

Instructions for use

Meningitis Bacterial ELITe MGB® Kit

reagentes para PCR em tempo real do ADN



REF RTS300ING

UDI 08033891486471

CE **IVD**

HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES

Rev.	Aviso de alteração	Data (dd/ /mm/aa)
03	Expansão de utilização do produto em associação com o instrumento ELITE BeGenius (REF INT040) Novos gráficos e definição de conteúdos das instruções de utilização.	20/01/25
02	Atualização da secção "Limitação do procedimento" Descrição do valor de corte de IC já adotado no protocolo de ensaio do produto	11/05/23
00 — 01	Desenvolvimento de novo produto e alterações subsequentes	-

NOTE

A revisão destas instruções de utilização também é compatível com a versão anterior do kit

ÍNDICE

1 UTILIZAÇÃO PREVISTA	4
2 PRINCÍPIOS DO ENSAIO	4
3 DESCRIÇÃO DO PRODUTO	4
4 MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO	5
5 MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO	5
6 OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS	5
7 AVISOS E PRECAUÇÕES	6
8 AMOSTRAS E CONTROLOS	7
9 PROCEDIMENTO do ELITe InGenius	9
10 PROCEDIMENTO do ELITe BeGenius	15
11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO	19
12 REFERÊNCIAS	28
13 LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO	28
14 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS	29
15 SÍMBOLOS	31
16 NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA	32
Appendix A QUICK START GUIDE	33

1 UTILIZAÇÃO PREVISTA

O produto **Meningitis Bacterial ELITE MGB® Kit** consiste num dispositivo médico de diagnóstico in vitro que se destina a ser usado por profissionais de saúde como um ensaio de PCR em tempo real de ácidos nucleicos multiplexado e qualitativo para a deteção e identificação do ADN genómico de **Neisseria meningitidis**, **Streptococcus pneumoniae**, **Haemophilus influenzae** e **Haemophilus influenzae tipo B** em amostras clínicas.

O ensaio foi validado em associação com os instrumentos **ELITE InGenius®** e **ELITE BeGenius®**, sistemas automatizados e integrados para a extração, PCR em tempo real e interpretação dos resultados, usando amostras humanas de líquido cefalorraquidiano (LCR) e sangue total (ST) colhidas em EDTA.

O produto destina-se a ser utilizado como auxiliar no diagnóstico de infeções sistémicas e do sistema nervoso central por *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* e *Haemophilus influenzae* tipo B.

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

2 PRINCÍPIOS DO ENSAIO

O ensaio consiste na PCR em tempo real qualitativa para a deteção de *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* e *Haemophilus influenzae* tipo B, isolado de amostras e amplificado usando o reagente de ensaio **MB PCR Mix** que contém primers e sondas com a tecnologia ELITE MGB.

As sondas ELITE MGB são ativadas quando hibridizam com os produtos PCR relacionados. O **ELITE InGenius** e o **ELITE BeGenius** monitorizam o aumento da fluorescência e calculam os ciclos limiáres (Ct) e as temperaturas de fusão (Tm).

Nas sondas ELITE MGB, os fluoróforos são inativados no estado de cadeia única de espiral aleatória da sonda.

Os fluoróforos são ativados no duplex amplicon / sonda dado que o inativador está espacialmente separado do fluoróforo. Ressalva-se que o fluoróforo não é clivado durante a PCR e pode ser utilizado para a análise da dissociação e o cálculo da temperatura de fusão.

3 DESCRIÇÃO DO PRODUTO

O **Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit** fornece o reagente do ensaio **MB PCR Mix**, uma mistura de PCR otimizada e estabilizada que contém os primers e sondas específicos para:

- o gene **ctrA** de *N. meningitidis* encapsulado, detetado no canal **Nmen**; a sonda é estabilizada por MGB, inativada pelo Eclipse Dark Quencher®, e identificada pelo corante AquaPhluor 593 (AP593),
- o gene **lytA** de *S. pneumoniae* encapsulado, detetado no canal **Spne**; a sonda é estabilizada por MGB, inativada pelo Eclipse Dark Quencher® e identificada pelo corante FAM,
- o gene **fucK** de *H. influenzae*, detetado no canal **Hinf**; a sonda é estabilizada por MGB, inativada pelo Eclipse Dark Quencher®, e identificada pelo corante AquaPhluor 639 (AP639),
- o gene **bcsB** de *H. influenzae* tipo B encapsulado, detetado no canal **HinfB**; a sonda é estabilizada por MGB, inativada pelo Eclipse Dark Quencher®, e identificada pelo corante AquaPhluor 525 (AP525),
- a sequência artificial **IC2** de Internal Control (IC) exógeno, detetado no canal **IC**; a sonda é estabilizada por MGB, inativada pelo Eclipse Dark Quencher®, e identificada pelo corante AquaPhluor 680 (AP680).

A **MB PCR Mix** contém tampão, cloreto de magnésio, trifosfatos de nucleótido e ADN Polimerase de início a quente.

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

O **Meningitis Bacterial 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
Mistura MB PCR Ref. RTS300ING	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, o internal control da extração e inibição, o positive control e o negative control de amplificação e os consumíveis **não** são fornecidos com este produto.

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

Table 2

Instrumentos e software	Produto e reagentes
<p>ELITE InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, ref. INT030).</p> <p>ELITE InGenius Software versão 1.3.0.19 (ou superior).</p> <p>MB ELITE_PC, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Positive Control</p> <p>MB ELITE_NC, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Negative Control</p> <p>MB ELITE_WB_200_100, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra do sangue total</p> <p>MB ELITE_CSF_200_100, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra do fluido cefalorraquidiano</p>	<p>ELITE InGenius SP200 (EG SpA, ref. INT032SP200).</p> <p>ELITE InGenius SP 200 Consumable Set (EG SpA, ref. INT032CS).</p> <p>ELITE InGenius PCR Cassette (EG SpA, ref. INT035PCR).</p> <p>ELITE InGenius Waste Box (EG SpA, ref. F2102-000).</p> <p>300 µL Filter Tips Axygen (Corning Life Sciences Inc., ref. TF-350-L-R-S) com o ELITE InGenius apenas.</p> <p>1000 µL Filter Tips Tecan (Tecan, Switzerland, ref. 30180118) com o ELITE BeGenius apenas.</p> <p>CPE - Internal Control (EG SpA, ref. CTCRPE).</p> <p>Meningitis Bacterial - ELITE Positive Control (EG SpA, ref. CTR300ING).</p>
<p>ELITE BeGenius (EG SpA, ref. INT040).</p> <p>ELITE BeGenius Software versão 2.2.1 (ou superior).</p> <p>MB ELITE_Be_PC, Protocolo de Ensaio com parâmetros para análise do Positive Control.</p> <p>MB ELITE_Be_NC, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Negative Control.</p> <p>MB ELITE_Be_WB_200_100, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra do sangue total</p> <p>MB ELITE_Be_CSF_200_100, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra do líquido cefalorraquidiano</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/ desconge-lação	Estabilidade de bordo (ELITE InGenius e ELITE BeGenius)
Mistura MB PCR	-20°C ou menos (ao abrigo da luz solar)	um mês	até sete	até sete sessões separadas* de três horas cada ou até 7 horas consecutivas (2 sessões de 3 horas cada e o tempo necessário para iniciar uma terceira sessão)

*com congelamento intermédio

8 AMOSTRAS E CONTROLOS

Amostras e protocolos de ensaio

Este produto destina-se a ser usado no **ELITE InGenius** e no **ELITE BeGenius** com as seguintes amostras clínicas, de acordo com as diretrizes laboratoriais, e colhidas, transportadas e armazenadas sob as seguintes condições:

Table 4

Amostra	Requisitos de colheita	Condições de transporte/armazenamento			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ±10 °C	-70 ±15 °C
líquido cefalorraquidiano	Evitar a contaminação com sangue do doente	≤ 3 dias	≤ 3 dias	≤ 1 mês	período longo
sangue total	EDTA	≤ 3 dias	≤ 3 dias	≤ 1 mês	período longo

Recomenda-se a divisão das amostras em alíquotas antes da congelação, para evitar ciclos repetidos de congelação / descongelação.

Quando utilizar amostras congeladas, descongele as mesmas apenas antes da extração, para evitar uma possível degradação do ácido nucleico.

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

Table 5 Protocolos de ensaio para Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit

Amostra	Instrumento	Nome do protocolo de ensaio	Relatório	Características
LCR	ELITE InGenius	MB ELITE_CSF_200_100	Positiva / Negativa	Volume inicial de extração: 200 µL Volume de eluição da extração: 100 µL Internal Control: 10 µL Sonicação: NÃO Fator de diluição: 1 Volume de PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL
	ELITE BeGenius	MB ELITE_Be_CSF_200_100		
Sangue total	ELITE InGenius	MB ELITE_WB_200_100	Positiva / Negativa	Volume inicial de extração: 200 µL Volume de eluição da extração: 100 µL Internal Control: 10 µL Sonicação: NÃO Fator de diluição: 1 Volume de PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL
	ELITE BeGenius	MB ELITE_Be_WB_200_100		

NOTE

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

O volume da amostra num tubo primário varia consoante o tipo de tubo carregado. Consulte as instruções de utilização do kit de extração para obter mais informações sobre como preparar e realizar o procedimento de extração.

Se necessário, 200 µL de amostra devem ser transferidos para um **tubo de extração** para o ELITE InGenius; 200 µL de amostra devem ser transferidos para um **tubo Sarstedt de 2 mL** para o ELITE BeGenius.

NOTE

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

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

Consulte "Substâncias Potencialmente Interferentes" na secção **11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO** page 19 para verificar os dados relativos a substâncias interferentes.

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 Meningitis Bacterial – ELITE Positive Control (não fornecido com este kit) com os protocolos de ensaio MB ELITE_PC ou MB ELITE_Be_PC
- para o Negative Control, utilize água de grau biológico molecular (não fornecida com este kit) com os protocolos de ensaio MB ELITE_NC ou MB 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 Controls e Negative Controls. Os Controlos da PCR devem ser novamente testados se ocorrer algum dos seguintes eventos:

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

Controlos da qualidade

Recomenda-se a verificação do procedimento de extração e PCR. Podem ser usadas amostras arquivadas ou material de referência certificado. Os controlos externos devem ser usados em conformidade com as organizações de acreditação locais, estatais e federais, consoante aplicável.

9 PROCEDIMENTO do ELITE InGenius

O procedimento para uso do **Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit** com o **ELITE InGenius** é composto por três passos:

Table 6

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

9.1 PASSO 1 - Verificação da disponibilidade do sistema

Antes de iniciar a sessão:

- - ligue o **ELITE InGenius** e inicie sessão no modo “**CLOSED**” (fechado),
- no menu “Controlos” na página inicial, verifique se os controlos de PCR (**Positive Control, Negative Control**) estão aprovados e válidos (estado) para o lote de **PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja controlos de PCR válidos disponíveis para o lote da **PCR Mix** execute os controlos de PCR conforme descrito nas secções seguintes,
- escolher o tipo de execução, seguindo as instruções na Interface Gráfica do Utilizador (GUI) para a preparação da sessão e utilizando os Protocolos de ensaio fornecidos pela EG SpA. (ver “Amostras e Controlos”)

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

9.2 PASSO 2 - Configuração da sessão

O **Meningitis Bacterial 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

	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])
1	Identifique amostras e, se necessário, descongele até à temperatura ambiente. Se necessário, transfira 200 µL da amostra para um tubo de extração anteriormente identificado.	Descongele os Elution tubes contendo os ácidos nucleicos extraídos à temperatura ambiente. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.	Descongele os tubos de Positive Control à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Cada tubo é suficiente para 4 reações.
2	Descongele os tubos de CPE necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Cada tubo é suficiente para 12 extrações.	Não aplicável	Prepare o Negative Control transferindo pelo menos 50 µL de água de grau de biologia molecular para um "Elution tube" (Tubo de eluição), fornecido com o ELITe InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home".	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home".	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home".
4	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição do extraído") é de 100 µL.	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição do extraído") é de 100 µL.	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição do extraído") é de 100 µL.
5	Para cada amostra, atribua um Track e introduza a "SampleID" (SID) digitando ou lendo o código de barras da amostra.	Para cada amostra, atribua um Track e introduza a "SampleID" (SID) digitando ou lendo o código de barras da amostra.	Não aplicável
6	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos")	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos")	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos"). Introduza o número do lote e a data de validade do Positive Control e da água de grau biológico molecular.
7	Certifique-se de que o "Protocol" (Protocolo) apresentado é: "Extract + PCR"(Extrair + PCR).	Selecione "PCR Only" (apenas PCR) na coluna "Protocol".	Certifique-se de que "PCR Only" (Apenas PCR) está selecionado na coluna "Protocol" (Protocolo).
8	Selecione a posição de carregamento da amostra como "Extraction Tube" (Tubo de extração) na coluna "Sample Position" (Posição da amostra).	Certifique-se de que a posição de carregamento da amostra na coluna "Sample Position" (Posição da amostra) é "Elution Tube (bottom row)" (Tubo de eluição [linha inferior]).	Certifique-se de que a posição de carregamento da amostra na coluna "Sample Position" (Posição da amostra) é "Elution Tube (bottom row)" (Tubo de eluição [linha inferior]).
9	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
10	Carregue a CPE e PCR Mix no "Inventory Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza a CPE e o número de lote, data de validade e o número de reações da PCR Mix para cada tubo.	Carregue a PCR Mix no "Inventory Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza o número de lote, data de validade e o número de reações da PCR Mix para cada tubo.	Carregue a PCR Mix no "Inventory Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza o número de lote, data de validade e o número de reações da PCR Mix para cada tubo.
11	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.

Table 7 (continued)

	A. Execução da amostra (Extract + PCR) [Extrair+PCR]	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [apenas PCR])	C. Execução do Positive e Negative Control (PCR Only [apenas PCR])
12	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.
13	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
14	Carregue a PCR Cassette , os cartuchos de extração ELITE InGenius SP 200 e todos os consumíveis e amostras necessários para serem extraídos	Carregue a PCR Cassette e os tubos de eluição com as amostras extraídas	Carregue os tubos de PCR Cassette, Positive Control e Negative Control.
15	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
16	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
17	Prima "Start" (Iniciar).	Prima "Start" (Iniciar).	Prima "Start" (Iniciar).

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

NOTE

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

NOTE

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 cerca 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.

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 **Meningitis Bacterial 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 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 Validação dos resultados da amostra

O **software ELITe InGenius** interpreta os resultados de PCR para os alvos (canais **Nmen**, **Spne**, **Hinf** e **HinfB**) e o Internal Control (canal **IC**) com os parâmetros do protocolo de ensaio **MB ELITe_CSF_200_100** e **MB ELITe_WB_200_100**.

Os resultados são mostrados no ecrã “Result Display”.

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

Table 8

1) Positive Control	Estado
MB Positive Control	APROVADO

Table 8 (continued)

2) Negative Control	Estado
MB Negative Control	APROVADO

Os resultados da amostra são interpretados automaticamente pelo **software ELiTe InGenius** utilizando os parâmetros do protocolo de ensaio.

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

Resultado da execução da amostra	Interpretação
Nmen: DNA detected (Nmen:DNA Detetado).	ADN de <i>N. meningitidis</i> foi detetado na amostra.
Spne: DNA detected (Spne:DNA Detetado).	ADN de <i>S. pneumoniae</i> foi detetado na amostra.
Hinf: DNA detected (Hinf:DNA Detetado).	ADN de <i>H. influenzae</i> foi detetado na amostra.
HinfB: DNA detected (HinfB:DNA Detetado).	ADN de <i>H. influenzae</i> tipo B foi detetado na amostra. Nota: quando o ADN de <i>H. influenzae</i> tipo B é detetado, também pode ser detetado o ADN genérico <i>H. influenzae</i> .
Nmen: DNA not detected or below LoD (Nmen:DNA Não detetado ou abaixo de LoD).	ADN de <i>N. meningitidis</i> não foi detetado na amostra. A amostra é negativa para ADN de <i>N. meningitidis</i> ou a sua concentração está abaixo do limite de deteção do ensaio.
Spne: DNA not detected or below LoD (Spne:DNA Não detetado ou abaixo de LoD).	ADN de <i>S. pneumoniae</i> não foi detetado na amostra. A amostra é negativa para ADN de <i>S. pneumoniae</i> ou a sua concentração está abaixo do limite de deteção do ensaio.
Hinf: DNA not detected or below LoD (Hinf:DNA Não detetado ou abaixo de LoD).	ADN de <i>H. influenzae</i> não foi detetado na amostra. A amostra é negativa para ADN de <i>H. influenzae</i> ou a sua concentração está abaixo do limite de deteção do ensaio.
HinfB: DNA not detected or below LoD (HinfB:DNA Não detetado ou abaixo de LoD).	ADN de <i>H. influenzae</i> tipo B não foi detetado na amostra. A amostra é negativa para ADN de <i>H. influenzae</i> tipo B ou a sua concentração está abaixo do limite de deteção do ensaio.
Invalid-Retest Sample (Inválido-Testar novamente a amostra)	Resultado do ensaio inválido causado pela falha do controlo interno (devido a por ex., extração incorreta, transferência de inibidores). O teste deve ser repetido.

Amostras indicadas como “Invalid - Retest Sample” (Inválido - testar novamente amostra): caso, o ARN do Controlo Interno não foi detetado eficientemente devido a problemas nos passos de colheita, pré-tratamento, 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 o volume de eluato for suficiente, o eluato pode ser testado novamente (tal como está ou diluído) através de uma execução de amplificação no modo “PCR Only” (Apenas PCR). Se o segundo resultado for inválido, a amostra deve ser novamente testada a partir da extração de uma nova amostra utilizando o modo “Extract + PCR” (Extract+PCR) (ver [14 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS page 29](#))

Quando o ADN de *Haemophilus influenzae* tipo B é detetado numa amostra, por vezes o ADN genérico *Haemophilus influenzae* não pode ser detetado devido a diferenças na sensibilidade das duas reações. No entanto, a amostra é positiva para o ADN de *Haemophilus influenzae* tipo B.

As amostras reportadas como “Xxx:DNA not detected or below the LoD” (Xxx:DNA Não detetado ou abaixo de LoD) são adequadas para análise, mas o ADN dos alvos não foi detetado. Neste caso, a amostra pode ser negativa para ADN do alvo ou o ADN do alvo está presente numa concentração abaixo do limite de deteção do ensaio (ver [11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO page 19](#)).

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 **Meningitis Bacterial ELITe MGB Kit** com o **ELITe BeGenius** é composto por três passos:

Table 10

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

10.1 PASSO 1 - Verificação da disponibilidade do sistema

Antes de iniciar a sessão:

- - ligue o **ELITe BeGenius** e inicie sessão no modo “**CLOSED**” (fechado),
- no menu “Controlos” na página inicial, verifique se os controlos de PCR (**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 **Meningitis Bacterial 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

	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])
1	Identifique amostras e, se necessário, descongele até à temperatura ambiente. Se necessário, transfira 200 µL da amostra para um tubo Sarstedt de 2 mL anteriormente identificado.	Se necessário, descongele os tubos de eluição contendo os ácidos nucleicos extraídos à temperatura ambiente. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.	Descongele os tubos de Positive Control à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Cada tubo é suficiente para 4 reações.
2	Descongele os tubos de CPE necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Cada tubo é suficiente para 12 extrações.	Não aplicável	Prepare o Negative Control transferindo pelo menos 50 µL de água de grau de biologia molecular para um “Elution tube” (Tubo de eluição), fornecido com o ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Selecione “Perform Run” (Executar) a partir do ecrã “Home”.	Selecione “Perform Run” (Executar) a partir do ecrã “Home”	Selecione “Perform Run” (Executar) a partir do ecrã “Home”.
4	Retire os Suportes da “Cooler Unit” e coloque-os na mesa de preparação.	Retire os “Racks” de “Lane 1, 2 and 3” (L1, L2, L3) da “Cooler Unit” e coloque-os na mesa de preparação	Retire os “Racks” de “Lane 1, 2 and 3” (L1, L2, L3) da “Cooler Unit” e coloque-os na mesa de preparação.
5	Selecione o “Run mode”: “Extract + PCR” (Extrair + PCR).	Selecione o “Run mode”: “PCR Only” .	Selecione o “Run mode”: “PCR Only” .

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])
6	Carregue as amostras no "Sample Rack" (Suporte de amostras). Quando os tubos secundários "2 mL Tubes" forem carregados, use adaptadores azuis para o "Sample Rack" (Rack da amostra).	Carregue as amostras no "Elution Rack"(Rack de eluição).	Carregue os tubos de Positivo Control e Negative Control no "Elution Rack".
7	Insira o "Sample Rack" 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").	Insira o "Elution Rack" 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).	Insira o "Elution Rack" 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).
8	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
9	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume de entrada de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição extraído") é de 100 µL	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume de entrada de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição extraído") é de 100 µL	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição do extraído") é de 100 µL.
10	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").
11	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
	Nota: Quando forem processadas mais de 12 amostras, repita o procedimento a partir do ponto 6.		Não aplicável
12	Coloque os "Elution tubes" (Tubo de eluição) no "Elution Rack" (rack de eluição) (os tubos de eluição podem ser etiquetados com código de barras para melhorar a capacidade de localização).	Não aplicável	Não aplicável
13	Insira o "Elution Rack" na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 3" (L3). Quando mais de 12 amostras forem processadas, repita usando a "Lane 2" (L2).	Não aplicável	Não aplicável
14	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Não aplicável	Não aplicável
15	Carregue o CPE e a PCR Mix no "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição).	Carregue a PCR Mix no "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição).	Carregue a PCR Mix no "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição).

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])
16	Insira o "Reagent/Elution Rack" na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2) se estiver disponível, ou na "Lane 1" (L1). Se necessário, para cada reagente da PCR Mix e/ou CPE, insira o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações).	Insira o "Reagent/Elution Rack" na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2) se estiver disponível, ou na "Lane 1" (L1). Se necessário, para cada 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).
17	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
18	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.
19	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
20	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.
21	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
22	Carregue o "Extraction Rack" (rack de extração) com os cartuchos de extração "ELITE InGenius SP 200" e os consumíveis de extração necessários.	Não aplicável	Não aplicável
23	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
24	Prima "Start" (Iniciar).	Prima "Start" (Iniciar).	Prima "Start" (Iniciar).

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

NOTE

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

NOTE

No final da operação, a **PCR Mix** pode ser retirada do instrumento, tapada e armazenada a -20 °C ou abaixo ou pode ser mantida no bloco frigorífico durante até 7 horas (2 sessões de cerca 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 **Meningitis Bacterial 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**Limite de deteção (LdD)**

O Limite de deteção (LdD) do Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit foi definido em associação com as amostras de LCR e sangue total colhidas em EDTA e o sistema ELITE InGenius.

O LdD foi calculado através de testes a um painel de amostras de LCR e sangue total colhidas em amostras EDTA reforçadas com um material de referência de *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae* e *H. influenzae* tipo B a um título conhecido (fornecido por um laboratório externo). O LdD foi obtido por análise de regressão Probit dos dados com a concentração correspondente a 95% de probabilidade de um resultado positivo.

Os resultados finais são comunicados na tabela seguinte.

Table 12 Limite de deteção (organismos/mL) para amostras de LCR e sistema ELITE InGenius

Agente patogénico	LdD	intervalo de confiança de 95%	
		Limite inferior	Limite superior
<i>N. meningitidis</i>	34	21	172
<i>S. pneumoniae</i>	34	22	134

Table 12 Limite de detecção (organismos/mL) para amostras de LCR e sistema ELITE InGenius (continued)

Agente patogénico	LdD	intervalo de confiança de 95%	
		Limite inferior	Limite superior
<i>H. influenzae</i>	95	53	426
<i>H. influenzae</i> tipo B	66	41	197

Table 13 Limite de detecção (organismos/mL) para amostras de sangue total e sistema ELITE InGenius

Agente patogénico	LdD	intervalo de confiança de 95%	
		Limite inferior	Limite superior
<i>N. meningitidis</i>	56	37	130
<i>S. pneumoniae</i>	189	119	473
<i>H. influenzae</i>	172	112	400
<i>H. influenzae</i> tipo B	77	50	186

O valor de LdD calculado em associação com ST e LCR foi verificado nos instrumentos ELITE InGenius e ELITE BeGenius, testando um conjunto de amostras de matriz reforçadas com material de referência de cada agente patogénico na concentração indicada.

Eficiência da detecção (inclusividade)

A eficiência de detecção do ensaio para o gene *ctrA* de *N. meningitidis* encapsulado, gene *lytA* de *S. pneumoniae* encapsulado, gene *fucK* de *H. influenzae*, gene *bcsB* de *H. influenzae* tipo B encapsulado (inclusividade) foi avaliada por comparação de sequências com bases de dados de nucleótidos.

A análise das regiões escolhidas para a hibridização dos primários e das sondas fluorescentes no alinhamento das sequências disponíveis na base de dados para os patogénicos de interesse revelou a respetiva conservação e ausência de mutações significativas.

A detecção de estirpes de *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae* e *H. influenzae* tipo B também foi verificada pela análise de ADN genómico certificado a partir de amostras clínicas (fornecidas por um laboratório externo).

As amostras de ADN genómico certificado foram diluídas para um valor Ct de cerca de 30 e analisadas em associação com o sistema ELITE InGenius.

Os resultados finais são comunicados na tabela seguinte.

Table 14 Inclusividade

Organismos	Amostra	Positivo	Negativo
<i>N. meningitidis</i>	12 isolados clínicos	12	0
<i>S. pneumoniae</i>	12 isolados clínicos	12	0
<i>H. influenzae</i>	10 isolados clínicos	10	0
<i>H. influenzae</i> tipo B	12 isolados clínicos	12	0

Marcadores potencialmente interferentes

A potencial reatividade cruzada com outros organismos não pretendidos do ensaio foi avaliada pela análise *in silico* das sequências disponíveis na base de dados de nucleótidos EBI ENA.

As regiões escolhidas para a hibridização dos primários e as sondas fluorescentes foram verificadas no alinhamento das sequências de outros organismos procarióticos e eucarióticos. As regiões de hibridização revelaram a ausência de homologias significativas e não indicaram uma potencial interferência.

A ausência de reatividade cruzada com outros organismos que podem ser encontrados nas amostras de LCR e sangue total também foi verificada através de testes a um painel de materiais certificados (ATCC, Vircell, NIBSC e isolado clínico).

Foram analisadas amostras de ADN genómico de outros organismos em duplicado para cada organismo potencialmente de reatividade cruzada em associação com o sistema ELITE InGenius.

Os resultados finais são comunicados na tabela seguinte.

Table 15 Potencial reatividade cruzada

Organismo	Estirpe	Resultado
<i>E. coli</i>	Isolado clínico	Sem reatividade cruzada
<i>B. burgdorferi</i>	IRS	Sem reatividade cruzada
<i>L. monocytogenes</i>	53 XXIII	Sem reatividade cruzada
<i>S. agalactiae</i>	G19	Sem reatividade cruzada
HSV1	McIntyre	Sem reatividade cruzada
HSV2	G	Sem reatividade cruzada
VZV	Ellen	Sem reatividade cruzada
JCV	Norma internacional	Sem reatividade cruzada
BKV	Norma internacional	Sem reatividade cruzada
<i>T. gondii</i>	RH	Sem reatividade cruzada
Enterovírus	Pesascek	Sem reatividade cruzada

Todos os organismos foram negativos para os alvos quando testados pelo Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit.

A ausência de interferência por outros organismos que podem ser encontrados nas amostras de sangue total e LCR colhidas em amostras EDTA também foi verificada através de testes a um painel de materiais certificados (ATCC, Vircell, NIBSC e isolado clínico) reforçados com ADN certificado de *N. meningitidis*, *S. pneumoniae* e *H. influenzae* tipo B para uma concentração final de cerca de 10 cópias/reação.

Foram analisadas amostras de ADN genómico de outros organismos reforçadas com os alvos em duplicado para cada organismo potencialmente interferente em associação com o sistema ELITE InGenius.

Os resultados finais são comunicados na tabela seguinte.

Table 16 Potencial interferência

Organismo	Estirpe	Resultado
<i>E. coli</i>	Isolado clínico	Sem interferência
<i>B. burgdorferi</i>	IRS	Sem interferência
<i>L. monocytogenes</i>	53 XXIII	Sem interferência
<i>S. agalactiae</i>	G19	Sem interferência

Table 16 Potencial interferência (continued)

Organismo	Estirpe	Resultado
HSV1	McIntyre	Sem interferência
HSV2	G	Sem interferência
VZV	Ellen	Sem interferência
JCV	Norma internacional	Sem interferência
BKV	Norma internacional	Sem interferência
<i>T. gondii</i>	RH	Sem interferência
Enterovírus	Pesascek	Sem interferência

Nenhum dos organismos interferiu com a amplificação dos alvos quando testados pelo Meningitis Bacterial ELITe MGB Kit.

Potencial interferência entre alvos

A potencial interferência entre alvos do ensaio foi avaliada por um teste de coamplificação de ADN de plasmídeo contendo as sequências alvo de *N. meningitidis* (gene ctrA) encapsulado, de *S. pneumoniae*, (gene lytA) encapsulado, de *H. influenzae* (gene fuck) e *H. influenzae* tipo B (gene bcsB) encapsulado.

O painel incluiu amostras de ADN de plasmídeo para *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ou *H. influenzae* tipo B a uma elevada concentração (10^5 cópias/reação) e os outros agentes patogênicos de interesse a baixos níveis de concentração (por ex., 10^3 , 10^2 , 10 cópias/reação).

Cada condição foi analisada em duplicado em associação com o ELITe InGenius.

Para cada alvo, a mais baixa concentração detetável em duplicado na reação de coamplificação (cópias/reação, c./rxn) é comunicada na tabela seguinte.

Table 17 Interferência entre alvos

Alvo em teste	Alvo interferente em $\sim 10^5$ cópias/reação			
	<i>N. meningitidis</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>H. influenzae</i>	<i>H. influenzae</i> tipo B
<i>N. meningitidis</i> detetável a	-	10 c./rxn	10 c./rxn	10^2 c./rxn
<i>S. pneumoniae</i> detetável a	10 c./rxn	-	10 c./rxn	10^2 c./rxn
<i>H. influenzae</i> detetável a	10^2 c./rxn	2×10^3 c./rxn	-	n.a.*
<i>H. influenzae</i> tipo B detetável a	10 c./rxn	10 c./rxn	10^2 c./rxn	-

* não aplicável pois o *H. influenzae* tipo B fornece resultados positivos para o *H. influenzae* genérico.

Substâncias interferentes

Um painel de substâncias potencialmente interferentes a concentrações relevantes foi testado com o produto Meningitis Bacterial ELITe MGB Kit. As substâncias testadas foram EDTA, Rifampicina e Ampicilina.

As substâncias foram adicionadas individualmente a LCR (Rifampicina e Ampicilina) e a sangue total (EDTA) reforçados com cada material de referência de *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae* e *H. influenzae* tipo B (fornecidos por um laboratório externo) a uma concentração de 3x o LdD. As amostras foram processadas em três réplicas no ELITe InGenius no modo "Extract + PCR" (Extrair+PCR).

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Table 18 Substâncias interferentes: %CV (referência + teste)

Substância	<i>N. meningitides</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>H. influenzae</i>	<i>H. influenzae</i> tipo B	IC
Ampicilina	0,86	1,27	1,83	2,46	0,77
Rifampicina	1,14	1,28	1,36	2,75	0,81
EDTA	0,83	0,71	2,02	1,33	1,11

Todas as amostras tiveram resultado positivo para o alvo de interesse. A percentagem do coeficiente de variabilidade (% CV) dos valores Ct foi inferior a 5%. Verificou-se que nenhuma das substâncias testada nas concentrações testadas interferiu com a deteção do alvo pelo Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit

Repetibilidade

A repetibilidade do ensaio obtida foi avaliada no ELITE InGenius e no ELITE BeGenius através da análise de um painel de sangue total colhido em amostras EDTA, incluindo uma amostra negativa e amostras positivas reforçadas com os materiais de referência de cada alvo a uma concentração de cerca de 3-4x o LdD.

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

Table 19 Repetibilidade intra-sessão com amostras de sangue total no ELITE InGenius

Alvo	N	Ct médio	SD	%CV	% Concordância
<i>N. meningitidis</i>	6	34,07	0,25	0,74	100%
<i>S. pneumoniae</i>	6	32,08	0,14	0,45	
<i>H. influenzae</i>	6	31,98	0,29	0,92	
<i>H. influenzae</i> tipo B	6	30,58	0,27	0,88	
Internal Control	18	27,03	0,19	0,70	100%

Table 20 Repetibilidade intra-sessão com amostras de sangue total no ELITE BeGenius

Alvo	N	Ct médio	SD	%CV	% Concordância
<i>N. meningitidis</i>	6	34,28	0,29	0,83	100%
<i>S. pneumoniae</i>	6	31,83	0,17	0,53	
<i>H. influenzae</i>	6	32,41	0,12	0,37	
<i>H. influenzae</i> tipo B	6	31,30	0,25	0,80	
Internal Control	18	28,88	0,69	2,40	100%

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

Table 21 Repetibilidade inter-sessão com amostras de sangue total no ELITE InGenius

Alvo	N	Ct médio	SD	%CV	% Concordância
<i>N. meningitidis</i>	12	34,03	0,19	0,56	100%
<i>S. pneumoniae</i>	12	32,13	0,14	0,43	
<i>H. influenzae</i>	12	31,87	0,25	0,78	
<i>H. influenzae</i> tipo B	12	30,56	0,22	0,73	
Internal Control	36	27,13	0,23	0,86	100%

Table 22 Repetibilidade inter-sessão com amostras de sangue total no ELITE BeGenius

Alvo	N	Ct médio	SD	%CV	% Concordância
<i>N. meningitidis</i>	12	34,07	0,45	1,32	100%
<i>S. pneumoniae</i>	12	31,70	0,54	1,69	
<i>H. influenzae</i>	12	32,51	0,27	0,82	
<i>H. influenzae</i> tipo B	12	31,33	0,29	0,94	
Internal Control	36	28,78	0,63	2,20	100%

No teste de repetibilidade, o Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit apresentou, para cada alvo, uma variabilidade máxima dos valores Ct do alvo como %CV inferior a 5%.

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade inter-lote e inter-instrumento dos resultados obtidos pelo produto Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit em associação com o ELITE InGenius foi testada através da análise de um painel de amostras de LCR e de um painel de sangue total colhido em amostras EDTA. Cada painel foi reforçado com os materiais de referência de cada alvo numa concentração de cerca de 3x LdD.

Um exemplo de reprodutibilidade inter-lote (em três lotes) é apresentado nas tabelas abaixo

Table 23 Reprodutibilidade inter-lote com amostras de LCR no ELITE InGenius

Alvo	N	Ct médio	SD	%CV	% Concordância
<i>N. meningitidis</i>	18	37,18	0,52	1,41	100%
<i>S. pneumoniae</i>	18	36,41	0,72	1,98	
<i>H. influenzae</i>	18	38,23	0,64	1,68	
<i>H. influenzae</i> tipo B	18	35,59	0,48	1,36	
Internal Control	71/72	27,93	0,95	3,40	98,6%

Table 24 Reprodutibilidade inter-lote com amostras de sangue total no ELITE InGenius

Alvo	N	Ct médio	SD	%CV	% Concordância
<i>N. meningitidis</i>	18	36,81	0,39	1,05	100%
<i>S. pneumoniae</i>	18	34,40	0,30	0,88	
<i>H. influenzae</i>	18	38,38	0,56	1,45	
<i>H. influenzae</i> tipo B	18	35,72	0,61	1,72	
Internal Control	71/72	28,96	0,55	1,91	98,6%

Um exemplo de reprodutibilidade inter-instrumento (em três instrumentos) é apresentado nas tabelas abaixo.

Table 25 Reprodutibilidade inter-instrumento com amostras de LCR no ELITE InGenius

Alvo	N	Ct médio	SD	%CV	% Concordância
<i>N. meningitidis</i>	18	37,24	0,53	1,41	100%
<i>S. pneumoniae</i>	18	36,78	0,95	2,59	
<i>H. influenzae</i>	18	38,32	0,57	1,49	
<i>H. influenzae</i> tipo B	18	35,70	0,55	1,53	
Internal Control	72/72	28,55	1,11	3,90	100%

Table 26 Reprodutibilidade inter-instrumento com amostras de sangue total no ELITE InGenius

Alvo	N	Ct médio	SD	%CV	% Concordância
<i>N. meningitidis</i>	18	36,95	0,58	1,57	100%
<i>S. pneumoniae</i>	18	34,44	0,45	1,29	
<i>H. influenzae</i>	18	38,55	0,61	1,59	
<i>H. influenzae</i> tipo B	18	35,48	0,54	1,51	
Internal Control	72/72	29,36	1,04	3,54	100%

A reprodutibilidade inter-lote e inter-instrumento em associação com o ELITE BeGenius foi avaliada através da análise de apenas um painel de sangue total colhido em EDTA, incluindo uma amostra negativa e amostras positivas reforçadas com os materiais de referência de cada alvo a uma concentração de cerca de 3-4x o LdD.

Um exemplo de reprodutibilidade interlote (em dois lotes) é apresentado nas tabelas abaixo.

Table 27 Reprodutibilidade inter-lote com amostras de sangue total no ELITE BeGenius

Alvo	N	Ct médio	SD	%CV	% Concordância
<i>N. meningitidis</i>	12	34,07	0,36	1,07	100%
<i>S. pneumoniae</i>	12	31,75	0,30	0,94	
<i>H. influenzae</i>	12	32,53	0,21	0,63	
<i>H. influenzae</i> tipo B	12	31,27	0,23	0,73	
Internal Control	36	28,59	0,62	2,15	100%

Um exemplo de reprodutibilidade inter-instrumento (em dois instrumentos) é apresentado na tabela abaixo

Table 28 Reprodutibilidade inter-instrumento com amostras de sangue total no ELITE BeGenius

Alvo	N	Ct médio	SD	%CV	% Concordância
<i>N. meningitidis</i>	12	33,81	0,25	0,75	100%
<i>S. pneumoniae</i>	12	31,82	0,43	1,34	
<i>H. influenzae</i>	12	32,49	0,27	0,82	
<i>H. influenzae</i> tipo B	12	31,37	0,28	0,89	
Internal Control	36	28,15	0,39	1,39	100%

No teste de reprodutibilidade, o Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit apresentou, para cada alvo, uma variabilidade máxima dos valores Ct do alvo como %CV inferior a 5%.

Sensibilidade de diagnóstico: confirmação de amostras positivas

A sensibilidade de diagnóstico do ensaio, como confirmação de amostras clínicas positivas, foi avaliada em associação com o ELITE InGenius pela análise de amostras clínicas de LCR e sangue total colhidas em EDTA. As amostras foram certificadas como positivas ou reforçadas com materiais certificados de cada alvo.

Como o ELITE BeGenius apresentou desempenhos analíticos equivalentes ao ELITE InGenius, pode assumir-se que os resultados da sensibilidade do diagnóstico obtidos em associação com o ELITE InGenius são também aplicáveis ao ELITE BeGenius.

Os resultados estão resumidos nas tabelas seguintes.

Table 29 Sensibilidade de diagnóstico com amostras de LCR

Amostras de LCR positivas/reforçadas	N	Positivo	Negativo	Inválido	% de sensibilidade de diagnóstico
<i>N. meningitidis</i>	50	50	0	0	100 %
<i>S. pneumoniae</i>	50	50	0	0	100 %
<i>H. influenzae</i>	50	50	0	0	100 %
<i>H. influenzae</i> tipo B	20	20	0	0	100 %

Table 30 Sensibilidade de diagnóstico com amostras de sangue total

Amostras de sangue total positivas/ /reforçadas	N	Positivo	Negativo	Inválido	% de sensibilidade de diagnóstico
<i>N. meningitidis</i>	50	50	0	0	100 %
<i>S. pneumoniae</i>	57	57	0	0	100 %
<i>H. influenzae</i>	50	48	2	0	96,0 %
<i>H. influenzae</i> tipo B	20	20	0	0	100 %

Especificidade de diagnóstico: confirmação de amostras negativas

A sensibilidade de diagnóstico do ensaio, como confirmação de amostras clínicas negativas, foi avaliada em associação com o ELITE InGenius pela análise de amostras clínicas de LCR e sangue total colhidas em EDTA, certificadas negativas para cada alvo.

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

Os resultados estão resumidos nas tabelas seguintes.

Table 31 Especificidade de diagnóstico com amostras de LCR

Amostras de CSF negativas	N	Positivo	Negativo	Inválido	% de especificidade do diagnóstico
<i>N.meningitidis</i>	150	0	150	0	100 %
<i>S. pneumoniae</i>	150	1	149	0	99,3 %
<i>H. influenzae</i>	148	0	148	0	100 %
<i>H. influenzae</i> tipo B	150	0	150	0	100 %

Table 32 Especificidade de diagnóstico com amostras de sangue total

Amostras de sangue total negativas	N	Positivo	Negativo	Inválido	% de especificidade do diagnóstico
<i>N.meningitidis</i>	153	0	153	0	100 %
<i>S. pneumoniae</i>	149	4	145	0	97,3 %
<i>H. influenzae</i>	151	3	148	0	98,0 %
<i>H. influenzae</i> tipo B	153	0	153	0	100 %

O valor de corte de Internal Control Ct (IC Ct) está definido para 34 para as amostras de LCR e sangue-total, em associação com o ELITE InGenius e o ELITE BeGenius.

Robustez: resultados inválidos de amostras clínicas

A robustez do ensaio, como avaliação de resultados inválidos na primeira análise da amostra, foi verificada através da análise dos resultados obtidos a partir de análises clínicas de diferentes matrizes.

A percentagem de amostras inválidas foi verificada utilizando os resultados dos testes Sensibilidade do diagnóstico e Especificidade do diagnóstico. Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Table 33

Amostra	N	Resultado inválido	%
Amostras LCR	321	0	0 %
Amostras de sangue total	326	11	3,4 %

NOTE

Os dados e resultados completos dos testes realizados para avaliação das características de desempenho do produto com matrizes e o instrumento estão registados no ficheiro técnico do produto Meningitis Bacterial ELITe MGB Kit, FTP RTS300ING.

12 REFERÊNCIAS

- F. Takenori Higa et al. (2013) Mem. Inst. Oswaldo Cruz 108: 246-247
 D. Llull et al. (2006) Journal Of Clinical Microbiology 44: 1250-1256
 D. Wroblewski et al. (2013) Molecular and Cellular Probes 27: 86-89
 K. L. Meyler et al. (2012) Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 74: 356-362
 E. A. Lukhtanov et al. (2007) Nucleic Acids Res. 35: e30

13 LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Utilize este produto apenas com as seguintes amostras clínicas: líquido cefalorraquidiano (LCR) e sangue total colhido em EDTA.

Não use este produto com amostras que contêm heparina: a heparina inibe a reação de amplificação de ácidos nucleicos e pode causar resultados inválidos.

Neste momento, não existem dados disponíveis relativos ao desempenho do produto com as seguintes amostras clínicas: esfregaços nasofaríngeos, aspirados nasofaríngeos, saliva, lavagem broncoalveolar (LBA), aspirado dos brônquios (AB).

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

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

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

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

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

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

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

Um resultado negativo obtido com este produto indica que o ADN do alvo não foi detetado no ADN extraído da amostra; no entanto, 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 coinfeções, a sensibilidade de um alvo pode ser afetada pela amplificação de um segundo alvo (ver [11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO page 19](#)).

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 deteção do ADN do alvo.

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

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

No entanto, este risco residual associado à utilização prevista do produto foi ponderado em relação aos potenciais benefícios para o paciente e foi considerado aceitável.

14 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

Table 34

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 (3 horas cada no bloco de refrigeração da Inventory Area (área dos reagentes) ou na Cooler Unit). Não utilize a PCR Mix durante mais de 3 sessões consecutivas (7 horas no bloco de refrigeração da Inventory Area (área dos reagentes) ou na Cooler Unit). Não deixe a PCR Mix à temperatura ambiente durante mais do que 30 minutos. Utilize uma nova alíquota da PCR Mix.
Degradação da Positive Control.	Não use o Positive Control para mais de 4 sessões independentes (3 horas cada na área de extração ou na Cooler Unit). Utilize uma nova alíquota da Positive Control.
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELiTechGroup.

Table 35

Reação de Negative Control inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da PCR Mix e do Negative Control. Verifique os volumes da PCR Mix e do Negative Control.
Contaminação do Negative Control.	Não use o Negative Control para mais do que 1 sessão. Utilize uma nova alíquota de água de grau de biologia molecular.
Contaminação 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 36

Reação da amostra inválida	
Causas possíveis	Soluções
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 (3 horas cada na Inventory Area (área dos reagentes) ou na Cooler Unit). Não utilize a PCR Mix durante mais de 3 sessões consecutivas (7 horas no bloco de refrigeração da Inventory Area (área dos reagentes) ou na Cooler Unit). Não deixe a PCR Mix à temperatura ambiente durante mais do que 30 minutos. Utilize uma nova alíquota da PCR Mix.
Degradação do modelo do Controlo Interno.	Utilize uma nova alíquota de Controlo Interno.
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 37

Curva de dissociação anómala	
Causas possíveis	Soluções
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 38

Erro no cálculo de Ct	
Causas possíveis	Soluções
Concentração demasiado alta do alvo na amostra ou amostra com sinal de fluorescência anómalo.	<p>Se for observada uma amplificação significativa no gráfico de PCR, selecione o rastreio relacionado com a amostra e aprove manualmente o resultado como sendo positivo.</p> <p>Se não for observada uma amplificação significativa no gráfico de PCR, selecione o rastreio relacionado com a amostra e aprove manualmente o resultado como sendo negativo, ou deixe-o como inválido.</p> <p>Se for necessário um valor de Ct:</p> <ul style="list-style-type: none"> - repita a amplificação de amostra eluída com uma diluição 1:10 em água de grau de biologia molecular numa sessão “PCR Only” (apenas PCR). - repita a extração da amostra com uma diluição 1:10 em água de qualidade para biologia molecular numa sessão “Extract + PCR” (Extrair + PCR).

Table 39

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

15 SÍMBOLOS



Número de catálogo.



Limite máximo da temperatura.



Código de lote.



Prazo de validade (último dia do mês).

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



Identificação única do dispositivo



Contém suficiente para "N" testes.



Consultar as instruções de utilização.



Conteúdo.



Manter afastado da luz solar.



Fabricante.

16 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.

ELITe MGB® detection reagents are covered by one or more of U. S. Patent numbers 7319022, 7348146, 7381818, 7541454, 7671218, 7718374, 7723038, 7759126, 7767834, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529, and EP patent numbers 1687609, 1781675, 1789587, 2689031, 2714939, 2736916, 2997161 as well as applications that are currently pending.

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.

Appendix A Meningitis Bacterial 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.

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O produto **Meningitis Bacterial ELiTe MGB® Kit** consiste num dispositivo médico de diagnóstico in vitro que se destina a ser usado por profissionais de saúde como um ensaio de PCR em tempo real de ácidos nucleicos multiplexado e qualitativo para a deteção e identificação do ADN genómico de **Neisseria meningitidis**, **Streptococcus pneumoniae**, **Haemophilus influenzae** e **Haemophilus influenzae tipo B** em amostras clínicas.

O ensaio foi validado em associação com os instrumentos **ELiTe InGenius®** e **ELiTe BeGenius®**, sistemas automatizados e integrados para a extração, PCR em tempo real e interpretação dos resultados, usando amostras humanas de líquido cefalorraquidiano (LCR) e sangue total (ST) colhidas em EDTA.

O produto destina-se a ser utilizado como auxiliar no diagnóstico de infeções sistémicas e do sistema nervoso central por *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* e *Haemophilus influenzae* tipo B.

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

Sequência amplificada

Sequência	Gene	Fluoróforo	Canal
<i>N. meningitidis</i>	ctrA	AP593	Nmen
<i>S. pneumoniae</i>	lytA	FAM	Spne
<i>H. influenzae</i>	fucK	AP639	Hinf
<i>H. influenzae</i> tipo B	bcsB	AP525	HinfB
Internal Control	IC2	AP680	IC

Matriz validada

- Sangue total colhido em EDTA
- LCR

Conteúdo do Kit e produtos relacionados

Meningitis Bacterial ELITE MGB Kit Kit (RTS300ING)		Meningitis Bacterial - ELITE Positive Control (CTR300ING)	
 X 8		 X 3	
Mistura MB PCR 8 tubos de 280 µL 12 reações por tubo 96 reações por kit 7 ciclos de congelação-descongelação por tubo		MB Positive Control 3 tubos de 160 µL 4 reações por tubo 12 reações por kit 4 ciclos de congelação-descongelação	
Prazo de conservação máximo:	24 meses	Prazo de conservação máximo	24 meses
Temperatura de armazenamento	≤ -20°C	Temperatura de armazenamento	≤ -20°C

Outros produtos necessários não fornecidos no kit

<ul style="list-style-type: none"> › Instrumento ELITE InGenius: INT030. › Instrumento ELITE BeGenius: INT040. › ELITE InGenius SP 200: INT032SP200. › Conjunto de consumíveis ELITE InGenius SP200: INT032CS. 	<ul style="list-style-type: none"> › ELITE InGenius PCR Cassette: INT035PCR. › ELITE InGenius Waste Box: F2102-000. › Pontas de filtro Axigen de 300 µL: TF-350-L-R-S. › Pontas de filtro Tecan de 1000 µL: 30180118.
--	---

Protocolo ELITE InGenius e ELITE BeGenius

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

Desempenhos ELITE InGenius e ELITE BeGenius

Matriz	Alvo	Limite de detecção	Sensibilidade de diagnóstico	Especificidade do diagnóstico
LCR	<i>N. meningitidis</i>	34	100% 50/50*	100% 150/150*
	<i>S. pneumoniae</i>	34	100% 50/50*	99,3% 149/150*
	<i>H. influenzae</i>	95	100% 50/50*	100% 148/148*
	<i>H. influenzae</i> tipo B	66	100% 20/20*	100% 150/150*
WB	<i>N. meningitidis</i>	56	100% 50/50*	100% 153/153*
	<i>S. pneumoniae</i>	189	100% 57/57*	97,3% 145/149*
	<i>H. influenzae</i>	172	96% 48/50*	98% 148/151*
	<i>H. influenzae</i> tipo B	77	100% 20/20*	100% 153/153*

*amostras confirmadas/amostras testadas

Preparação da amostra

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

Table 40

Amostra	Requisitos de colheita	Condições de transporte/armazenamento			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ±10 °C	-70 ±15 °C
líquido cefalorraquidiano	Evitar a contaminação com sangue do doente	≤ 3 dias	≤ 3 dias	≤ 1 mês	período longo
sangue total	EDTA	≤ 3 dias	≤ 3 dias	≤ 1 mês	período longo

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

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

<p>1. Selecione “Perform Run” (Executar) no ecrã tátil</p>	<p>2. Verifique os volumes de extração: Entrada: “200 µL”, eluição: “100 µL”</p>	<p>3. Leia os códigos de barras das amostras com um leitor de códigos de barras manual ou escreva a identificação da amostra</p>
<p>4. Selecione o “Assay protocol” (Protocolo de ensaio) de interesse: MB ELITe_CSF_200_100 ou MB ELITe_WB_200_100</p>	<p>5. Selecione o método “Extract + PCR” (Extrair +PCR) e a posição da amostra: Extraction Tube (Tubo de extração)</p>	<p>6. Carregue a PCR Mix no Inventory Block (Gestor do reagente)</p>
<p>7. Carregue as PCR Cassettes, os cartuchos de extração ELITe InGenius SP 200 e todos os consumíveis e amostras necessários para serem extraídos</p>	<p>8. Feche a porta. Iniciar a execução</p>	<p>9. Visualize, aprove e guarde os resultados</p>

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)

<p>1. Selecione “Perform Run” (Executar) no ecrã tátil</p>	<p>2. Verifique os volumes de extração: Entrada: “200 µL”, eluição: “100 µL”</p>	<p>3. Leia os códigos de barras das amostras com um leitor de códigos de barras manual ou escreva a identificação da amostra</p>
<p>4. Selecione o “Assay protocol” (Protocolo de ensaio) de interesse: MB ELITe_PC ou MB ELITe_NC ou MB ELITe_CSF_200_100 ou MB ELITe_WB_200_100</p>	<p>5. Selecione o método “PCR Only” (Apenas PCR) e a posição da amostra “Elution Tube” (Tubo de eluição)</p>	<p>6. Carregue a PCR Mix no Inventory Block (Gestor do reagente)</p>
<p>7. Carregar: PCR cassette, Cartucho de extração, Tubo de eluição, Cassete de pontas, Racks do tubo de extração</p>	<p>8. Feche a porta. Iniciar a execução</p>	<p>9. Visualize, aprove e guarde os resultados</p>

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

<p>1. Ligue o ELITe BeGenius. Inicie sessão com o nome de utilizador e a palavra-passe. Selecione o modo “CLOSED” (Fechado).</p>	<p>2. Verifique os controlos: Positive Control e Negative Control no menu “Controls” (Controlos). Nota: Ambos devem ter sido executados, aprovados e não ter expirado.</p>	<p>3. Descongele os tubos de PCR Mix. 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 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: MB ELITE_Be_CSF_200_100 ou MB ELITE_Be_WB_200_100 <i>Nota:</i> se for realizada uma segunda extração, repita os passos 2 a 4	5. Imprima as etiquetas para colocar um código de barras nos tubos de eluição vazios. Carregue os tubos no rack de eluição e insira-o na Cooler Unit	6. Carregue a PCR Mix 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: MB ELITE_Be_PC ou MB ELITE_Be_NC ou MB ELITE_Be_CSF_200_100 ou MB ELITE_Be_WB_200_100	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
WEB site: www.elitechgroup.com

