

Instructions for use

GI Viral PLUS ELITe MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real



REF RTS501ING

UDI 08033891487515

CE **IVD**
0123

HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES

Rev.	Aviso de alteração	Data (dd/mm/aa)
01	Nova cor da tampa dos tubos de componentes da mistura PCR. Atualização dos parágrafos: "Outro produto necessário", "Materiais necessários mas não fornecidos", "Símbolos", "Notificação para os utilizadores" e "Notificação para o comprador" Novos gráficos e definição de conteúdos das instruções de utilização.	28/10/25
00	desenvolvimento de novo produto	15/03/24

NOTE

A revisão destas instruções de utilização também é compatível com as versões anteriores do kit

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	7
9 PROCEDIMENTO do ELITE InGenius	9
10 PROCEDIMENTO do ELITE BeGenius	15
11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO	21
12 REFERÊNCIAS	37
13 LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO	37
14 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS	38
15 SÍMBOLOS.....	41
16 NOTIFICAÇÃO PARA OS UTILIZADORES.....	42
17 NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA	42
Appendix A QUICK START GUIDE.....	43

1 UTILIZAÇÃO PREVISTA

O produto **GI Viral 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 qualitativo e multiplexado de transcrição reversa e PCR em tempo real de ácidos nucleicos para a **deteção e a identificação** de ADN genómico de Adenovírus (ADV) e ARN genómico de Norovírus (NV), Rotavírus (RV), Astrovírus (ASV) e Sapovírus (SV), extraídos de amostras clínicas.

O ensaio é capaz de detetar ADN de Adenovírus pertencente aos serotipos F40 e F41 (tipificados por análise de fusão), o ARN do Norovírus pertencente aos genogrupos GI e GII (tipificado por análise de fusão), o Rotavírus pertencente ao grupo A, o Astrovírus humano e o Sapovírus humano.

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

O produto destina-se a ser utilizado como um auxílio no diagnóstico de infeções víricas gastrointestinais em pacientes com suspeita de infeção por Adenovírus, Norovírus, Rotavírus, Astrovírus ou Sapovírus.

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

2 PRINCÍPIOS DO ENSAIO

Este é um ensaio qualitativo de transcrição reversa e PCR em tempo real de um passo multiplexado para a deteção de ADN de Adenovírus e ARN de Norovírus, Rotavírus, Astrovírus e Sapovírus 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 são ativadas quando hibridizam com os correspondentes produtos da PCR. O **ELITE InGenius** e o **ELITE BeGenius** monitorizam o aumento da fluorescência e calculam os ciclos de limiar (Ct) e as temperaturas de fusão (Tm).

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

3 DESCRIÇÃO DO PRODUTO

O produto **GI Viral PLUS ELITE MGB Kit** fornece os seguintes componentes:

- **GI-V PCR Mix**, uma mistura de PCR otimizada e estabilizada que contém primers e sondas específicos para:
- O gene da proteína exão F40 e F41 do Adenovírus, detetada no Canal **ADV**; a sonda é estabilizada por MGB, inativada pelo Eclipse Dark Quencher® e identificada pelo corante AquaPhluor® 639 (AP639),
- O gene RdRp da poliproteína GI e GII do Norovírus, detetado no Canal **NV**; as sondas são estabilizadas por MGB, inativadas pelo Eclipse Dark Quencher e identificadas pelo corante FAM,
- O gene NSP3 do grupo A do Rotavírus, detetado no Canal **RV**; a sonda é estabilizada por MGB, inativada pelo Eclipse Dark Quencher e identificada pelo corante AquaPhluor 593 (AP593),
- O gene da proteína do capsídeo do Astrovírus, detetado no Canal **ASV**; a sonda é estabilizada por MGB, inativada pelo Eclipse Dark Quencher e identificada pelo corante AquaPhluor 690 (AP690),
- O gene da poliproteína GI/GII/GIV e GV do Sapovírus, detetado no Canal **SV**; as sondas são estabilizadas por MGB, inativadas pelo Eclipse Dark Quencher e identificadas pelo corante AquaPhluor 559 (AP559),
- O Internal Control (**IC**), específico para uma região do ARN genómico MS2 do fago, detetado no canal **IC**; a sonda é estabilizada por MGB, inativada por Eclipse Dark Quencher e identificada pelo corante AquaPhluor 525 (AP525).

A **GI-V PCR Mix** também contém tampão, cloreto de magnésio, trifosfatos de nucleótido e ADN Polimerase de início a quente.

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

O GI Viral PLUS ELITE MGB Kit contém reagentes suficientes para **96 testes** no ELITE InGenius e no ELITE BeGenius, com 20 µL de GI-V PCR Mix e 0,3 µL RT EnzymeMix usados por reação.

O GI Viral PLUS ELITE MGB Kit pode também ser usado em associação com instrumentos equivalentes.

4 MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO

Table 1

Componente	Descrição	Quantidade	Classificação dos perigos
GI-V PCR Mix ref. RTS501ING	Mistura de reagentes para a transcrição reversa e o PCR em tempo real no tubo com tampa NATURAL	4 x 600 µL	-
RT EnzymeMix ref. RTS003-RT	Enzimas de transcrição reversa no tubo com tampa com inserção PRETA	2 x 20 µL	-

5 MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO

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

6 OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS

Os reagentes para extração da amostra, o controlo interno da extração e inibição, o 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 2

Instrumentos e software	Produto e reagentes
<p>ELITE InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, ref. INT030)</p> <p>Software ELITE InGenius versão 1.3.0.19 (ou superior)</p> <p>GI Viral PLUS ELITE_PC, protocolo de ensaio (Assay Protocol) com parâmetros para a análise de Positive Control</p> <p>GI Viral PLUS ELITE_NC, protocolo de ensaio com parâmetros para a análise de Negative Control</p> <p>Protocolo de ensaio GI Viral PLUS ELITE_ST_200_100 com parâmetros para análise de amostra nas fezes.</p>	<p>GI Viral PLUS - ELITE Positive Control (EG SpA, ref. CTR501ING)</p> <p>CPE - Internal Control (EG SpA, ref. CTCPE)</p> <p>ELITE InGenius SP200 (EG SpA, ref. INT032SP200)</p> <p>Consumíveis do ELITE InGenius e ELITE BeGenius (ver instruções de utilização do ELITE InGenius e do ELITE BeGenius)</p>
<p>ELITE BeGenius (EG SpA, ref. INT040)</p> <p>ELITE BeGenius Software versão 2.3.0 (ou superior)</p> <p>GI Viral PLUS ELITE_Be_PC, protocolo de ensaio (Assay Protocol) com parâmetros para a análise de Positive Control.</p> <p>GI Viral PLUS ELITE_Be_NC, protocolo de ensaio com parâmetros para a análise de Negative Control.</p> <p>Protocolo de ensaio GI Viral PLUS ELITE_Be_ST_200_100 com parâmetros para análise de amostra nas fezes</p>	<p>InhibitEX Buffer (QIAGEN GmbH, Alemanha, ref. 19593) ou um dispositivo equivalente.</p> <p>Minitip Flocked Swab® (COPAN Italia S.p.A., Itália, ref. 501CS01) ou um dispositivo equivalente.</p> <p>FecalSwab™ (COPAN Italia S.p.A., Itália, ref. 470CE,) ou um dispositivo equivalente com meio Cary Blair.</p>

7 AVISOS E PRECAUÇÕES

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

7.1 Avisos e precauções gerais

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

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

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

Nunca deve pipetar soluções com a boca.

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

Lave cuidadosamente as mãos após manusear amostras e reagentes.

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

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

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

Não utilize o produto após a data de validade indicada.

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

Não use reagentes de lotes diferentes.

Não use reagentes de outros fabricantes.

7.2 Avisos e precauções para biologia molecular

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

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

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

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

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

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

7.3 Avisos e precauções específicos para os componentes

Table 3

Componente	Temperatura de armazenamento	Utilização a partir da primeira abertura	Ciclos de congelação / descongelação
GI-V PCR Mix	-20°C ou inferior (protegido da luz)	um mês	até cinco
RT EnzymeMix	-20°C ou inferior	um mês	até dez vezes, durante até dez minutos a +2 / +8 °C

8 AMOSTRAS E CONTROLOS

8.1 Amostras

Este produto destina-se a ser usado no instrumento **ELITE InGenius** e no **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 4

Amostra	Requisitos de colheita	Condições de transporte/armazenamento			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	70 ± 15 °C-
Fezes	colhidas sem conservantes	≤ 24 horas	≤ 48 horas	≤ 1 mês	≤ 2 meses
	colhidas em FecalSwab	≤ 48 horas	≤ 5 dias	≤ 1 mês	≤ 2 meses

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

Siga as instruções descritas de seguida para o pré-tratamento da amostra.

Procedimento de pré-tratamento a partir de vezes nativas colhidas sem conservantes:

1. transfira 1 mL de tampão InhibitEX Buffer para um tubo de 2 mL Sarstedt,
2. colha a amostra de fezes com uma Minitip Flocked Swab com quebra de 80mm (Copan), colha a amostra de diferentes porções de fezes e elimine o excesso inclinando contra a parede do recipiente,
3. insira a zaragatoa no tubo Sarstedt de 2 mL que contém o tampão InhibitEX e rode-a pelo menos 10 vezes, inclinando contra a parede,
4. elimine a zaragatoa e feche a tampa do tubo,
5. misture por vórtice durante cerca de 60 segundos,
6. incube num termomisturador a cerca de +80 °C e a cerca de 800 rpm durante 10 min,
7. centrifugue a 10.000x RCF durante 15 segundos,
8. transfira cuidadosamente 200 µL do sobrenadante das fezes clarificado para um tubo de extração (para o instrumento ELITE InGenius) ou para um tubo Sarstedt de 2 mL (para o instrumento ELITE BeGenius), tendo o cuidado de não afetar o material fecal sedimentado.

Procedimento de pré-tratamento a partir de fezes nativas colhidas em FecalSwab:

1. transfira 500 µL de tampão InhibitEX Buffer para um tubo de 2 mL Sarstedt,
2. transfira 500 µL da suspensão da amostra do FecalSwab para o tubo Sarstedt de 2 mL que contém o tampão InhibitEX,
3. tape o tubo de forma segura e misture por vórtice durante cerca de 60 segundos,
4. incube num termomisturador a cerca de +80 °C e a cerca de 800 rpm durante 10 min,
5. centrifugue a 10.000x RCF durante 15 segundos,
6. transfira cuidadosamente 200 µL do sobrenadante das fezes clarificado para um tubo de extração (para o instrumento ELITE InGenius) ou para um tubo Sarstedt de 2 mL (para o instrumento ELITE BeGenius), tendo o cuidado de não afetar o material fecal sedimentado.

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

Table 5

Protocolos de ensaio para o GI Viral PLUS ELITE MGB Kit				
Amostra	Instrumento	Nome do protocolo de ensaio	Relatório	Características
Fezes nativas ou fezes colhidas em FecalSwab	ELITE InGenius	GI Viral PLUS ELITE_ST_200_100	Positiva / Negativa	Volume inicial de extração: 200 µL Volume de eluição da extração: 100 µL Internal Control: 10 µL Sonicação: NÃO Fator de diluição: 1 Volume de PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 10 µL
	ELITE BeGenius	GI Viral PLUS ELITE_Be_ST_200_100		

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

NOTE

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

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

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

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, use o produto **GI Viral PLUS - ELITE Positive Control** (não fornecido com este kit) com os protocolos de ensaio **GI Viral PLUS ELITE_PC** ou **GI Viral PLUS ELITE_Be_PC**.
- Para o Negative Control, use água de grau de biologia molecular (não fornecida com este kit) com os protocolos de ensaio **GI Viral PLUS ELITE_NC** ou **GI Viral PLUS ELITE_Be_NC**.

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** e, nesse momento, é necessário voltar a executar os controlos positivos e negativos. Os Controlos da PCR devem ser novamente testados se ocorrer algum dos seguintes eventos:

- se for usado um novo lote de reagentes,
- os resultados da análise de controlo da qualidade se encontrarem fora da especificação (ver o parágrafo seguinte),
- 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 **GI Viral PLUS ELITE MGB Kit** com o **ELITE InGenius** é composto por três passos:

Table 6

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

- escolher 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 “Amostras e Controlos”)

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

9.2 PASSO 2 - Configuração da sessão

OGI Viral 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:

1. Descongele os tubos **PCR Mix** necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para **24 testes** em condições otimizadas (2 ou mais testes por sessão). Misture suavemente por 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.

2. Coloque de parte os tubos de **RT EnzymeMix** necessários. Cada tubo é suficiente para **48 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.

3. 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.
4. 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 7

Número de amostras (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 12$	290 μL	4,4 μL

5. 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 8

	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. Pré-trate as amostras de acordo com o procedimento descrito na secção "Amostras e Controlos". 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	Descongele os tubos de CPE necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Cada tubo é suficiente para 12 extrações.	Não aplicável.	Prepare o Negative Control transferindo pelo menos 50 µL de água de grau de biologia molecular para um "Elution tube", fornecido com o ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.
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 100 µL.	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição do extraído") é de 100 µL.	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição do extraído") é de 100 µL.
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 Protocolo de Ensaio na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").	Selecione o Protocolo de Ensaio na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").	Selecione o 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]).

Table 8 (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])
9	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
10	Carregue a CPE e a mistura de reação completa no "Inventory Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza o número de lote do CPE e PCR Mix, data de expiração e número de reações por 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 ± 10 °C 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.

9.3 PASSO 3 - Revisão e aprovação dos resultados

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

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

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 utilizando o **GI Viral PLUS ELITE MGB Kit** através do seguinte procedimento:

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

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

O **ELITE InGenius Software** interpreta os resultados da PCR para os alvos da reação de Positive Control e Negative Control com os parâmetros dos protocolos de ensaio **ELITE_PC** e **ELITE_NC**. Os valores de Ct e Tm 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 (controlos). 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 **ELITE InGenius software** interpreta os resultados de PCR para os alvos (Canais **NV**, **SV**, **ADV**, **RV** e **ASV**) e o Internal Control (Canal **IC**) com os parâmetros do protocolo de ensaio **GI Viral PLUS ELITE_ST_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 9

1) Positive Control	Estado
GI-V Positive Control	APROVADO
2) Negative Control	Estado
GI-V Negative Control	APROVADO

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

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

Table 10

Resultado da execução da amostra	Interpretação
NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Detetado Genogroup I)	Foi detetado ARN de Norovírus na amostra e foi tipificado como Genogruppo I.
NV:RNA Detected Genogroup II (NV:RNA Detetado Genogroup II)	Foi detetado ARN de Norovírus na amostra e foi tipificado como Genogruppo II.
NV:RNA Detected Typing not determined (NV:RNA Detetado Typing not determined)	Foi detetado ARN de norovírus na amostra, mas a análise para a tipificação do genogruppo não foi viável. O teste deve ser repetido.
NV:RNA Not detected or below the LoD (NV:RNA Não detetado ou abaixo de LoD)	Não foi detetado ARN de Norovirus na amostra. A amostra é negativa para ARN do alvo ou a sua concentração está abaixo do limite de deteção do ensaio.
SV:RNA Detected (SV:RNA Detetado)	Foi detetado ARN de Sapovírus na amostra.
SV:RNA Not detected or below the LoD (SV:RNA Não detetado ou abaixo de LoD)	Não foi detetado ARN de Sapovírus na amostra. A amostra é negativa para ARN do alvo ou a sua concentração está abaixo do limite de deteção do ensaio.
RV:RNA Detected (RV:RNA Detetado)	Foi detetado ARN de Rotavírus na amostra.
RV:RNA Not detected or below the LoD (RV:RNA Não detetado ou abaixo de LoD)	Não foi detetado ARN de Rotavírus na amostra. A amostra é negativa para ARN do alvo ou a sua concentração está abaixo do limite de deteção do ensaio.
ADV:DNA Detected Serotype F40 (ADV: DNA Detetado Serotype F40)	Foi detetado ADN de Adenovirus na amostra e foi tipificado como serotipo F40.
ADV:DNA Detected Serotype F41 (ADV: DNA Detetado Serotype F41)	Foi detetado ADN de Adenovirus na amostra e foi tipificado como serotipo F41.
ADV:DNA Detected Typing not determined (ADV:DNA Detetado Typing not determined)	Foi detetado ADN de Adenovirus na amostra, mas a análise para a tipagem do genogruppo não foi viável. O teste deve ser repetido.
ADV:DNA Not detected or below the LoD (ADV:DNA Não detetado ou abaixo de LoD)	Não foi detetado ADN do adenovirus na amostra. A amostra é negativa para ADN do alvo ou a sua concentração está abaixo do limite de deteção do ensaio.
ASV:RNA Detected (ASV:RNA Detetado)	Foi detetado ARN de Astrovirus na amostra.

Table 10 (continued)

Resultado da execução da amostra	Interpretação
ASV:RNA Not detected or below the LoD (ASV:RNA Não detetado ou abaixo de LoD)	Não foi detetado ARN de Astrovírus na amostra. A amostra é negativa para ARN do alvo 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 Controlo Interno (p. ex., extração incorreta, transferência de inibidores). O teste deve ser repetido.

Amostras indicadas como “Invalid-Retest Sample” (Inválido-Testar novamente a amostra): caso, o ADN do Controlo Interno não foi detetado eficientemente devido a problemas nos passos de colheita, pré-tratamento, transcrição reversa, extração 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 “Resolução de problemas”).

As amostras reportadas como “XXX:RNA/DNA Not detected or below the LoD” (XXX:ARN/ADN Não detetado ou abaixo de LoD) são adequadas para análise, mas o ADN/ARN dos alvos não foi detetado. Neste caso, a amostra pode ser negativa para o ADN/ARN dos alvos ou o ADN/ARN dos alvos está presente numa concentração abaixo do limite de detecção do ensaio (ver “Características de desempenho”).

As amostras com a mensagem “XXX:RNA/DNA Detected Typing not determined” (XXX:ARN/ADN Detetado Typing not determined) não adequadas para a tipagem dos Genogrupos I ou II do Norovírus e do serotipo F40 ou F41 do Adenovírus. No entanto, as amostras são positivas para ARN de Norovírus e/ou ADN do Adenovírus.

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 do track).
- O “Sample Report” (Relatório da amostra) apresenta os detalhes dos resultados pela amostra selecionada (SID).
- O “Track Report” (Relatório do track) apresenta os detalhes do resultado pelo Rastreo selecionado.
- O “Sample Report” (Relatório da amostra) e o “Track Report” (Relatório da calha) podem ser impressos e assinados por pessoal autorizado.

10 PROCEDIMENTO do ELITE BeGenius

O procedimento para uso do GI Viral PLUS ELITE MGB Kit com o ELITE BeGenius é composto por três passos:

Table 11

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 (**Positive Control, Negative Control**) estão aprovados e válidos (estado) para o lote de **PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja controlos de PCR válidos disponíveis para o lote da **PCR Mix**, execute os controlos de PCR conforme descrito nas secções seguintes,
- escolha o tipo de execução, seguindo as instruções na Interface Gráfica do Utilizador (GUI) para a preparação da sessão e utilizando os Protocolos de ensaio fornecidos pela EG SpA (consulte “Amostras e Controlos”).

Se o 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

OGI Viral 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 **24 testes** em condições otimizadas (2 ou mais testes por sessão). Misture suavemente por 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.

- Coloque de parte os tubos de **RT EnzymeMix** necessários. Cada tubo é suficiente para **48 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.

3. 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.
4. 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 12

Número de amostras (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 12$	290 μL	4,4 μL
$13 \leq N \leq 18$	$(N + 3) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 3) \times 0,3 \mu\text{L}$
$19 \leq N \leq 23$	$(N + 4) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 4) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 24$	580 μL	8,7 μL

5. 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 13

	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	<p>Identifique amostras e, se necessário, descongele até à temperatura ambiente.</p> <p>Pré-trate as amostras de acordo com o procedimento descrito na secção "Amostras e Controlos".</p> <p>Para este ensaio, 200 µL da amostra devem ser transferidos para o tubo Sarstedt de 2mL previamente identificado.</p>	<p>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.</p>	<p>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.</p>
2	<p>Descongele os tubos de CPE necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Cada tubo é suficiente para 12 extrações.</p>	Não aplicável	<p>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.</p>
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" (Suporte de amostras) 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" (Rack de eluição) 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" (Rack de eluição) 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 100 µL	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 100 µL	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição do extraído") é de 100 µL.
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 13 (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 CPE e 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 13 (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 ± 10 °C 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 **GI Viral 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 os instrumentos ELITE BeGenius e ELITE InGenius testando amostras de fezes nativas reforçadas com material de referência do Norovírus GI, Norovírus GII, Astrovírus, Adenovírus F40, Adenovírus F41 e Rotavírus (ZeptoMetrix e ATCC) e Sapovírus GI/II/IV e Sapovírus GV (plasmídeos da EG SpA).

Foi executada a análise de regressão Probit nos resultados, e estimou-se como LdD a concentração correspondente a 95% de probabilidade de um resultado positivo.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Table 14

Agente patogénico	LdD	Limites de intervalo de 95% de confiança	
		Limite inferior	Limite superior
Norovirus GI	219 TCID ₅₀ /mL	146 TCID ₅₀ /mL	507 TCID ₅₀ /mL
Norovirus GII	151 TCID ₅₀ /mL	114 TCID ₅₀ /mL	321 TCID ₅₀ /mL
Astrovirus	690 TCID ₅₀ /mL	409 TCID ₅₀ /mL	2782 TCID ₅₀ /mL
Adenovirus F40	0,082 TCID ₅₀ /mL	0,058 TCID ₅₀ /mL	0,149 TCID ₅₀ /mL
Adenovirus F41	0,006 TCID ₅₀ /mL	0,004 TCID ₅₀ /mL	0,09 TCID ₅₀ /mL
Rotavirus	2,4 TCID ₅₀ /mL	1,9 TCID ₅₀ /mL	3,5 TCID ₅₀ /mL
Sapovirus GV	792 cópias/mL	583 cópias/mL	1267 cópias/mL
Sapovirus GI/II/IV	1119 cópias/mL	859 cópias/mL	1897 cópias/mL

O valor do LdD calculado foi verificado testando no ELITE BeGenius e no ELITE InGenius amostras de vezes nativas e amostras de fezes colhidas em FecalSwab reforçadas com material de referência de Norovírus GII, Astrovírus, Adenovírus F40, Adenovírus F41, Rotavírus, Sapovírus GI/II/IV e Sapovírus GV à concentração declarada.

Os resultados obtidos confirmaram a alegada concentração para todos os alvos do GI Viral PLUS MGB Kit com as duas matrizes tanto no ELITE BeGenius como no ELITE InGenius.

11.2 Inclusividade: Eficiência de detecção em diferentes estirpes ou isolados

A Inclusividade do ensaio, como eficiência de detecção para diferentes genótipos ou isolados de Norovírus (GI/GII), Astrovírus, Adenovírus (F40/F41), Rotavírus e Sapovírus (GI/II/IV/GV) foi avaliada por análise in silico. A análise revelou a conservação e a ausência de mutações significativas para todos os alvos de interesse, à exceção do Norovírus. Por conseguinte, são esperadas eficácias de detecção diferentes para alguns genótipos ou isolados de Norovírus.

A Inclusividade também foi verificada através da análise de 10 materiais de referência (Qnostics, Vircell, ZeptoMetrix e ATCC) e testando 14 representantes de ADN do plasmídeo das principais variantes genómicas do Norovírus GI e Norovírus GII.

Os resultados com os materiais de referência são comunicados na tabela seguinte.

Table 15

Alvo	Fornecedor	Positivo/ /réplicas	Resultado
Norovirus GI	ZeptoMetrix	6 / 6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Detetado Genogroup I)
Norovirus GII	Vircell	6 / 6	NV:RNA Detected Genogroup II (NV:RNA Detetado Genogroup II)
Adenovirus F40	ZeptoMetrix	6 / 6	ADV:DNA Detected Serotype F40 (ADV:DNA Detetado Serotype F40)
Adenovirus F41	Vircell	6 / 6	ADV:DNA Detected Serotype F41 (ADV:DNA Detetado Serotype F41)
Adenovirus F41	Qnostics	6 / 6	ADV:DNA Detected Serotype F41 (ADV:DNA Detetado Serotype F41)
Rotavirus	Vircell	6 / 6	RV:RNA Detected (RV:RNA Detetado)
Rotavirus	Qnostics	6 / 6	RV:RNA Detected (RV:RNA Detetado)
Sapovirus	ATCC	6 / 6	SV:RNA Detected (SV:RNA Detetado)
Astrovirus I	ATCC	6 / 6	ASV:RNA Detected (ASV:RNA Detetado)
Astrovirus V	ATCC	6 / 6	ASV:RNA Detected (ASV:RNA Detetado)

Todas as amostras foram corretamente pelo GI Viral PLUS ELITE MGB Kit.

Os resultados com ADN do plasmídeo são comunicados na tabela seguinte.

Table 16

Amostra	Cópias/ /reação	Positivo/ /réplicas	Resultado
Plasmídeo Norovirus GI (ID SEQ MN938461)	750	6 / 6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Detetado Genogroup I)
Plasmídeo Norovirus GI (ID SEQ KP027330)	750	6 / 6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Detetado Genogroup I)
Plasmídeo Norovirus GI (ID SEQ MZ470608)	4x10 ⁴	6 / 6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Detetado Genogroup I)
Plasmídeo Norovirus GI (ID SEQ OK562729)	3x10 ⁴	6 / 6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Detetado Genogroup I)
Plasmídeo Norovirus GI (ID SEQ MN421562)	1x10 ⁵	6 / 6	NV:RNA Detected Genogroup II (NV:RNA Detetado Genogroup II)
Plasmídeo Norovirus GI (ID SEQ LC378987)	1x10 ⁷	6 / 6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Detetado Genogroup I)
Plasmídeo Norovirus GI (ID SEQ MW647681)	750	6 / 6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Detetado Genogroup I)
Plasmídeo Norovirus GI (ID SEQ OK147886)	750	6 / 6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Detetado Genogroup I)
Plasmídeo Norovirus GI (ID SEQ MW362461)	750	6 / 6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:RNA Detetado Genogroup I)

Table 16 (continued)

Amostra	Cópias/ reação	Positivo/ réplicas	Resultado
Plasmídeo Norovírus GI (ID SEQ EU085525)	750	6 / 6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV: RNA Detetado Genogroup I)
Plasmídeo Norovírus GII (ID SEQ MK328934)	1x10 ²	6 / 6	NV:RNA Detected Genogroup II (NV: RNA Detetado Genogroup II)
Plasmídeo Norovírus GII (ID SEQ MG674721)	1x10 ²	6 / 6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV: RNA Detetado Genogroup I)
Plasmídeo Norovírus GII (ID SEQ MG495078)	1x10 ²	6 / 6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV: RNA Detetado Genogroup I)
Plasmídeo Norovírus GII (ID SEQ KC464491)	1x10 ²	6 / 6	NV:RNA Detected Genogroup II (NV: RNA Detetado Genogroup II)

Nalgumas variantes do Norovírus GI, a sensibilidade do produto pode variar até 10.000 vezes.

Com o Norovírus GI genótipo 9, o produto apresentará tipificação errada como “Norovírus GII”.

Com o Norovírus GII genótipos 6 e 7, o produto apresentará tipificação errada como “Norovirus GI”.

11.3 Interferência entre alvos

A potencial interferência entre alvos do ensaio foi avaliada através de um teste de coamplificação de Norovírus GI, Norovírus GII, Astrovírus, Adenovírus F40, Adenovírus F41, Rotavírus, Sapovírus GI/II/IV e Sapovírus GV (ADN do plasmídeo da EG SpA).

Para cada alvo, a concentração mais baixa detetável em todas as réplicas é indicada na tabela seguinte.

Table 17

Alvo no teste (cópias baixas)	Alvo interferente a alta concentração (50.000 cópias/reação)						
	NV1	NV2	SV124	SV5	RV	ADV-F40	ASV
NV1	-	-	50 c / rxn	50 c / rxn	50 c / rxn	50 c / rxn	50 c / rxn
NV2	-	-	100 c / rxn	100 c / rxn	100 c / rxn	100 c / rxn	100 c / rxn
SV124	100 c / rxn	100 c / rxn	-	-	100 c / rxn	100 c / rxn	100 c / rxn
SV5	50 c / rxn	50 c / rxn	-	-	50 c / rxn	50 c / rxn	50 c / rxn
RV	250 c / rxn	250 c / rxn	250 c / rxn	250 c / rxn	-	250 c / rxn	250 c / rxn
ADV-F40	50 c / rxn	50 c / rxn	50 c / rxn	50 c / rxn	50 c / rxn	-	50 c / rxn
ASV	250 c / rxn	250 c / rxn	250 c / rxn	250 c / rxn	250 c / rxn	250 c / rxn	-

O GI Viral PLUS ELITE MGB Kit mostra uma interferência mínima entre os alvos. Todos os alvos podem ser detetados mesmo quando são cerca de 200 vezes inferiores que os outros agentes patogênicos de interesse.

11.4 Organismos potencialmente interferentes: Reatividade cruzada

A potencial reatividade cruzada não pretendida de organismos que podem ser encontrados em amostras clínicas de fezes foi avaliada para o ensaio através da análise in silico. A análise não mostrou homologia significativa com outros organismos não pretendidos (vírus, bactérias, protozoários e fungos) e, portanto, não se espera reatividade cruzada, exceto para Adenovírus que não F40 e F41.

A ausência de reatividade cruzada com potenciais organismos interferentes também foi verificada através da análise de um painel de organismos não pretendidos (ATCC, ZeptoMetrix, DSMZ e ADN do plasmídeo).

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Table 18

Amostra	Positivo/réplicas					Resultado
	NV	SV	RV	ADV	ASV	
<i>Aeromonas hydrophilia</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Bacteroides fragilis</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Helicobacter pylori</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Escherichia coli</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Serratia Marcescens</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Candida albicans</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Citrobacter freundii</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Clostridium difficile</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Proteus mirabilis</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Enterobacter cloacae</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Giardia lamblia</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Cryptosporidium parvum</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Entamoeba histolytica</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Salmonella enterica</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Shigella flexneri</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Vibrio cholerae</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Campylobacter jejuni</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Enterovírus B E4	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Adenovírus espécie C (SEQ ID OR777170)	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	0 / 5	Reatividade cruzada para ADV
Adenovírus espécie A (SEQ ID KX868289)	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Adenovírus espécie B (SEQ ID AF542110)	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada

Table 18 (continued)

Amostra	Positivo/réplicas					Resultado
	NV	SV	RV	ADV	ASV	
Adenovírus espécie C (SEQ ID MN398196)	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	0 / 5	Reatividade cruzada para ADV
Adenovírus espécie D (SEQ ID JN226752)	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	0 / 5	Reatividade cruzada para ADV
Adenovírus espécie E (SEQ ID KY996446)	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Adenovírus espécie G (SEQ ID DQ923122)	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	0 / 5	Reatividade cruzada para ADV

Todos os organismos potencialmente interferentes testados não apresentaram reatividade cruzada para a amplificação do alvo exceto para o Adenovírus C, D e G, usando o GI Viral PLUS ELITE MGB Kit.

11.5 Organismos potencialmente interferentes: Inibição

A potencial inibição dos organismos não pretendidos que pode ser encontrada em amostras de fezes clínicas foi avaliada para o ensaio através da análise de um painel de organismos não pretendidos (ATCC, ZeptoMetrix, DSMZ e ADN do plasmídeo) reforçado com Norovírus (GI/GII), Astrovírus, Adenovírus (F40/F41), Rotavírus, Sapovírus (GI/II/IV/GV) (ADN do plasmídeo da EG SpA).

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Table 19

Organismo	Positivo/réplicas						Resultado
	NV1	NV2	RV	ADV-F40	ADV-F41	ASV	
Aeromonas hydrophilia	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Bacteroides fragilis	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Helicobacter pylori	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Saccharomyces cerevisiae	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Plesiomonas shigelloides	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Klebsiella pneumoniae	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Escherichia coli	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Serratia Marcescens	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Acinetobacter baumannii	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Bifidobacterium adolescentis	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Candida albicans	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Citrobacter freundii	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Clostridium difficile	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Proteus mirabilis	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Pseudomonas aeruginosa	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência

Table 19 (continued)

Organismo	Positivo/réplicas						Resultado
	NV1	NV2	RV	ADV-F40	ADV-F41	ASV	
Enterobacter cloacae	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Giardia lamblia	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Cryptosporidium parvum	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Entamoeba histolytica	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Yersinia enterocolitica	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Salmonella enterica	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Shigella flexneri	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Vibrio cholerae	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Campylobacter jejuni	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Enterovírus B E4	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Adenovírus espécie C (SEQ ID OR777170)	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Adenovírus espécie A (SEQ ID KX868289)	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Adenovírus espécie B (SEQ ID AF542110)	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Adenovírus espécie C (SEQ ID MN398196)	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Adenovírus espécie D (SEQ ID JN226752)	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Adenovírus espécie E (SEQ ID KY996446)	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Adenovírus espécie G (SEQ ID DQ923122)	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência

Todos os organismos potencialmente interferentes testados não apresentaram inibição para a amplificação do alvo usando o GI Viral PLUS ELITE MGB Kit.

11.6 Substâncias potencialmente interferentes: Reatividade cruzada

A reatividade cruzada por substâncias potencialmente interferentes (endógenas e exógenas) que podem ser encontradas em amostras de fezes foi avaliada para o ensaio através da análise de um painel de substâncias em concentração relevante.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Table 20

Substância	Positivo/réplicas						Resultado
	NV1	NV2	RV	ADV-F40	ADV-F41	ASV	
Óleo de vaselina	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Nonoxynol-9	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Subsalicilato de bismuto	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Cloridrato de Loperamida	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Bisacodyl	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Azitromicina	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Vancomicina	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Metronidazol	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Ampicilina	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Cefpodoxime	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Ciprofloxacina	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Hidrocortisona	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Carbonato de cálcio	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Ácido algínico	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Hidróxido de alumínio	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Trissilicato de magnésio	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Sangue total	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Mucina	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Ácido palmítico	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Ácido esteárico	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada

O teste mostrou que todas as substâncias testadas não reagem de forma cruzada com os alvos usando o GI Viral PLUS ELITE MGB Kit.

11.7 Substâncias potencialmente interferentes: Inibição

A inibição potencial das substâncias interferentes (endógenas e exógenas) que pode ser encontrada em amostras de fezes clínicas foi avaliada para o ensaio através da análise de um painel de substâncias a concentrações relevantes em amostras reforçadas com materiais de referência do Norovírus GI, Norovírus GII, Astrovírus, Adenovírus F40, Adenovírus F41, Rotavírus, Sapovírus GV e Sapovírus GI/GII/GIV (ZeptoMetrix, ATCC e plasmídeos EG SpA).

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Table 21

Substância	Positivo/réplicas						Resultado
	NV1	NV2	RV	ADV-F40	ADV-F41	ASV	
Óleo de vaselina	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Nonoxynol-9	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Subsalicilato de bismuto	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Cloridrato de Loperamida	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Bisacodyl	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Azitromicina	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Vancomicina	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Metronidazol	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Ampicilina	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Cefpodoxime	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Ciprofloxacina	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Hidrocortisona	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Carbonato de cálcio	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Ácido algínico	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Hidróxido de alumínio	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Trissilicato de magnésio	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Sangue total	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Mucina	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Ácido palmítico	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
Ácido esteárico	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência

O teste mostrou que as substâncias testadas não inibem a detecção de alvos usando o GI Viral PLUS ELITE MGB Kit.

11.8 Contaminação cruzada

A possível contaminação cruzada durante a análise foi avaliada para o ensaio através do teste de 60 réplicas de uma amostra de fezes negativa alternada com 60 réplicas da mesma amostra reforçada com material de referência recombinante de Adenovírus F40 (ADV-F40) (ZeptoMetrix) a cerca de 1×10^4 TCID₅₀ / mL.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Table 22

Amostras	N	Positivo	Negativo	%Concordância
Positivo	60	60	0	100%
Negativo	60	0	60	100%

Nenhuma das amostras negativas testadas deram resultados falsos positivos. Neste teste com o GI Viral PLUS ELITE MGB Kit, a contaminação cruzada não foi detetada dentro das sessões nem entre sessões.

11.9 Falha de todo o sistema

A taxa de falha total do sistema para o ensaio foi avaliada analisando 52 amostras de fezes nativas negativas diferentes e 52 amostras de fezes colhidas em FecalSwab reforçadas com material de referência de Norovírus GII (Zeptomatrix) a uma concentração de 3x LdD.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Table 23

Amostras	N	Positivo	Negativo	Taxa de falha geral do sistema
Fezes nativas reforçadas a 3X LdD	52	52	0	0%
Fezes em FecalSwab reforçadas a 3 vezes o LdD	52	52	0	0%

Neste teste com o GI Viral PLUS ELITE MGB Kit, 100% das amostras de fezes nativas e 100% das amostras de fezes colhidas em FecalSwab foram confirmadas como positivas. Neste teste, toda a taxa de falha do sistema foi igual a 0% para amostras de fezes nativas e 0% para amostras de fezes colhidas em FecalSwab.

11.10 Repetibilidade

A Repetibilidade do ensaio foi avaliada no ELITE BeGenius e no ELITE InGenius através da análise de um painel de amostras de fezes nativas negativas ou reforçadas com material de referência de Norovírus GII, Adenovírus F40, Rotavírus, Astrovírus e Sapovírus GI/II/IV (ZeptoMetrix, ATCC e ADN do plasmídeo EG SpA).

Um exemplo dos resultados da Repetibilidade intra-sessão (em um dia) no ELITE BeGenius são mostrados na tabela seguinte.

Table 24

Amostra	Alvo	N	Média	SD	%CV	%Concordância
Neg	NV (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		6	31,25	0,42	1,34	100%
	NV (Tm)	6	68,4	0,17	0,25	100%
3xLdD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD SV124		6	-	-	-	100%
Neg	SV (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		6	-	-	-	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		6	-	-	-	100%
3xLoD SV124		6	32,36	0,50	1,55	100%
Neg	RV (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		6	30,18	0,29	0,95	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		6	-	-	-	100%
3xLoD SV124		6	-	-	-	100%

Table 24 (continued)

Neg	ADV (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		6	-	-	-	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		6	34,17	0,81	2,37	100%
	ADV (Tm)	6	70,4	0,27	0,38	100%
3xLoD SV124	ADV (Ct)	6	-	-	-	100%
Neg	ASV (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		6	-	-	-	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		6	27,14	0,36	1,32	100%
3xLoD SV124		6	-	-	-	100%

Um exemplo dos resultados da Repetibilidade intra-sessão (em um dia) no ELITE InGenius são mostrados na tabela seguinte.

Table 25

Amostra	Alvo	N	Média	SD	%CV	%Concordância
Neg	NV (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		6	29,91	0,41	1,38	100%
	NV (Tm)	6	69,0	0,05	0,07	100%
3xLdD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD SV124		6	-	-	-	100%
Neg	SV (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		6	-	-	-	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		6	-	-	-	100%
3xLoD SV124		6	32,94	0,83	2,52	100%
Neg	RV (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		6	30,01	0,23	0,76	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		6	-	-	-	100%
3xLoD SV124		6	-	-	-	100%
Neg	ADV (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		6	-	-	-	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		6	34,32	0,64	1,86	100%
		ADV (Tm)	6	71,0	0,16	0,23
3xLoD SV124	ADV (Ct)	6	-	-	-	100%

Table 25 (continued)

Amostra	Alvo	N	Média	SD	%CV	%Concordância
Neg	ASV (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		6	-	-	-	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		6	27,26	0,46	1,70	100%
3xLoD SV124		6	-	-	-	100%

Um exemplo dos resultados da repetibilidade inter-sessão (em dois dias) no ELITE BeGenius são mostrados na tabela seguinte.

Table 26

Amostra	Alvo	N	Média	SD	%CV	%Concordância
Neg	NV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		12	30,97	0,43	1,39	100%
3xLdD NV+RV	NV (Tm)	12	68,4	0,16	0,24	100%
3xLdD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD SV124		12	-	-	-	100%
Neg	SV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		12	-	-	-	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		12	-	-	-	100%
3xLoD SV124		12	32,37	0,45	1,39	100%
Neg	RV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		12	30,07	0,27	0,89	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		12	-	-	-	100%
3xLoD SV124		12	-	-	-	100%
Neg	ADV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		12	-	-	-	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		12	33,80	0,71	2,10	100%
3xLdD ADV-F40+ASV	ADV (Tm)	12	70,3	0,24	0,34	100%
3xLoD SV124	ADV (Ct)	12	-	-	-	100%
Neg	ASV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		12	-	-	-	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		12	27,02	0,33	1,22	100%
3xLoD SV124		12	-	-	-	100%

Um exemplo dos resultados da repetibilidade inter-sessão (em dois dias) no ELITE InGenius são mostrados na tabela seguinte.

Table 27

Amostra	Alvo	N	Média	SD	%CV	%Concordância
Neg	NV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		12	30,08	0,46	1,53	100%
	NV (Tm)	12	68,9	0,11	0,16	100%
3xLdD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD SV124		12	-	-	-	100%
Neg	SV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		12	-	-	-	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		12	-	-	-	100%
3xLoD SV124		12	32,74	0,78	2,37	100%
Neg	RV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		12	30,18	0,40	1,32	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		12	-	-	-	100%
3xLoD SV124		12	-	-	-	100%
Neg	ADV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		12	-	-	-	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		12	34,44	0,63	1,82	100%
	ADV (Tm)	12	71,0	0,14	0,19	100%
3xLoD SV124	ADV (Ct)	12	-	-	-	100%
Neg	ASV (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		12	-	-	-	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		12	27,03	0,41	1,51	100%
3xLoD SV124		12	-	-	-	100%

No teste de repetibilidade, o GI Viral PLUS ELITE MGB Kit detetou todas as amostras conforme esperado e apresentou uma variabilidade máxima dos valores de Ct do alvo como %CV inferior a 5%.

11.11 Reprodutibilidade

A reprodutibilidade do ensaio foi avaliada no ELITE BeGenius e no ELITE InGenius através da análise de um painel de amostras de fezes nativas negativas ou reforçadas com material de referência de Norovírus GII, Adenovírus F40, Rotavírus, Astrovírus e Sapovírus GI/III/IV (ZeptoMetrix, ATCC e ADN do plasmídeo EG SpA).

Os resultados da Reprodutibilidade entre lotes (em seis dias e três lotes) no Elite BeGenius são mostrados na tabela abaixo.

Table 28

Amostra	Alvo	N	Média	SD	%CV	%Concordância
Neg	NV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		36	31,95	0,91	2,85	100%
	NV (Tm)	36	68,5	0,17	0,25	100%
3xLdD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%
Neg	SV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	32,49	0,39	1,19	100%
Neg	RV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		36	30,60	0,56	1,82	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%
Neg	ADV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		36	33,12	0,75	2,27	100%
	ADV (Tm)	36	70,3	0,41	0,58	100%
3xLoD SV124	ADV (Ct)	36	-	-	-	100%
Neg	ASV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		36	28,15	0,97	3,44	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%

Os resultados da Reprodutibilidade entre lotes (em seis dias e três lotes) no Elite InGenius são mostrados na tabela abaixo.

Table 29

Amostra	Alvo	N	Média	SD	%CV	%Concordância
Neg	NV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		36	30,54	0,55	1,80	100%
	NV (Tm)	36	69,1	0,21	0,30	100%
3xLdD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%

Table 29 (continued)

Amostra	Alvo	N	Média	SD	%CV	%Concordância
Neg	SV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	32,75	0,57	1,74	100%
Neg	RV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		36	30,41	0,41	1,35	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%
Neg	ADV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		36	33,66	0,78	2,31	100%
3xLoD SV124	ADV (Tm)	36	70,8	0,30	0,43	100%
3xLoD SV124	ADV (Ct)	36	-	-	-	100%
Neg	ASV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%

Os resultados da Reprodutibilidade inter-instrumento (em seis dias, três lotes e três instrumentos) no Elite BeGenius são mostrados na tabela abaixo.

Table 30

Amostra	Alvo	N	Média	SD	%CV	%Concordância
Neg	NV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		36	31,73	0,93	2,93	100%
3xLdD NV+RV	NV (Tm)	36	68,6	0,24	0,36	100%
3xLdD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%
Neg	SV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	32,45	0,44	1,35	100%

Table 30 (continued)

Amostra	Alvo	N	Média	SD	%CV	%Concordância
Neg	RV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		36	30,80	0,53	1,73	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%
Neg	ADV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		36	32,91	0,68	2,07	100%
3xLoD SV124	ADV (Tm)	36	70,5	0,37	0,52	100%
3xLoD SV124	ADV (Ct)	36	-	-	-	100%
Neg	ASV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		36	28,26	0,95	3,35	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%

Os resultados da Reprodutibilidade inter-instrumento (em seis dias, três lotes e três instrumentos) no Elite BeGenius são mostrados na tabela abaixo.

Table 31

Amostra	Alvo	N	Média	SD	%CV	%Concordância
Neg	NV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		36	30,74	0,62	2,02	100%
3xLdD ADV-F40+ASV	NV (Tm)	36	69,1	0,21	0,30	100%
3xLoD SV124	NV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%
Neg	SV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	32,66	0,47	1,43	100%
Neg	RV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		36	30,28	0,42	1,38	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%

Table 31 (continued)

Amostra	Alvo	N	Média	SD	%CV	%Concordância
Neg	ADV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		36	32,78	0,63	1,91	100%
	ADV (Tm)	36	70,8	0,37	0,52	100%
3xLoD SV124	ADV (Ct)	36	-	-	-	100%
Neg	ASV (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLdD NV+RV		36	-	-	-	100%
3xLdD ADV-F40+ASV		36	25,57	0,88	3,18	100%
3xLoD SV124		36	-	-	-	100%

No teste de reprodutibilidade, o GI Viral PLUS ELITE MGB Kit detetou todas as amostras conforme esperado e apresentou uma variabilidade máxima dos valores de Ct do alvo como %CV inferior a 5%.

11.12 Especificidade do 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 através da análise de amostras clínicas de fezes recolhidas sem conservantes, certificadas negativas para cada alvo.

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

Os resultados estão resumidos na tabela seguinte.

Table 32

Fezes negativas testadas para o alvo	N	Positivo	Negativo	% de especificidade do diagnóstico
Adenovírus F40/F41	101	0	101	100%
Norovírus GI/GII	101	0	101	100%
Rotavírus	101	0	101	100%
Astrovírus	100	0	100	100%
Sapovírus	101	0	101	100%

Todas as amostras de fezes foram negativas e válidas para análise.

A Especificidade de Diagnóstico do GI Viral PLUS ELITE MGB Kit em associação com fezes neste teste foi igual a 100%.

O valor-limite de Ct do CI está definido para 34 para o ELITE InGenius e 35 para o ELITE BeGenius.

11.13 Sensibilidade de diagnóstico: Confirmação de amostras positivas

A Sensibilidade de Diagnóstico do ensaio, como confirmação de amostras clínicas positivas, foi avaliada em associação com o ELITE InGenius através da análise de amostras clínicas de fezes recolhidas sem conservantes, certificadas positivas para 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 sensibilidade de diagnóstico do ensaio obtido em associação com o ELITE InGenius também se aplica ao ELITE BeGenius.

Os resultados estão resumidos na tabela seguinte.

Table 33

Fezes positivas testadas para o alvo	N	Positivo	Negativo	% de sensibilidade de diagnóstico
Adenovírus F40	15	15	0	100%
Adenovírus F41	35	35	0	
Norovirus GI	20	13	7	92,9%
Norovirus GII	120	117	3	
Rotavirus	50	50	0	100%
Astrovírus	50	50	0	100%
Sapovírus	55	51	4	92,7%

A Sensibilidade de Diagnóstico do GI Viral PLUS ELITE MGB Kit em associação com as fezes neste teste foi igual a 100% para ADV F40/F41, 92,9% para NV GI/GII, 100% para RV, 100% para ASV e 92,7% para SV.

NOTE

Os dados e resultados completos dos testes realizados para avaliação das características de desempenho do produto com matrizes e o instrumento estão registados no Ficheiro técnico do produto "GI Viral PLUS ELITE MGB Kit", FTP 501ING.

12 REFERÊNCIAS

- V. P. Ramanan et al. (2017) *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 87: 325-327
- Y. Liu et al. (2012) *J. Clin. Microbiol.* 50: 2384 - 2389
- F. Jakab et al. (2019) *J. Med. Virol.* 74: 71 - 7
- S. Q. Zeng et al. (2008) *J. Virol. Methods* 153: 238 - 240
- M. Diez-Valcarce et al. (2018) *J. Clin Virol.* 104: 65 - 72
- E. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e 30
- P. Chhabra et al. (2019) *J. Gen. Virol.* 100: 1393 - 1406
- K. Kumthip et al. (2019) *Ann Res Hosp* 3: 1 - 3
- B. Lopman et al. (2015) *CDC Review*: 1-44

13 LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Use este produto apenas com as seguintes amostras clínicas: fezes nativas ou fezes colhidas em FecalSwab.

Atualmente, não existem dados disponíveis relativos ao desempenho do produto com outras amostras clínicas.

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 deteção de ácidos nucleicos.

É necessário ter áreas separadas para a preparação da mistura de reação completa e da extração/amplificação/deteção 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 ADN ou ARN alvo não foi detetado no ADN ou ARN extraído da amostra; no entanto, não pode negligenciar-se o facto de o ADN ou ARN alvo ter um título mais baixo que o limite de deteção do produto (Ver Características de desempenho). Neste caso, o resultado podia ser um falso negativo.

No caso de co-infeções, a sensibilidade de um alvo pode ser afetada pela amplificação de um segundo alvo (ver Características de desempenho).

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

Possíveis polimorfismos, inserções ou eliminações na região do ADN ou ARN visado pelos primers e sondas de produto podem prejudicar a deteção e a tipagem do ADN ou ARN do alvo.

Em caso de ocorrência de Adenovírus espécie C ou G na amostra, o produto será detetado como um alvo de Adenovírus sem determinação da tipagem.

Em caso de ocorrência de Adenovírus espécie D na amostra, o produto será detetado e tipado como Adenovírus serotipo F41.

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 34

Reação de Positive Control inválida	
Causas possíveis	Soluções

Table 34 (continued)

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.
Degradação do Controlo Interno.	Utilize uma nova alíquota de Internal Control.
Degradação do 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 de Positive Control.
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Table 35

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 36

Reação da amostra inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da mistura de reação completa, do controlo interno e da amostra. Verifique os volumes da mistura de reação completa, do controlo interno 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.

Table 36 (continued)

Reação da amostra inválida	
Causas possíveis	Soluções
Degradação da mistura de reação completa ou dos seus componentes.	<p>Não reutilize a mistura de reação completa, prepare-a de fresco para cada sessão de trabalho.</p> <p>Não deixe a PCR Mix à temperatura ambiente durante mais do que 30 minutos.</p> <p>Não deixe a RT EnzymeMix a temperaturas superiores a -20 °C durante mais de 10 minutos.</p> <p>Prepare novamente a mistura de reação completa.</p> <p>Utilize uma nova alíquota de componentes.</p>
Degradação do Controlo Interno.	Utilize uma nova alíquota de Internal Control.
Inibição devido a substâncias interferentes na amostra.	<p>Repita a amplificação com uma diluição 1:2 em água de grau de biologia molecular de amostra eluída numa sessão "PCR Only" (apenas PCR).</p> <p>Repita a extração com uma diluição 1:2 em água de grau de biologia molecular da amostra pré-tratada numa sessão "Extract + PCR" (Extrair + PCR).</p>
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Table 37

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

Table 38

Erro no cálculo de Ct	
Causas possíveis	Soluções
Concentração demasiado alta do alvo na amostra ou amostra com sinal de fluorescência anómalo.	<p>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.</p> <p>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.</p> <p>Se for necessário um valor Ct:</p> <ul style="list-style-type: none"> - 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 pré-tratada com uma diluição 1:10 em água de qualidade para biologia molecular numa sessão "Extract + PCR" (Extrair + PCR).

Table 39

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.	<p>Limpe a micropipeta com uma solução de hipoclorito de sódio (lixívia) a 3% nova ou detergente de ADN/ARN após usar a pipeta em cada amostra.</p> <p>Não use pipetas Pasteur. As pipetas devem ser do tipo de deslocação positiva ou ser usadas com pontas com filtro de aerossóis.</p> <p>Introduza as amostras nas últimas posições dos instrumentos, tal como indicado nas GUI. Siga a sequência de carregamento indicada pelo software.</p>
Contaminação pelo ambiente laboratorial.	<p>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.</p> <p>Realize um ciclo de descontaminação U.V.</p> <p>Prepare novamente a mistura de reação completa e/ou utilize uma nova alíquota de CPE.</p>

15 SÍMBOLOS



Número de catálogo.



Limite máximo da temperatura.



Código de lote.



Prazo de validade (último dia do mês).



Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*.



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



Identificação única do dispositivo



Contém suficiente para "N" testes.



Consultar as instruções de utilização.



Conteúdo.



Manter afastado da luz solar.



Fabricante.

16 NOTIFICAÇÃO PARA OS UTILIZADORES

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

17 NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA

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

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

As tecnologias ELITE InGenius® e ELITE BeGenius® estão cobertas por patentes e candidaturas pendentes.

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

MGB®, Eclipse Dark Quencher®, AquaPhluor®, ELITE MGB®, o logotipo ELITE MGB®, ELITE InGenius® e ELITE BeGenius® são marcas registadas do ELITechGroup na União Europeia.
Minitip Flocked Swab® é marca registada da COPAN Italia S.p.A., FecalSwab™ é marca registada da COPAN Italia S.p.A.

Appendix A GI Norovirus PLUS ELITE MGB® Kit utilizado em associação com as plataformas da série Genius®



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 **GI Viral 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 qualitativo e multiplexado de transcrição reversa e PCR em tempo real de ácidos nucleicos para a **deteção e a identificação** de ADN genómico de Adenovírus (ADV) e ARN genómico de Norovírus (NV), Rotavírus (RV), Astrovírus (ASV) e Sapovírus (SV), extraídos de amostras clínicas.

O ensaio é capaz de detetar ADN de Adenovírus pertencente aos serotipos F40 e F41 (tipificados por análise de fusão), o ARN do Norovírus pertencente aos genogrupos GI e GII (tipificado por análise de fusão), o Rotavírus pertencente ao grupo A, o Astrovírus humano e o Sapovírus humano.

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

O produto destina-se a ser utilizado como um auxílio no diagnóstico de infeções víricas gastrointestinais em pacientes com suspeita de infeção por Adenovírus, Norovírus, Rotavírus, Astrovírus ou Sapovírus.

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




Sequência amplificada

Sequência	Gene	Fluoróforo	Canal
Alvo 1	Poliproteína GI e GII	FAM	NV
Alvo 2	Proteína do capsídeo	AP690	ASV
Alvo 3	Proteína exão F40 e F41	AP639	ADV
Alvo 4	Grupo A NSP3	AP593	RV
Alvo 5	Poliproteína GI/GII/GIV e GV	AP559	SV
Internal Control	fago MS2	AP525	IC

Matriz validada

- Fezes nativas colhidas sem conservantes
- Fezes colhidas em FecalSwab (meio modificado Cary Blair)

Conteúdo do Kit e produtos relacionados

GI Viral PLUS ELITE MGB Kit (RTS501ING)		GI Viral PLUS - ELITE Positive Control (CTR501ING)	
 X 4	 X 2	 X 3	
GI-V PCR Mix 4 tubos de 600 µL 24 reações por tubo 96 reações por kit 5 ciclos de congelação-descongelação por tubo	RT EnzymeMix 2 tubos de 20 µL 48 reações por tubo 96 reações por kit 10 ciclos de congelação-descongelação	GI-V Positive Control 3 tubos de 160 µL 4 reações por tubo 12 reações por kit 4 ciclos de congelação-descongelação	
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 40

<ul style="list-style-type: none"> Instrumento ELITE InGenius: INT030. Instrumento ELITE BeGenius: INT040. ELITE InGenius SP 200: INT032SP200. Consumíveis do ELITE InGenius e ELITE BeGenius (ver instruções de utilização do ELITE InGenius e do ELITE BeGenius) 	<ul style="list-style-type: none"> CPE - Internal Control: CTRCPE InhibitEX Buffer (QIAGEN GmbH, Alemanha, ref. 19593) ou um dispositivo equivalente. Minitip Flocked Swab® (COPAN Italia S.p.A., Itália, ref. 518CS01) ou um dispositivo equivalente. FecalSwab™ (COPAN Italia S. p. A., Itália, ref. 470CE) ou um dispositivo equivalente.
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Protocolo ELITE InGenius e ELITE BeGenius

<ul style="list-style-type: none"> Volume da amostra Volume CPE Volume de eluição total 	<ul style="list-style-type: none"> 200 µL 10 µL 100 µL 	<ul style="list-style-type: none"> Volume de entrada de PCR eluato Volume da GI-NV PCR Mix Frequência dos controlos 	<ul style="list-style-type: none"> 10 µL 20 µL 15 dias
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------

Desempenhos ELITE InGenius e ELITE BeGenius

Matriz	Alvo	Limite de detecção	Sensibilidade	Especificidade
Fezes nativas/fezes colhidas em FecalSwab	Norovirus GI	219 TCID ₅₀ /mL	92,9% (130/140)	100% (101/101)
	Norovirus GII	151 TCID ₅₀ /mL		
	Astrovírus	690 TCID ₅₀ /mL	100% (50/50)	100% (100/100)
	Adenovírus F40	0,082 TCID ₅₀ /mL	100% (50/50)	100% (101/101)
	Adenovírus F41	0,006 TCID ₅₀ /mL		
	Rotavirus	2,4 TCID ₅₀ /mL	100% (50/50)	100% (101/101)
	Sapovírus GV	792 cópias/mL	92,7% (51/55)	100% (101/101)
	Sapovírus GI/II/IV	1119 cópias/mL		

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 41

Amostra	Requisitos de colheita	Condições de transporte/armazenamento			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	70 ± 15 °C-
Fezes	colhidas sem conservantes	≤ 24 horas	≤ 48 horas	≤ 1 mês	≤ 2 meses
	colhidas em FecalSwab	≤ 48 horas	≤ 5 dias	≤ 1 mês	≤ 2 meses

NOTE

As amostras têm de ser pré-tratadas antes da utilização, de acordo com o procedimento descrito nas instruções de utilização completas.

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

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

4. Prepare a mistura de reação completa			5. Submeta a vórtice suave Centrifugue durante 5 s Mantenha mistura de reação completa em gelo. Não exponha à luz direta.
Número de amostras (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix	
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0,3 µL	
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0,3 µL	
N = 12	290 µL	4,4 µL	

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

1. Selecione "Perform Run" (Executar) no ecrã tátil	2. Verifique os volumes de extração: Entrada: "200 µL", eluição: "100 µL"	3. Leia os códigos de barras das amostras com um leitor de códigos de barras manual ou escreva a identificação da amostra
4. Selecione o "Assay protocol" (Protocolo de ensaio) de interesse: GI Viral PLUS ELITE_ST_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: PCR Only (Apenas PCR) (p. ex., eluatos, controlos)

1. Selecione "Perform Run" (Executar) no ecrã tátil	2. Verifique os volumes de extração: Entrada: "200 µL", eluição: "100 µL"	3. Leia os códigos de barras das amostras com um leitor de códigos de barras manual ou escreva a identificação da amostra
4. Selecione o "Assay protocol" (Protocolo de ensaio) de interesse: GI Viral PLUS ELITE_ST_200_100 ou GI Viral PLUS ELITE_PC ou GI Viral PLUS ELITE_NC	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. Carregue o 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

<p>1. Ligue o ELITE BeGenius. Inicie sessão com o nome de utilizador e a palavra-passe. Selecione o modo “CLOSED” (Fechado).</p>	<p>2. Verifique os controlos: Positive Control e Negative Control no menu “Controls” (Controlos). Nota: ambos devem ter sido executados, aprovados e não ter expirado.</p>	<p>3. Descongele os tubos de PCR Mix e CTRCPE. Submeta a vórtice suave. Centrifugue durante 5 s.</p>
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

4. Prepare a mistura de reação completa			<p>5. Submeta a vórtice suave Centrifugue durante 5 s Mantenha mistura de reação completa em gelo. Não exponha à luz direta.</p>
Número de amostras (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix	
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0,3 µL	
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0,3 µL	
N = 12	290 µL	4,4 µL	
13 ≤ N ≤ 18	(N + 3) x 20 µL	(N + 3) x 0,3 µL	
19 ≤ N ≤ 23	(N + 4) x 20 µL	(N + 4) x 0,3 µL	
N = 24	580 µL	8,7 µL	

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

<p>1. Selecione “Perform Run” (Executar) no ecrã tátil e, a seguir, clique no modo de execução “Extract + PCR” (Extrair+PCR)</p>	<p>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</p>	<p>3. Verifique os volumes de extração: Entrada: “200 µL”, eluato: “100 µL”</p>
<p>4. Selecione o “Assay protocol” (Protocolo de ensaio) de interesse: GI Viral PLUS ELITE_Be_ST_200_100 Nota: se for realizada uma segunda extração, repita os passos 2 a 4</p>	<p>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</p>	<p>6. Carregue a mistura de reação completa e o Internal Control no “Reagent/Elution Rack” (Rack de reagente/eluição) e insira-o na Cooler Unit</p>
<p>7. Carregue o “PCR Rack” (rack de PCR) com a “PCR Cassette” (Cassete de PCR) e o “Extraction Rack” (Rack de extração) com os cartuchos de extração “ELITE InGenius SP 200” e os consumíveis de extração necessários.</p>	<p>8. Feche a porta. Iniciar a execução</p>	<p>9. Visualize, aprove e guarde os resultados</p>

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

<p>1. Selecione “Perform Run” (Executar) no ecrã tátil e, a seguir, clique no modo de execução “PCR Only” (Apenas PCR)</p>	<p>2. Carregue os tubos com código de barras do ácido nucleico extraído ou dos controlos no rack de eluição e insira-o na unidade de refrigeração</p>	<p>3. Para os controlos: por cada “Position”, insira o “Reagent Name (Nome do reagente)” e o “S/N” (número de série), o “Lot No.” (número de lote), a “Exp.Date” (data de expiração) e o “T/R” (número de reações). Para os eluatos: para cada “Position” (Posição), insira a “Sample ID” (Identificação da amostra), a “Sample matrix” (Matriz da amostra), o “Extraction kit” (Kit de extração) e o “Extracted eluate vol.” (Volume de eluato extraído).</p>
<p>4. Selecione o “Assay protocol” (Protocolo de ensaio) de interesse: GI Viral PLUS ELITE_Be_ST_200_100 ou GI Viral PLUS ELITE_Be_PC ou GI Viral PLUS ELITE_Be_NC</p>	<p>5. Carregue a mistura de reação completa no “Reagent/Elution Rack” (Rack de reagente/eluição) e insira-o na Cooler Unit</p>	<p>6. Carregue o “PCR Basket” (Cesto de PCR) com “PCR Cassette” (Cassete de PCR)</p>
<p>7. Feche a porta. Iniciar a execução</p>	<p>8. Visualize, aprove e guarde os resultados</p>	

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

