

Instructions for use

# HPV PLUS ELITe MGB® Kit

---

reagentes para PCR em tempo real do ADN



**REF** RTS402ING

**UDI** 08033891487393

**CE** **IVD**  
0123

**HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES**

<b>Rev.</b>	<b>Aviso de alteração</b>	<b>Data (dd/mm/aaaa)</b>
00	desenvolvimento de novo produto	20/09/2024

---

## TABLE OF CONTENT

---

<b>1 UTILIZAÇÃO PREVISTA .....</b>	<b>4</b>
<b>2 PRINCÍPIOS DO ENSAIO.....</b>	<b>4</b>
<b>3 DESCRIÇÃO DO PRODUTO .....</b>	<b>4</b>
<b>4 MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO.....</b>	<b>5</b>
<b>5 MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO .....</b>	<b>5</b>
<b>6 OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS .....</b>	<b>5</b>
<b>7 AVISOS E PRECAUÇÕES .....</b>	<b>6</b>
<b>8 AMOSTRAS E CONTROLOS .....</b>	<b>7</b>
<b>9 PROCEDIMENTO ELITe InGenius.....</b>	<b>9</b>
<b>10 PROCEDIMENTO do ELITe BeGenius .....</b>	<b>15</b>
<b>11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO .....</b>	<b>19</b>
<b>12 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>34</b>
<b>13 LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO .....</b>	<b>34</b>
<b>14 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS .....</b>	<b>35</b>
<b>15 SÍMBOLOS.....</b>	<b>38</b>
<b>16 NOTIFICAÇÃO PARA OS UTILIZADORES.....</b>	<b>38</b>
<b>17 NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA .....</b>	<b>39</b>
<b>Appendix A QUICK START GUIDE.....</b>	<b>40</b>

# 1 UTILIZAÇÃO PREVISTA

O produto **HPV PLUS Elite MGB Kit®** é um dispositivo médico de diagnóstico in vitro destinado a ser usado por profissionais de saúde como um ensaio de PCR em tempo real de ácidos nucleicos multiplexado qualitativos para a detecção e a identificação do **ADN genómico dos tipos de alto risco do Vírus do Papiloma Humano 14**, conforme se segue: detecção e tipagem do HPV de alto risco 16, 18, 31, 45, detecção do grupo HPV HR1 de alto risco (33, 52, 58) e detecção do grupo HPV HR2 de alto risco, tipos não vacinais, (35, 39, 51, 56, 59, 66 e 68), extraídos de amostras clínicas.

O ensaio é validado em associação com os instrumentos **ELITe InGenius®** e **ELITe BeGenius®**, automatizados e integrados para extração, PCR em tempo real e interpretação de resultados, utilizando amostras cervicais humanas colocadas em fixador à base de álcool para citologia.

O produto está previsto para utilização como auxiliar no diagnóstico de infeções por HPV, em pacientes com citologia cervical ou resultados de teste positivos para o HPV molecular. Os resultados devem ser interpretados em conjunto com todas as observações clínicas e resultados laboratoriais relevantes.

# 2 PRINCÍPIOS DO ENSAIO

O ensaio é uma PCR em tempo real qualitativo que deteta ADN de HPV, isolado de amostras e amplificado usando o reagente do ensaio **HPV PLUS PCR Mix** que contém primers e sondas com tecnologia ELITe MGB e TaqMan™ MGB.

As sondas são ativadas quando hibridizam com os correspondentes produtos da PCR. **ELITe InGenius** e **ELITe BeGenius** monitorizam o aumento da fluorescência e calculam os ciclos de limite (Ct) e as temperaturas de fusão (Tm).

Nas sondas e 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, para as sondas do ELITe MGB, 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 **HPV PLUS ELITe MGB Kit** fornece o reagente do ensaio **HPV PLUS PCR Mix**, uma PCR Mix otimizada e estabilizada que contém os primers e sondas específicos de:

- Região genómica do HPV16 e HPV31 **E6/E7**, detetada no Canal 1 (**HPV16\_31**) e discriminada por temperatura de fusão. As sondas são estabilizadas por MGB, inativadas por Eclipse Dark Quencher® e marcadas com corante FAM,
- Região genómica do HPV18 e HPV45 **E6/E7**, detetada no Canal 6 (**HPV18\_45**) e discriminada por temperatura de fusão. As sondas são estabilizadas por MGB, inativadas por Eclipse Dark Quencher e marcadas com corante AquaPhluor® 690 (AP690),
- Região genómica do HPV-HR1 (HPV33, HPV52, HPV58) **E6/E7**, detetada no Canal 5 (**HPV\_HR1**). As sondas são estabilizadas por MGB, inativadas por Eclipse Dark Quencher e marcadas com corante AquaPhluor 639 (AP639),
- Região genómica **E6/E7** de HPV HR2 (HPV35, HPV39, HPV51, HPV56, HPV59, HPV66, HPV68) detetada no Canal 4 (**HPV\_HR2**). As sondas são estabilizadas por MGB, inativadas por Eclipse Dark Quencher e marcadas com corante AquaPhluor 593 (AP593),
- Controlo Interno endógeno, específico para o gene da **betaglobina** humana, detetado no Canal 2 (**CI**). A sonda é estabilizada por MGB, inativada por Eclipse Dark Quencher e marcada com corante AquaPhluor 525 (AP525).

A **HPV PLUS PCR Mix** também contém tampão, cloreto de magnésio, trifosfatos de nucleótido e hot-start DNA Polimerase

O controlo interno endógeno monitoriza a celularidade da amostra, extração e eficácia da PCR.

O HPV PLUS ELITE MGB Kit contém reagentes suficientes para **96 testes** no ELITE InGenius e ELITE BeGenius (12 testes em cada tubo), com 20 µL usados por reação.

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

## 4 MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO

Table 1

Componente	Descrição	Quantidade	Classificação dos perigos
HPV PLUS PCR Mix ref. RTS402ING	Mistura de reagentes para PCR em tempo real em tubo com tampa BRANCA	8 x 280 µL	-

## 5 MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO

- Câmara de fluxo laminar.
- Luvas de nitrilo sem pó descartáveis ou material semelhante.
- Misturador de vórtice.
- Microcentrífuga de bancada (~5.000 RPM).
- Microcentrífuga de bancada (~13.000 RPM).
- Micropipetas e pontas estéreis com filtro de aerossol ou pontas de deslocação positiva estéreis (0,5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Tubos com tampa de parafuso esterilizados de 2,0 mL (Sarstedt, Alemanha, ref. 72.694.005).
- Água de grau de biologia molecular.

## 6 OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS

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

Para a extração automática de ácidos nucleicos, 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><b>ELITE InGenius</b> (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, ref. INT030)</p> <p><b>Software ELITE InGenius</b> versão 1.3.0.19 (ou mais recente)</p> <p><b>HPV PLUS ELITE _PC</b>, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Positive Control</p> <p><b>HPV PLUS ELITE _NC</b>, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Negative Control</p> <p>Protocolo de ensaio <b>HPV PLUS ELITE_Cyt_Sense_200_100</b> com parâmetros para análise de amostras cervicais.</p>	<p><b>ELITE InGenius SP200</b> (EG SpA, ref. INT032SP200)</p> <p><b>ELITE InGenius SP 200 Consumable Set</b> (EG SpA, ref. INT032CS)</p> <p><b>ELITE InGeniusPCR Cassette</b> (EG SpA, ref. INT035PCR),</p> <p><b>ELITE InGenius Waste Box</b> (EG SpA, ref. F2102-000)</p> <p><b>300 µL Filter Tips Axygen</b> (Corning Life Sciences Inc., ref. TF-350-L-R-S) com o ELITE InGenius apenas</p> <p><b>1000 µL Filter Tips Tecan</b> (Tecan, Switzerland, ref. 30180118) com o ELITE BeGenius apenas</p> <p><b>HPV PLUS- ELITE Positive Control</b> (EG SpA, ref. CTR402ING)</p> <p>Solução <b>ThinPrep® Pap Test PreservCyt®</b> (Hologic, Inc., código 70098-002, 20 mL de Solução PreservCyt®).</p> <p>Frasco de colheita de 10 mL <b>BD SurePath™</b> (Becton, Dickinson and Company, códigos 491439 / 491438 / 491440, 10 mL de líquido conservante SurePath®).</p>
<p><b>ELITE BeGenius</b> (EG SpA, ref. INT040)</p> <p><b>Software ELITE BeGenius</b> versão 2.2.1 (ou mais recente)</p> <p><b>HPV PLUS ELITE_Be_PC</b>, Assay Protocol (Protocolo de ensaio) com parâmetros para análise do Positive Control</p> <p><b>HPV PLUS ELITE_Be_NC</b>, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Negative Control</p> <p><b>HPV PLUS ELITE _Be _Cyt_Sense_200_100</b>, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostras cervicais.</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 de extração devem ser manuseados de modo a reduzir a dispersão para o ambiente, para evitar a possibilidade de contaminação.

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

## 7.3 Avisos e precauções específicos para os componentes

Table 3

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

\*com congelamento intermédio

# 8 AMOSTRAS E CONTROLOS

## 8.1 Amostras

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

Table 4

Amostra	Requisitos de colheita	Condições de transporte/armazenamento			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Amostra cervical para citologia líquida	Solução ThinPrep® Pap Test PreservCyt® (Hologic, Inc.)	≤ 6 meses	≤ 6 meses	NR	NR
	Frasco de colheita de 10 mL BD SurePath™ (Becton, Dickinson and C.)	≤ 3 meses	≤ 6 meses	NR	NR

NR: não recomendado.

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

Table 5

Protocolos de ensaio para o HPV PLUS ELITE MGB Kit				
Amostra	Instrumento	Nome do protocolo de ensaio	Relatório	Características
Amostra cervical para citologia líquida	<b>ELITE InGenius</b>	HPV PLUS ELITE_Cyt_Sense_200_100	Positiva / Negativa	Volume inicial de extração: 200 µL Volume de eluição da extração: 100 µL Internal Control: NÃO Sonicção: NÃO Fator de diluição: 1 Volume da PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL
	<b>ELITE BeGenius</b>	HPV PLUS ELITE_Be_Cyt_Sense_200_100	Positiva / Negativa	

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

### NOTE

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

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

Consulte "Substâncias Potencialmente Interferentes" na seção [11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO page 19](#) 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 **HPV PLUS - ELITE Positive Control** (não fornecido com este kit) com os protocolos de ensaio **HPV PLUS ELITE\_PC** ou **HPV PLUS ELITE\_Be\_PC**.
- Para o Negative Control, utilize água de grau biológico molecular (não fornecida com este kit) com os protocolos de ensaio **HPV PLUS ELITE\_NC** ou **HPV 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 dias** e, nesse momento, é necessário voltar a executar os positive e Negative Controls. Os controlos PCR devem ser executados novamente se ocorrer algum dos seguintes eventos:

- se for usado um novo lote de reagentes,
- os resultados da análise de controlo da qualidade se encontrarem fora da especificação (ver o parágrafo seguinte),
- for realizada qualquer reparação ou manutenção significativa no instrumento **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 ELITE InGenius

O procedimento para uso do **HPV 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 do Positive Control e Negative Control (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

O **HPV PLUS ELITE MGB Kit** pode ser usado no **ELITE InGenius** para realizar:

- 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]).

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

### NOTE

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

Antes de configurar uma execução:

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

### NOTE

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

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

**Table 7**

	<b>A. Execução da amostra (Extract + PCR) [Extrair+PCR]</b>	<b>B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [apenas PCR])</b>	<b>C. Execução do Positive e Negative Control (PCR Only [apenas PCR])</b>
<b>1</b>	<b>Identifique amostras</b> e, se necessário, descongele até à temperatura ambiente. Para este ensaio, 200 µL da amostra devem ser transferidos para um Tubo de extração anteriormente identificado.	<b>Descongele os Elution tubes</b> contendo os ácidos nucleicos extraídos à temperatura ambiente. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.	<b>Descongele os tubos de Positive Control</b> à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. (Cada tubo é suficiente para 4 reações.) <b>Prepare o Negative Control</b> transferindo pelo menos 50 µL de água de grau de biologia molecular para um “Elution tube” (Tubo de eluição), fornecido com o ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.
<b>2</b>	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”.
<b>3</b>	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.
<b>4</b>	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
<b>5</b>	<b>Selecione o Assay Protocol</b> (Protocolo de Ensaio) na coluna “Assay” (Ensaio) (ver “ <a href="#">8 AMOSTRAS E CONTROLOS page 7</a> ”).	<b>Selecione o Assay Protocol</b> (Protocolo de Ensaio) na coluna “Assay” (Ensaio) (ver “ <a href="#">8 AMOSTRAS E CONTROLOS page 7</a> ”).	<b>Selecione o Assay Protocol</b> (Protocolo de Ensaio) na coluna “Assay” (Ensaio) (ver “ <a href="#">8 AMOSTRAS E CONTROLOS page 7</a> ”). Introduza o número do lote e a data de validade do Positive Control e da água de grau biológico molecular.

Table 7 (continued)

	A. Execução da amostra (Extract + PCR) [Extrair+PCR]	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [apenas PCR])	C. Execução do Positivo e Negative Control (PCR Only [apenas PCR])
6	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).
7	Selecione a posição de carregamento da amostra como "Extraction Tube" (Tubo de extração) na coluna "Sample Position" (Posição da amostra).	Certifique-se de que 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]).
8	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
9	<b>Carregue a PCR Mix</b> no "Inventory Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza o número de lote, data de validade e o número de reações da PCR Mix para cada tubo.	<b>Carregue a PCR Mix</b> no "Inventory Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza o número de lote, data de validade e o número de reações da PCR Mix para cada tubo.	<b>Carregue a PCR Mix</b> no "Inventory Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza o número de lote, data de validade e o número de reações da PCR Mix para cada tubo.
10	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
11	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.
12	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
13	<b>Carregue a PCR Cassette</b> , os cartuchos de extração ELITE InGenius SP 200 e todos os consumíveis e amostras necessários para serem extraídos	<b>Carregue a PCR Cassette</b> e os tubos de eluição com as amostras extraídas	<b>Carregue</b> os tubos de PCR Cassette, Positive Control e Negative Control.
14	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
15	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
16	Prima "Start" (Iniciar).	Prima "Start" (Iniciar).	Prima "Start" (Iniciar).

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

#### NOTE

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

#### NOTE

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

**NOTE**

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

**NOTE**

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

**NOTE**

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

### 9.3 PASSO 3 - Revisão e aprovação dos resultados

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

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

**NOTE**

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

O **ELITE InGenius** gera os resultados com o **HPV PLUS ELITE MGB Kit** através do seguinte procedimento:

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

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

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

Os resultados 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 B. Validação dos resultados das amostras**

O software **ELITE InGenius** interpreta os resultados de PCR para os alvos (canais **HPV16-31**, **HPV18-45**, **HPV HR1** e **HPV HR2**) e o controlo interno (canal **IC**) com os parâmetros do protocolo do ensaio **HPV PLUS ELITE\_Cyt\_Sense\_200\_100**.

Os resultados são mostrados no ecrã “Result Display”.

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

**Table 8**

<b>1) Positive Control</b>	<b>Estado</b>
Controlo positivo HPV PLUS	APROVADO
<b>2) Negative Control</b>	<b>Estado</b>
HPV PLUS - Controlo negativo	APROVADO

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

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

**Table 9**

<b>Resultado da execução da amostra</b>	<b>Interpretação</b>
HPV16_31:DNA Detected Type HPV16 (HPV16_31:DNA detetado tipo HPV16)	<b>Foi detetado ADN de HPV16-31</b> na amostra. O tipo é <b>HPV16</b> .
HPV16_31:DNA Detected Type HPV31 (HPV16_31:DNA detetado tipo HPV31)	<b>Foi detetado ADN de HPV16-31</b> na amostra. O tipo é <b>HPV31</b> .
HPV16_31:DNA Detected Typing not determined (HPV16_31:DNA detetado Typing not determined)	<b>Foi detetado ADN de HPV16-31</b> na amostra, mas a análise para a tipagem de HPV16-31 não foi viável.
HPV18_45:DNA Detected Type HPV18 (HPV18_45:DNA detetado tipo HPV18)	<b>Foi detetado ADN de HPV18-45</b> na amostra. O tipo é <b>HPV18</b> .
HPV18_45:DNA Detected Type HPV45 (HPV18_45:DNA detetado tipo HPV45)	<b>Foi detetado ADN de HPV18-45</b> na amostra. O tipo é <b>HPV45</b> .
HPV18_45:DNA Detected Typing not determined (HPV18_45:DNA detetado Typing not determined)	<b>Foi detetado ADN de HPV18-45</b> na amostra, mas a análise para a tipagem de HPV18-45 não foi viável.
HPV_HR1:DNA Detected (HPV_HR1:DNA detetado)	<b>Foi detetado ADN de HPV HR1</b> (HPV33, HPV52 ou HPV58) na amostra.
HPV_HR2:DNA Detected (HPV_HR2:DNA detetado)	<b>Foi detetado ADN De HPV HR2</b> (HPV35, HPV39, HPV51, HPV56, HPV59, HPV66 ou HPV68) na amostra.
HPV16_31:DNA Not detected or below the LoD (HPV16_31:DNA Não detetado ou abaixo de LoD)	<b>Não foi detetado ADN de HPV16-31</b> na amostra. A amostra é negativa para ADN de HPV16 e HPV31 ou a sua concentração está abaixo do limite de deteção do ensaio.

**Table 9 (continued)**

Resultado da execução da amostra	Interpretação
HPV18_45:DNA Not detected or below the LoD (HPV18_45:DNA Não detetado ou abaixo de LoD)	Não foi detetado ADN de HPV18-45 na amostra. A amostra é negativa para ADN de HPV18 e HPV45 ou a sua concentração está abaixo do limite de deteção do ensaio.
HPV-HR1:DNA Not detected or below the LoD (HPV-HR1:DNA Não detetado ou abaixo de LoD)	Não foi detetado ADN de HPV HR1 na amostra. A amostra é negativa para ADN de HPV33, HPV52 e HPV58 ou a sua concentração está abaixo do limite de deteção do ensaio.
HPV-HR2:DNA Not detected or below the LoD (HPV-HR2:DNA Não detetado ou abaixo de LoD)	Não foi detetado ADN de HPV HR2 na amostra. A amostra é negativa para ADN de HPV35, HPV39, HPV51, HPV56, HPV59, HPV66 e HPV68 ou a sua concentração está abaixo do limite de deteção do ensaio.
Invalid-Retest Sample (Inválido-Testar novamente a amostra)	<b>Resultado do ensaio inválido</b> devido a falha do Controlo Interno (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, extração ou PCR da amostra (por ex. amostragem incorreta, degradação ou perda do ADN durante a extração ou inibidores na eluição), que pode causar resultados incorretos.

Se subsistir volume da eluição suficiente, o eluato pode ser novamente testado (tal como está ou diluído) através de uma execução da amplificação no modo "PCR Only" (Apenas PCR). Se o segundo resultado for inválido, a amostra deve ser novamente testada começando a partir da extração de uma nova amostra utilizando o modo "Extract + PCR" (Extrair+PCR). (ver [14 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS page 35](#)).

Amostras reportadas como "HPV16-31: DNA Not detected or below LoD (HPV16-31: DNA Não detetado ou abaixo de LoD)", "HPV18-45:DNA Not detected or below LoD" (HPV18-45:DNA Não detetado ou abaixo de LoD), "HPV\_HR1:DNA Not detected or below LoD" (HPV\_HR1:DNA Não detetado ou abaixo de LoD), "HPV\_HR2:DNA Not detected or below LoD (HPV\_HR2:DNA Não detetado ou abaixo de LoD), são adequadas para análise mas não foi detetado ADN de HPV. Neste caso, a amostra pode ser negativa para ADN de HPV ou o ADN de HPV está presente numa concentração abaixo do limite de deteção do ensaio (ver [11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO page 19](#)).

Amostras reportadas como "HPV16\_31:DNA Detected Typing not determined" (HPV16\_31:DNA detetado Typing not determined) e "HPV18\_45:DNA Detected Typing not determined" (HPV18\_45:DNA detetado Typing not determined) são adequadas para análise e foi detetado ADN de HPV na amostra, mas a análise da tipagem não era viável. Neste caso, a amostra é positiva para um ou ambos os alvos nesse canal.

### 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 **HPV PLUS ELITE MGB Kit** com o **ELITE BeGenius** é composto por três passos:

**Table 10**

<b>PASSO 1</b>	Verificação da prontidão do sistema	
<b>PASSO 2</b>	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]).
<b>PASSO 3</b>	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

O **HPV 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 do Positive Control e Negative Control (apenas PCR).

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

#### NOTE

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

Antes de configurar uma execução:

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

#### NOTE

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

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

**Table 11**

	<b>A. Execução da amostra (Extract + PCR) [Extrair+PCR]</b>	<b>B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [apenas PCR])</b>	<b>C. Execução do Positive e Negative Control (PCR Only [apenas PCR])</b>
<b>1</b>	<b>Identifique amostras</b> e, se necessário, descongele até à temperatura ambiente. Para este ensaio, <b>200 µL da amostra</b> devem ser transferidos para um tubo Sarstedt de 2 mL previamente identificado.	<b>Descongele os tubos de eluição</b> contendo os ácidos nucleicos extraídos à temperatura ambiente. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.	<b>Descongele os tubos de Positive Control</b> 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.  Prepare o <b>Negative Control</b> transferindo pelo menos 50 µL de água de grau de biologia molecular para um "Elution tube" (Tubo de eluição), fornecido com o ELITe InGenius SP 200 Consumable Set.
<b>2</b>	Selecione <b>"Perform Run"</b> (Executar) a partir do ecrã "Home".	Selecione <b>"Perform Run"</b> (Executar) a partir do ecrã "Home"	Selecione <b>"Perform Run"</b> (Executar) a partir do ecrã "Home".
<b>3</b>	Retire os Suportes da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação.	Retire os "Racks" de "Lane 1, 2 and 3" (L1, L2, L3) da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação	Retire os "Racks" de "Lane 1, 2 and 3" (L1, L2, L3) da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação.
<b>4</b>	Selecione o "Run mode": <b>"Extract + PCR"</b> (Extrair + PCR).	Selecione o "Run mode": <b>"PCR Only"</b> .	Selecione o "Run mode": <b>"PCR Only"</b> .
<b>5</b>	<b>Carregue as amostras</b> 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).	<b>Carregue as amostras</b> no "Elution Rack" (Rack de eluição).	<b>Carregue os tubos de Positive Control e Negative Control</b> no "Elution Rack".
<b>6</b>	<b>Insira o "Sample Rack"</b> na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 5" (L5). Se necessário, 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").	<b>Insira o "Elution Rack"</b> na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 3" (L3). Se necessário, para cada "Position" (Posição), insira a "Sample ID" (Identificação da amostra), a "Sample matrix" (Matriz da amostra), o "Extraction kit" (Kit de extração) e o "Extracted eluate vol." (Volume de eluato extraído).	<b>Insira o "Elution Rack"</b> na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 3" (L3). Se necessário, para cada "Position" (Posição) introduza o "Reagent name" (Nome do reagente) e o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações).
<b>7</b>	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
<b>8</b>	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.
<b>9</b>	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver <a href="#">"8 AMOSTRAS E CONTROLOS page 7"</a> ).	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver <a href="#">"8 AMOSTRAS E CONTROLOS page 7"</a> ).	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver <a href="#">"8 AMOSTRAS E CONTROLOS page 7"</a> ).
<b>10</b>	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.

Table 11 (continued)

	A. Execução da amostra (Extract + PCR) [Extrair+PCR]	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [apenas PCR])	C. Execução do Positivo e Negative Control (PCR Only [apenas PCR])
	<b>NOTE</b>		Não aplicável
	Quando forem processadas mais de 12 amostras, repita o procedimento a partir do ponto 6.		
11	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
12	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
13	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Não aplicável	Não aplicável
14	<b>Carregue a PCR Mix</b> no "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição).	<b>Carregue a PCR Mix</b> no "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição).	<b>Carregue a PCR Mix</b> no "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição).
15	Insira o "Reagent/Elution Rack" na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2) se estiver disponível, ou na "Lane 1" (L1). Se necessário, para cada reagente da 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). Se necessário, para cada reagente da 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). Se necessário, para cada reagente da 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).
16	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
17	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.
18	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
19	Carregue o "PCR Rack" com a "PCR Cassette" na área dos reagentes.	Carregue o "PCR Rack" com a "PCR Cassette" na área dos reagentes.	Carregue o "PCR Rack" com a "PCR Cassette" na área dos reagentes.
20	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
21	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 11 (continued)

	A. Execução da amostra (Extract + PCR) [Extrair+PCR]	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [apenas PCR])	C. Execução do Positive e Negative Control (PCR Only [apenas PCR])
22	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
23	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  $-20 \pm 10$  °C durante não mais de um mês. Evite derramar a Amostra extraída.

#### NOTE

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

#### NOTE

No final da execução, 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 **HPV PLUS ELITE MGB Kit** através do seguinte procedimento:

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

**NOTE**

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

**11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO****11.1 Limite de detecção (LdD)**

O limite de detecção (LdD) do ensaio foi determinado para o instrumento ELITE BeGenius, testando um conjunto de amostras negativas de amostras cervicais colhidas em ThinPrep reforçadas com material de referência composto por células SiHa (HPV16) e células HeLa (HPV18).

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 12 Limite de detecção para amostras cervicais colhidas em ThinPrep no ELITE BeGenius**

Linha celular	LdD (células / mL)	Limites de intervalo de 95% de confiança	
		Limite inferior	Limite superior
SiHa (HPV16)	202	142	368
HeLa (HPV18)	56	40	98

O valor do LdD calculado foi verificado testando nos instrumentos ELITE BeGenius e ELITE InGenius universos de amostras cervicais negativas colhidas em ThinPrep e em SurePath reforçadas com os Standard Internacionais da OMS de HPV16, HPV18, HPV31, HPV33 e HPV45 e com ADN do plasmídeo do genótipo HPV35 a um título correspondente ao valor do LdD de célula HeLa calculado.

Os resultados da confirmação do LdD são comunicados na tabela seguinte.

**Table 13 Confirmação do LdD com amostras cervicais colhidas em ThinPrep e SurePath no ELITE BeGenius e ELITE InGenius**

Amostra	Confirmação do LdD					
	HPV16	HPV18	HPV31	HPV33	HPV45	HPV35
Título do alvo IU / mL (ou *cópias/mL)	1.700	1.700	1.700	2.000	1.700	1.700*
Réplicas (N)	24	24	24	24	24	24
% de resultados positivos	>87%	>87%	>87%	>87%	>87%	>87%

**11.2 Inclusividade: Eficácia de detecção para diferentes genótipos de HPV de alto risco**

A inclusividade do ensaio, como eficácia de detecção para os principais genótipos de HPV de alto risco (HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) foi avaliada por análise *in silico*. A análise revelou a conservação da sequência e a ausência de mutações significativas. Assim, espera-se uma detecção eficiente para as diferentes estirpes ou isolados.

A inclusividade também foi verificada através da análise dos 14 principais genótipos de HPV de alto risco utilizando materiais de referência certificados de diferentes fornecedores (ATCC, Vircell, Seracare, Acrometrix, NIBSC e Microbix) ou ADN de plasmídeos (EG SpA) quando não havia material de referência disponível.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

**Table 14 Resultados do teste de inclusividade no ELITE BeGenius**

Alvo	Painel	Pos. / Rep.	Resultado
HPV16	OMS UI, NIBSC	6 / 6	HPV16_31:DNA Detected Type HPV16 (HPV18_45:DNA detetado tipo HPV45)
	Acrometrix	6 / 6	HPV16_31:DNA Detected Type HPV16 (HPV18_45:DNA detetado tipo HPV45)
	Microbix	6 / 6	HPV16_31:DNA Detected Type HPV16 (HPV18_45:DNA detetado tipo HPV45)
	ATCC	6 / 6	HPV16_31:DNA Detected Type HPV16 (HPV18_45:DNA detetado tipo HPV45)
	SeraCare	6 / 6	HPV16_31:DNA Detected Type HPV16 (HPV18_45:DNA detetado tipo HPV45)
	Vircell	6 / 6	HPV16_31:DNA Detected Type HPV16 (HPV18_45:DNA detetado tipo HPV45)
HPV18	OMS UI, NIBSC	6 / 6	HPV18_45:DNA Detected Type HPV18 (HPV18_45:DNA detetado tipo HPV45)
	Acrometrix	6 / 6	HPV18_45:DNA Detected Type HPV18 (HPV18_45:DNA detetado tipo HPV45)
	Microbix	6 / 6	HPV18_45:DNA Detected Type HPV18 (HPV18_45:DNA detetado tipo HPV45)
	ATCC	6 / 6	HPV18_45:DNA Detected Type HPV18 (HPV18_45:DNA detetado tipo HPV45)
	SeraCare	6 / 6	HPV18_45:DNA Detected Type HPV18 (HPV18_45:DNA detetado tipo HPV45)
	Vircell	6 / 6	HPV18_45:DNA Detected Type HPV18 (HPV18_45:DNA detetado tipo HPV45)
HPV31	OMS UI, NIBSC	6 / 6	HPV16_31:DNA Detected Type HPV31 (HPV18_45:DNA detetado tipo HPV45)
	Microbix	6 / 6	HPV16_31:DNA Detected Type HPV31 (HPV18_45:DNA detetado tipo HPV45)
	ATCC	6 / 6	HPV16_31:DNA Detected Type HPV31 (HPV18_45:DNA detetado tipo HPV45)
HPV45	OMS UI, NIBSC	6 / 6	HPV18_45:DNA Detected Type HPV45 (HPV18_45:DNA detetado tipo HPV45)
	Microbix	6 / 6	HPV18_45:DNA Detected Type HPV45 (HPV18_45:DNA detetado tipo HPV45)
HPV33	OMS UI, NIBSC	6 / 6	HPV_HR1:DNA Detected (HPV_HR2:DNA detetado)
	Microbix	6 / 6	HPV_HR1:DNA Detected (HPV_HR2:DNA detetado)
HPV52	OMS UI, NIBSC	6 / 6	HPV_HR1:DNA Detected (HPV_HR2:DNA detetado)
HPV58	OMS UI, NIBSC	6 / 6	HPV_HR2:DNA Detected (HPV_HR2:DNA detetado)

**Table 14 Resultados do teste de inclusividade no ELITE BeGenius (continued)**

Alvo	Painel	Pos. / Rep.	Resultado
HPV68	Acrometrix	6 / 6	HPV_HR2:DNA Detected (HPV_HR2:DNA detetado)
HPV39	Microbix	6 / 6	HPV_HR2:DNA Detected (HPV_HR2:DNA detetado)
HPV51	SeraCare	6 / 6	HPV_HR2:DNA Detected (HPV_HR2:DNA detetado)
HPV35	ADN de plasmídeo	6 / 6	HPV_HR2:DNA Detected (HPV_HR2:DNA detetado)
HPV56	ADN de plasmídeo	6 / 6	HPV_HR2:DNA Detected (HPV_HR2:DNA detetado)
HPV59	ADN de plasmídeo	6 / 6	HPV_HR2:DNA Detected (HPV_HR2:DNA detetado)
HPV66	ADN de plasmídeo	6 / 6	HPV_HR2:DNA Detected (HPV_HR2:DNA detetado)
Negativo	Acrometrix	0 / 6	Todos os alvos:ADN não detetado
	Microbix	0 / 6	Todos os alvos:ADN não detetado
	SeraCare	0 / 6	Todos os alvos:ADN não detetado

Todas as amostras foram corretamente detetadas pelo HPV PLUS ELITE MGB Kit

### 11.3 Coinfeções

A potencial interferência entre os alvos do ensaio em caso de co-infecção foi avaliada por um teste de co-amplificação de dois alvos de interesse nas amostras usando ADN de plasmídeos HPV16, HPV18, HPV31, HPV45, HPV33 e HPV35.

Para cada alvo, a concentração mais baixa detetável em todas as réplicas (5/5) é indicada na tabela seguinte.

**Table 15 Resumo sobre o teste de co-infecções no ELITE BeGenius**

Alvo a alta concentração	Alvo a baixa concentração
HPV16, 100.000 cópias/reação	HPV18, 1.000 cópias/reação
	HPV31, 10.000 cópias/reação
	HPV33, 3.000 cópias/reação
	HPV35, 2.000 cópias/reação
	HPV45, 500 cópias/reação
HPV31, 100.000 cópias/reação	HPV16, 5.000 cópias/reação
	HPV18, 1.000 cópias/reação
	HPV33, 4.000 cópias/reação
	HPV35, 500 cópias/reação
	HPV45, 1.000 cópias/reação

**Table 15 Resumo sobre o teste de co-infecções no ELITE BeGenius (continued)**

Alvo a alta concentração	Alvo a baixa concentração
HPV18, 100.000 cópias/reação	HPV16, 750 cópias/reação
	HPV31, 500 cópias/reação
	HPV33, 3.000 cópias/reação
	HPV35, 500 cópias/reação
	HPV45, 15.000 cópias/reação
HPV45, 100.000 cópias/reação	HPV16, 750 cópias/reação
	HPV18, 5.000 cópias/reação
	HPV31, 500 cópias/reação
	HPV33, 5.000 cópias/reação
	HPV35, 500 cópias/reação
HPV33, 100.000 cópias/reação	HPV16, 1.000 cópias/reação
	HPV18, 1.000 cópias/reação
	HPV31, 500 cópias/reação
	HPV35, 500 cópias/reação
	HPV45, 1.000 cópias/reação
HPV35, 100.000 cópias/reação	HPV16, 2.000 cópias/reação
	HPV18, 500 cópias/reação
	HPV31, 500 cópias/reação
	HPV33, 4.000 cópias/reação
	HPV45, 1.000 cópias/reação

O HPV PLUS ELITE MGB Kit mostra uma interferência mínima entre os alvos em caso de co-infecção.

#### 11.4 Organismos potencialmente interferentes: Reatividade cruzada

A potencial reatividade cruzada de organismos não pretendidos e de outros genótipos de HPV não incluídos no uso pretendido do produto que podem ser encontrados em amostras clínicas foi avaliada para o ensaio através de análise *in silico*. A análise não demonstrou homologias significativas com outros organismos não pretendidos (vírus, bactérias, protozoários e fungos) e com a maioria dos genótipos de HPV não incluídos no uso pretendido.

A ausência de reatividade cruzada também foi verificada através da análise de um painel de materiais de referência certificados de organismos não pretendidos (ATCC, Vircell, DSMZ, NIBSC) e de materiais de referência (NIBSC) e ADN de plasmídeos (EG SpA) contendo a região dos genes E6/E7 de genótipos de HPV não incluídos no uso pretendido do produto (em cerca de 10<sup>5</sup> cópias/reação).

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

**Table 16 Resultados dos testes de reatividade cruzada no ELITe BeGenius com organismos potencialmente interferentes**

Amostra	Positivo/réplicas					Resultado
	HPV 16-31	HPV HR2	HPV HR1	HPV 18-45	CI	
<i>Vírus da herpes simples 1</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Vírus da herpes simples 2</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Mycoplasma hominis</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Ureaplasma parvum</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Treponema pallidum</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Gardnerella vaginalis</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Mobiluncus mulieri</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Bacteroides fragilis</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Candida albicans</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Chlamydia trachomatis</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Mycoplasma genitalium</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Trichomonas vaginalis</i>	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
HPV6	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
HPV11	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
HPV42	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
HPV43	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
HPV44	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada

**Table 16 Resultados dos testes de reatividade cruzada no ELITE BeGenius com organismos potencialmente interferentes (continued)**

Amostra	Positivo/réplicas					Resultado
	HPV 16-31	HPV HR2	HPV HR1	HPV 18-45	CI	
HPV26	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
HPV30	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
HPV34	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
HPV40	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
HPV53	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Reatividade cruzada
HPV54	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
HPV61	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
HPV67	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
HPV69	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
HPV70	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
HPV72_a	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
HPV72_b	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
HPV73	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
HPV82	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Reatividade cruzada

Observou-se reatividade cruzada com os genótipos HPV53 e HPV82 para o alvo de HPV HR2 usando o HPV PLUS ELITE MGB Kit.

O genótipo HPV82 foi detetado como alvo de HPV HR2 com alta eficácia ( $\geq 1 \times 10^3$  cópias / mL).

O genótipo HPV53 foi detetado como alvo de HPV HR2 com baixa eficácia ( $\geq 1 \times 10^6$  cópias / mL).

Ambos os genótipos são classificados como possivelmente carcinogénicos (Grupo 2B, Classificação IARC) com base em estudos epidemiológicos, filogenéticos e funcionais.

### 11.5 Organismos potencialmente interferentes: Inibição

A potencial inibição de organismos não pretendidos e de outros genótipos de HPV não incluídos no uso pretendido do produto que pode ser encontrado nas amostras clínicas foi avaliada para o ensaio através da análise de um painel de materiais de referência certificados de organismos não pretendidos (ATCC, Vircell, DSMZ, NIBSC) e de materiais de referência (NIBSC) e ADN de plasmídeos (EG SpA) contendo a região dos genes E6/E7 dos genótipos de HPV não incluídos no uso pretendido (em cerca de  $10^5$  cópias / reação), reforçadas com HPV PLUS - ELITE Positive Control numa diluição de 1:10 (100 cópias / reação de ADN dos plasmídeos HPV16, HPV18, HPV33, HPV35).

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

**Table 17 Resultados dos testes de inibição no ELITE BeGenius com organismos potencialmente interferentes**

Amostra reforçada com PC 1:10	Positivo/réplicas					Resultado
	HPV 16-31	HPV HR2	HPV HR1	HPV 18-45	CI	
<i>Vírus da herpes simples 1</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Vírus da herpes simples 2</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Mycoplasma hominis</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Ureaplasma parvum</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Treponema pallidum</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Gardnerella vaginalis</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Mobiluncus mulieri</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Bacteroides fragilis</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Candida albicans</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Chlamydia trachomatis</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Mycoplasma genitalium</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Trichomonas vaginalis</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
HPV6	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
HPV11	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
HPV42	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
HPV43	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
HPV44	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
HPV26	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
HPV30	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
HPV34	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
HPV40	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
HPV53	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
HPV54	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
HPV61	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
HPV67	3 / 5	5 / 5	0 / 5	5 / 5	5 / 5	Inibição

**Table 17 Resultados dos testes de inibição no ELITE BeGenius com organismos potencialmente interferentes (continued)**

Amostra reforçada com PC 1:10	Positivo/réplicas					Resultado
	HPV 16-31	HPV HR2	HPV HR1	HPV 18-45	CI	
HPV69	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
HPV70	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
HPV72_a	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
HPV72_b	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
HPV73	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
HPV82	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Inibição

Observou-se inibição com os genótipos HPV67 e HPV82 usando o HPV PLUS ELITE MGB Kit.

A menor concentração detetável de alvos na presença destes dois genótipos de HPV foi definida, conforme relatado na tabela a seguir.

**Table 18**

Genótipo de HPV	Alvo em teste	Concentração do alvo testado	Pos. / Rep.	Resultado
HPV67 (100.000 cópias / rxn)	HPV16	200 cópias / rxn	5 / 5	Ligeira inibição
	HPV18	100 cópias / rxn	5 / 5	Ausência de inibição
	HPV33	1.000 cópias / rxn	5 / 5	Inibição parcial
	HPV35	100 cópias / rxn	5 / 5	Ausência de inibição
HPV82 (100.000 cópias / rxn)	HPV16	1.000 cópias / rxn	5 / 5	Inibição parcial
	HPV18	1.000 cópias / rxn	5 / 5	Inibição parcial
	HPV33	4.000 cópias / rxn	5 / 5	Inibição parcial

**Nota:** O HPV82 é amplificado como alvo de HPV-HR2, portanto, espera-se uma inibição parcial da amplificação de outros alvos a baixa concentração.

Ambos os genótipos são classificados como possivelmente carcinogênicos (Grupo 2B, Classificação IARC) com base em estudos epidemiológicos, filogenéticos e funcionais.

### 11.6 Substâncias potencialmente interferentes: Reatividade cruzada

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

**Table 19 Resultados dos testes de reatividade cruzada no ELITE BeGenius com substâncias potencialmente interferentes**

Amostra	Pos / Rep				CI	Resultado
	HPV 16-31	HPV HR2	HPV HR1	HPV 18-45		
Mucina	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
Leucócitos sanguíneos periféricos (LSP)	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
Sangue Total	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
Aciclovir	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
Clotrimazol	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
Metronidazol	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
Nonoxinol 9	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
Progesterona	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
Vaselina	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
Desodorizante Vagisil	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada
Gel Vagisil	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	5 / 5	Sem reatividade cruzada

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

### 11.7 Substâncias potencialmente interferentes: Inibição

A potencial inibição de substâncias interferentes (endógenas e exógenas) que podem ser encontradas em amostras clínicas foi avaliada para o ensaio através da análise de um painel de substâncias a uma concentração relevante num conjunto de amostras cervicais negativas colhidas em ThinPrep, reforçadas com materiais de referência (células SiHa de HPV16, células HeLa de HPV18, ADN do plasmídeo pHPV33, ADN do plasmídeo pHPV35) a 3 vezes o LdD.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

**Table 20 Resultados dos testes de inibição no ELITE BeGenius com substâncias potencialmente interferentes**

Amostra reforçada com materiais de referência	Pos / Rep				CI	Resultado
	HPV 16-31	HPV HR2	HPV HR1	HPV 18-45		
Mucina	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Leucócitos sanguíneos periféricos (LSP)	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Sangue Total	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Aciclovir	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Clotrimazol	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição

**Table 20 Resultados dos testes de inibição no ELITE BeGenius com substâncias potencialmente interferentes (continued)**

Amostra reforçada com materiais de referência	Pos / Rep					Resultado
	HPV 16-31	HPV HR2	HPV HR1	HPV 18-45	CI	
Metronidazol	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Nonoxinol 9	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Progesterona	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Vaselina	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Desodorizante Vagisil	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Gel Vagisil a 1%	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição

O teste mostrou que todas as substâncias testadas não interferem com a amplificação do alvo usando o HPV PLUS ELITE MGB Kit

**Nota:** A inibição foi observada com o hidratante vaginal (gel Vagisil) a alta concentração (> 1% p/v).

### 11.8 Repetibilidade

A repetibilidade do ensaio foi avaliada no ELITE BeGenius e ELITE InGenius através da análise de um conjunto de amostras cervicais negativas colhidas em ThinPrep tal como se apresentam ou reforçadas com materiais de referência (células SiHa de HPV16, células HeLa de HPV18, ADN do plasmídeo pHPV33 e ADN do plasmídeo pHPV35).

Um exemplo dos resultados da repetibilidade intra-sessão (em um dia) são mostrados na tabela seguinte.

**Table 21 Teste de repetibilidade intra-sessão - resultados de Ct (um dia/um lote)**

Amostra	Alvo	N	ELITE BeGenius				ELITE InGenius			
			Ct médio	SD	%CV	% Concordância	Ct médio	SD	%CV	% Concordância
Neg	HPV16-31	6	-	-	-	100%	-	-	-	100%
16+18 3xLdD		6	33,13	0,31	0,93	100%	32,68	0,48	1,47	100%
33+35 3xLdD		6	-	-	-	100%	-	-	-	100%
10xLoD		6	31,33	0,30	0,95	100%	30,86	0,33	1,07	100%
Neg	HPV18-45	6	-	-	-	100%	-	-	-	100%
16+18 3xLdD		6	35,22	0,49	1,38	100%	33,11	0,32	0,95	100%
33+35 3xLdD		6	-	-	-	100%	-	-	-	100%
10xLoD		6	33,69	0,57	1,68	100%	31,46	0,14	0,43	100%

**Table 21 Teste de repetibilidade intra-sessão - resultados de Ct (um dia/um lote) (continued)**

Amostra	Alvo	N	ELITe BeGenius				ELITe InGenius			
			Ct médio	SD	%CV	% Concordância	Ct médio	SD	%CV	% Concordância
Neg	HPV-HR1	6	-	-	-	100%	-	-	-	100%
16+18 3xLdD		6	-	-	-	100%	-	-	-	100%
33+35 3xLdD		6	34,72	0,43	1,23	100%	33,51	0,10	0,31	100%
10xLoD		6	31,52	0,58	1,83	100%	30,54	0,12	0,38	100%
Neg	HPV-HR2	6	-	-	-	100%	-	-	-	100%
16+18 3xLdD		6	-	-	-	100%	-	-	-	100%
33+35 3xLdD		6	33,38	0,39	1,18	100%	33,17	0,18	0,54	100%
10xLoD		6	31,48	0,39	1,23	100%	31,16	0,15	0,48	100%

Um exemplo dos resultados da repetibilidade inter-sessão (em dois dias) são mostrados na tabela seguinte.

**Table 22 Teste de repetibilidade inter-sessões - resultados de Ct (dois dias / um lote)**

Amostra	Alvo	N	ELITe BeGenius				ELITe InGenius			
			Ct médio	SD	%CV	% Concordância	Ct médio	SD	%CV	% Concordância
Neg	HPV16-31	12	-	-	-	100%	-	-	-	100%
16+18 3xLdD		12	33,11	0,44	1,33	100%	32,57	0,45	1,39	100%
33+35 3xLdD		12	-	-	-	100%	-	-	-	100%
10xLoD		12	31,21	0,37	1,19	100%	30,72	0,33	1,08	100%
Neg	HPV18-45	12	-	-	-	100%	-	-	-	100%
16+18 3xLdD		12	35,49	0,58	1,62	100%	33,12	0,37	1,11	100%
33+35 3xLdD		12	-	-	-	100%	-	-	-	100%
10xLoD		12	34,19	0,73	2,12	100%	31,82	0,50	1,56	100%
Neg	HPV-HR1	12	-	-	-	100%	-	-	-	100%
16+18 3xLdD		12	-	-	-	100%	-	-	-	100%
33+35 3xLdD		12	34,07	0,77	2,26	100%	32,65	0,91	2,80	100%
10xLoD		12	31,27	0,56	1,78	100%	30,23	0,35	1,15	100%

**Table 22 Teste de repetibilidade inter-sessões - resultados de Ct (dois dias / um lote)**  
(continued)

Amostra	Alvo	N	ELITE BeGenius				ELITE InGenius			
			Ct médio	SD	%CV	% Concordância	Ct médio	SD	%CV	% Concordância
Neg	HPV-HR2	12	-	-	-	100%	-	-	-	100%
16+18 3xLdD		12	-	-	-	100%	-	-	-	100%
33+35 3xLdD		12	33,32	0,31	0,92	100%	32,84	0,37	1,13	100%
10xLoD		12	31,42	0,30	0,94	100%	31,07	0,18	0,59	100%

No teste de repetibilidade, o HPV PLUS ELITE MGB Kit detetou todas as amostras conforme esperado e apresentou uma variabilidade máxima dos valores de Ct do alvo como % CV equivalente a 2,80% (e uma variabilidade máxima dos valores de Tm do alvo como %Cv equivalente a 0,58%).

### 11.9 Reprodutibilidade

A reprodutibilidade do ensaio foi avaliada no ELITE BeGenius e ELITE InGenius através da análise de um conjunto de amostras cervicais negativas colhidas em ThinPrep reforçadas com materiais de referência (células SiHa de HPV16, células HeLa de HPV18, ADN do plasmídeo pHPV33 e ADN do plasmídeo pHPV35).

Os resultados de Ct da reprodutibilidade interlote (em três lotes) são apresentados na tabela abaixo.

**Table 23 Teste de reprodutibilidade inter-lote - resultados de Ct (seis dias / três lote)**

Amostra	Alvo	N	ELITE BeGenius				ELITE InGenius			
			Ct médio	SD	%CV	% Concordância	Ct médio	SD	%CV	% Concordância
Neg	HPV16-31	36	-	-	-	100%	-	-	-	100%
16+18 3xLdD		36	32,88	0,55	1,68	100%	32,24	0,46	1,44	100%
33+35 3xLdD		36	-	-	-	100%	-	-	-	100%
10xLoD		36	30,81	0,52	1,68	100%	30,22	0,54	1,79	100%
Neg	HPV18-45	36	-	-	-	100%	-	-	-	100%
16+18 3xLdD		36	35,30	0,64	1,82	100%	33,39	0,41	1,24	100%
33+35 3xLdD		36	-	-	-	100%	-	-	-	100%
10xLoD		36	33,92	0,69	2,04	100%	31,94	0,48	1,51	100%

**Table 23 Teste de reprodutibilidade inter-lote - resultados de Ct (seis dias / três lote)  
(continued)**

Amostra	Alvo	N	ELITE BeGenius				ELITE InGenius			
			Ct médio	SD	%CV	% Concordância	Ct médio	SD	%CV	%Concordância
Neg	HPV-HR1	36	-	-	-	100%	-	-	-	100%
16+18 3xLdD		36	-	-	-	100%	-	-	-	100%
33+35 3xLdD		36	33,55	0,74	2,21	100%	32,49	0,67	2,08	100%
10xLoD		36	31,01	0,54	1,74	100%	30,12	0,33	1,10	100%
Neg	HPV-HR2	36	-	-	-	100%	-	-	-	100%
16+18 3xLdD		36	-	-	-	100%	-	-	-	100%
33+35 3xLdD		36	33,07	0,49	1,47	100%	32,71	0,33	1,02	100%
10xLoD		36	31,18	0,36	1,15	100%	30,97	0,21	0,66	100%

Os resultados de reprodutibilidade inter-instrumento (em três instrumentos) são apresentados na tabela abaixo.

**Table 24 Teste de reprodutibilidade inter-instrumento - Resultados de Ct (seis dias / três lotes / três instrumentos)**

Amostra	Alvo	N	ELITE BeGenius				ELITE InGenius			
			Ct médio	SD	%CV	% Concordância	Ct médio	SD	%CV	%Concordância
Neg	HPV16-31	36	-	-	-	100%	-	-	-	100%
16+18 3xLdD		36	32,47	0,46	1,42	100%	31,67	0,87	2,74	100%
33+35 3xLdD		36	-	-	-	100%	-	-	-	100%
10xLoD		36	30,35	0,45	1,50	100%	29,64	0,71	2,40	100%
Neg	HPV18-45	36	-	-	-	100%	-	-	-	100%
16+18 3xLdD		36	34,37	0,45	1,30	100%	33,21	0,42	1,28	100%
33+35 3xLdD		36	-	-	-	100%	-	-	-	100%
10xLoD		36	33,06	0,46	1,38	100%	31,80	0,37	1,18	100%

**Table 24 Teste de reprodutibilidade inter-instrumento - Resultados de Ct (seis dias / três lotes / três instrumentos) (continued)**

Amostra	Alvo	N	ELITe BeGenius				ELITe InGenius			
			Ct médio	SD	%CV	% Concordância	Ct médio	SD	%CV	%Concordância
Neg	HPV-HR1	36	-	-	-	100%	-	-	-	100%
16+18 3xLdD		36	-	-	-	100%	-	-	-	100%
33+35 3xLdD		36	32,90	0,39	1,18	100%	32,73	0,41	1,26	100%
10xLoD		36	30,35	0,25	0,83	100%	30,09	0,30	1,01	100%
Neg	HPV-HR2	36	-	-	-	100%	-	-	-	100%
16+18 3xLdD		36	-	-	-	100%	-	-	-	100%
33+35 3xLdD		36	32,82	0,32	0,98	100%	32,72	0,25	0,76	100%
10xLoD		36	30,85	0,27	0,88	100%	30,79	0,24	0,77	100%

No teste de reprodutibilidade, o HPV PLUS ELITe MGB Kit detetou todas as amostras conforme esperado e apresentou uma variabilidade máxima dos valores de Ct do alvo como %CV equivalente a 2,74% (e uma variabilidade máxima dos valores de Tm do alvo como %Cv equivalente a 0,41%).

### 11.10 Contaminação cruzada

A possível contaminação cruzada durante a análise foi avaliada para o ensaio através do teste de 60 réplicas de um universo de amostras cervicais negativas colhidas em ThinPrep alternadas para 60 réplicas do mesmo universo reforçadas com ADN do plasmídeo pHPV16 (EG SpA) a uma concentração de  $\sim 1 \times 10^7$  cópias/mL em 5 sessões.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

**Table 25 Resultados do teste de contaminação cruzada no ELITe BeGenius**

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

Não foi detetada contaminação cruzada intra-sessão ou inter-sessão com o HPV PLUS ELITe MGB Kit.

### 11.11 Falha de todo o sistema

A taxa total de falha do sistema para o ensaio foi avaliada através do teste de um painel de 100 amostras cervicais negativas colhidas em ThinPrep com 3 vezes o LdD com um Standard Internacional da OMS de HPV16 (NIBSC).

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

**Table 26 Resultados de teste de falha total do sistema no ELITe BeGenius**

Amostras	N	Positivo	Negativo	Taxa de falha geral do sistema
Amostras cervicais reforçadas a 3 vezes o LdD	100	100	0	0%

Nenhuma das amostras positivas para HPV16 testadas deu resultados falsos negativos usando o HPV PLUS ELITe MGB Kit. A taxa de falha de todo o sistema foi igual a 0%.

### 11.12 Desempenhos clínicos

Os desempenhos clínicos, tendo em conta a Sensibilidade de Diagnóstico e a Especificidade de Diagnóstico, foram avaliados através da análise de amostras cervicais humanas colocadas em fixador à base de álcool para citologia em associação com o ELITe BeGenius.

Dado que o ELITe InGenius tem desempenhos analíticos equivalentes ao ELITe BeGenius, os desempenhos clínicos do ensaio realizados nos dois instrumentos também foram considerados equivalentes. Por conseguinte, os desempenhos clínicos do ensaio obtido em associação com o ELITe BeGenius também se aplicam ao ELITe InGenius.

As amostras clínicas usadas no estudo eram de mulheres com idades entre 17 e 89 anos com uma citologia cervical anterior ou resultados de teste molecular positivo para HPV. As amostras foram certificadas negativas ou positivas com um método de referência validado por um laboratório de referência de HPV.

Os desempenhos clínicos, como método de referência, foram avaliados pelo valor kappa de Cohen e os resultados, para cada canal de HR-HPV, estão resumidos nas tabelas a seguir.

**Table 27 Desempenhos clínicos de HPV16–31**

		Método de referência			AUC	Kappa de Cohen
		Positivo	Negativo	Total		
HPV PLUS ELITe MGB Kit	Positivo	56	0	56	98,4%	0,967
	Negativo	2	65	67		
	Total	58	65	123		

**Table 28 Desempenhos clínicos de HPV HR2**

		Método de referência			AUC	Kappa de Cohen
		Positivo	Negativo	Total		
HPV PLUS ELITe MGB Kit	Positivo	54	3	57	94,2%	0,885
	Negativo	4	59	63		
	Total	58	62	120		

**Table 29 Desempenhos clínicos de HPV HR1**

		Método de referência			AUC	Kappa de Cohen
		Positivo	Negativo	Total		
HPV PLUS ELITe MGB Kit	Positivo	49	0	49	96,6%	0,931
	Negativo	4	65	69		
	Total	53	65	118		

**Table 30 Desempenhos clínicos de HPV18–45**

		Método de referência			AUC	Kappa de Cohen
		Positivo	Negativo	Total		
HPV PLUS ELITe MGB Kit	Positivo	53	1	54	97,5%	0,950
	Negativo	2	64	66		
	Total	55	65	120		

Nesta análise, o HPV PLUS ELITe MGB Kit gerou uma área abaixo da curva (AUC) e um valor Kappa de Cohen correspondendo a uma concordância quase perfeita com os resultados obtidos com o método de referência para todos os canais HR-HPV.

## 12 REFERÊNCIAS

- K. Linnet et al. (2004) *Clin. Chem.* 50: 732 - 740.
- E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e30.
- G. Anderson and M. Scott (1991) *Clin. Chem.* 37: 398 – 402.
- A. Marrone and J. Ballantyne (2010) *Forensic Sci. Intern. Genetics* 4: 168 – 177.
- A. Pal and R. Kundu (2020) *Front. Microbiol.* 10: 3116
- J. Rotondo and F. Martini (2020) *Front. Microbiol.* 11: 591452.
- N. Muñoz et al. (2003) *The New England Journal of Medicine* 348: 518 – 527.
- C. J. L. M. Meijer et al. (2009) *Int J Cancer* 124: 516 – 520.
- IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans (2012). Volume 100 B.

## 13 LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Use este produto apenas com as seguintes amostras clínicas: amostra cervical colocada em fixador à base de álcool para citologia (ThinPrep ou Surepath).

Atualmente, não existem dados disponíveis relativos ao desempenho do produto com outras amostras clínicas ou outros dispositivos de colheita.

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 controles positivos e dos produtos de PCR. A contaminação cruzada causa resultados falsos positivos. O formato do produto foi concebido para limitar a contaminação cruzada. No entanto, as contaminações cruzadas podem ser evitadas simplesmente através de boas práticas laboratoriais e do cumprimento destas instruções de utilização.

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

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

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

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

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

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

No caso de co-infecções, 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 visado pelos primers e sondas de produto podem prejudicar a detecção do ADN do alvo.

A reatividade cruzada é observada com o HPV53 e o HPV82, dois genótipos de HPV possivelmente carcinogénicos (Grupo 2B) não incluídos na utilização prevista do produto (ver [11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO page 19](#)).

Observa-se uma inibição parcial com o HPV67 e o HPV82, dois genótipos de HPV possivelmente carcinogénicos (Grupo 2B) não incluídos na utilização prevista do produto (ver [11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO page 19](#)).

A inibição foi observada com hidratante vaginal a alta concentração (> 1% p/v, ver [11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO page 19](#)).

Este produto não foi validado de acordo com as orientações de rastreio de ADN de HPV de Meijer.

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 31**

Reação de Positive Control inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da PCR Mix e do Positive Control (Controlo positivo). Verifique os volumes da PCR Mix e do Positive Control.
Degradação da PCR Mix.	Não use a PCR Mix durante mais de 7 sessões independentes (cerca de 3 horas cada no bloco de refrigeração da Inventory Area (área dos reagentes) ou na Cooler Unit). Não utilize a PCR Mix durante mais de 3 sessões consecutivas (7 horas no bloco de refrigeração da Inventory Area (área dos reagentes) ou na Cooler Unit). Não deixe a PCR Mix à temperatura ambiente durante mais do que 30 minutos. Utilize uma nova alíquota da PCR Mix.

**Table 31 (continued)**

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

**Table 32**

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

**Table 33**

<b>Reação da amostra inválida</b>	
<b>Causas possíveis</b>	<b>Soluções</b>
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da PCR Mix, do Controlo Interno e da amostra. Verifique os volumes da PCR Mix, do Controlo Interno e da amostra.
Degradação da PCR Mix.	Não use a PCR Mix para mais de 7 sessões independentes (cerca de 3 horas cada na Inventory Area (área dos reagentes) ou na Cooler Unit). Não utilize a PCR Mix durante mais de 3 sessões consecutivas (7 horas no bloco de refrigeração da Inventory Area (área dos reagentes) ou na Cooler Unit). Não deixe a PCR Mix à temperatura ambiente durante mais do que 30 minutos. Prepare uma nova alíquota da PCR Mix.
Inibição devido a substâncias interferentes na amostra.	Repita a amplificação com uma diluição de 1:2 em água de qualidade para biologia molecular de amostra eluída numa sessão "PCR only". Repita a extração com uma diluição 1:2 em água de grau de biologia molecular da amostra numa sessão "Extract + PCR" (Extrair + PCR).
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

**Table 34**

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

**Table 35**

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

**Table 36**

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

## 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 de dispositivo



Contém suficiente para "N" testes.



Atenção, consulte 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 doente se encontram localizados. No momento da revisão atual das IDU, não ocorreu nenhum incidente grave ou recolha de segurança com impacto no desempenho do produto e na segurança do dispositivo.

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

## 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](mailto:outlicensing@thermofisher.com).

Os reagentes de deteção ELITe MGB® são abrangidos por um ou mais dos números de patente dos EUA 7319022, 7348146, 7381818, 7541454, 7671218, 7718374, 7723038, 7759126, 7767834, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529 e números de patente EP 1687609, 1781675, 1789587, 2689031, 2714939, 2736916, 2997161 bem como candidaturas 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.  
ThinPrep® Pap Test PreservCyt® é uma marca comercial registada da Hologic Inc.; BD SurePath™ é uma marca comercial registada da Becton, Dickinson and Company.

## Appendix A HPV PLUS ELITE MGB Kit usado em associação com as plataformas Genius series®



### CAUTION

Este documento é uma versão simplificada das instruções de utilização oficiais. Consulte o documento completo antes da utilização em [www.elitechgroup.com](http://www.elitechgroup.com).

### UTILIZAÇÃO PREVISTA

O produto **HPV PLUS Elite MGB Kit®** é um dispositivo médico de diagnóstico in vitro destinado a ser usado por profissionais de saúde como um ensaio de PCR em tempo real de ácidos nucleicos multiplexado qualitativos para a detecção e a identificação do **ADN genômico dos tipos de alto risco do Vírus do Papiloma Humano 14**, conforme se segue: detecção e tipagem do HPV de alto risco 16, 18, 31, 45, detecção do grupo HPV HR1 de alto risco (33, 52, 58) e detecção do grupo HPV HR2 de alto risco, tipos não vacinais, (35, 39, 51, 56, 59, 66 e 68), extraídos de amostras clínicas.

O ensaio é validado em associação com os instrumentos **ELITE InGenius®** e **ELITE BeGenius®**, automatizados e integrados para extração, PCR em tempo real e interpretação de resultados, utilizando amostras cervicais humanas colocadas em fixador à base de álcool para citologia.

O produto está previsto para utilização como auxiliar no diagnóstico de infecções por HPV, em pacientes com citologia cervical ou resultados de teste positivos para o HPV molecular. Os resultados devem ser interpretados em conjunto com todas as observações clínicas e resultados laboratoriais relevantes.

### Sequência amplificada

Sequência	Gene	Fluoróforo	Canal
Alvo 1	E6/E7	FAM	HPV16-31
Alvo 2	E6/E7	AP690	HPV18-45
Alvo 3	E6/E7	AP639	HPV HR1
Alvo 4	E6/E7	AP593	HPV HR2
Controlo Interno	betaglobina	AP525	CI

### Matriz validada

Amostra cervical para citologia líquida, colhida em Solução in ThinPrep® Pap Test PreservCyt® (Hologic, Inc.)

Amostra cervical para citologia líquida, colhida em frasco de colheita de 10 mL SurePath™ (Becton, Dickinson and C.)

## Conteúdo do Kit e produtos relacionados

HPV PLUS ELITE MGB Kit Kit (RTS402ING)		HPV PLUS - ELITE Positive Control (CTR402ING)	
 X 8		 X 3	
HPV PLUS PCR Mix 8 tubos de 280 µL 12 reações por tubo 96 reações por kit 7 ciclos de congelação-descongelação por tubo		Controlo positivo HPV PLUS 3 tubos de 160 µL 4 reações por tubo 12 reações por kit 4 ciclos de congelação-descongelação	
Prazo de conservação máximo:	<b>24 meses</b>	Prazo de conservação máximo	<b>24 meses</b>
Temperatura de armazenamento	<b>≤ -20°C</b>	Temperatura de armazenamento	<b>≤ -20°C</b>

## Outros produtos necessários não fornecidos no kit

<ul style="list-style-type: none"> <li>› Instrumento ELITE InGenius: INT030.</li> <li>› Instrumento ELITE BeGenius: INT040.</li> <li>› ELITE InGenius SP 200: INT032SP200.</li> <li>› Conjunto de consumíveis ELITE InGenius SP200: INT032CS.</li> <li>› ELITE InGenius PCR Cassette: INT035PCR.</li> <li>› ELITE InGenius Waste Box: F2102-000.</li> <li>› Pontas de filtro Axigen de 300 µL: TF-350-L-R-S.</li> <li>› Pontas de filtro Tecan de 1000 µL: 30180118.</li> </ul>	Solução <b>ThinPrep® Pap Test PreservCyt®</b> (Hologic, Inc., código 70098-002, 20 mL de Solução PreservCyt®). Frasco de colheita de 10 mL <b>BD SurePath™</b> (Becton, Dickinson and Company, códigos 491439 / 491438 / 491440, 10 mL de líquido conservante SurePath®).
---	--

## Protocolo ELITE InGenius e ELITE BeGenius

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

## Desempenhos ELITE InGenius e ELITE BeGenius

Matriz	Alvo	Desempenhos clínicos	
		AUC	Kappa de Cohen
Amostras cervicais para citologia líquida	HPV16-31	98,4%	0,967
	HPV HR2	94,2%	0,885
	HPV HR1	96,6%	0,931
	HPV18-45	97,5%	0,950

Matriz	Alvo	Limite de detecção
Amostras cervicais colhidas em ThinPrep e SurePath no ELITE BeGenius e ELITE InGenius	HPV16	1.700 (IU / mL)
	HPV18	1.700 (IU / mL)
	HPV31	1.700 (IU / mL)
	HPV33	2.000 (IU / mL)
	HPV45	1.700 (IU / mL)
	HPV35	1.700 (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.

Tipo de amostra	Requisitos de colheita	Condições de transporte/armazenamento			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Amostras cervicais para citologia líquida	Solução ThinPrep® Pap Test PreservCyt® (Hologic, Inc.)	≤ 6 meses	≤ 6 meses	NR	NR
	Frasco de colheita de 10 mL BD SurePath™ (Becton, Dickinson and C.)	≤ 3 meses	≤ 6 meses	NR	NR

NR: não recomendado

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

**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: HPV PLUS ELITE_Cyt_Sense_200_100.	5. Selecione o método "Extract + PCR" (Extrair+PCR) e a posição da amostra: Extraction Tube (Tubo de extração)	6. Carregue a PCR Mix no Inventory Block (Gestor do reagente)
7. Carregue as PCR Cassettes, os cartuchos de extração ELITE InGenius SP 200 e todos os consumíveis e amostras necessários para serem extraídos	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: HPV PLUS ELITE_Cyt_Sense_200_100, HPV PLUS ELITE_PC ou HPV PLUS ELITE_NC	5. Selecione o método "PCR Only" (Apenas PCR) e a posição da amostra "Elution Tube" (Tubo de eluição)	6. Carregue a PCR Mix no Inventory Block (Gestor do reagente)
7. Carregar: 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

**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, PCR em tempo real e a interpretação dos resultados são realizados automaticamente. Estão disponíveis dois modos operacionais: execução completa (Extract + PCR (Extrair+PCR)) ou PCR Only (Apenas PCR).

**Antes da análise**

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

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

1. Selecione "Perform Run" (Executar) no ecrã tátil e, a seguir, clique no modo de execução "Extract + PCR" (Extrair +PCR)	2. Insira o rack de amostras com as amostras com código de barras na Cooler Unit. A leitura do código de barras já se encontra ativada	3. Verifique os volumes de extração: Entrada: "200 µL", eluato: "100 µL"
4. Selecione o "Assay protocol" (Protocolo de ensaio) de interesse: HPV PLUS ELITe_Be_Cyt_Sense_200_100 <u>Nota:</u> se for realizada uma segunda extração, repita os passos 2 a 4	5. Imprima as etiquetas para colocar um código de barras nos tubos de eluição vazios. Carregue os tubos no Elution Rack (rack de eluição) e insira-o na Cooler Unit	6. Carregue a PCR Mix no rack de reagente/eluição e insira-o na Cooler Unit
7. Carregue o "PCR Rack" com "PCR Cassette" e o "Extraction Rack" (rack de extração) com os cartuchos de extração "ELITe InGenius SP 200" e os consumíveis de extração necessários	8. Feche a porta. Iniciar a execução	9. Visualize, aprove e guarde os resultados

**NOTE**

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

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

1. Selecione "Perform Run" (Executar) no ecrã tátil e, a seguir, clique no modo de execução "PCR Only" (Apenas PCR)	2. Carregue os tubos com código de barras do ácido nucleico extraído ou dos controlos no rack de eluição e insira-o na Cooler Unit.	3. Verifique os volumes de extração: Entrada: "200 µL", eluato: "100 µL"
4. Selecione o "Assay protocol" (Protocolo de ensaio) de interesse: HPV PLUS ELITe_Be_Cyt_Sense_200_100, HPV PLUS ELITe_Be_PC ou HPV PLUS ELITe_Be_NC.	5. Carregue a PCR Mix no rack de reagente/eluição e insira-o na Cooler Unit	6. Carregue o "PCR Rack" com "PCR Cassette"
7. Feche a porta. Iniciar a execução	8. Visualize, aprove e guarde os resultados	

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

