



ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185
10149 Torino ITALY

Offices: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76 11
E. mail: emd.support@elitechgroup.com
WEB site: www.elitechgroup.com

NOTICE of CHANGE dated 14/03/19

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«Meningitis Viral ELITe MGB[®] Panel» Ref. RTS507ING

This new revision of the Instruction for Use (IFU) contains the following changes:

- *Modification of the indication of the number of reactions to be prepared in excess during preparation of the complete reaction mixture MV PCR Mix.*

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

PLEASE NOTE



LA REVISIONE DI QUESTO IFU E' COMPATIBILE ANCHE CON LA VERSIONE PRECEDENTE DEL KIT



THE REVIEW OF THIS IFU IS ALSO COMPATIBLE WITH THE PREVIOUS VERSION OF THE KIT



CET IFU MIS A JOUR ANNULE ET REMPLACE ET EST PARFAITEMENT COMPATIBLE AVEC LA VERSION PRECEDENTE DU KIT



LA REVISIÓN DE ESTE IFU ES COMPATIBLE TAMBIÉN CON LA VERSIÓN ANTERIOR DEL KIT



A REVISÃO DO ESTE IFU ÉTAMBÉM COMPATÍVEL COM A VERSÃO ANTERIOR DO KIT



DIE REVIEW VON DIESER IFU IST KOMPATIBLE MIT DER VORIGE VERSION VON DEM TEST-KIT



Meningitis Viral ELITE MGB® Panel

reagente para amplificação em tempo real do ADN

REF RTS507ING



ÍNDICE

UTILIZAÇÃO PREVISTA	página 1
PRINCÍPIOS DO ENSAIO	página 2
DESCRIÇÃO DO PRODUTO	página 2
MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO	página 3
MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO	página 3
OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS	página 3
AVISOS E PRECAUÇÕES	página 4
AMOSTRAS E CONTROLOS	página 5
PROCEDIMENTO	página 6
CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO	página 13
LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO	página 17
RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS	página 18
SÍMBOLOS	página 19
NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA	página 20

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O produto «Meningitis Viral ELITE MGB® Panel» faz parte de um ensaio multiplexado qualitativo de amplificação de ácidos nucleicos para a deteção de ADN do gene específico do vírus herpes simplex 1 e 2 (HSV1 e HSV2) e do vírus varicella zoster (VZV) em amostras de líquido cefalorraquidiano (LCR).

O produto está previsto para utilização no diagnóstico de infeções com o vírus herpes simplex 1 e 2 e o vírus varicella zoster em conjunto com os dados clínicos dos pacientes e outros resultados de testes laboratoriais.

Meningitis Viral ELITE MGB® Panel
reagente para amplificação em tempo real do
ADN

REF RTS507ING

PRINCÍPIOS DO ENSAIO

O ensaio consiste numa reação multiplex de amplificação em tempo real com um sistema automático integrado para extração, amplificação em tempo real e interpretação de resultados.

A partir do ADN extraído das amostras a serem testadas, são executadas no cartucho três reações de amplificação específicas para os seguintes vírus:

- vírus herpes simplex 1 detetado por uma sonda específica revelado no canal do ELITE InGenius "HSV1"
- vírus herpes simplex 2 detetado por uma sonda específica revelado no canal do ELITE InGenius "HSV2"
- vírus varicella zoster detetado por uma sonda específica revelado no ELITE InGenius canal "VZV"

Para além disso, o Controlo Interno (CI) da extração e inibição também é amplificado no cartucho. O Controlo Interno baseia-se num alvo exógeno (sequências de mCMV, citomegalovírus de murino) e detetado por uma sonda específica revelado no canal de "CI" do ELITE InGenius.

As sondas com tecnologia MGB® TaqMan™ são ativadas quando são hibridizadas com o produto específico da reação de amplificação e são hidrolisadas pela enzima termoestável de polimerase de ADN. À medida que o produto específico da reação de amplificação aumenta, a emissão de fluorescência aumenta e é medida e registada pelo instrumento. O processamento de dados permite a deteção do ADN viral listado acima na amostra inicial.

O ensaio foi validado com o ELITE InGenius®, sistema integrado automático para extração, amplificação e deteção de ácidos nucleicos.

DESCRIÇÃO DO PRODUTO

O produto «Meningitis Viral ELITE MGB®» fornece os seguintes componentes:

- **Primário MV e mistura da sonda**

Uma mistura de oligonucleóticos primários para amplificação em tempo real, numa solução de estabilização, aliqüotadas em dois tubos de teste (tampa VIOLETA). Cada tubo contém **90 µL** de solução, suficiente para **48 testes** em associação com o ELITE InGenius aquando da realização de uma série de reações correspondentes a múltiplos de 4 e com um máximo de 8 sessões.

- **Mistura tampão MV**

Uma mistura otimizada e estabilizada de reagentes para amplificação em tempo real aliqüotada em dois tubos de teste (tampa LARANJA). Cada tubo contém **750 µL** de solução, suficiente para **48 testes** em associação com o ELITE InGenius aquando da realização de uma série de reações correspondentes a múltiplos de 4 e com um máximo de 8 sessões.

- **Enzima MV**

Uma mistura otimizada e estabilizada de enzimas para amplificação em tempo real, pré-aliqüotada em dois tubos de teste (tampa AMARELA). Cada tubo contém **60 µL** de solução, suficiente para **48 testes** em associação com o ELITE InGenius aquando da realização de uma série de reações correspondentes a múltiplos de 4 e com um máximo de 8 sessões.

O produto é suficiente para **96 testes em associação com o ELITE InGenius**, incluindo controlos.

MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO

Componente	Descrição	Quantidade	Classificação dos perigos
MV primer and probe mix	mistura de primer/sonda para HSV1, HSV2, VZV e CI (mCMV) (tampa VIOLETA)	2 x 90 µL	-
MV buffer mix	Mistura de tampão RT-PCR (tampa LARANJA)	2 x 750 µL	-
MV enzyme	enzima RT-PCR (tampa AMARELA)	2 x 60 µL	-

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 (12.000 - 14.000 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).
- Água de grau de biologia molecular.
- Tubo Sarstedt de 2,0 mL contornado e de tampa de rosca (Sarstedt Ref. 72.694.005).

OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS

Os reagentes para extração do ADN das amostras a serem analisadas, o Internal Control da extração, o Positivo Control da amplificação e os consumíveis **não** estão incluídos neste produto.

Para a extração de ADN automática, amplificação em tempo real e interpretação dos resultados das amostras a serem analisadas, é necessário o instrumento «**ELiTe InGenius**» (ELiTechGroup S.p.A., ref. INT030) e os seguintes protocolos de Ensaio específicos:

- parâmetros para o controlo positivo da amplificação «**MV ELiTe_PC**» (ELiTechGroup S.p.A.),
- parâmetros para o controlo negativo da amplificação «**MV ELiTe_NC**» (ELiTechGroup S.p.A.),
- parâmetros para amostras a serem analisadas «**MV ELiTe_CSF_200_100**» (ELiTechGroup S.p.A.).

Para análise de amostras automática com o instrumento «**ELiTe InGenius**» (ELiTechGroup S.p.A., ref. INT030) são necessários os seguintes produtos genéricos:

- cartuchos de extração «**ELiTe InGenius® SP 200**» (ELiTechGroup S.p.A., ref. INT032SP200),
- consumíveis para extração e amplificação «**ELiTe InGenius® SP 200 Consumable Set**» (ELiTechGroup S.p.A., ref. INT032CS),
- cartuchos de amplificação «**ELiTe InGenius® PCR Cassette**» (ELiTechGroup S.p.A., ref. INT035PCR),
- pontas «Pontas de filtro universais de 300 µL» (Axygen BioScience Inc., CA, EUA, ref. TF-350-L-R-S),
- caixas «**ELiTe InGenius® Waste Box**» (ELiTechGroup S.p.A., ref. F2102-000).

Como modelo do controlo interno de extração e inibição, é necessário o produto genérico «**500-Internal Control**» (ELiTechGroup S.p.A., ref. IC500). É baseado no citomegalovírus do murino (mCMV).

Como modelo de positivo control da amplificação, é necessário o produto específico «**Meningitis Viral-ELiTe Positive Control**» (ELiTechGroup S.p.A., ref. CTR507ING). Esta é uma solução estabilizada de ADNs plasmídeos.

AVISOS E PRECAUÇÕES

Este produto foi concebido exclusivamente para utilização *in vitro*.

Avisos e precauções gerais

Manuseie e elimine todas as amostras biológicas como se fossem capazes de transmitir agentes infecciosos. Evite o contacto direto com as amostras biológicas. Evite salpicos ou vaporizações. Os materiais que entrarem em contacto com as amostras biológicas devem ser tratados durante, pelo menos, 30 minutos com 3% de hipoclorito de sódio 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 capazes de transmitir agentes 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 desperdícios líquidos que contenham ácidos ou bases devem ser neutralizados antes da eliminação.

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 com o produto 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.

Avisos e precauções para biologia molecular

Os procedimentos de biologia molecular requerem colaboradores qualificados e com formação, para evitar o risco de resultados incorretos, especialmente devido à degradação de ácidos nucleicos contidos nas amostras ou à contaminação da amostra por produtos de amplificação.

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

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

As PCR Cassettes devem ser manuseadas de modo a reduzir, tanto quanto possível, a difusão do produto de amplificação para o ambiente, para evitar a contaminação da amostra e do reagente.

Avisos e precauções específicos para os componentes

• **Primário MV e mistura da sonda**

O primário MV e a sonda devem ser guardadas a -20 °C num local escuro.

O primer e a sonda de MV podem ser congelados e descongelados um máximo de **oito vezes**: quaisquer ciclos de congelação/descongelação adicionais podem causar um menor desempenho do produto.

• **Enzima MV**

A enzima de MV deve ser guardada a -20 °C.

A enzima MV não deve ser exposta a temperaturas superiores a -20 °C durante mais de 10 minutos. É recomendado manter em gelo ou no bloco de refrigeração. Pode ser usada para um máximo de **oito sessões**.

Meningitis Viral ELITE MGB® Panel
reagente para amplificação em tempo real do
ADN

REF RTS507ING

• **Mistura tampão MV**

O tampão MV deve ser guardado a -20 °C.

O tampão MV pode ser congelado e descongelado para um máximo de **oito** vezes: quaisquer ciclos de congelamento/descongelamento adicionais podem causar um menor desempenho do produto.

AMOSTRAS E CONTROLOS

Amostras

Este produto deve ser utilizado com as seguintes amostras clínicas:

Líquido cefalorraquidiano (LCR)

As amostras de líquido cefalorraquidiano para extração de ácido nucleico devem ser colhidas de acordo com as diretrizes laboratoriais evitando a contaminação pelo sangue do doente, transportadas a +2°/+8 °C durante um período máximo de quatro horas, caso contrário, devem ser congeladas e guardadas a -20 °C durante um período máximo de trinta dias ou a -70 °C para períodos mais longos.

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

Nota: quando a extração de ADN de LCR é realizada com o **ELITE InGenius** e o **ELITE InGenius® Software** versão 1.1 (ou versões posteriores), use o protocolo de ensaio **MV ELITE_CSF_200_100**. Este protocolo processa 200 µL da amostra, adiciona o **500-Internal Control** a 10 µL/extração e elui os ácidos nucleicos em 100 µL.

Controlos de amplificação

Antes da análise de qualquer amostra, é absolutamente obrigatório criar e aprovar os controlos de amplificação para o lote do reagente de amplificação que será usado nos testes:

como positive control da amplificação, utilize o produto **Meningitis Viral-ELITE Positive Control** (não fornecido com este kit) em associação com o protocolo **MV ELITE_PC**, como Controlo de amplificação Negativo, utilize água de qualidade molecular (não fornecida com este kit) em associação com o protocolo **MV ELITE_NC**.

Nota: O sistema **ELITE InGenius** requer resultados aprovados e válidos dos controlos da amplificação para cada lote de reagente de amplificação guardado na respetiva base de dados.

Os resultados do controlo da amplificação, aprovados e guardados na base de dados, irão expirar após **15 dias**. Na data de fim da validade será necessário fazer uma nova execução dos Positive e Negative Controls em associação com o lote do reagente de amplificação.

Para além disso, os controlos da amplificação devem ser novamente executados quando:

- for iniciado um novo lote de reagentes de amplificação,
- os resultados da análise de controlo da qualidade (ver o parágrafo seguinte) se encontrarem fora da especificação,

- for realizado qualquer serviço de manutenção significativo no instrumento **ELITE InGenius**.

Controlos da qualidade

Recomenda-se a validação periódica de todo o procedimento de análise, extração e amplificação, testando como controlos do processo uma amostra testada negativa e uma amostra testada positiva ou material de referência.

Meningitis Viral ELITE MGB® Panel
reagente para amplificação em tempo real do
ADN

REF RTS507ING

PROCEDIMENTO

O procedimento para utilização do **Meningitis Viral ELITE MGB® Panel** com o sistema **ELITE InGenius** consiste em três passos:

- verificação da prontidão do sistema,
- preparação da sessão,
- revisão e aprovação de resultados.

Verificação da prontidão do sistema

Antes de iniciar a sessão, e através da consulta da documentação do instrumento, é necessário:

- ligar o **ELITE InGenius** e selecionar o modo de início de sessão "**CLOSED**" (Fechado),
- certificar-se de que os controlos da amplificação (Controlos, Controlo positivo MV, Controlo negativo MV) são executados, aprovados e não estão expirados (Estado) em associação com o lote do reagente de amplificação a ser usado. Se não existirem controlos da amplificação aprovados ou válidos, execute-os como descrito nos parágrafos seguintes,
- escolher o tipo de execução, seguindo as instruções na Interface Gráfica do Utilizador (GUI) para a preparação da sessão e utilizando os Assay Protocols (Protocolo de Ensaio) fornecidos pela ELITechGroup S.p.A. Estes protocolos IVD foram especificamente validados com os kits ELITE MGB®, o instrumento **ELITE InGenius** e a matriz citada. O Protocolo de ensaio disponível para teste da amostra com o produto **Meningitis Viral ELITE MGB® Panel** está descrito na tabela seguinte

Protocolo de ensaio para o Meningitis Viral ELITE MGB® Panel			
Nome	Matriz	Relatório	Características
MV ELITE_CSF_200_100	líquido cefalorraquidiano (LCR)	Positivo/Negativo	Volume inicial de extração: 200 µL Volume de eluição da extração: 100 µL Internal Control: 10 µL Sonicção: NÃO Fator de diluição: 1 Volume de PCR Mix: 15 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 10 µL

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

Preparação da sessão

O produto **Meningitis Viral ELITE MGB® Panel** pode ser usado com o sistema **ELITE InGenius** para realizar:

- Execução integrada (Extract + PCR) (Extrair + PCR),
- Execução de amplificação (PCR Only) (Apenas PCR),
- Execução de Controlo positivo e negativo da amplificação (Apenas PCR),

Todos os parâmetros necessários para a sessão estão incluídos no Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) disponível no instrumento e são automaticamente recuperados quando o Protocolo de ensaio é selecionado.

Nota: o sistema **ELITE InGenius** pode ser ligado ao "Location Information Server" (Servidor de informação da localização - LIS) através do qual é possível enviar a informação da sessão de trabalho. Consulte o manual de utilizador do instrumento para obter mais informações.

Estão descritos a seguir os passos principais para a preparação dos três tipos de execução.

A. Execução integrada

Antes de iniciar a sessão, é importante fazer o seguinte:

1. Retire e descongele à temperatura ambiente (+18/ 25 °C) os tubos de teste que contêm as amostras a serem analisadas. Misture por meio de vórtice durante 10 segundos, centrifugue os tubos durante 5 segundos para levar o conteúdo para o fundo e mantenha em gelo,
2. Remova e descongele durante 30 minutos à temperatura ambiente (+18/25 °C) o primário MV e os tubos de teste de mistura da sonda (tampa VIOLETA) necessários para a sessão, lembrando-se que o conteúdo de cada tubo de teste é suficiente para 48 reações. Misture por meio de vórtice durante 10 segundos três vezes, centrifugue os tubos durante 5 segundos para levar o conteúdo para o fundo e mantenha em gelo,
3. Remova e descongele durante 30 minutos à temperatura ambiente (+18/25 °C) os tubos de teste da mistura tampão MV (tampa LARANJA) necessários para a sessão, lembrando-se que o conteúdo de cada tubo de teste é suficiente para preparar 48 reações. Misture por meio de vórtice durante 10 segundos três vezes, centrifugue os tubos durante 5 segundos para levar o conteúdo para o fundo e mantenha em gelo,
4. Quando necessário, remova os tubos de teste da enzima MV (tampa AMARELA) necessários para a sessão, lembrando-se que o conteúdo de cada tubo de teste é suficiente para preparar 48 reações. Agite suavemente os tubos, centrifugue durante 5 segundos para levar o conteúdo para o fundo e mantenha em gelo,

Nota: A enzima MV não deve ser exposta a temperaturas superiores a -20 °C durante mais de 10 minutos. Após descongelar, é recomendado guardar em gelo ou no bloco de refrigeração

5. Prepare um tubo de 2 mL (não fornecido com o kit) para a mistura de reação completa MV PCR Mix e marque de uma forma reconhecível com um marcador permanente,
6. Calcule os volumes dos três componentes fornecidos por kit que são necessários para a preparação da mistura de reação completa Mistura MV PCR com base no número de amostras a serem analisadas, tal como descrito na tabela seguinte.

Nota: Para calcular os volumes dos três componentes é necessário definir o número de reações (N) da sessão através da contagem do número de amostras a serem testadas mais uma reação (aquando da análise de 1 a 4 amostras), duas reações (aquando da análise de 5 a 8 amostras) ou três reações (aquando da análise de 9 a 12 amostras) como margem de segurança.

Número de reações	Primário MV e mistura da sonda	Mistura tampão MV	Enzima MV
1	1,5 µL	12,5 µL	1 µL
N	N x 1,5 µL	N x 12,5 µL	N x 1 µL

7. Prepare a mistura de reação completa **Mistura MV PCR** adicionando ao tubo exclusivo os volumes calculados dos três componentes.

Nota: Prepare a mistura de reação completa imediatamente antes de carregar a mesma no instrumento.

Nota: A mistura de reação completa **não pode** ser guardada, mantém-se estável durante 3 execuções consecutivas se carregada no instrumento (Inventory Area), mas é importante misturar a mesma entre cada execução.

Nota: Não mergulhe a totalidade da ponta no líquido quando estiver a pipetar, para evitar o desperdício de material e obter volumes exatos; o ato de pipetar deve ser realizado muito lentamente para evitar bolhas de ar; limpe a ponta contra a extremidade do recipiente para remover o excesso de líquido fora da ponta antes de distribuir; tenha o cuidado de mudar a ponta após cada passo de pipetagem).

8. Misture por meio de vórtice a baixa velocidade durante 10 segundos três vezes, centrifugue os tubos durante 5 segundos para levar o conteúdo para o fundo e mantenha em gelo;
9. Descongele os tubos de teste **500-Internal Control** para a sessão. Cada tubo é suficiente para 32 extrações. Misture suavemente, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos antes de qualquer sessão.

Para configurar uma execução integrada, execute os passos seguintes de acordo com a GUI.

10. Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home".
11. 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.
12. Para cada Rastreo de interesse preencha a "SampleID" (SID) digitando ou digitalizando o código de barras da amostra.
13. Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) a ser usado na coluna "Assay" (isto é, MV ELITE_CSF_200_100).
14. Certifique-se de que o "Protocol" (Protocolo) apresentado é: "Extract + PCR"(Extrair + PCR).
15. Selecione a posição de carregamento da amostra na coluna "Sample Position":
 - se for usado um tubo primário, selecione "Tubo primário",
 - se for usado um tubo secundário, selecione "Tubo sonicador".
 Selecione "Next" para continuar a preparação.
16. Carregue o tubo de teste do 500-Internal Control e a MV PCR Mix no Contaminação da área de extração, de Racks ou do "Inventory Block" (Gestor do reagente) selecionado seguindo as instruções na GUI. Clique no botão "Next" para continuar a preparação.
17. Carregue e verifique os Tip Racks (Suportes de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) selecionada seguindo as instruções na GUI. Clique no botão "Next" para continuar a preparação.
18. Carregue as "PCR Cassettes", os cartuchos de extração "ELITE InGenius SP 200", todos os consumíveis necessários e as amostras a serem extraídas nas posições especificadas no passo 15, seguindo as instruções na GUI. Selecione "Next" para continuar a preparação.
19. Feche a porta do instrumento.
20. Pressione "Start" (Iniciar) para iniciar a execução.

Após a conclusão do processo, o sistema **ELITE InGenius** permite aos utilizadores ver, aprovar, guardar os resultados e imprimir e guardar o relatório.

Nota: No final da execução a restante Amostra extraída deve ser removida do instrumento, tapada, identificada e guardada a -20 °C. Evite derramar a amostra extraída.

Nota: No final da execução, as PCR Cassettes com os produtos de reação e os consumíveis devem ser removidos do instrumento e eliminados sem produzir contaminações ambientais. Evite derramar os produtos de reação.

B. Execução da amplificação

1. Retire e descongele à temperatura ambiente (+18/25 °C) os tubos de teste que contêm as amostras extraídas. Misture por meio de vórtice durante 10 segundos, centrifugue os tubos durante 5 segundos para levar o conteúdo para o fundo e mantenha em gelo.
2. Prepare a mistura de reação completa Mistura MV PCR em volume suficiente para a sessão, tal como descrito no parágrafo A. Execução integrada (do ponto 2 a 8; não descongele o Controlo Interno).

Para preparar a execução de amplificação efetue os passos a seguir em conformidade com a GUI:

3. Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home".
4. Mesmo que não seja efetuada qualquer extração, certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" (Volume de eluição do extraído) é de 100 µL.
5. Para cada Rastreo de interesse preencha a SID digitando ou digitalizando o código de barras da amostra.
6. Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) a ser usado na coluna "Assay" (isto é, MV ELITE_CSF_200_100).
7. Selecione "PCR Only" (Apenas PCR) na coluna "Protocol" (Protocolo).
8. Certifique-se de que a posição de carregamento da amostra na coluna "Sample Position" (Posição da amostra) é ExtraTube (bottom row) (TuboExtra [linha inferior]. Selecione "Next" para continuar a preparação.
9. Carregue a MV PCR Mix no "Inventory Block" (Gestor do reagente) selecionado seguindo as instruções na GUI. Selecione "Next" para continuar a preparação.
10. Carregue e verifique os Tip Racks (Suportes de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) selecionada seguindo as instruções na GUI. Selecione "Next" para continuar a preparação.
11. Carregue as "PCR Cassettes" e as amostras de Ácido nucleico extraídas seguindo as instruções na GUI. Selecione "Next" para continuar a preparação.
12. Feche a porta do instrumento.
13. Pressione "Start" (Iniciar) para iniciar a execução.

Após a conclusão do processo, o sistema **ELITE InGenius** permite aos utilizadores ver, aprovar, guardar os resultados e imprimir e guardar o relatório.

Nota: No final da execução a restante Amostra extraída deve ser removida do instrumento, tapada, identificada e guardada a -20 °C. Evite derramar a amostra extraída.

Nota: No final da execução, as PCR Cassettes com os produtos de reação e os consumíveis devem ser removidos do instrumento e eliminados sem produzir contaminações ambientais. Evite derramar os produtos de reação.

C. Execução de amplificação para Controlo Positivo e Controlo Negativo

1. Prepare a mistura de reação completa Mistura MV PCR em volume suficiente para a sessão, tal como descrito no parágrafo A. Execução integrada (do ponto 2 a 8; não descongele o 500 Internal Control).
2. Descongele o tubo de Controlo positivo MV para amplificação de Controlo positivo. Cada tubo é suficiente para 6 sessões. Misture suavemente, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.
3. Transfira pelo menos 50 µL da água de qualidade para biologia molecular para as sessões num tubo Eluição, fornecido com o ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.

Para preparar a execução de amplificação para o Positive Control e Negative Control, realize os passos seguintes em conformidade com a GUI:

4. Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home".
5. No Track de interesse, selecione o "Assay Protocol" (Protocolo de ensaio) a ser usado na coluna "Assay" (Ensaio).
6. Para o controlo positivo, selecione MV ELITE_PC na coluna "Ensaio" e preencha o número do lote e a data de validade do Controlo positivo MV.
7. Para o controlo negativo, selecione MV ELITE_NC e preencha o número do lote e a data de validade da água de qualidade para biologia molecular.
8. Selecione "Next" para continuar a preparação.
9. Carregue a MV PCR Mix no "Inventory Block" (Gestor do reagente) selecionado seguindo as instruções na GUI. Selecione "Next" para continuar a preparação.
10. Carregue/verifique os Tip Racks (Suportes de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) selecionada seguindo as instruções na GUI. Selecione "Next" para continuar a preparação.
11. Carregue as "PCR Cassettes" (Cassetes de PCR), o tubo MV-Positive Control e o tubo de Negative Control seguindo as instruções na GUI. Selecione "Next" para continuar a preparação.
12. Feche a porta do instrumento.
13. Pressione "Start" (Iniciar) para iniciar a execução.

Após a conclusão do processo, o sistema **ELITE InGenius** permite aos utilizadores ver, aprovar, guardar os resultados e imprimir e guardar o relatório.

Nota: Os resultados das execuções de amplificação de Positive Control e Negative Control são usados pelo software do instrumento para preparar os "Gráficos de controlo". São necessários quatro resultados de Positive Control e Negative Control, de quatro execuções diferentes, para preparar o gráfico de controlo. Após isso, os resultados do Positive Control e Negative Control são usados para monitorização dos desempenhos do passo de amplificação. Consulte o manual de utilizador do instrumento para obter mais informações.

Nota: No final da execução o restante Controlo positivo deve ser removido do instrumento, tapado, identificado e guardado a -20 °C. Evite derramar o Controlo positivo. O restante Negative Control deve ser eliminado.

Nota: No final da execução, as PCR Cassettes com os produtos de reação e os consumíveis devem ser removidos do instrumento e eliminados sem produzir contaminações ambientais. Evite derramar os produtos de reação.

Revisão e aprovação de resultados

No final da execução, é automaticamente apresentado o ecrã "Results Display" (Exibição dos resultados). Neste ecrã são mostrados os resultados da amostra/Controlo e a informação relativa à execução. A partir deste ecrã é possível aprovar o resultado, imprimir ou guardar os relatórios ("Sample Report" ou "Track Report"). Consulte o manual de utilizador do instrumento para obter mais informações.

Nota: o sistema ELITE InGenius pode ser ligado ao "Location Information Server" (Servidor de informação da localização - LIS) através do qual é possível enviar os resultados da sessão de trabalho para o centro de dados do laboratório. Consulte o manual de utilizador do instrumento para obter mais informações.

O sistema **ELiTe InGenius** gera os resultados com o produto **Meningitis Viral ELiTe MGB® Panel** através do seguinte procedimento:

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

A. Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control da amplificação

Os sinais de fluorescência emitidos pelas sondas dos genes alvo ("HSV1", "HSV2", "VZV") na reação de amplificação de positive control e do negative control são analisados automaticamente e interpretados pelo software do instrumento com os parâmetros incluídos nos Protocolo de ensaio "MV ELiTe_PC" e "MV ELiTe_NC".

Os resultados do Positive Control e Negative Control da amplificação, específicos para o lote de reagente de amplificação usado, são registados na base de dados (Controls). Podem ser visualizados e aprovados por pessoal qualificado como o "Administrator" ou "Analyst", seguindo as instruções na GUI.

Os resultados do Controlo positivo e Controlo negativo da amplificação, específicos para o lote de reagente de amplificação, irão expirar **após 15 dias**.

Antes de analisar qualquer amostra, é absolutamente obrigatório certificar-se de que o Controlo positivo e Controlo negativo da amplificação foram executados com o lote do reagente de amplificação a ser usado e que os resultados estão aprovados e válidos. A disponibilidade de resultados do Controlo positivo e Controlo negativo da amplificação "Aprovados" (Estado) é mostrada na janela "Controlos" da GUI. Se os resultados do Controlo positivo e Controlo negativo da amplificação estiverem em falta, crie os mesmos da forma acima descrita.

Nota: Quando os resultados do Controlo positivo ou Controlo negativo da amplificação não cumprirem os critérios de aceitação, é mostrada a mensagem "não passou" no ecrã "Controlos" e não é possível aprovar os mesmos. Neste caso, foi repetida a reação do Positive Control ou Negative Control da amplificação.

Nota: Quando o Positive Control ou Negative Control é executado em conjunto com amostras a serem testadas e o respetivo resultado é inválido, toda a sessão é inválida. Neste caso, também deve ser repetida a amplificação de todas as amostras.

B. Validação dos resultados da amostra

Os sinais de fluorescência emitidos pelas sondas dos genes alvo ("HSV1", "HSV2", "VZV") e pela sonda do Controlo Interno ("CI") nas reações de amplificação da amostra são analisados automaticamente e interpretados pelo software do instrumento com os parâmetros incluídos no Protocolo de ensaio MV ELiTe_CSF_200_100.

Nota: Antes de analisar qualquer amostra, certifique-se de que os controlos da amplificação foram executados com o lote do reagente de amplificação a ser usado e que os resultados estão aprovados e válidos. A disponibilidade de resultados do Controlo positivo e Controlo negativo da amplificação "Aprovados" (Estado) é mostrada na janela "Controlos" da GUI. Se os resultados do controlo da amplificação estiverem em falta, crie os mesmos da forma acima descrita.

Os resultados são mostrados nos relatórios gerados pelo instrumento ("Exibição dos resultados"). A execução da amostra pode ser aprovada quando forem cumpridas as duas condições reportadas na tabela abaixo.

1) Positive Control	Estado
MV Positive Control	APROVADO
2) Negative Control	Estado
MV Negative Control	APROVADO

Para cada amostra, o resultado do ensaio é automaticamente interpretado pelo sistema como estabelecido pelo algoritmo **ELiTe InGenius software** e os parâmetros do Assay Protocol (Protocolo de ensaio).

Estão listadas na tabela abaixo as possíveis mensagens de resultado de uma amostra. Os diferentes genes são detetados ou não detetados em combinação.

Resultado da execução da amostra	Interpretação
HSV1: DNA Detected (HSV1:DNA Detetado)	Foi detetado ADN do vírus da herpes simplex 1 na amostra.
HSV2: DNA Detected (HSV2:DNA Detetado)	Foi detetado ADN do vírus da herpes simplex 2 na amostra.
VZV: DNA Detected (VZV:DNA Detetado)	Foi detetado ADN do vírus varicella-zoster na amostra.
HSV1: DNA Not Detected or below LoD (HSV1:DNA Não detetado ou abaixo de LoD)	Não foi detetado ADN do vírus da herpes simplex 1 na amostra. A amostra é negativa para este gene ou a sua concentração está abaixo do Limite de deteção do ensaio.
HSV2: DNA Not Detected or below LoD (HSV2:DNA Não detetado ou abaixo de LoD)	Não foi detetado ADN do vírus da herpes simplex 2 na amostra. A amostra é negativa para este gene ou a sua concentração está abaixo do Limite de deteção do ensaio.
VZV: DNA Not Detected or below LoD (VZV:DNA Não detetado ou abaixo de LoD)	Não foi detetado ADN do vírus varicella-zoster na amostra. A amostra é negativa para este gene ou a sua concentração está abaixo do Limite de deteção do ensaio.
Invalid - Retest Sample (Inválido-Testar novamente a amostra).	Resultado da amostra não válido devido a falha do Controlo Interno (Extração incorreta ou transferência do inibidor)

As amostras não adequadas para interpretação dos resultados são reportadas como "Invalid-Retest Sample (Inválido-Testar novamente a amostra)" pelo **software ELiTe InGenius**. Neste caso, o ADN do Controlo Interno não foi detetado eficientemente devido a problemas no passo de amplificação ou extração (degradação do ADN, perda de ADN durante a extração ou transferência de inibidores na eluição), que pode causar resultados incorretos e falsos negativos.

Quando o volume da eluição é suficiente, a amostra extraída pode ser novamente testada através de uma execução da amplificação no modo "PCR Only" (Apenas PCR). No caso de um segundo resultado inválido, a amostra deve ser novamente testada começando a partir da extração de uma nova alíquota utilizando o modo "Extract + PCR".

Amostras adequadas para análise mas em que não foi possível detetar ADN do vírus de herpes simplex 1 e 2 e do vírus varicella zoster são relatadas como: "Not Detected or below LoD" (Não detetado ou abaixo de LoD) Neste caso não pode excluir-se que o ADN está presente a uma concentração abaixo do limite de deteção do ensaio (ver "Características de desempenho").

Nota: Os resultados obtidos com este ensaio devem ser interpretados tendo em conta todos os dados clínicos e os outros resultados de testes laboratoriais relativos ao doente.

Os resultados da execução da amostra são guardados na base de dados e, se válidos, podem ser aprovados (Result Display) por pessoal qualificado como "Administrator" ou "Analyst", seguindo as instruções na GUI. A partir da janela "Result Display" é possível imprimir e guardar os resultados da execução da amostra como "Sample Report" e "Track Report".

C. Elaboração do relatório do resultado da amostra

Os resultados da amostra são guardados na base de dados e podem ser exportados como "Sample Report" e "Track Report".

O "Sample Report" apresenta os detalhes de uma sessão de trabalho ordenada pela amostra selecionada (SID).

O "Track Report" apresenta os detalhes de uma sessão de trabalho pelo Rastreo selecionado.

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

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Limite de detecção (LdD)

O limite de detecção (LdD) deste ensaio usado em combinação com amostras de LCR e o sistema ELiTe InGenius foi verificado testando diluições em série de plasmídeos (reforçados em LCR negativos e depois extraídos e amplificados para mimigar amostras reais) contendo a sequência alvo para cada patogênico do ensaio multiplexado (80.000-40.000-20.000-10.000-5.000-2.500-1.250-625-312 cópias/ml).

O LoD absoluto dos resultados das 10 réplicas das diluições de série de plasmídeos foi definido no último passo de diluição em que 100% das réplicas foram detetadas como positivas.

Os resultados finais são comunicados na tabela seguinte.

Limite de detecção para amostras de LCR e o ELiTe InGenius System (cópias/mL)	
Alvo	LoD (cópias/mL)
vírus herpes simplex 1 (HSV1)	2.500
vírus herpes simplex 2 (HSV2)	1.250
vírus varicela-zoster (VZV)	1.250

A sensibilidade analítica também foi analisada por análise de regressão. Foi realizada uma regressão linear na série de diluição do plasmídeo, a mostrar 100% de taxa de positividade, para calcular o coeficiente de regressão R² e o declive. Os valores R² dos três patogênicos foram superiores a 0,99, o que demonstra a boa linearidade de detecção nesta gama de diluição.

Repetibilidade

A repetibilidade, como imprecisão intra-execução, deste ensaio em associação com o sistema ELiTe InGenius foi testada através da realização de 10 réplicas de duas concentrações de uma amostra clínica caracterizada (10xLoD e 3xLoD) para cada patogênico, testada por meio de extração e de um processo PCR com o mesmo operador, lotes de reagente, instrumento e no mesmo ambiente.

A análise de dados do intra-ensaio revela uma muito boa repetibilidade dos resultados com coeficiente de variação inferior a 1,5% para cada amostra do patogênico e para cada concentração (10xLoD ou 3xLoD).

É apresentado a seguir um resumo dos resultados.

Repetibilidade do Meningitis Viral ELiTe MGB® Panel					
Amostra	Concentração	Ct média	σ	CV%	% positivo
HSV1 sample 1	10xLoD	30,2	0,3	1,0	100
HSV1 sample 1	3xLoD	32,1	0,4	1,1	100
HSV2 sample 2	10xLoD	31,3	0,3	1,0	100
HSV2 sample 2	3xLoD	33,9	0,3	0,9	100
Amostra VZV 3	10xLoD	30,3	0,3	1,1	100
Amostra VZV 3	3xLoD	31,7	0,3	1,0	100

Reprodutibilidade

A Capacidade de reprodução, como variabilidade "Batch to batch" (Entre lotes) e "Instrument to Instrument" (Entre instrumentos), deste ensaio em associação com o sistema ELiTe InGenius™ foi realizada com as mesmas amostras e com os mesmos lotes de reagente, mas com técnicos, horas, instrumentos e laboratórios diferentes.

A precisão foi expressa com base nas medições estatísticas da imprecisão, como o desvio normal (σ) e o coeficiente de variação (CV).

A análise do inter-ensaio revela uma elevada capacidade de reprodução dos resultados com valores de CV inferiores a 1,5%.

É apresentado a seguir um resumo dos resultados.

Capacidade de reprodução do Meningitis Viral ELiTe MGB® Panel					
Amostra	Concentração	Ct média	σ	CV%	% positivo
HSV1 sample 1	10xLoD	30,5	0,4	1,4	100
HSV1 sample 1	3xLoD	32,3	0,4	1,3	100
HSV2 sample 2	10xLoD	31,2	0,1	0,5	100
HSV2 sample 2	3xLoD	33,2	0,2	0,6	100
Amostra VZV 3	10xLoD	29,7	0,3	0,9	100
Amostra VZV 3	3xLoD	31,7	0,4	1,3	100

Especificidade analítica dos testes ao Material de referência

A especificidade deste ensaio em associação com o sistema ELiTe InGenius foi avaliada através da realização de uma extração e de um processo de PCR em painéis QCMD (Qnostics Ltd, RU) dos vírus de herpes simplex (HSV DNA16C1-2) e do vírus varicela-zoster (VZV DNA16C1-2).

Todas as amostras positivas foram detetadas com o **Meningitis Viral ELiTe MGB® Panel**. No entanto, a amostra VZV DNA16C1-02 só foi detetada em 1 de 2 réplicas com um valor de Ct alto (36,9). Esta amostra foi detetada em 37,8% do número total de conjuntos de dados relatados para este painel, sugerindo que esta amostra é um positivo muito baixo.

Nenhuma das amostras negativas dos painéis HSV DNA16C1-2 ou VZV DNA16C1-2 QCMD foram detetadas como positivas com o **Meningitis Viral ELiTe MGB® Panel**. Além disso, os alvos não específicos para os painéis QCMD usados (VZV para o painel HSV DNA16C1-2 ou HSV1 e HSV2 para o painel VZV DNA16C1-2) foram todos negativos no ELiTe InGenius™, a mostrar a boa especificidade do ensaio.

É apresentado a seguir um resumo dos resultados.

Amostra	Descrição	Estado da amostra	Valor de Ct		
			HSV1	HSV2	VZV
HSV DNA16C1-01	Vírus herpes simplex 2 (09-015681)	frequentemente detetado	neg.	28,7	neg.
HSV DNA16C1-02	Vírus herpes simplex 1 (95/1906)	frequentemente detetado	31,1	neg.	neg.
HSV DNA16C1-03	HSV Negativo	negativo	neg.	neg.	neg.
HSV DNA16C1-04	Vírus herpes simplex 1 (MacIntyre)	frequentemente detetado	31,3	neg.	neg.
HSV DNA16C1-05	Vírus herpes simplex 2 (09-015681)	detetado	neg.	33,9	neg.
HSV DNA16C2-01	Vírus herpes simplex 1 (95/1906)	detetado	33,9	neg.	neg.
HSV DNA16C2-02	Vírus herpes simplex 2 (09-015681)	frequentemente detetado	neg.	30,1	neg.
HSV DNA16C2-03	Vírus herpes simplex 1 (95/1906)	frequentemente detetado	31,2	neg.	neg.
HSV DNA16C2-04	HSV Negativo	negativo	neg.	neg.	neg.
HSV DNA16C2-05	Vírus herpes simplex 2 (MS)	detetado	neg.	34,0	neg.
VZV DNA16C1-01	VZV Negativo	negativo	neg.	neg.	neg.
VZV DNA16C1-02	Vírus varicela-zoster (Ellen)	ocasionalmente detetado	neg.	neg.	36,9 (1/2)
VZV DNA16C1-03	Vírus varicela-zoster (63/1444)	frequentemente detetado	neg.	neg.	32,9
VZV DNA16C1-04	Vírus varicela-zoster (Ellen)	frequentemente detetado	neg.	neg.	31,2
VZV DNA16C1-05	Vírus varicela-zoster (9/84)	frequentemente detetado	neg.	neg.	29,5
VZV DNA16C2-01	Vírus varicela-zoster (OKA)	frequentemente detetado	neg.	neg.	32,1
VZV DNA16C2-02	Vírus varicela-zoster (9/84)	frequentemente detetado	neg.	neg.	29,6
VZV DNA16C2-03	Vírus varicela-zoster (9/84)	frequentemente detetado	neg.	neg.	33,3
VZV DNA16C2-04	Vírus varicela-zoster (Ellen)	frequentemente detetado	neg.	neg.	31,1
VZV DNA16C2-05	Vírus varicela-zoster (Ellen)	detetado	neg.	neg.	33,8

A especificidade também foi avaliada através de testes a cerca de 80 amostras clínicas contendo bactérias, parasitas e vírus. Não foram detetados outros patogênicos para além dos esperados. É apresentado a seguir um resumo dos resultados.

Patogênicos (vírus)	Resultado
Adenovirus	negativo
Astrovirus	negativo
Coronavírus 229	negativo
Coronavírus 43	negativo
Coronavírus 63	negativo
Citomegalovirus	negativo
Enterovirus	negativo
Virus Epstein-Barr	negativo
Virus da herpes simples 1	positivo
Virus da herpes simples 2	positivo
Herpes virus humano 6	negativo
Herpes virus humano 7	negativo
Metapneumovirus humano	negativo
Virus Influenza A	negativo
Virus Influenza B	negativo
Virus do sarampo	negativo
Virus da papeira	negativo
Norovirus G1	negativo
Norovirus G2	negativo
Parainfluenza 1	negativo
Parainfluenza 2	negativo
Parainfluenza 3	negativo
Parainfluenza 4	negativo
Parvovirus B19	negativo
Poliomavirus 1 (BKV)	negativo
Virus sincial respiratório A	negativo
Virus sincial respiratório B	negativo
Rinovirus	negativo
Rotavirus	negativo
Sapovirus	negativo
Virus varicela-zoster	positivo

Agente patogênico (bactéria e parasitas)	Resultado	Agente patogênico (bactéria e parasitas)	Resultado
<i>Aeromonas hydrophilia</i>	negativo	<i>Legionella pneumophila</i>	negativo
<i>Bacillus ssp.</i>	negativo	<i>Legionella ansia</i>	negativo
<i>Bifidobacterium</i>	negativo	<i>Listeria monocytogenes</i>	negativo
<i>Bordetella pertussis</i>	negativo	<i>Moraxella catarrhalis</i>	negativo
<i>Campylobacter jejuni</i>	negativo	<i>Morganella morganii</i>	negativo
<i>Campylobacter coli</i>	negativo	<i>Mycoplasma genitalium</i>	negativo
<i>Chlamydia trachomatis</i>	negativo	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	negativo
<i>Citrobacter freundii</i>	negativo	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	negativo
<i>Clostridium difficile</i>	negativo	<i>Proteus mirabilis</i>	negativo
<i>Clostridium perfringens</i>	negativo	<i>Proteus vulgaris</i>	negativo
EHEC vtx+	negativo	<i>Rhodococcus equi</i>	negativo
EIEC	negativo	<i>Salmonella typhimurium</i>	negativo
<i>Enterococcus faecalis</i>	negativo	<i>Shigella boydii</i>	negativo
EPEC	negativo	<i>Staphylococcus aureus</i>	negativo
ETEC	negativo	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	negativo
<i>Haemophilus influenzae</i>	negativo	<i>Treponema pallidum</i>	negativo
<i>Hafnia alvei</i>	negativo	<i>Vibrio cholerae</i>	negativo
<i>Klebsiella oxytoca</i>	negativo	<i>Yersinia enterocolitica</i>	negativo
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	negativo		

Sensibilidade de diagnóstico: confirmação de amostras positivas

A sensibilidade de diagnóstico deste ensaio, como confirmação de amostras clínicas positivas, foi avaliada através de testes a um conjunto de espécimes obtidos provenientes de diferentes pacientes positivos anteriormente caracterizados pelo método de referência. Além disso, foi criado um conjunto de amostras artificiais diluindo o ADN dos alvos do material de referência em diferentes amostras de doadores negativos.

É reportado na tabela seguinte um resumo dos resultados após análise discrepante.

Amostra	N	Positivo	Negativo	Inválido
LCR positivo para HSV1	10	9	1	0
LCR reforçado com HSV1	22	22	0	0
LCR positivo para HSV2	10	10	0	0
LCR reforçado com HSV2	20	20	0	0
LCR positivo para VZV	10	10	0	0
LCR reforçado com VZV	20	20	0	0

A amostra discrepante, que tinha um Ct próximo do limite de detecção do método de referência, pode ser explicada por uma concentração muito baixa de vírus nas amostras, abaixo do limite de detecção do método; tais amostras podem resultar estocasticamente num positivo ou negativo.

Neste teste, a sensibilidade de diagnóstico foi igual a 96,9% para HSV1 e 100% para HSV2 e VZV

Especificidade de diagnóstico: confirmação de amostras negativas

A especificidade de diagnóstico do ensaio, como confirmação de amostras clínicas negativas, foi avaliada através de testes a um conjunto de espécimes arquivados provenientes de diferentes doadores negativos anteriormente caracterizados pelo método de referência.

É reportado na tabela seguinte um resumo dos resultados após análise discrepante.

Amostra	N	Positivo	Negativo	Inválido
LCR negativo para HSV1, HSV2 e VZV	30	0	30	0

Neste teste, a especificidade foi igual a 100% para HSV1, HSV2 e VZV

Nota: Os dados e resultados completos dos testes realizados para avaliação das características de desempenho do produto com matrizes e o instrumento estão registados no Ficheiro técnico do produto "Meningitis Viral ELiTe MGB Panel", FTP RTS507ING.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Utilize este produto apenas com ADN extraído das seguintes amostras clínicas: LCR
Não existem dados disponíveis relativos a uma inibição causada por fármacos antivirais, antibióticos, quimioterapêuticos ou imunossupressores.

Os resultados obtidos com este produto dependem de uma identificação, uma recolha, um armazenamento de transporte e um processamento adequados das amostras. Para evitar resultados incorretos, é por isso necessário ter cuidado durante estes passos e seguir cuidadosamente as instruções de utilização fornecidas com os produtos para extração de ácido nucleico.

Devido à sua elevada sensibilidade analítica, o método de amplificação em Tempo real usado neste produto é sensível a contaminações cruzadas a partir de amostras positivas, dos controlos positivos e dos mesmos produtos de amplificação. Contaminações cruzadas causadas por falsos resultados positivos. O formato do produto é capaz de limitar contaminações cruzadas. 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 vestuário e áreas de trabalho que sejam adequados 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 deve ser manuseado por pessoal qualificado e com formação em técnicas de biologia molecular, como extração, amplificação e deteção de ácidos nucleicos, para evitar resultados incorretos.

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

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

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

No caso de co-infeções, a sensibilidade de um alvo pode ser afetada pela amplificação de um segundo alvo.

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, que pode levar a um atraso na obtenção dos resultados finais.

Possíveis polimorfismos na região do ADN alvo abrangidos pelos primários do produto e as sondas podem prejudicar a deteção do ADN alvo.

Tal como acontece com qualquer outro dispositivo médico de diagnóstico, os resultados obtidos com este produto devem ser interpretados tendo em conta todos os dados clínicos e outros testes laboratoriais efetuados ao doente.

Tal como acontece com qualquer outro dispositivo médico de diagnóstico, existe um risco residual de resultados inválidos, falsos positivos e falsos negativos obtidos com este produto. Este risco residual não pode ser eliminado ou ainda mais reduzido. Em alguns casos, como o diagnóstico de urgência, este risco residual pode contribuir para decisões erradas com potenciais efeitos perigosos para o doente.

RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

Reação de Positive Control inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da PCR Mix e do Positive Control. Verifique os volumes da PCR Mix e do Positive Control.
Degradação do Positive Control.	Utilize uma nova alíquota de Positive Control.
Degradação da PCR Mix.	Utilize uma nova alíquota da PCR Mix.
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Reação de Negative Control inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da Mistura PCR e do controlo negativo. Verifique os volumes da Mistura PCR e do controlo negativo.
Contaminação do controlo negativo	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, de Racks ou do "Inventory Block" (Gestor do reagente).	Limpe as superfícies com detergentes aquosos, lave as batas de laboratório, substitua os tubos de ensaio e as pontas em utilização.
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Reação da amostra inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da PCR Mix e da amostra. Verifique os volumes da PCR Mix e da amostra.
Degradação da PCR Mix.	Utilize uma nova alíquota da PCR Mix.
Inibição devido a substâncias que interferem na amostra.	Repita a amplificação com uma diluição 1: 2 em água de qualidade para biologia molecular de amostra eluída numa sessão "PCR only" (Apenas PCR). Repita a extração com uma diluição 1: 2 em água de qualidade para biologia molecular de amostra numa sessão "Extract + PCR" (Extrair+ PCR).
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

SÍMBOLOS

REF

Número de catálogo.



Limite máximo da temperatura.

LOT

Código de lote.



Prazo de validade (último dia do mês).



Cumprimento dos requisitos da Diretiva Europeia 98/79/CE relativa a dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro*.



Contém suficiente para "N" testes.



Atenção, consulte as instruções de utilização.

CONT

Conteúdo.



Manter afastado da luz solar.



Fabricante.

**NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA
LIMITADA**

Os reagentes de detecção TaqMan™ MGB® são abrangidos por um ou mais dos números de patente dos EUA 6.127.121, 6.485.906, 6.660.845, 6.699.975, 6.727.356, 6.790.945, 6.949.367, 6.972.328, 7.045.610, 7.319.022, 7.368.549, 7.381.818, 7.662.942, 7.671.218, 7.715.989, 7.723.038, 7.759.126, 7.767.834, 7.897.736, 8.008.522, 8.067.177, 8.163.910, 8.389.745, 8.969.003, 8.980.855, 9.056.887, 9.085.800, 9.169.256 e números de patente EP 1068358, 1144429, 1232157, 1261616, 1430147, 1781675, 1789587, 1975256, 2714939 bem como os pedidos que estejam atualmente 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, apenas para diagnóstico humano. Nem o ELiTechGroup S.p.A. nem os respetivos licenciantes concedem quaisquer outras licenças, expressas ou implícitas, para quaisquer outros fins.

ELiTe MGB® e o logótipo ELiTe MGB® estão registados pelo ELiTechGroup como marcas comerciais na União Europeia.

ELiTe InGenius® é uma marca comercial do ELiTechGroup.

TaqMan™ é uma marca comercial da Roche Molecular Systems, Inc