5. Selecione o método "PCR Only" (Apenas PCR) e a posição da amostra "Elution Tube" (Tubo de eluição)	6. Carregue a PCR Mix no Inventory Block (Gestor do reagente)
7. Carregar: Rack de PCR Cassette e suporte de Elution tube (Tubo de eluição) com o ácido nucleico extraído	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 CTCPE Submeta a vórtice suave. Centrifugue durante 5 s.
--	---	---

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

1. Selecione "Perform Run" (Executar) no ecrã tátil e, a seguir, clique no modo de execução "Extract + PCR" (Extrair+PCR)	2. Insira o rack 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: "100 µL"
4. Selecione o "Assay protocol" (Protocolo de ensaio) de interesse PVB19 ELITE_Be_WB_200_100 ou PVB19 ELITE_Be_AF_200_100 Nota: Se for realizada uma segunda extração, repita os passos 2 a 4	5. Imprima as etiquetas para colocar um código de barras nos tubos de eluição vazios. Carregue os tubos no rack de eluição e insira-o na Cooler Unit	6. Carregue a PCR Mix e o Internal Control no rack de reagente/eluição e insira-o na Cooler Unit
7. Carregue o "PCR Rack" (Rack de PCR) com "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. 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: PCR Only (Apenas PCR) (p. ex., eluatos, standards, controlos)

1. Selecione "Perform Run" (Executar) no ecrã tátil	2. Carregue os tubos com código de barras do ácido nucleico extraído ou do standard ou dos controlos 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: PVB19 ELITE_Be_PC e PVB19 ELITE_Be_NC, ou PVB19 ELITE_Be_STD ou PVB19 ELITE_Be_WB_200_100 ou PVB19 ELITE_Be_AF_200_100	5. Carregue a mistura de reação completa no "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição) e insira-o na Cooler Unit.	6. Carregue o "PCR Rack" com "PCR Cassette".
7. Feche a porta. Iniciar a execução.	8. Visualize, aprove e guarde os resultados.	



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