

Instructions for use

SARS-CoV-2 PLUS ELITe MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real



REF RTS180ING

UDI 08033891487201

CE
0123

IVD

HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES

Rev.	Aviso de alteração	Data (dd/mm/aa)
07-R	Expansão para utilização dos produtos SARS-CoV-2 PLUS em associação com os instrumentos ELITE InGenius® (ref. INT030) e ELITE BeGenius® (ref. INT040), os novos protocolos de ensaio com o novo método de extração 200:100 e amostras de zaragatoa nasofaríngea (RsS). Verificação do LdD atual em relação ao novo material de referência da OMS e do impacto do subtipo Influenza A H9N2 Novos gráficos e definição de conteúdos das instruções de utilização.	14/07/25
06-R	Atualização para conformidade com o Regulamento (UE) 2017/746 em matéria de requisitos de dispositivo médico para diagnóstico in vitro (IVDR). Alteração da classificação IVDR dos produtos-alvo SARS-CoV-2 da Classe D para a Classe B	06/05/25
05-R	Atualização para conformidade com o Regulamento (UE) 2017/746 em matéria de requisitos de dispositivo médico para diagnóstico in vitro (IVDR).	17/04/25
04	Atualização do parágrafo "Avisos e precauções" com as frases de Perigo e precauções GHS aplicadas aos componentes.	24/01/25
03	Atualização para a utilização do produto para matrizes de zaragatoas respiratórias em associação com o instrumento «ELITE BeGenius®» (REF INT040). Atualização do limite de deteção, reprodutibilidade e repetibilidade. Introdução do teste de falha de todo o sistema.	22/09/23
00-02	desenvolvimento de novo produto e alterações subsequentes	—

NOTE

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

REF. PRODUTO	Número de lote	Data de expiração
RTS180ING	U0425-098	30/11/2026
RTS180ING	U0125-209	31/08/2026
RTS180ING	U0425-031	30/10/2025
RTS180ING	U0225-052	31/08/2025
RTS180ING	U1124-042	31/08/2025
RTS180ING	U1024-047	31/08/2025
RTS180ING	U0224-008	31/08/2025
RTS180ING	U1024-019	31/07/2025
RTS180ING	U0824-002	31/07/2025
RTS180ING	U0524-030	31/07/2025
RTS180ING	U1223-063	30/06/2025

Os lotes de produto de Positive Control continuam disponíveis no mercado em virtude do IVDR (identificados pelos números de LOTE indicados nas instruções de utilização do Positive Control) 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	5
7 AVISOS E PRECAUÇÕES	6
8 AMOSTRAS E CONTROLOS	8
9 PROCEDIMENTO do ELiTe InGenius	10
10 PROCEDIMENTO do ELiTe BeGenius	16
11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO	21
12 REFERÊNCIAS	34
13 LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO	34
14 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS	35
15 SÍMBOLOS	37
16 NOTIFICAÇÃO PARA OS UTILIZADORES	38
17 NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA	38
Appendix A QUICK START GUIDE	40

1 UTILIZAÇÃO PREVISTA

O produto **SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB® Kit** consiste num dispositivo médico de diagnóstico *in vitro* que se destina a ser usado por profissionais de saúde como um ensaio transcrição reversa e PCR em tempo real de ácidos nucleicos multiplexados, qualitativo para a deteção e identificação do ARN do **Coronavírus 2 da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-CoV-2)**, **Vírus Influenza A (FluA)**, **Vírus Influenza B (FluB)** e **Vírus Sincicial Respiratório (RSV)** extraídos de amostras clínicas.

O ensaio foi validado em associação com os instrumentos **ELITE InGenius®** e **ELITE BeGenius®**, sistemas automatizados e integrados para a extração, a transcrição reversa, a PCR em tempo real e a interpretação dos resultados, usando amostras humanas de zaragatoas nasofaríngeas.

O produto destina-se a ser utilizado como auxiliar no rastreio da infeção por Coronavírus 2 da Síndrome Respiratória Aguda Grave em indivíduos assintomáticos, como auxiliar no diagnóstico de infeções por Coronavírus 2 da Síndrome Respiratória Aguda Grave, Vírus Influenza A, Vírus Influenza B e Vírus Sincicial Respiratório em pacientes com suspeita de infeção viral respiratória e como auxiliar na monitorização da infeção por Coronavírus 2 da Síndrome Respiratória Aguda Grave em pacientes com infeção confirmada por SARS-CoV-2.

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

2 PRINCÍPIOS DO ENSAIO

Este é um ensaio de transcrição reversa e PCR em tempo real de um passo multiplexado para a deteção de ARN de SARS-CoV-2, FluA, FluB e RSV isolado de amostras, retrotranscritas e, em seguida, amplificadas usando uma mistura de reação completa que contém primers e sondas com tecnologia ELITE MGB.

As sondas ELITE MGB Kit são ativadas quando hibridizam com os correspondentes produtos da PCR. **ELITE InGenius** e o **ELITE BeGenius** monitoriza o aumento da fluorescência e calcula o ciclo de limiar (Ct).

As sondas foram concebidas com tecnologia DSQ® e etiquetadas com diferentes fluoróforos que são hidrolisados pela enzima de polimerase de ADN, após hibridização com o produto específico da reação de amplificação. A emissão de fluorescência é medida e registada pelo instrumento. No final do ciclo de amplificação, os diagramas da fluorescência são analisados para identificar os ciclos do limiar (Ct). A interpretação do resultado permite detetar a presença dos patogénicos de interesse na amostra inicial.

A tecnologia DSQ® (Duplex-Stabilizing Quencher) é uma evolução da química MGB®. A DSQ® é uma molécula única que atua simultaneamente como MGB® e como supressor de fluorescência universal. Foi concebida através da conversão de uma parte da molécula MGB® original num supressor sem comprometer as propriedades de estabilização do duplex MGB®.

3 DESCRIÇÃO DO PRODUTO

O **SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit** fornece os seguintes componentes:

• **CoV-2 PLUS PCR Mix**, uma mistura de PCR otimizada e estabilizada que contém primers e sondas específicos para:

- Genes **SCoV2**, ORF8 e ORF1ab, detetados no canal **SCoV2**; a sonda é estabilizada e inativada pelo grupo DSQ e identificada pelo corante FAM.
- **FluA**, sequência do gene da proteína matriz, detetados no canal **FluA**; as sondas são estabilizadas e inativadas pelo grupo DSQ e identificadas pelo corante AP639.
- **FluB**, sequência do gene da proteína matriz, detetados no canal **FluB**; a sonda é estabilizada e inativada pelo grupo DSQ e identificada pelo corante AP593.
- **RSV**, sequência do gene da proteína matriz de RSV, detetados no canal **RSV**; a sonda é estabilizada e inativada pelo grupo DSQ e identificada pelo corante AP690.
- Internal Control (**IC**), sequência do gene **RNase P** humano como Internal Control endógeno, detetadas no canal **IC**; a sonda é estabilizada e inativada pelo grupo DSQ e identificada pelo corante AP525.

O **CoV-2 PLUS PCR Mix** também contém tampão, cloreto de magnésio, os trifosfatos nucleotídicos, os estabilizadores e a enzima de polimerase de ADN com ativação térmica (arranque a quente).

· **CoV-2 PLUS RT EnzymeMix**, uma mistura otimizada e estabilizada de enzimas para a transcrição reversa.

O produto **SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit** contém reagentes suficientes para **96 testes** no **ELITE InGenius** e no **ELITE BeGenius**, utilizando 19,3 µL de **CoV-2 PLUS PCR Mix** e 0,7 µL de **CoV-2 PLUS RT EnzymeMix** por reação.

4 MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO

Componente	Descrição	Quantidade	Classificação dos perigos
CoV-2 PLUS PCR Mix ref. RTS180ING	Mistura de reagentes para transcrição reversa e PCR em tempo real no tubo com tampa NATURAL	2 x 1200 µL	-
CoV-2 PLUS RT EnzymeMix ref. RTS004-RT	Enzimas de transcrição reversa no tubo com tampa com inserção PRETA	1 x 80 µL	-

5 MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO

- Câmara de fluxo laminar
- Luvas de nitrilo sem pó descartáveis ou material semelhante
- Misturador de vórtice.
- Centrífuga 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 grau de biologia molecular

6 OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS

Os reagentes para extração da amostra, positive control e o negative control de amplificação e os consumíveis **não** são fornecidos com este produto.

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

Table 1

Instrumentos e software	Produto e reagentes
ELITE InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, ref. INT030) Software ELITE InGenius versão 1.3.0.19 (ou mais recente) SARS-CoV-2 PLUS ELITE_PC, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Positive Control SARS-CoV-2 PLUS ELITE_NC, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Negative Control SARS-CoV-2 PLUS ELITE_RsS_200_50, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de zaragatoa nasofaríngea SARS-CoV-2 PLUS ELITE_PC_200_100, protocolo de ensaio com parâmetros para a análise de Positive Control SARS-CoV-2 PLUS ELITE_NC_200_100, protocolo de ensaio com parâmetros para a análise de Negative Control SARS-CoV-2 PLUS ELITE_RsS_200_100, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de zaragatoa nasofaríngea	SARS-CoV-2 PLUS - ELITE Positive Control (EG SpA, ref. CTR180ING) ELITE InGenius SP200 (EG SpA, ref. INT032SP200) UTM® (COPAN Italia S.p.A., ref. 360C ou 305C), ou um dispositivo equivalente, apenas para amostras de zaragatoa nasofaríngea Consumíveis ELITE InGenius e ELITE BeGenius (ver instruções de utilização ELITE InGenius e ELITE BeGenius)
ELITE BeGenius (EG SpA, ref. INT040) Software ELITE BeGenius versão 2.3.0 (ou mais recente) SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_PC, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Positive Control SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_NC, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Negative Control SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_RsS_200_50, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de zaragatoa nasofaríngea SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_PC_200_100, protocolo de ensaio com parâmetros para a análise de Positive Control SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_NC_200_100, protocolo de ensaio com parâmetros para a análise de Negative Control SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_RsS_200_100, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de zaragatoa nasofaríngea	

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

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

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

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

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
CoV-2 PLUS PCR Mix	-20°C ou inferior (protegido da luz)	um mês	até oito
CoV-2 PLUS RT EnzymeMix	-20°C ou inferior	um mês	até oito vezes, durante até dez minutos a +2 / +8 °C

A **CoV-2 PLUS PCR Mix** contém reagentes perigosos. As declarações de Perigo GHS e Precauções aplicadas a esse componente estão descritas a seguir.

Tenha em atenção que a etiqueta de perigo não é necessária para quantidades inferiores a 125 g ou 125 mL.

A **CoV-2 PLUS PCR Mix** contém reagentes Triton X-100:



Ponto de exclamação

H319 - Provoca irritação ocular grave.
 H412 - Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.
 P264 - Lavar as mãos, os antebraços e a face cuidadosamente após manuseamento.
 P273 - Evitar a libertação para o ambiente.
 P280 - Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial/proteção auditiva.
 P305+P351+P338 - SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar.
 P337+P313 - Caso a irritação ocular persista, consulte um médico.
 P501 - Eliminar o produto/recipiente num ponto de recolha de resíduos perigosos ou especiais, de acordo com os regulamentos locais, regionais, nacionais e/ou internacionais.

EUH 21: Ficha de segurança fornecida a pedido.

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
Zaragatoas nasofaringeas	UTM (COPAN)	≤ 24 horas	≤ 5 dias	≤ 1 mês	≤ 1 mês

NOTE

A equivalência entre o UTM (COPAN) e outros dispositivos de recolha semelhantes (com o mesmo objetivo e especificações) tem de ser demonstrada e validada pelo laboratório.

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

Para realizar o teste das amostras no **ELite InGenius** e **ELite BeGenius**, devem ser usados os seguintes protocolos de ensaio. Estes protocolos IVD foram especificamente validados com os ELite MGB Kits e o **ELite InGenius** ou o **ELite BeGenius** com a matriz indicada.

Table 4 Protocolos de ensaio para o SARS CoV-2 PLUS ELiTe MGB Kit

Amostra	Instrumento	Nome do protocolo de ensaio	Relatório	Características
Amostras de zaragatoa nasofaríngea	ELiTe InGenius	SARS-CoV-2 PLUS ELiTe_RsS_200_50	Positiva / Negativa	Volume inicial de extração: 200 µL Volume de eluição da extração: 50 µL Internal Control: NÃO Sonicação: NÃO Fator de diluição: 1 Volume da PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 10 µL
	ELiTe InGenius	SARS-CoV-2 PLUS ELiTe_RsS_200_100	Positiva / Negativa	Volume inicial de extração: 200 µL Volume de eluição da extração: 100 µL Internal Control: NÃO Sonicação: NÃO Fator de diluição: 1 Volume da PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 10 µL
	ELiTe BeGenius	SARS-CoV-2 PLUS ELiTe_Be_RsS_200_50	Positiva / Negativa	Volume inicial de extração: 200 µL Volume de eluição da extração: 50 µL Internal Control: NÃO Sonicação: NÃO Fator de diluição: 1 Volume da PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 10 µL
	ELiTe BeGenius	SARS-CoV-2 PLUS ELiTe_Be_RsS_200_100	Positiva / Negativa	Volume inicial de extração: 200 µL Volume de eluição da extração: 100 µL Internal Control: NÃO Sonicação: NÃO Fator de diluição: 1 Volume da PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 10 µL

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

NOTE

A pipetagem de amostras para o **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 21](#) para verificar os dados relativos a substâncias interferentes.

8.2 Controlos da PCR

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

- Para o Positive Control, utilize o produto **SARS-CoV-2 PLUS - ELITE Positive Control** (não fornecido com este kit) com os protocolos de ensaio **SARS-CoV-2 PLUS_PC** ou **SARS-CoV-2 PLUS_PC_200_100** para **ELITE InGenius** e os protocolos de ensaio **SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_PC** ou **SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_PC_200_100** para **ELITE BeGenius**
- Para o Negative Control, utilize água de grau de biologia molecular (não fornecida com este kit) com os protocolos de ensaio **SARS-CoV-2 PLUS ELITE_NC** ou **SARS-CoV-2 PLUS ELITE_NC_200_100** para **ELITE InGenius** e os protocolos de ensaio **SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_NC** ou **SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_NC_200_100** para **ELITE BeGenius**.

NOTE

O **ELITE InGenius** e **ELITE BeGenius** permite a geração e o armazenamento e a validação do controlo de PCR para cada lote de reagente de PCR. Os resultados do controlo da PCR expiram após **15 dias** e, nesse momento, é necessário voltar a executar os positive e Negative Controls. Os controlos PCR devem ser executados novamente 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),
- for realizada qualquer reparação ou manutenção significativa no **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 uso do **SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit** com o **ELITE InGenius** é composto por três passos:

Table 5

PASSO 1	Verificação da prontidão do sistema	
PASSO 2	Preparação da sessão	A) Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair+PCR])
		B) Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR])
		C) Execução de Positive Control e Negative Control (PCR Only [apenas PCR])
PASSO 3	Revisão e aprovação de resultados	1) Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control
		2) Validação dos resultados das amostras
		3) 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 “Controls” (Controlos) na página inicial, verifique se os controlos de PCR (**CoV-2 PLUS Positive Control**, **CoV-2 PLUS Negative Control**) estão aprovados e válidos (estado) para o lote de **CoV-2 PLUS PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja controlos de PCR válidos disponíveis para o lote da **CoV-2 PLUS PCR Mix**, execute os controlos de PCR conforme descrito nas secções seguintes,

- escolha o tipo de execução, seguindo as instruções na Interface Gráfica do Utilizador (GUI) para a preparação da sessão e utilizando os Protocolos de ensaio fornecidos pela EG SpA (ver “8 AMOSTRAS E CONTROLOS page 8”).

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

OSARS-CoV-2 PLUS 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 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 **48 testes**. Misture por meio de vórtice a baixa velocidade durante 10 segundos três vezes 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.

- Use os tubos **RT EnzymeMix** necessários. Cada tubo é suficiente para **96 testes**. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.

NOTE

A **RT EnzymeMix** não deve ser exposta a temperaturas superiores a -20 °C durante mais de 10 minutos.

- Prepare um tubo de 2 mL (Sarstedt, ref. 72.694.005, não incluído no kit) para a **mistura de reação completa** e identifique-o com um marcador de tinta permanente.
- Calcule os volumes necessários de **PCR Mix** e **RT EnzymeMix** para preparar a **mistura de reação completa** com base no número de amostras (N) a serem analisadas, conforme descrito na tabela seguinte.

Table 6

Número de amostras (N)	CoV-2 PLUS PCR Mix	CoV-2 PLUS RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 19,3 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,7 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 12$	$(N + 2) \times 19,3 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,7 \mu\text{L}$

- Prepare a **mistura de reação completa** transferindo para o tubo de 2 mL identificado os volumes calculados dos dois componentes. Misture por meio de vórtice a baixa velocidade durante 10 segundos três vezes e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.

NOTE

A mistura de reação completa deve ser preparada no momento para cada sessão de trabalho e **não pode** ser armazenada para reutilização.

NOTE

A mistura da reação completa é sensível à luz, não a exponha à luz direta.

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

Table 7

	A. Execução da amostra (Extract + PCR) [Extrair+PCR]	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [apenas PCR])	C. Execução de Controlo positivo e negativo (PCR Only [apenas PCR])
1	Identifique amostras e, se necessário, descongele até à temperatura ambiente. Para este ensaio, 200 µL da amostra pré-tratada devem ser transferidos para um Tubo de extração anteriormente identificado.	Descongele os Elution tubes 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.	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. Cada tubo é suficiente para 4 reações.
2	Não aplicável.	Não aplicável.	Prepare o Negative Control transferindo pelo menos 50 µL de água de grau de biologia molecular para um "Elution tube" (Tubo de eluição), fornecido com o ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Início).	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Início).	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Início).
4	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição do extraído") é de 50 ou 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 50 ou 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 50 ou 100 µL.
5	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.	Não aplicável.
6	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").	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.
7	Certifique-se de que o "Protocol" (Protocolo) apresentado é: "Extract + PCR" (Extrair + PCR).	Selecione "PCR Only" (apenas PCR) na coluna "Protocol".	Certifique-se de que "PCR Only" (Apenas PCR) está selecionado na coluna "Protocol" (Protocolo).
8	Selecione a posição de carregamento da amostra como "Extraction Tube" (Tubo de extração) na coluna "Sample Position" (Posição da amostra).	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]).
9	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.

Table 7 (continued)

	A. Execução da amostra (Extract + PCR) [Extrair+PCR]	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [apenas PCR])	C. Execução de Controlo positivo e negativo (PCR Only [apenas PCR])
10	Carregue a mistura de reação completa no "Inventory Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza a CPE e o número de lote da mistura de PCR, data de validade e o número de reações para cada tubo.	Carregue a mistura de reação completa no "Inventory Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza o número de lote da mistura de PCR, data de validade e o número de reações para cada tubo.	Carregue a mistura de reação completa no "Inventory Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza o número de lote da mistura de PCR, data de validade e o número de reações para cada tubo.
11	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
12	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.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de ponta) na "Inventory Area" (Área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.
13	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
14	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 tubo de Eluição com as amostras extraídas	Carregue a PCR Cassette, e os tubos de Positive Control e Negative Control.
15	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
16	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
17	Prima "Start" (Iniciar).	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 $-20 \pm ^\circ\text{C}$ ou menos durante não mais de um mês. Evite derramar a Amostra extraída.

NOTE

A mistura de reação completa deve ser preparada no momento para cada sessão de trabalho e **não pode** ser armazenada para reutilização.

NOTE

No final da execução, o **Positive Control** restante deve ser removido do instrumento, tapado e guardado a $-20 ^\circ\text{C}$ 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 Internal Control 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 os resultados, imprimir ou guardar os relatórios (“Sample Report” ou “Track Report”). 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 **SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit** através do seguinte procedimento:

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

9.3.1 Validação da amplificação dos resultados de Positive Control e Negative Control

O **software ELITE InGenius** interpreta os resultados de PCR para os alvos das reações de Positive Control e Negative Control com os parâmetros dos protocolos de ensaio **SARS-CoV-2 PLUS ELITE_PC** ou **SARS-CoV-2 PLUS ELITE_PC_200_100** e **SARS-CoV-2 PLUS ELITE_NC** ou **SARS-CoV-2 PLUS ELITE_NC_200_100**. Os valores de Ct resultantes são usados para verificar o sistema (lote de reagentes e instrumento).

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

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

Os resultados da amplificação do Positive Control e Negative Control são usados pelo **software ELITE InGenius** para preparar os Gráficos de controlo que monitorizam os desempenhos do passo de amplificação. Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

NOTE

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

NOTE

Se o resultado de Positive Control ou Negative Control não for válido 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) falhado e as amostras têm de ser todos repetidos.

9.3.2 Validação dos resultados da amostra

O **software ELITE InGenius** interpreta os resultados de PCR para os alvos (canais **SCoV2**, **FluA**, **FluB** e **RSV**) e o Internal Control (canal **IC**) com os parâmetros dos protocolos de ensaio **SARS-CoV-2 PLUS ELITE_RsS_200_50** ou **SARS-CoV-2 PLUS ELITE_RsS_200_100**.

Os resultados são mostrados no ecrã “Result Display”.

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

Table 8

1) Positive Control	Estado
CoV-2 PLUS Positive Control	APROVADO
2) Negative Control	Estado
CoV-2 PLUS Negative Control	APROVADO

Os resultados da amostra são automaticamente interpretados pelo **software ELITE InGenius** usando os parâmetros do Assay Protocol (Protocolo do ensaio). Estão listadas na tabela abaixo as possíveis mensagens de resultado.

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

Table 9

Resultado da execução da amostra	Interpretação
SCoV2:RNA detected (SCoV2:RNA detetado).	ARN de SARS-CoV-2 foi detetado na amostra.
FluA:RNA detected (FluA:RNA detetado).	ARN de FluA foi detetado na amostra.
FluB:RNA detected (FluB:RNA detetado).	ARN de FluB foi detetado na amostra.
RSV:RNA detected (RSV:RNA detetado).	Foi detetado RSV RNA na amostra.
SCoV2:RNA not detected or below the LoD (SCoV2:RNA não detetado ou abaixo de LoD).	ARN de SARS-CoV-2 não foi detetado na amostra. A amostra é negativa para SARS-CoV-2 RNA ou a sua concentração está abaixo do limite de detecção do ensaio.
FluA:RNA not detected or below the LoD (FluA:RNA não detetado ou abaixo de LoD).	ARN de FluA não foi detetado na amostra. A amostra é negativa para FluA RNA ou a sua concentração está abaixo do limite de detecção do ensaio.
FluB:RNA not detected or below the LoD (FluB:RNA não detetado ou abaixo de LoD).	ARN de FluB não foi detetado na amostra. A amostra é negativa para ARN de FluB ou a sua concentração está abaixo do limite de detecção do ensaio.
RSV:RNA not detected or below the LoD (RSV:RNA não detetado ou abaixo de LoD).	Não foi detetado RSV RNA na amostra. A amostra é negativa para RSV RNA ou a sua concentração está abaixo do limite de detecção do ensaio.
Invalid-Retest Sample (Inválido-Testar novamente a amostra)	Resultado do ensaio inválido devido a falha do Internal Control (p. ex., extração incorreta, transferência de inibidores). O teste deve ser repetido.

Amostras indicadas como “Invalid-Retest Sample” (Inválido-Testar novamente a amostra): neste caso, o Internal Control não foi detetado eficientemente, o que pode dever-se a problemas nos passos de colheita, extração, transcrição reversa ou PCR da amostra (por ex. amostragem incorreta, degradação ou perda do ARN 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” (ver “[14 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS page 35](#)”).

As amostras reportadas como “Xxx:RNA not detected or below the LoD” (Xxx:RNA não detetado ou abaixo de LoD) são adequadas para análise, mas o ARN dos alvos não foi detetado. Neste caso, a amostra pode ser negativa para o ARN dos alvos ou o ARN dos alvos está presente numa concentração abaixo do limite de detecção do ensaio (ver “[11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO page 21](#)”).

SARS CoV 2 a efetuar uma eliminação do gene ORF8, como na estirpe SARS-CoV-2 Δ382 (Y. C. F. Su et al., 2020, B. E. Young et al., 2020), pode ser corretamente detetado porque o ensaio deteta dois alvos do patogénico e a reação específica para a região ORF1ab fornece um resultado positivo.

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).

9.3.3 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 Rastreio selecionado.

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

10 PROCEDIMENTO do ELITE BeGenius

O procedimento para uso do **SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit** com o **ELITE BeGenius** é composto por três passos:

Table 10

PASSO 1	Verificação da prontidão do sistema	
PASSO 2	Preparação da sessão	A) Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair+PCR])
		B) Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR])
		C) Execução de Positive Control e Negative Control (PCR Only [apenas PCR])
PASSO 3	Revisão e aprovação de resultados	1) Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control
		2) Validação dos resultados das amostras
		3) 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 "Controlos" na página inicial, verifique se os controlos de PCR (**CoV-2 PLUS Positive Control, CoV-2 PLUS Negative Control**) estão aprovados e válidos (estado) para o lote de **CoV-2 PLUS PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja controlos de PCR válidos disponíveis para o lote de **CoV-2 PLUS PCR Mix**, execute os controlos de PCR conforme descrito nas secções seguintes,
- escolha o tipo de execução, seguindo as instruções na Interface Gráfica do Utilizador (GUI) para a preparação da sessão e utilizando os Protocolos de ensaio fornecidos pela EG SpA (ver "**8 AMOSTRAS E CONTROLOS** page 8").

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

OSARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit pode ser usado no **ELITE BeGenius** para realizar:

- Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair+PCR]),
- Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR]),
- Execução de 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 **48 testes**. Misture por meio de vórtice a baixa velocidade durante 10 segundos três vezes 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.

- Use os tubos **RT EnzymeMix** necessários. Cada tubo é suficiente para **96 testes**. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.

NOTE

A **RT EnzymeMix** não deve ser exposta a temperaturas superiores a -20 °C durante mais de 10 minutos.

- Prepare um tubo de 2 mL (Sarstedt, ref. 72.694.005, não incluído no kit) para a **mistura de reação completa** e identifique-o com um marcador de tinta permanente.
- Calcule os volumes necessários de **PCR Mix** e **RT EnzymeMix** para preparar a **mistura de reação completa** com base no número de amostras (N) a serem analisadas, conforme descrito na tabela seguinte.

Table 11

Número de amostras (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 19,3 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,7 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 12$	$(N + 2) \times 19,3 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,7 \mu\text{L}$
$13 \leq N \leq 24$	$(N + 4) \times 19,3 \mu\text{L}$	$(N + 4) \times 0,7 \mu\text{L}$

- Prepare a **mistura de reação completa** transferindo para o tubo de 2 mL identificado os volumes calculados dos dois componentes. Misture por meio de vórtice a baixa velocidade durante 10 segundos três vezes e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.

NOTE

A mistura de reação completa deve ser preparada no momento para cada sessão de trabalho e **não pode** ser armazenada para reutilização.

NOTE

A **mistura da reação completa** é sensível à luz, não a exponha à luz direta.

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

Table 12

	A. Execução da amostra (Extract + PCR) [Extrair+PCR]	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [apenas PCR])	C. Execução de Controlo positivo e negativo (PCR Only [apenas PCR])
1	Identifique amostras e, se necessário, descongele até à temperatura ambiente. Para este ensaio, 200 µL da amostra devem ser transferidos para o tubo Sarstedt de 2mL previamente identificado.	Se necessário, descongele os tubos 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.	Descongele os tubos de Positive Control à temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para 4 reações. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.
2	Não aplicável	Não aplicável	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.
3	Selecione " Perform Run " (Executar) a partir do ecrã "Home".	Selecione " Perform Run " (Executar) a partir do ecrã "Home"	Selecione " Perform Run " (Executar) a partir do ecrã "Home".
4	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	Retire os "Racks" de "Lane 1, 2 and 3" (L1, L2, L3) da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação.
5	Selecione o "Run mode": " Extract + PCR " (Extrair + PCR).	Selecione o "Run mode": " PCR Only ".	Selecione o "Run mode": " PCR Only ".
6	Carregue as amostras no "Sample Rack" (Suporte de amostras). Quando os tubos secundários "2 mL Tubes" forem carregados, use adaptadores azuis para o "Sample Rack" (Rack da amostra).	Carregue as amostras no "Elution Rack" (Rack de eluição).	Carregue os tubos de Positive Control e Negative Control no "Elution Rack" (Rack de eluição).
7	Insira o "Sample Rack" na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 5" (L5). Insira a "Sample ID" (SID) para cada "Position" usada (se os tubos secundários estiverem carregados, sinalize o "2 mL Tube". Se os tubos secundários não possuírem código de barras, digite manualmente a "Sample ID").	Insira o "Elution Rack" na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 3" (L3). Para cada "Position", insira a "Sample ID", a "Sample matrix", o "Extraction kit" e o "Extracted eluate vol." (volume de eluato extraído).	Insira o "Elution Rack" na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 3" (L3). Para cada "Position" introduza o "Reagent name" e o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações).
8	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
9	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume de entrada de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição extraído") é de 50 ou 100 µL	Não aplicável.	Não aplicável.
10	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").	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").

Table 12 (continued)

	A. Execução da amostra (Extract + PCR) [Extrair+PCR]	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [apenas PCR])	C. Execução de Controlo positivo e negativo (PCR Only [apenas PCR])
11	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
	Nota: Quando forem processadas mais de 12 amostras, repita o procedimento a partir do ponto 6.		Não aplicável
12	Coloque os "Elution tubes" (Tubo de eluição) no "Elution Rack" (rack de eluição) (os tubos de eluição podem ser etiquetados com código de barras para melhorar a capacidade de localização).	Não aplicável	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	Não aplicável
14	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Não aplicável	Não aplicável
15	Carregue a mistura de reação completa no "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição).	Carregue a mistura de reação completa no "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição).	Carregue a mistura de reação completa 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). Para cada reagente de PCR Mix e/ou CPE, insira o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de 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). Para cada reagente de 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" na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2) se estiver disponível, ou na "Lane 1" (L1). Para cada reagente de 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.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
18	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.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de ponta) na "Inventory Area" (Área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.
19	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	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).	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.	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.	Não aplicável.

Table 12 (continued)

	A. Execução da amostra (Extract + PCR) [Extrair+PCR]	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [apenas PCR])	C. Execução de Controlo positivo e negativo (PCR Only [apenas PCR])
23	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
24	Prima "Start" (Iniciar).	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 °C ou menos durante não mais de um mês. Evite derramar a Amostra extraída.

NOTE

A mistura de reação completa deve ser preparada no momento para cada sessão de trabalho e **não pode** ser armazenada para reutilização.

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 Internal Control 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 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 **SARS-CoV-2 PLUS ELiTe MGB Kit** através do seguinte procedimento:

1. Validação dos resultados de Positive Control e Negative Control,
2. Validação dos resultados da amostra,
3. 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 Limite de detecção (LdD)

O limite de detecção (LdD) do ensaio foi determinado para o instrumento ELITE InGenius, testando um painel de zaragatoas nasofaríngeas colhidas em UTM (COPAN Italia S. p. A.) reforçadas com quatro materiais de referência de SARS-CoV-2 RNA (norma internacional da OMS, NIBSC), de FluA (A H1N1pdm, estirpe Michigan 45/15, ZeptoMetrix, EUA), de FluB (linhagem Yamagata, Massachusetts/2/1, ZeptoMetrix, EUA) e de RSV (estirpe RSV A 3/2015, isolado n.º 3, ZeptoMetrix, EUA). Foi efetuada uma análise de regressão Probit aos resultados e o LdD foi estimado como a concentração correspondente a 95% de probabilidade de um resultado positivo.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Table 13 Limite de detecção

Método de extração	Agente patogénico	LdD (cópias / mL ou IU/mL)	Limites de intervalo de 95% de confiança	
			Limite inferior	Limite superior
200_50	SARS-CoV-2	673 IU/mL	484 IU/mL	1154 IU/mL
	FluA	189 cópias/mL	131 cópias/mL	351 cópias/mL
	FluB	225 cópias/mL	170 cópias/mL	386 cópias/mL
	RSV	184 cópias/mL	133 cópias/mL	443 cópias/mL
200_100	SARS-CoV-2	1328 IU/mL	982 IU/mL	2191 IU/mL
	FluA	189 cópias/mL	131 cópias/mL	351 cópias/mL
	FluB	225 cópias/mL	170 cópias/mL	386 cópias/mL
	RSV	184 cópias/mL	133 cópias/mL	443 cópias/mL

O valor do LdD calculado foi verificado, com os dois métodos de extração, testando no ELITE BeGenius e no ELITE InGenius um painel de zaragatoas nasofaríngeas colhidas em UTM, reforçadas com o material de referência certificado de SARS-CoV-2, FluA, FluB e RSV RNA, à concentração declarada.

Os resultados obtidos confirmaram a concentração declarada para todos os alvos do SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit tanto no ELITE BeGenius como no ELITE InGenius e ambos os métodos de extração.

11.2 Inclusividade: Eficiência da detecção

A inclusividade do ensaio, como eficiência de detecção para diferentes isolados de SARS-CoV-2, FluA, FluB e RSV foi avaliada por análise in silico. A análise revelou conservação da sequência e ausência de mutações significativas, exceto em algumas estirpes de Influenza A subtipo H9N2. Assim, espera-se uma detecção eficiente para os diferentes isolados destes alvos.

A inclusividade foi também verificada no ELITE InGenius através da análise de um painel de diferentes isolados positivos para os alvos.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Table 14 Eficiência da detecção (inclusividade)

Vírus (Tipo/Subtipo)	Estirpe	N	Positivo	Negativo
SARS-CoV-2	Italy-INMI1	3	3	0
SARS-CoV-2 (linhagem A)	Hong Kong/VM20001061/2020	3	3	0
SARS-CoV-2 (linhagem A.2)	Chile/Santiago_op4d1/2020	3	3	0
SARS-CoV-2 (linhagem B.1)	New York-PV08410/2020	3	3	0
SARS-CoV-2 (linhagem B)	USA-IL1/2020	3	3	0
SARS-CoV-2 (linhagem A)	USA-CA1/2020	3	3	0
SARS-CoV-2 (linhagem A)	USA-AZ1/2020	3	3	0
SARS-CoV-2 (linhagem B.2)	USA-CA2/2020	3	3	0
SARS-CoV-2 (linhagem B.1.1.7)	USA/CA_CDC_5574/2020	3	3	0
SARS-CoV-2 (D614G cADN)	N/A	3	3	0
SARS-CoV-2 (B.1.1.7 cADN)	N/A	3	3	0
SARS-CoV-2 (B.1.351 cADN)	N/A	3	3	0
SARS-CoV-2 (P.1 cADN)	N/A	3	3	0
Influenza A (H1N1pdm09)	A/Dominican Republic/7293/2013	3	3	0
Influenza A (H1N1pdm09)	A/Massachusetts/15/2013	3	3	0
Influenza A (H1N1pdm09)	A/North Carolina/4/2014	3	3	0
Influenza A (H1N1pdm09)	A/Bangladesh/3002/2015	3	3	0
Influenza A (H1N1pdm09)	A/Iowa/53/2015	3	3	0
Influenza A (H1N1pdm09)	A/St. Petersburg/61/2015	3	3	0
Influenza A (H1N1pdm09)	A/Michigan/272/2017	3	3	0
Influenza A (H1N1pdm09)	A/Idaho/07/2018	3	3	0
Influenza A (H1N1pdm09)	A/Wisconsin/505/2018	3	3	0
Influenza A (H1N1pdm09)	A/Hawaii/66/2019	3	3	0
Influenza A (H1N1pdm09)	A/Christ Church/16/2010	3	3	0
Influenza A (H3N2)	A/Guangdong-Maonan/1536/2019	3	3	0
Influenza A (H3N2)	A/California/02/2014	3	3	0
Influenza A (H3N2)	A/Michigan/15/2014	3	3	0
Influenza A (H3N2)	A/Hong Kong/4801/2014	3	3	0
Influenza A (H3N2)	A/Alaska/232/2015	3	3	0
Influenza A (H3N2)	A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016	3	3	0
Influenza A (H3N2)	A/Texas/71/2017	3	3	0

Table 14 Eficiência da detecção (inclusividade) (continued)

Vírus (Tipo/Subtipo)	Estirpe	N	Positivo	Negativo
Influenza A (H3N2)	A/Kansas/14/2014	3	3	0
Influenza A (H3N2)	A/Wisconsin/04/2018	3	3	0
Influenza A (H3N2)	A/Arizona/45/2018	3	3	0
Influenza A (H3N2*)	A/Hong Kong/45/2019	3	3	0
Influenza A (H3N2)	A/Perth/16/2009	3	3	0
Influenza A (H3N2)	A/Hong Kong/2671/2019	6	5	1
Influenza B (Victoria)	B/Florida/78/2015	3	3	0
Influenza B (Victoria)	B/Maryland/15/2016	3	3	0
Influenza B (Victoria)	B/Hong Kong/286/2017	3	3	0
Influenza B (Victoria)	B/Hawaii/01/2018 (NA D197N)	3	3	0
Influenza B (Victoria)	B/Missouri/122018 (NA D197E)	3	3	0
Influenza B (Victoria)	B/Michigan/09/2011	3	3	0
Influenza B (Yamagata)	B/Washington/02/2019	3	3	0
Influenza B (Yamagata)	B/Texas/06/2011	3	3	0
Influenza B (Yamagata)	B/Utah/09/2014	3	3	0
Influenza B (Yamagata)	B/Oklahoma/10/2018 (NA D197N)	3	3	0
Influenza B (Yamagata)	B/Indiana/17/2017 (NA I221T)	3	3	0
Influenza B (Yamagata)	B/Wisconsin/10/2016 (NA I221V)	3	3	0
Influenza B (Yamagata)	B/Texas/81/2016	3	3	0
Influenza B (Yamagata)	B/Phuket/3073/2013	3	3	0
RSV-A	1/2015 Isolado 1	3	3	0
RSV-A	12/2014 Isolado n.º 2	3	3	0
RSV-A	2014 Isolado 342	3	3	0
RSV-B	12/2014 Isolado n.º 1	6	5	1
RSV-B	11/2014 Isolado n.º 2	3	3	0
RSV-B	3/2015 Isolado n.º 1	3	3	0

Todas as amostras foram corretamente detetadas pelo SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit.

11.3 Organismos potencialmente interferentes: Reatividade cruzada

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

A ausência de reatividade cruzada com potenciais organismos interferentes também foi verificada no ELITE InGenius através da análise de um painel de organismos não pretendidos.

Os resultados são comunicados nas tabelas seguintes.

Table 15

Organismo	Positivo/réplicas				Resultado
	SARS-CoV-2	Flu B	Flu A	RSV	
Adenovírus 1	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Adenovírus tipo 2	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Adenovírus tipo 7A	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Bordetella pertussis</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Candida albicans</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Corynebacterium genitalium</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Chlamydomphila pneumonia</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Citomegalovírus	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Coronavírus OC43	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Coronavírus 229E	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Coronavírus NL63	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Haemophilus influenzae</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Metapneumovírus humano 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Enterovírus 68	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Vírus Epstein-Barr	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Escherichia coli</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Lactobacillus jensenii</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Legionella pneumophila</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Coronavírus MERS	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada

Table 15 (continued)

Organismo	Positivo/réplicas				Resultado
	SARS-CoV-2	Flu B	Flu A	RSV	
<i>Moraxella catarrhalis</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Mycoplasma pneumonia</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Neisseria meningitidis</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Vírus Parainfluenza 1	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Vírus Parainfluenza 2	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Vírus Parainfluenza 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Vírus Parainfluenza 4A	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Pneumocystis carinii</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Rinovírus 1A	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Staphylococcus aureus MRSA</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Streptococcus pneumonia</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Streptococcus salivarius</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Sem reatividade cruzada

Os resultados do teste de reatividade cruzada pelo painel de potenciais organismos interferentes a alta concentração estão resumidos na tabela seguinte:

Table 16

Amostra	Positivo/réplicas	Resultado
	SCoV2	
Não interferente (referência)	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Coronavírus humano 229E	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Coronavírus humano HKU1	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Coronavírus humano OC43	0 / 5	Sem reatividade cruzada

Table 16 (continued)

Amostra	Positivo/réplicas	Resultado
	SCoV2	
Coronavírus humano NL63	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Coronavírus MERS	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Vírus Influenza A	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Vírus Influenza B	0 / 5	Sem reatividade cruzada
RSVA	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Legionella pneumophila</i>	0 / 5	Sem reatividade cruzada

Os resultados do teste de reatividade cruzada pelo painel de potenciais organismos interferentes a média concentração estão resumidos na tabela seguinte:

Table 17

Amostra	Positivo/réplicas	Resultado
	SCoV2	
Coronavírus humano 229E	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Coronavírus humano HKU1	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Coronavírus humano OC43	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Coronavírus humano NL63	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Coronavírus MERS	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Vírus Influenza A	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Vírus Influenza B	0 / 5	Sem reatividade cruzada
RSVA	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Legionella pneumophila</i>	0 / 5	Sem reatividade cruzada

Todos os marcadores potencialmente interferentes testados revelaram que não há reatividade cruzada para a amplificação do alvo de SARS-CoV-2 utilizando o SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit.

11.4 Organismos potencialmente interferentes: Inibição

A potencial inibição de marcadores interferentes que podem ser encontrados em amostras clínicas foi avaliada no ELITE InGenius para o ensaio através da análise de um painel de organismos não pretendidos pela análise de um painel de marcadores em concentração relevante em amostras de zaragatoa nasofaríngea positivas para os alvos.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Organismo	Positivo/réplicas				Resultado
	SARS-CoV-2	Flu B	Flu A	RSV	
Adenovírus 1	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Adenovírus tipo 2	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Adenovírus tipo 7A	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência

<i>Bordetella pertussis</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
<i>Candida albicans</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
<i>Corynebacterium genitalium</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
<i>Chlamydomphila pneumonia</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Citomegalovírus	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Coronavírus OC43	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Coronavírus 229E	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Coronavírus NL63	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
<i>Haemophilus influenzae</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Metapneumovírus humano 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Enterovírus 68	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Vírus Epstein-Barr	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
<i>Escherichia coli</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
<i>Lactobacillus jensenii</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
<i>Legionella pneumophila</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Coronavírus MERS	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
<i>Moraxella catarrhalis</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
<i>Mycoplasma pneumonia</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
<i>Neisseria meningitidis</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Vírus Parainfluenza 1	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Vírus Parainfluenza 2	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Vírus Parainfluenza 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Vírus Parainfluenza 4A	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência

<i>Pneumocystis carinii</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Rinovírus 1A	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
<i>Streptococcus pneumonia</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
<i>Streptococcus pyogenes</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
<i>Streptococcus salivarius</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência

Todos os organismos potencialmente interferentes testados revelaram que não há inibição na detecção de todos os alvos utilizando o SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit

11.5 Substâncias potencialmente interferentes: Inibição

A inibição potencial das substâncias interferentes (endógenas e exógenas), que pode ser encontrada em amostras clínicas de zaragatoa nasofaríngea, foi avaliada para o ensaio no ELITE InGenius através da análise de um painel de substâncias a concentrações relevantes em amostras reforçadas com FluA, FluB, RSV e SARS-CoV-2.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Table 18

Substância	Positivo/réplicas				Resultado
	SARS-CoV-2	Flu B	Flu A	RSV	
Mucina	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Sangue Total	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Benzocaína	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Beclometasona	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Chloraseptic	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Nasacort	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Zicam	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Propionato de fluticasona	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Furoato de mometasona	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Triamcinolona	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Spray nasal de fenilefrina	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Oximetazolina	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Spray de água do mar	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência

Table 18 (continued)

Substância	Positivo/réplicas				Resultado
	SARS-CoV-2	Flu B	Flu A	RSV	
Zanamivir	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Tobramicina	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Mupirocina	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Budesonida	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Dexametasona	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Flunisolida	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência

O teste mostrou que as substâncias testadas não inibem a detecção de alvos usando o SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit.

11.6 Contaminação cruzada

A possível **contaminação cruzada** durante a análise foi avaliada para o ensaio através do teste no ELITE InGenius de 30 réplicas de uma amostra de zaragatoa nasofaríngea negativa alternadas para 30 réplicas da mesma amostra reforçada com SARS-COV-2 (NIBSC) a uma concentração de 1.000.000 IU/mL em 5 sessões.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Table 19

Amostras	N	Positivo	Negativo	%Concordância
Positivo	30	30	0	100%
Negativo	30	0	30	100%

Não foi detetada contaminação cruzada intra-sessão ou inter-sessão com SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit.

11.7 Falha de todo o sistema

A taxa de falha de todo o sistema para o ensaio foi avaliada no ELITE InGenius e no ELITE BeGenius com os dois métodos de extração, testando um painel de amostras de zaragatoa nasofaríngea reforçadas com material de referência certificado de SARS-CoV-2 (WHO International Standard for SARS-CoV-2 RNA reference material, NIBSC, UK) na concentração de 3x LdD (2019 IU / mL).

Os resultados estão resumidos na tabela seguinte.

Table 20

ELITE InGenius					
Método de extração	Amostras	N	Positivo	Negativo	Taxa de falha geral do sistema
200_50	Zaragatoas nasofaríngeas reforçadas com SARS-CoV-2	100	100	0	0%
200_100	Zaragatoas nasofaríngeas reforçadas com SARS-CoV-2	100	99	1	1%

Nenhuma das amostras positivas testadas deu resultados falsos negativos em associação com o ELITE InGenius e o método de extração 200_50 utilizando o SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit. A taxa de falha de todo o sistema foi igual a 0%.

Uma amostra positiva testada deu resultados falsos negativos em associação com o ELITE InGenius e o método de extração 200_50 utilizando o SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit. A taxa de falha de todo o sistema foi igual a 1%.

Table 21

ELITE BeGenius					
Método de extração	Amostras	N	Positivo	Negativo	Taxa de falha geral do sistema
200_50	Zaragatoas nasofaríngeas reforçadas com SARS-CoV-2	100	99	1	1%
200_100	Zaragatoas nasofaríngeas reforçadas com SARS-CoV-2	100	99	1	1%

Uma amostra positiva testada deu resultados falsos negativos em associação com o ELITE BeGenius e os dois métodos de extração utilizando o SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit. A taxa de falha de todo o sistema foi igual a 1%.

11.8 Repetibilidade

A repetibilidade intra-sessão e inter-sessão do ensaio foi avaliada no ELITE InGenius e no ELITE BeGenius com os dois métodos de extração através da análise de um painel de amostras de zaragatoas nasofaríngeas, incluindo uma amostra negativa e uma amostra reforçada a 3x o LdD com material de referência certificado de SARS-CoV-2, FluA, FluB e RSV (NIBSC e Zeptometrix).

Um exemplo dos resultados da Repetibilidade intra-sessão (em um dia) com o método de extração 200_50 é mostrado nas tabelas seguintes.

Table 22 Repetibilidade intra-sessão do ELITE InGenius (um dia)

Amostra	N	Ct médio	SD	%CV	%Concordância
3x LdD SARS-CoV-2	8	34,35	0,18	0,53	100%
3x LdD FluA	8	35,30	0,34	0,97	100%
3x LdD FluB	8	34,10	0,37	1,10	100%
3x LdD RSV	8	35,40	0,33	0,94	100%
Negativo	8	-	-	-	100%

Table 23 Repetibilidade intra-sessão do ELITE BeGenius (um dia)

Amostra	N	Ct médio	SD	%CV	%Concordância
3x LdD SARS-CoV-2	8	35,52	0,38	1,08	100%
3x LdD FluA	8	36,56	0,50	1,38	100%
3x LdD FluB	8	35,07	0,25	0,72	100%
3x LdD RSV	8	36,91	0,24	0,64	100%
Negativo	8	-	-	-	100%

Um exemplo dos resultados da Repetibilidade inter-sessão (em dois dias) com o método de extração 200_50 é mostrado nas tabelas seguintes.

Table 24 Repetibilidade inter-sessão do ELITE InGenius (dois dias)

Amostra	N	Ct médio	SD	%CV	%Concordância
3x LdD SARS-CoV-2	16	34,21	0,34	1,00	100%
3x LdD FluA	16	35,10	0,44	1,25	100%
3x LdD FluB	16	34,15	0,36	1,05	100%
3x LdD RSV	16	35,49	0,35	0,99	100%
Negativo	16	-	-	-	100%

Table 25 Repetibilidade inter-sessão do ELITE BeGenius (dois dias)

Amostra	N	Ct médio	SD	%CV	%Concordância
3x LdD SARS-CoV-2	16	35,44	0,44	1,24	100%
3x LdD FluA	16	36,50	0,39	1,07	100%
3x LdD FluB	16	35,19	0,40	1,13	100%
3x LdD RSV	16	37,05	0,60	1,61	100%
Negativo	16	-	-	-	100%

No teste de repetibilidade, o SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit detetou todos os alvos conforme esperado e apresentou uma variabilidade máxima dos valores de Ct do alvo como %CV inferior a 5%.

11.9 Reprodutibilidade

A reprodutibilidade inter-lote e inter-instrumento do ensaio foi avaliada com os dois métodos de extração no ELITE InGenius e no ELITE BeGenius através da análise de um painel de amostras de zaragatoas nasofaríngeas negativas ou reforçadas com material de referência certificado de SARS-CoV-2, FluA, FluB e RSV (NIBSC e Zeptomatrix).

Um exemplo dos resultados da Reprodutibilidade inter-lote (em dois lotes) com o método de extração 200_50 é mostrado nas tabelas seguintes.

Table 26 Reprodutibilidade inter-lote ELITE InGenius

Amostra	N	Ct médio	SD	%CV	%Concordância
3x LdD SARS-CoV-2	8	34,86	0,66	1,88	100%
3x LdD FluA	8	35,97	0,82	2,27	100%
3x LdD FluB	8	34,46	0,69	2,01	100%
3x LdD RSV	8	36,16	1,12	3,10	100%
Negativo	8	-	-	-	100%

Table 27 Reprodutibilidade inter-lote ELITE BeGenius

Amostra	N	Ct médio	SD	%CV	%Concordância
3x LdD SARS-CoV-2	8	35,81	0,84	2,35	100%
3x LdD FluA	8	37,83	1,34	3,54	100%

Table 27 Reprodutibilidade inter-lote ELITE BeGenius (continued)

Amostra	N	Ct médio	SD	%CV	%Concordância
3x LdD FluB	8	35,55	0,72	2,02	100%
3x LdD RSV	8	37,62	0,80	2,13	100%
Negativo	8	-	-	-	100%

Um exemplo dos resultados da Reprodutibilidade inter-instrumento (em dois instrumentos) com o método de extração 200_50 é mostrado nas tabelas seguintes.

Table 28 Reprodutibilidade inter-instrumento ELITE InGenius

Amostra	N	Ct médio	SD	%CV	%Concordância
3x LdD SARS-CoV-2	8	34,79	1,40	4,01	100%
3x LdD FluA	8	35,73	0,53	1,47	100%
3x LdD FluB	8	35,19	1,19	3,39	100%
3x LdD RSV	8	35,99	1,34	3,74	100%
Negativo	8	-	-	-	100%

Table 29 Reprodutibilidade inter-instrumento ELITE BeGenius

Amostra	N	Ct médio	SD	%CV	%Concordância
3x LdD SARS-CoV-2	8	35,31	0,79	2,23	100%
3x LdD FluA	8	36,61	0,50	1,36	100%
3x LdD FluB	8	35,91	0,77	2,15	100%
3x LdD RSV	8	38,17	1,63	4,28	100%
Negativo	8	-	-	-	100%

No teste de reprodutibilidade inter-lote e inter-instrumento, o SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit detetou todos os alvos conforme esperado e apresentou uma variabilidade máxima dos valores de Ct do alvo como %CV inferior a 5%.

11.10 Especificidade de diagnóstico: confirmação de amostras negativas

A especificidade de diagnóstico do ensaio, como confirmação de amostras clínicas negativas, foi avaliada em associação com o ELITE InGenius e os dois métodos de extração, através da análise de amostras clínicas de zaratogas nasofaríngeas colhidas de diferentes indivíduos, certificadas negativas para o ARN de cada 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 obtida em associação com o ELITE InGenius também se aplica ao ELITE BeGenius.

Os resultados estão resumidos na tabela seguinte.

Table 30

Método de extração	Amostras de zaragatoa nasofaríngea	N	Positivo	Negativo	Especificidade do diagnóstico
200_50	SARS-CoV-2 negativo	551	1	550	99,8%
	FluA negativo	50	0	50	100%
	FluB negativo	50	0	50	100%
	RSV negativo	49	0	49	100%
200_100	SARS-CoV-2 negativo	513	0	513	100%
	FluA negativo	51	0	51	100%
	FluB negativo	52	0	52	100%
	RSV negativo	52	0	52	100%

O valor-limite da Ct de IC está definido para 35 para amostras de zaragatoas nasofaríngeas.

11.11 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 e os dois métodos de extração, através da análise de amostras clínicas de zaragatoas nasofaríngeas colhidas de diferentes indivíduos, certificadas positivas para o ARN dos alvos ou reforçadas com materiais 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 obtida em associação com o ELITE InGenius também se aplica ao ELITE BeGenius.

Os resultados estão resumidos na tabela seguinte.

Table 31

Método de extração	Amostras de zaragatoa nasofaríngea	N	Positivo	Negativo	Sensibilidade de diagnóstico
200_50	SARS-CoV-2 positivo	150	146	4	97,7%
	SARS-CoV-2 manipulado	24	24	0	
	Positivo para FluA	75	73	2	97,3%
	Positivo para FluB	48	48	0	100%
	FluB manipulado	9	9	0	
	Positivo para RSV	72	71	1	98,6%
200_100	SARS-CoV-2 positivo	108	107	1	99,2%
	SARS-CoV-2 manipulado	24	24	0	
	Positivo para FluA	67	67	0	100%
	Positivo para FluB	38	38	0	100%
	FluB manipulado	24	24	0	
	Positivo para RSV	72	70	2	97,2%

A Sensibilidade do diagnóstico do SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit em associação com zaragatoas nasofaríngeas é igual a 97,7% para SARS-CoV-2, 97,3% para FluA, 100% para FluB e 98,6% para RSV.

NOTE

Os dados e resultados completos dos testes realizados para avaliação das características de desempenho do produto com matriz e o instrumento estão registados no Ficheiro técnico do produto "Kit SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB", FTP 180ING.

12 REFERÊNCIAS

Zhou P. et al. (2020) Nature 579: 270 – 273

W. Zhang et al. (1991) J. Virol. Methods 33: 165 – 189

J. Stockton et al. (1998) J. Clin. Microbiol. 36: 2990 – 2995

Y. C. F. Su et al. (2020) American Society for Microbiology 11, 4: 1610 – 1620

B. E. Young et al. (2020) The Lancet Journal 396, 10251: 603 – 611

Referência da OMS: “Testes laboratoriais à doença do coronavírus (COVID-19) em casos humanos suspeitos, 19 de março de 2020”

K. Linnet et al. (2004) Clin. Chem. 50: 732 - 740.

A. Rogers et al. (2020) J. Clin Microbiol 58:e00708-20

<https://www.mayocliniclabs.com/>

<https://www.aruplab.com/>

<https://www.geisingermedicallabs.com/><https://www.questdiagnostics.com/>

13 LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Utilize este produto apenas com as seguintes amostras clínicas: Zaragatoas nasofaríngeas.

Atualmente não existem dados disponíveis relativos ao desempenho do produto com outras amostras clínicas: expetoração, lavagem broncoalveolar (LBA), aspirados nasofaríngeos e sobrenadante de cultura celular.

Não use este produto com quantidades de ADN ou ARN extraído superiores a 1 µg por reação: quantidades altas de ácidos nucleicos podem inibir a transcrição reversa e a reação de amplificação de ácidos nucleicos e pode dar origem a resultados inválidos.

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

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

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

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

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

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

É necessário ter áreas separadas para a preparação da mistura de reação completa e da extração/amplificação/detecção de produtos de amplificação para evitar falsos resultados positivos.

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

Um resultado negativo obtido com este produto indica que o ARN 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 detecção do produto (ver [11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO page 21](#)). Neste caso, o resultado podia ser um falso negativo.

No caso de coinfeções, a sensibilidade de um alvo pode ser afetada pela amplificação de um segundo alvo (ver [11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO page 21](#)).

Os resultados obtidos com este produto podem, por vezes, ser inválidos devido a uma falha do Internal Control. Neste caso, a amostra deve ser novamente testada, começando pela extração, o que pode originar um atraso na obtenção dos resultados finais.

Durante a preparação da mistura, deve-se ter especial atenção à adição da enzima RT. O gene RNase P humano, utilizado como controlo interno endógeno, foi concebido para amplificar a sequência de ADN endógeno presente na amostra. Se a RT não for adicionada corretamente à mistura de reação completa, poderá ainda ser gerado um sinal alvo de RNase P, levando a uma validação errada da amostra.

Possíveis polimorfismos, inserções ou eliminações na região do ARN visado pelos primers e sondas de produto podem prejudicar a detecção do ARN do 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. Em alguns casos, este risco residual pode contribuir para decisões erradas com potenciais efeitos perigosos para o doente. No entanto, este risco residual associado à utilização prevista do produto foi ponderado em relação aos potenciais benefícios para o paciente e foi considerado aceitável.

14 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

Table 32

Reação de Positive Control inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da mistura de reação completa e do Positive Control. Verifique os volumes da mistura de reação completa e do Positive Control.
Erro na preparação da mistura de reação completa.	Verifique os volumes dos reagentes usados durante a preparação da mistura de reação completa.
Degradação da mistura de reação completa ou dos respetivos componentes.	Não reutilize a mistura de reação completa, prepare-a de fresco para cada sessão de trabalho. Não deixe a PCR Mix à temperatura ambiente durante mais do que 30 minutos. Não deixe a RT EnzymeMix a temperaturas superiores a -20 °C durante mais de 10 minutos. Prepare novamente a mistura de reação completa. Utilize uma nova alíquota de componentes.

Table 32 (continued)

Reação de Positive Control inválida	
Causas possíveis	Soluções
Degradação da Positive Control.	Não use o Positive Control para mais de 4 sessões independentes (3 horas cada na área de extração ou na Cooler Unit). Utilize uma nova alíquota da Positive Control.
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Table 33

Reação de Negative Control inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da mistura de reação completa e do Negative Control. Verifique os volumes da mistura de reação completa e do Negative Control.
Contaminação do Negative Control	Não use o Negative Control para mais do que 1 sessão. Utilize uma nova alíquota de água de grau de biologia molecular.
Contaminação da mistura de reação completa ou dos respetivos componentes.	Prepare novamente a mistura de reação completa. Utilize uma nova alíquota de componentes.
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 34

Reação da amostra inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da mistura de reação completa e da amostra. Verifique os volumes da mistura de reação completa e da amostra.
Erro na preparação da mistura de reação completa.	Verifique os volumes dos reagentes usados durante a preparação da mistura de reação completa.
Degradação da mistura de reação completa ou dos seus componentes.	Não reutilize a mistura de reação completa, prepare-a de fresco para cada sessão de trabalho. Não deixe a PCR Mix à temperatura ambiente durante mais do que 30 minutos. Não deixe a RT EnzymeMix a temperaturas superiores a -20 °C durante mais de 10 minutos. Prepare novamente a mistura de reação completa. Utilize uma nova alíquota de componentes.
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 35

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 primária com uma diluição 1:10 em água de qualidade para biologia molecular numa sessão "Extract + PCR" (Extrair + PCR).

Table 36

Elevada taxa anómala de resultados positivos na mesma sessão (reações com valores de Ct recentes semelhantes)	
Causas possíveis	Soluções
Contaminação entre amostras durante os passos pré-analíticos.	Limpar a micropipeta com uma solução de hipoclorito de sódio (lixívia) a 3% nova ou ADN/ARN mais limpo após usar a pipeta em cada amostra. Não usar pipetas Pasteur. As pipetas devem ser do tipo de deslocação positiva ou ser usadas com pontas com filtro de aerossóis. 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. Prepare uma nova alíquota da mistura de reação completa.

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.



Consulte as instruções de utilização.



Ponto de exclamação



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., fabricante deste dispositivo, utilize o seguinte endereço de e-mail: egspa.vigilance@elitechgroup.com.

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

Os reagentes de deteção ELITE MGB® são abrangidos por um ou mais dos números de patente dos EUA 7319022, 7348146, 7381818, 7541454, 7671218, 7723038, 7767834, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529 e números de patente EP 1781675, 1789587, 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 licenciadores 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.
eSWAB® é uma marca comercial registada da COPAN Italia S.p.A.

Appendix A SARS-CoV-2 PLUS 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 **SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB® Kit** consiste num dispositivo médico de diagnóstico *in vitro* que se destina a ser usado por profissionais de saúde como um ensaio transcrição reversa e PCR em tempo real de ácidos nucleicos multiplexados, qualitativo para a deteção e identificação do ARN do **Coronavírus 2 da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-CoV-2)**, **Vírus Influenza A (FluA)**, **Vírus Influenza B (FluB)** e **Vírus Sincial Respiratório (RSV)** extraídos de amostras clínicas.

O ensaio foi validado em associação com os instrumentos **ELITE InGenius®** e **ELITE BeGenius®**, sistemas automatizados e integrados para a extração, a transcrição reversa, a PCR em tempo real e a interpretação dos resultados, usando amostras humanas de zaragatoas nasofaríngeas.

O produto destina-se a ser utilizado como auxiliar no rastreio da infeção por Coronavírus 2 da Síndrome Respiratória Aguda Grave em indivíduos assintomáticos, como auxiliar no diagnóstico de infeções por Coronavírus 2 da Síndrome Respiratória Aguda Grave, Vírus Influenza A, Vírus Influenza B e Vírus Sincial Respiratório em pacientes com suspeita de infeção viral respiratória e como auxiliar na monitorização da infeção por Coronavírus 2 da Síndrome Respiratória Aguda Grave em pacientes com infeção confirmada por SARS-CoV-2.

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

Sequência amplificada

Table 37

Sequência	Gene	Fluoróforo	Canal
SCoV2	ORF8 e ORF1ab	FAM	SCoV2
FluA	FluA gene da proteína matriz	AP639	FluA
FluB	FluB gene da proteína matriz	AP593	FluB
RSV	RSV gene da proteína matriz	AP690	RSV
Internal Control	RNase P humano	AP525	Internal Control

Matriz validada

Zaragatoas nasofaríngeas

Conteúdo do Kit e produtos relacionados

Table 38

SARS CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit (RTS180ING)		SARS CoV-2 PLUS - ELITE Positive Control (CTR180ING)
 X 2	 X 1	 X 3
CoV-2 PLUS PCR Mix 2 tubos de 1200 µL 96 reações por kit 8 ciclos de congelamento- descongelamento por tubo	CoV-2 PLUS RT EnzymeMix 1 tubo de 80 µL 96 reações por kit 8 ciclos de congelamento- descongelamento por tubo	CoV-2 PLUS Positive Control 3 tubos de 160 µL 4 reações por tubo 12 reações por kit 4 ciclos de congelamento-descongelamento
Prazo de conservação máximo: 18 meses		Prazo de conservação máximo: 24 meses
Temperatura de armazenamento: ≤ -20°C		Temperatura de armazenamento: ≤ -20°C

Outros produtos necessários não fornecidos no kit

Table 39

› Instrumento ELITE InGenius: INT030. › Instrumento ELITE BeGenius: INT040. › ELITE InGenius SP 200: INT032SP200.	UTM® (COPAN Italia S.p.A., ref. 360C ou 305C), ou um dispositivo equivalente, apenas para amostras de zangaratoa nasofaríngea. Consumíveis ELITE InGenius e ELITE BeGenius (ver instruções de utilização ELITE InGenius e ELITE BeGenius).
---	---

Protocolo do ELITE InGenius e do ELITE BeGenius

Table 40

› Volume da amostra › Volume de eluição total › Volume de entrada de eluição PCR › Volume PCR Mix completo	200 µL 50 ou 100 µL 10 µL 20 µL	› Frequência dos controlos	15 dias
---	--	----------------------------	---------

Desempenhos ELITE InGenius e ELITE BeGenius

Table 41

Matriz	Método de extração	Agente patogénico	LdD (cópias / mL ou IU/mL)	Sensibilidade de diagnóstico	Especificidade do diagnóstico
Zaragatoa nasofaríngea	200_50	SARS-CoV-2	673 IU/mL	97,7%	99,8%
		FluA	189 cópias/mL	97,3%	100%
		FluB	225 cópias/mL	100%	100%
		RSV	184 cópias/mL	98,6%	100%
	200_100	SARS-CoV-2	1328 IU/mL	99,2%	100%
		FluA	189 cópias/mL	100%	100%
		FluB	225 cópias/mL	100%	100%
		RSV	184 cópias/mL	97,2%	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 de acordo com as diretrizes laboratoriais, e colhidas, transportadas e armazenadas sob as condições seguintes.

Table 42

Tipo de amostra	Requisitos de colheita	Condições de transporte/armazenamento			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ±10 °C	-70 ±15 °C
Zaragatoa nasofaríngea	UTM (COPAN)	≤ 24 horas	≤ 5 dias	≤ 1 mês	≤ 1 mês

Procedimentos ELITE InGenius

O utilizador é guiado passo a passo pela interface gráfica do utilizador do software ELITE InGenius para configurar a execução. Todos os passos: extração, transcrição reversa, 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

Table 43

1. Ligue o ELITE InGenius. Inicie sessão com o nome de utilizador e a palavra-passe. Selecione o modo "CLOSED" (Fechado)	2. Verifique os controlos: CoV-2 PLUS Positive Control e CoV-2 PLUS Negative Control no menu "Controls" (Controlos). Nota: Ambos devem ter sido executados, aprovados e não ter expirado.	3. Descongele CoV-2 PLUS PCR Mix . Submeta a vórtice suave. Centrifugue durante 5 s. Mantenha o RT EnzymeMix em gelo.
--	--	---

Table 44

4. Prepare a mistura de reação completa			5. Submeta a vórtice suave
Número de amostras (N)	CoV-2 PLUS PCR Mix	CoV-2 PLUS RT EnzymeMix	Centrifugue durante 5 s Mantenha mistura de reação completa em gelo. Não exponha à luz direta.
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 19,3 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,7 \mu\text{L}$	
$6 \leq N \leq 12$	$(N + 2) \times 19,3 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,7 \mu\text{L}$	

Procedimento 1 - Execução completa: Extract + PCR (Extrair+PCR) (p. ex., amostras)**Table 45**

1. Selecione "Perform Run" (Executar) no ecrã tátil	2. Verifique os volumes de extração: Entrada: "200 μL ", eluição: "50 μL " ou "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: SARS-CoV-2 PLUS ELITE_RsS_200_50 ou SARS-CoV-2 PLUS ELITE_RsS_200_100	5. Selecione o método "Extract + PCR" (Extrair+PCR) e a posição da amostra: Extraction Tube (Tubo de extração)	6. Carregue a mistura de reação completa e o Controlo Interno no Inventory Block (Gestor do reagente)
7. Carregar: PCR Cassette, Cartucho de extração, Tubo de eluição, Cassete de pontas, Racks do tubo de extração	8. Feche a porta Iniciar a execução	9. Visualize, aprove e guarde os resultados

NOTE

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

Procedimento 2 - Apenas PCR (p. ex., eluatos, controlos)**Table 46**

1 a 4: Siga o procedimento de execução completa descrito acima (selecione os Protocolos de ensaio: SARS-CoV-2 PLUS_PC_200_100, SARS-CoV-2 PLUS ELITE_NC_200_100 ou SARS-CoV-2 PLUS ELITE_RsS_200_50 ou SARS-CoV-2 PLUS ELITE_RsS_200_100)	5. Selecione o método "PCR Only" (Apenas PCR) e a posição da amostra "Elution Tube" (Tubo de eluição)	6. Carregue a mistura de reação completa no Inventory Block (Gestor do reagente)
7. Carregar: Rack de PCR Cassette e suporte de tubos 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 do software ELITE BeGenius para configurar a execução. Todos os passos: extração, transcrição reversa, 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

Table 47

1. Ligue o ELITE BeGenius. Inicie sessão com o nome de utilizador e a palavra-passe. Selecione o modo "CLOSED" (Fechado).	2. Verifique os controlos: CoV-2 PLUS Positive Control e CoV-2 PLUS Negative Control no menu "Controls" (Controlos). Nota: Ambos devem ter sido executados, aprovados e não ter expirado.	3. Descongele CoV-2 PLUS PCR Mix . Submeta a vórtice suave. Centrifugue durante 5 s. Mantenha o RT EnzymeMix em gelo.

Table 48

4. Prepare a mistura de reação completa			5. Submeta a vórtice suave
Número de amostras (N)	CoV-2 PLUS PCR Mix	CoV-2 PLUS RT EnzymeMix	Centrifugue durante 5 s. Mantenha mistura de reação completa em gelo. Não exponha à luz direta.
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 19,3 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,7 \mu\text{L}$	
$6 \leq N \leq 12$	$(N + 2) \times 19,3 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,7 \mu\text{L}$	
$13 \leq N \leq 24$	$(N + 4) \times 19,3 \mu\text{L}$	$(N + 4) \times 0,7 \mu\text{L}$	

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

Table 49

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: "50 μL " ou "100 μL ".
4. Selecione o "Assay protocol" (Protocolo de ensaio) de interesse: SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_RsS_200_50 ou SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_RsS_200_100.	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 mistura de reação completa no rack de reagentes e insira-o na unidade de refrigeração.
NOTE Se for realizada uma segunda extração, repita os passos 2 a 4		
7. Carregue o "PCR Basket" (Cesto de PCR) com a "PCR Cassette" e o "Extraction Basket" (Cesto 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.

Procedimento 2: PCR Only (Apenas PCR) (p. ex., eluatos, controlos)**Table 50**

1. Selecione "Perform Run" (Executar) no ecrã tátil e, a seguir, clique no modo de execução "PCR Only" (Apenas PCR)	2. Carregue os tubos com código de barras do ácido nucleico extraído ou dos controlos no rack de eluição e insira-o na Cooler Unit	3. Verifique os volumes de extração: Entrada: "200 µL", eluato: "50 µL" ou "100 µL"
4. Selecione o "Assay protocol" (Protocolo de ensaio) de interesse SARS-CoV-2 PLUS_Be_PC ou SARS-CoV-2 PLUS_Be_PC_200_100, SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_NC ou SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_NC_200_100 ou SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_RsS_200_50 ou SARS-CoV-2 PLUS ELITE_Be_RsS_200_100)	5. Carregue a mistura de reação completa no suporte de reagentes e insira-o na área de refrigeração. Carregue as pontas de filtro e o suporte de PCR.	6. Carregue o "PCR Basket" (Cesto de PCR) com a "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