



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

Uffici: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76 11
E-mail: emd.support@elitechgroup.com
Sito internet: www.elitechgroup.com

NOTICE of CHANGE dated 23/04/2024

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

« Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit » Ref. RTS401ING-48

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

- *Addition of UDI information*
- *Product Description: typo correction related to the alignment between targets and dyes*

Composition and use 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



DIESE FASSUNG DER GEBRAUCHSANLEITUNG IST KOMPATIBEL MIT DER VORHERIGEN VERSION DES TESTKITS



REF RTS401ING-48

Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit
reagente para amplificação em tempo real do ADN

PRINCÍPIOS DO ENSAIO

O ensaio é uma PCR qualitativa em tempo real que deteta ADN de *Mycoplasma genitalium* e as principais mutações associadas à resistência a macrolídeos, isolado de amostras e amplificado utilizando o reagente de ensaio R/MG PCR Mix, que contém primers e sondas de tecnologia ELITE MGB.

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

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

DESCRIÇÃO DO PRODUTO

O **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** fornece o reagentes do ensaio **R/MG PCR Mix**, uma mistura de PCR otimizada e estabilizada que contém os primers e sondas específicos de:

- Gene 23S rRNA de *M. genitalium*, detetado no Canal **MG**, a sonda é estabilizada por MGB, extinguida pelo Eclipse Dark Quencher®, e marcada pelo corante AquaPhluor® 525 (AP525),
- Controlo interno (**IC**), específico para a sequência artificial IC2, detetado no Canal **IC**; a sonda é estabilizada por MGB, inativado pelo Eclipse Dark Quencher® e identificado pelo corante AquaPhluor® 680 (AP680).

A **R/MG PCR Mix** também contém tampão, cloreto de magnésio, trifosfatos de nucleótido e DNA Polimerase de início a quente.

O **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** contém reagentes suficientes para **48 testes** no **ELITE InGenius** e **ELITE BeGenius (12 testes em cada tubo)**, com 20 µL usados por reação.

O **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** pode também ser usado em associação com instrumentos equivalentes.

MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO

Componente	Descrição	Quantidade	Classificação dos perigos
R/MG PCR Mix ref. RTS401ING-48	Mistura de reagentes para PCR em tempo real o tubo com tampa BRANCA	4 x 280 µL	-

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO

- Câmara de fluxo laminar.
- Luvas de nitrilo sem pó descartáveis ou material semelhante.
- Misturador de vórtice.
- Microcentrifuga de bancada (~3.000 RPM).
- Microcentrifuga 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.

Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit

reagentes para PCR em tempo real do ADN

REF RTS401ING-48



UDI 08033891486686

ÍNDICE

UTILIZAÇÃO PREVISTA
PRINCÍPIOS DO ENSAIO
DESCRIÇÃO DO PRODUTO
MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO
MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO
OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS
AVISOS E PRECAUÇÕES
AMOSTRAS E CONTROLOS
PROCEDIMENTO ELITE InGenius
PROCEDIMENTO ELITE BeGenius
CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO
REFERÊNCIAS
LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO
RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS
SÍMBOLOS
NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA
ANEXO: GUIA DE INICIAÇÃO RÁPIDA

página 1
página 2
página 2
página 2
página 2
página 3
página 3
página 4
página 6
página 11
página 14
página 21
página 21
página 23
página 26
página 27
página A

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O produto **Macrolide-R/MG 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 dos ácidos nucleicos qualitativo para a deteção de ADN de *Mycoplasma genitalium* e para identificação das principais mutações associadas à resistência aos Macrolídeos.

O ensaio é validado em associação com os instrumentos **ELITE InGenius®** e **ELITE BeGenius®**, automatizados e integrados para extração, PCR em tempo real e interpretação de resultados, utilizando amostras humanas de primeira urina da manhã recolhidas sem conservantes.

O produto destina-se a ser utilizado como auxiliar no diagnóstico de infeções do trato uro-genital, em conjunto com outros resultados de análises laboratoriais e dados clínicos.

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

OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS

Os reagentes para extração do ADN de amostra, o controlo interno da extração e inibição, o positivo control e o negativo 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:

Instrumento e software	Produto e reagentes
<p>ELITE InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, ref. INT030).</p> <p>ELITE InGenius Software versão 1.3.0.17 (ou superior).</p> <p>R_MG ELITE_PC, Protocolo de Ensaio (Assay Protocol) com parâmetros para análise do Positive Control.</p> <p>R_MG ELITE_NC, Protocolo de Ensaio (Assay Protocol) com parâmetros para análise do Negative Control.</p> <p>R_MG ELITE_U_200_100, Protocolo de Ensaio (Assay Protocol) com parâmetros para análise de amostras da primeira urina da manhã.</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>ELITE BeGenius (EG SpA, ref. INT040).</p> <p>ELITE BeGenius Software versão 2.1.0 (ou superior).</p> <p>R_MG ELITE_Be_PC, Protocolo de Ensaio (Assay Protocol) com parâmetros para análise do Positive Control.</p> <p>R_MG ELITE_Be_NC, Protocolo de Ensaio (Assay Protocol) com parâmetros para análise do Negative Control.</p> <p>R_MG ELITE_Be_U_200_100, Protocolo de Ensaio (Assay Protocol) com parâmetros para análise de amostras da primeira urina da manhã.</p>	<p>1000 µL Filter Tips Tecan (Tecan, Switzerland, ref. 30180118) com o ELITE BeGenius apenas.</p> <p>CPE - Internal Control (EG SpA, ref. CTRCPE).</p> <p>Macrolide-R/MG - ELITE Positive Control (EG SpA, ref. CTR401ING).</p>

AVISOS E PRECAUÇÕES

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

Avisos e precauções gerais

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

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

Use vestuário e luvas de proteção adequados e proteja os olhos e o rosto.
Nunca deve pipetar soluções com a boca.

Não coma, beba, fume ou aplique produtos cosméticos nas áreas de trabalho.
Lave cuidadosamente as mãos após manusear amostras e reagentes.

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

Leia atentamente todas as instruções fornecidas antes de efetuar o ensaio.
Durante a realização do ensaio, siga as instruções fornecidas com o produto.
Não utilize o produto após a data de validade indicada.

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

Não use reagentes de lotes diferentes.
Não use reagentes de outros fabricantes.

Avisos e precauções para biologia molecular

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

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

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

Os reagentes devem ser manuseados sob uma câmara de fluxo laminar. As pipetas usadas no manuseamento dos reagentes devem ser usadas exclusivamente para este fim. As pipetas devem ser do tipo de deslocação positiva ou ser usadas com pontas com filtro de aerossóis. As pontas usadas devem ser esterilizadas, estar 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 emanação do produto da PCR para o ambiente e a contaminação da amostra e do reagente.

Avisos e precauções específicos para os componentes

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

*com congelamento intermédio

AMOSTRAS E CONTROLOS

Amostras

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

Amostra	Requisitos de colheita	Condições de transporte/armazenamento			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)*	+2° / +8°C*	-20 ±10 °C	-70 ±15 °C
Primeira urina	colhidas sem conservantes	≤ 5 dias	≤ 5 dias	≤ 2 meses	≤ 2 anos

*Referência: G. L. Murray et al

A primeira urina da manhã pode ser usada "tal como está" ou a uma concentração de 10 vezes por centrifugação a cerca de 1.125 RCF durante 10 minutos.

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

Protocolos do ensaio para o Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit				
Amostra	Instrumento	Nome do protocolo de ensaio	Relatório	Características
Primeira urina colhida sem conservantes	ELITE InGenius	R_MG ELITE_U_200_100	Positivo / Negativo	Volume inicial de extração: 200 µL Volume de eluição do extraído: 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	R_MG ELITE_Be_U_200_100		

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

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

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

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

Controlos da PCR

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

- Para o Positivo Control, use o produto **Macrolide-R/MG - ELITE Positive Control** (não fornecido com este kit) com os protocolos de ensaio (Assay Protocols) **R_MG ELITE_PC** ou **R_MG ELITE_Be_PC**,
- Para o Negative Control, utilize água de grau biológico molecular (não fornecida com este kit) com os Protocolos de Ensaio (Assay Protocols) **R_MG ELITE_NC** ou **R_MG ELITE_Be_NC**.

Nota: 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 controlos positivos e negativos. 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 **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.

PROCEDIMENTO do ELITE InGenius

O procedimento para uso do **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** com o **ELITE InGenius** é composto por três passos:

PASSO	Descrição	
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	A) Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control
		B) Validação dos resultados da amostra
		C) Elaboração do relatório do resultado da amostra

PASSO 1 - Verificação da disponibilidade do sistema

Antes de iniciar a sessão:

- ligar o **ELITE InGenius** e iniciar sessão no modo "**CLOSED**",
- no menu "Controls" (Controlos) da página inicial, verifique se os Controlos da PCR (**MG Positive Control**, **R/MG Negative Control**) estão aprovados e válidos (estado) para o lote de **R/MG PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja controlos de PCR válidos disponíveis para o lote de **R/MG 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.

PASSO 2 - Configuração da sessão

O **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** pode ser usado no **ELITE InGenius** para realizar:

- Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair+PCR]),
- Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR]),
- Execução de Positive Control e Negative Control (PCR Only [apenas PCR]).

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

Nota: 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 da **R/MG 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.

Nota: 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

	A. Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair+PCR])	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [apenas PCR])	C. Execução de Controle positivo e negativo (PCR Only [apenas PCR])
1	Identifique amostras e, se necessário, descongele até à temperatura ambiente. Para este ensaio, 200 µL da amostra devem ser transferidos para 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 Positivo Control à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. (Cada tubo é suficiente para 4 reações.)
2	Descongele os tubos de CPE necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Cada tubo é suficiente para 12 extrações.	Não aplicável	Prepare o Negative Control transferindo pelo menos 50 µL de água de grau de biologia molecular para um "Elution tube", fornecido com o ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Página inicial).	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Página inicial).	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Página inicial).
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 Rastreamento e introduza a "SampleID" (SID) digitando ou lendo o código de barras da amostra.	Para cada amostra, atribua um Rastreamento e introduza a "SampleID" (SID) digitando ou lendo o código de barras da amostra.	Não aplicável
6	Selecione o Protocolo de Ensaio na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").	Selecione o Protocolo de Ensaio na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").	Selecione o Protocolo de Ensaio na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos"). Introduza o número do lote e a data de validade do Positive Control e da água de grau biológico molecular.
7	Certifique-se de que o "Protocol" (Protocolo) apresentado é: "Extract + PCR" (Extrair + PCR).	Selecione "PCR Only" (Apenas PCR) na coluna "Protocol" (Protocolo).	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 o número de lote, data de validade e o número de reações da CPE and 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.
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.

	A. Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair+PCR])	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [apenas PCR])	C. Execução de Controle positivo e negativo (PCR Only [apenas PCR])
13	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
14	Carregue a PCR Cassette, os cartuchos de extração Elite InGenius SP 200 e todos os consumíveis e amostras necessários para serem extraídos	Carregue a PCR Cassette e o tubo de eluição com as amostras extraídas.	Carregue a PCR Cassette, e os tubos de Positive Control e Negative Control.
15	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
16	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
17	Prima "Start" (Iniciar).	Prima "Start" (Iniciar).	Prima "Start" (Iniciar).

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

Nota: 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.

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

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

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

Nota: 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.

PASSO 3 - Revisão e aprovação dos resultados

O **ELITE InGenius** monitoriza os sinais de fluorescência do alvo e do controlo interno para cada reação e aplica automaticamente os parâmetros do 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.

Nota: O sistema **ELITE InGenius** pode ser ligado ao "Laboratory Information System" (servidor de informação da localização - LIS), que permite carregar os resultados da sessão no centro de dados laboratoriais. Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

O **ELITE InGenius** gera os resultados utilizando o **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** através do seguinte procedimento:

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

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

O software **ELITe InGenius** interpreta os resultados da PCR para os alvos das reações de Positive Control e Negative Control com os parâmetros dos protocolos de ensaio (Assay Protocols) **R_MG ELITe_PC** e **R_MG ELITe_NC**. Os valores de Ct e Tm resultantes são usados para verificar o sistema (lote de reagentes e instrumento).

Os resultados do positive control e negative control, específicos para o lote de reagente de PCR usado, 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 do positive control e negative control expiram **após 15 dias**.

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

Nota: Se o resultado do Positive Control e Negative Control não cumprir os critérios de aceitação, é mostrada a mensagem "Failed" (Reprovado) no ecrã "Controls" (Controlos). Neste caso, os resultados não podem ser aprovados e as execuções de Positive Control e Negative Control têm de ser repetidas.

Nota: Se o Positive Control e Negative Control forem inválidos 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.

B. Validação dos resultados da amostra

O **ELITe InGenius software** interpreta os resultados de PCR para o alvo (canal **MG**) e o Controlo Interno (canal **IC**) com os parâmetros do Protocolo de Ensaio **R_MG ELITe_U_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.

1) Positive Control	Estado
Controlo positivo R/MG	APROVADO
2) Negative Control	Estado
Controlo negativo R/MG	APROVADO

Os resultados da amostra são automaticamente interpretados pelo **ELITe InGenius software** usando os parâmetros do protocolo do ensaio. Estão listadas na tabela abaixo as possíveis mensagens de resultado.

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

Resultado da execução da amostra	Interpretação
MG:DNA detected. Macrolide Resistance Positive (MG:DNA Detetado. Resistência a Macrólídeos Positiva)	Foi detetado ADN de <i>Mycoplasma genitalium</i> na amostra. Foi detetada uma mutação na região do gene testada. A amostra podia ser resistente a Macrólídeos .
MG:DNA detected. Macrolide Resistance Negative (MG:DNA Detetado. Resistência a Macrólídeos Negativa)	Foi detetado ADN de <i>Mycoplasma genitalium</i> na amostra. Não foi detetada qualquer mutação na região do gene testada. A amostra podia ser sensível a Macrólídeos .
MG:DNA detected - Typing not feasible-Retest Sample (MG:DNA Detetado - Digitação nviável-Retesta da amostra)	Foi detetado ADN de <i>Mycoplasma genitalium</i> na amostra mas é insuficiente para prosseguir com a análise da resistência a Macrólídeos. O teste deve ser repetido.
MG:DNA detected. Typing not determined. (MG:DNA Detetado Typing not determined)	Foi detetado ADN de <i>Mycoplasma genitalium</i> na amostra mas a análise da resistência à macrólídeos não é viável.
MG:DNA not detected or below the LoD (MG:DNA Não detetado ou abaixo de LoD)	Não foi detetado ADN De <i>Mycoplasma genitalium</i> na amostra. A amostra é válida negativa ou a concentração alvo está abaixo do limite de deteção do ensaio.
Invalid-Retest Sample (Inválido-Testar novamente a amostra)	Resultado do ensaio não válido devido a falha do Controlo Interno (extração incorreta, transferência de inibidores). O teste deve ser repetido.

As amostras indicadas como "MG:DNA detected - Typing not feasible-Retest Sample" (MG:DNA Detetado - Digitação nviável-Retesta da amostra) não são adequadas para a análise da resistência a macrólídeos. Neste caso, o ADN MG foi detetado para o ADN não é suficiente para obter resultados corretos da resistência a Macrólídeos de uma forma passível de ser reproduzida. Isto acontece devido a uma baixa concentração de *Mycoplasma genitalium* na amostra ou a problemas no passo de amplificação ou extração (degradação do ADN, perda de ADN durante a extração ou transferência de inibidores na eluição). O teste necessita de ser repetido.

Nota: Nas amostras indicadas como "MG:DNA detected - Typing not feasible-Retest Sample" (MG:DNA Detetado - Digitação nviável-Retesta da amostra) o resultado não pode ser aprovado, mas o valor Tm pode ser verificado pelo operador. Se o valor de Tm for inferior a 63,0 °C (limite inferior de Tm do tipo selvagem) a amostra é "MG DNA detected. Macrolide resistance positive".(MG:DNA Detetado. Resistência a Macrólídeos Positiva)

As amostras reportadas como "MG:DNA detected. Typing not determined" (MG:DNA Detetado. Typing not determined) sem qualquer indicação do estado de resistência a macrólídeos não é adequada para genotipificação. Neste caso, o ADN do alvo foi detetado na amostra, mas não foi possível calcular um Tm ou o valor de Tm calculado estava fora dos intervalos de Tm para tipificação. Neste último caso pode dever-se a mutações diferentes das pretendidas, amostras não recolhidas corretamente ou a problemas no passo de extração (transferência do inibidor para o eluato).

Amostras reportadas como: "MG:DNA not detected or below the LoD" (MG:DNA Não detetado ou abaixo de LoD) são adequadas para análise mas não foi possível detetar ADN MG. Neste caso não pode excluir-se que o ADN MG está presente a uma concentração abaixo do limite de deteção do ensaio (ver "Características de desempenho").

Amostras indicadas como "Invalid - Retest Sample" (Inválido - testar novamente amostra): caso, o ADN do Controlo Interno não foi detetado eficientemente devido a problemas nos passos de colheita, extração ou PCR da amostra (por ex. amostragem incorreta, degradação ou perda do ADN durante a extração ou inibidores na eluição), que pode causar resultados incorretos.

Se subsistir volume da eluição suficiente, o eluato pode ser novamente testado através de uma execução da amplificação no modo "PCR Only" (apenas PCR). Se o segundo resultado for inválido, a amostra deve ser novamente testada começando a partir da extração de uma nova amostra utilizando o modo "Extract + PCR" (modo "Troubleshooting" (Resolução de problemas)).

Nota: 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).

C. Elaboração do relatório do resultado da amostra

Os resultados da amostra são guardados na base de dados e os relatórios podem ser exportados como "Sample Report" (Relatório da amostra) e "Track Report" (Relatório da calha).

O "Sample Report" (Relatório da amostra) apresenta os detalhes dos resultados pela amostra selecionada (SID).

O "Track Report" (Relatório da calha) 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.

PROCEDIMENTO do ELITE BeGenius

O procedimento para uso do **GI Bacterial MG ELITE MGB Kit** com o **ELITE BeGenius** é composto por três passos:

PASSO	Verificação da prontidão do sistema	
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	A) Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control
		B) Validação dos resultados da amostra
		C) Elaboração do relatório do resultado da amostra

PASSO 1 - Verificação da disponibilidade do sistema

Antes de iniciar a sessão:

- ligue o **ELITE BeGenius** e inicie sessão no modo "**CLOSED**",
- no menu "Controls" da página inicial, verifique se os controlos da amplificação (**MG Positive Control**, **MG Negative Control**) estão aprovados e válidos (estado) para o lote de **MG Q-PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja controlos de PCR válidos disponíveis para o lote da **R/MG 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.

PASSO 2 - Configuração da sessão

O **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** pode ser usado no **ELITE BeGenius** para realizar:

- Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair+PCR]),
- Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR]),
- Execução de Positive Control e Negative Control (PCR Only [apenas PCR]).

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

Nota: 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 da **R/MG 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.

Nota: 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:

	A. Execução da amostra (Extract + PCR) [Extrair+PCR]	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [apenas PCR])	C. Execução de Controlo positivo e negativo (PCR Only [apenas PCR])
1	Identifique amostras e, se necessário, descongele até à temperatura ambiente. Para este ensaio, 200 µL da amostra devem ser transferidos para o tubo Sarstedt de 2 mL previamente identificado.	Se necessário, descongele os Elution tubes (tubos de eluição) contendo os ácidos nucleicos extraídos à temperatura ambiente. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.	Descongele os tubos de Positive Control à temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para 4 reações. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.
2	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	Como Negative Control , transfira pelo menos 50 µL de água de qualidade para biologia molecular para um "Elution tube", fornecido com o ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Selecione " Perform Run " (Executar) a partir do ecrã "Home" (Página inicial).	Selecione " Perform Run " a partir do ecrã "Home"	Selecione " Perform Run " (Executar) a partir do ecrã "Home" (Página inicial).
4	Retire os Suportes da "Cooler Unit" (Unidade refrigeradora) e coloque-os na mesa de preparação.	Retire os "Racks" de "Lane 1, 2 and 3" (L1, L2, L3) da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação.	Retire os "Racks" de "Lane 1, 2 and 3" (L1, L2, L3) da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação.
5	Selecione o "Run mode": " Extract + PCR " (Extrair + PCR).	Selecione o "Run mode": " PCR Only ".	Selecione o "Run mode": " PCR Only ".
6	Carregue as amostras no "Sample Rack" (Suporte da amostras). Quando os tubos secundários "2 mL Tubes" forem carregados, use adaptadores azuis para o "Sample Rack".	Carregue as amostras no "Elution Rack" (Rack de eluição).	Carregue os tubos de Positive Control e Negative Control no "Elution Rack" (Rack de eluição).
7	Insira o "Sample Rack" na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 5" (L5). 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 eluição do 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 do 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 do 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 do extraído) é de 100 µL.

Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit
reagente para amplificação em tempo real do ADN

REF RTS401ING-48

10	Selecione o Protocolo de Ensaio na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos")	Selecione o Protocolo de Ensaio na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos")	Selecione o Protocolo de Ensaio na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos")
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.		-
12	Coloque os "Elution tubes" no "Elution Rack" (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 PJ PCR Mix no "Reagent/Elution Rack".	Carregue a PCR Mix no "Reagent/Elution Rack".	Carregue a PCR Mix no "Reagent/Elution Rack".
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 de PCR Mix e/ou CPE, insira o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações).	Insira o "Reagent/Elution Rack" na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2) se estiver disponível, ou na "Lane 1" (L1). Se necessário, para cada reagente de PCR Mix, insira o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações).	Insira o "Reagent/Elution Rack" na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2) se estiver disponível, ou na "Lane 1" (L1). Se necessário, para cada reagente de PCR Mix, insira o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações).
17	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
18	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.
19	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
20	Coloque o "PCR Rack" com a "PCR Cassette" na Inventory Area (área dos reagentes).	Coloque o "PCR Rack" com a "PCR Cassette" na Inventory Area (área dos reagentes).	Coloque o "PCR Rack" com a "PCR Cassette" na Inventory Area (área dos reagentes).
21	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
22	Carregue o "Extraction Rack" (rack de extração) com os cartuchos de extração "ELITE InGenius SP 200" e os consumíveis de extração necessários.	Não aplicável	Não aplicável
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.

Nota: 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.

Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit
reagente para amplificação em tempo real do ADN

REF RTS401ING-48

Nota: 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 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.

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

Nota: O **R/MG Positive Control** pode ser usado para 4 sessões separadas de 3 horas cada.

Nota: 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.

PASSO 3 - Revisão e aprovação dos resultados

O **ELITE BeGenius** monitoriza os sinais de fluorescência do alvo e do controlo interno para cada reação e aplica automaticamente os parâmetros do 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.

Nota: 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.

O **ELITE BeGenius** gera os resultados utilizando o **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** através do seguinte procedimento:

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

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

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Limite de deteção (LdD)

O limite de deteção (LdD) do ensaio foi determinado para o instrumento **ELITE InGenius** testando as amostras da primeira urina da manhã sem conservantes reforçadas com material de referência de *Mycoplasma genitalium* (Qnostics, Reino Unido, código MG1803023B).

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Limite de deteção (organismos/mL) para amostras de primeira urina e sistema ELITE InGenius		
LdD	Limites de intervalo de 95% de confiança	
	Limite inferior	Limite superior
247	155	634

O valor do LdD calculado foi verificado testando no **ELITE InGenius** e **ELITE BeGenius** amostras da primeira urina da manhã e urina concentrada reforçadas com material de referência de *Mycoplasma genitalium* (DSMZ, DSM 19775) à concentração declarada.

Os resultados obtidos confirmaram a alegada concentração para o alvo do vos do Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit com as duas matrizes tanto no ELITE BeGenius como no ELITE InGenius.

Deteção da resistência a Macrólidos

A deteção da resistência aos macrólídeos foi avaliada para o ensaio testando amostras certificadas pelo ELITE InGenius (fornecidas por um laboratório externo) e ADN de plasmídeos portadores da região amplificada do gene 23S rRNA com as principais mutações relacionadas com a resistência aos antibióticos listadas na tabela abaixo:

Mutação
A2058G
A2058C
A2058T
A2059G
A2059C
A2062G
A2062T

Nota: O ensaio pode detetar outras mutações na mesma região do gene 23S rARN, tais como A2062C. No entanto, esta mutação não parece estar associada à resistência aos macrólídeos.

Os resultados do teste são reportados na secção seguinte sobre a Eficiência da deteção. Todos os isolados e ADNs plasmídeos foram detetados como *Mycoplasma genitalium* positivo e com tipagem correta como possivelmente resistente a Macrólidos pelo produto Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit.

Inclusividade: Eficiência da deteção

A eficiência da deteção do ensaio para *Mycoplasma genitalium*, incluindo as variantes resistentes à azitromicina, foi avaliada pela análise *in silico* das sequências disponíveis na base de dados de nucleótidos EBI ENA.

A análise revelou a conservação das sequências e a ausência de mutações significativas. Assim, espera-se uma deteção eficiente de estirpes e/ou isolados.

A eficiência da deteção também foi verificada através da análise de ADN genómico certificado a partir de amostras clínicas (fornecidas por um laboratório externo) e de ADN de plasmídeo incluindo mutações para a resistência da azitromicina.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Amostra	Pos. / Rep.	Mut. /Rep.
<i>M. genitalium</i> wt	3/3	0/3
pMG A2058G	3/3	3/3
pMG A2058C	3/3	3/3
pMG A2058T	3/3	3/3
pMG A2059G	3/3	3/3
pMG A2059C	3/3	3/3
pMG A2062G	12/12	12/12
pMG A2062T	12/12	12/12
MG 410 (A2058G)	1/1	1/1
MG 426 (A2058G)	1/1	1/1
MG 539 (A2059G)	1/1	1/1
MG 540 (A2058G)	1/1	1/1

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 outras bactérias e vírus. As regiões de hibridização revelaram a ausência de homologies significativas e não indicaram uma potencial interferência.

A ausência de reatividade cruzada com outros organismos que podem ser encontrados nas amostras clínicas da urina também foi verificada através de testes a um painel de materiais certificados (ATCC e Vircell Microbiologist).

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Potencial reatividade cruzada		
Organismo	Estirpe	Resultado
<i>Chlamydia trachomatis</i>	LGV II	Sem reatividade cruzada
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	DSM 9188	Sem reatividade cruzada
<i>Trichomonas vaginalis</i>	Isolado clínico	Sem reatividade cruzada
<i>Mycoplasma hominis</i>	PG21	Sem reatividade cruzada
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	NCTC10177	Sem reatividade cruzada
<i>Escherichia coli</i>	CFT073	Sem reatividade cruzada
<i>Ureaplasma parvum</i>	NCTC 11736	Sem reatividade cruzada
<i>Treponema pallidum</i>	Nichols	Sem reatividade cruzada
<i>Gardnerella vaginalis</i>	594	Sem reatividade cruzada
<i>Mobiluncus mulieris</i>	BV 64-5	Sem reatividade cruzada
<i>Bacteroides fragilis</i>	NCTC 9343	Sem reatividade cruzada
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	MSHD	Sem reatividade cruzada
<i>Candida albicans</i>	3147	Sem reatividade cruzada
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Pak	Sem reatividade cruzada
HSV1	McIntyre	Sem reatividade cruzada
HSV2	G	Sem reatividade cruzada

Todos os organismos com potencial de reatividade cruzada foram negativos para os alvos quando testados pelo Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit.

A ausência de interferência por outros organismos que podem ser encontrados em amostras clínicas de urina foi verificada através de testes a um painel de materiais certificados fortificados com ADN de *Mycoplasma genitalium* (Vircell Microbiologist) a uma concentração baixa.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Potencial interferência		
Organismo	Estirpe	Resultado
<i>Chlamydia trachomatis</i>	LGV II	Sem interferência
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	DSM 9188	Sem interferência
<i>Trichomonas vaginalis</i>	Isolado clínico	Sem interferência
<i>Mycoplasma hominis</i>	PG21	Sem interferência
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	NCTC10177	Sem interferência
<i>Escherichia coli</i>	CFT073	Sem interferência
<i>Ureaplasma parvum</i>	NCTC 11736	Sem interferência
<i>Treponema pallidum</i>	Nichols	Sem interferência
<i>Gardnerella vaginalis</i>	594	Sem interferência
<i>Mobiluncus mulieris</i>	BV 64-5	Sem interferência
<i>Bacteroides fragilis</i>	NCTC 9343	Sem interferência
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	MSHD	Sem interferência
<i>Candida albicans</i>	3147	Sem interferência
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Pak	Sem interferência
HSV1	Molntyre	Sem interferência
HSV2	G	Sem interferência

Nenhum dos potenciais organismos interferentes interferiu com a amplificação do alvo quando testados pelo Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit.

Substâncias interferentes

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

Os valores Ct do alvo e do Controlo Interno foram usados para calcular a percentagem do Coeficiente de Variabilidade (%CV) para avaliar a possível interferência.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

%CV Ct (Ref. + teste)		
Substância	<i>M. genitalium</i>	CI
Sangue total	1,06	1,12
Esperma	1,22	1,03
Mucina	2,36	1,23
Azitromicina	3,74	1,37

Todas as amostras tiveram resultado positivo para o alvo de interesse. A percentagem do Coeficiente de Variabilidade (%CV) dos valores Ct foi inferior a 4%. Verificou-se que nenhuma das substâncias testada nas concentrações testadas interferiu com a deteção do alvo pelo Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit.

Repetibilidade

A repetibilidade do ensaio foi avaliada no ELITE BeGenius e no ELITE InGenius por análise de um painel de amostras da primeira urina da manhã negativas ou reforçadas com *Mycoplasma genitalium* (DSMZ, DSM 19775).

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

Repetibilidade intra-sessão no ELITE BeGenius					
Amostra	Pos./Neg.	<i>Mycoplasma genitalium</i>			%Concordância
		Ct médio	SD	% CV	
Negativo	0 / 8	N/A	N/A	N/A	100%
3X o LoD	8 / 8	34,59	0,69	1,98	100%
10X o LoD	8 / 8	32,51	0,41	1,25	100%

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

Repetibilidade intra-sessão no ELITE InGenius					
Amostra	Pos./Neg.	<i>Mycoplasma genitalium</i>			%Concordância
		Ct médio	SD	% CV	
Negativo	0 / 8	N/A	N/A	N/A	100%
3X o LoD	8 / 8	35,97	0,64	1,77	100%
10X o LoD	8 / 8	32,66	0,30	0,93	100%

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

Repetibilidade inter-sessão no ELITE BeGenius					
Amostra	Pos./Neg.	<i>Mycoplasma genitalium</i>			%Concordância
		Ct médio	SD	% CV	
Negativo	0 / 16	N/A	N/A	N/A	100%
3X o LoD	16 / 16	35,18	0,98	2,78	100%
10X o LoD	16 / 16	32,79	0,45	1,37	100%

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

Repetibilidade inter-sessão no ELITE InGenius					
Amostra	Pos./Neg.	<i>Mycoplasma genitalium</i>			%Concordância
		Ct médio	SD	% CV	
Negativo	0 / 16	N/A	N/A	N/A	100%
3X o LoD	16 / 16	36,13	0,80	2,21	100%
10X o LoD	16/16	32,91	0,57	1,73	100%

No teste de repetibilidade, o Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit detetou todas as amostras conforme esperado e apresentou uma variabilidade máxima dos valores de Ct do alvo como %CV igual a 2.78%.

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade do ensaio foi avaliada no ELITE BeGenius e no ELITE InGenius, através da análise de um painel de amostras da primeira urina da manhã negativas ou reforçadas com *Mycoplasma genitalium* (DSMZ, DSM 19775).

Os resultados da Reprodutibilidade Interlote (dois lotes) no ELITE BeGenius são mostrados na tabela abaixo.

Repetibilidade interlote no ELITE BeGenius					
Amostra	Pos. / Rep.	Mycoplasma genitalium			%Concordância
		Ct médio	SD	%CV	
Negativo	0 / 8	-	-	-	100%
3 X LdD	8 / 8	35,75	0,27	0,75	100%
10 X LdD	8 / 8	33,16	0,74	2,23	100%

Os resultados da Reprodutibilidade Interlote (dois lotes) no ELITE InGenius são apresentados na tabela abaixo.

Repetibilidade interlote no ELITE InGenius					
Amostra	Pos. / Rep.	Mycoplasma genitalium			%Concordância
		Ct médio	SD	%CV	
Negativo	0 / 8	-	-	-	100%
3 X LdD	8 / 8	35,79	0,83	2,31	100%
10 X LdD	8 / 8	33,65	0,44	1,29	100%

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

Reprodutibilidade inter-instrumento no ELITE BeGenius					
Amostra	Pos. / Rep.	Mycoplasma genitalium			%Concordância
		Ct médio	SD	%CV	
Negativo	0 / 16	-	-	-	100%
3 X LdD	16 / 16	35,59	0,79	2,22	100%
10 X LdD	16 / 16	33,19	0,46	1,39	100%

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

Reprodutibilidade inter-instrumento no ELITE InGenius					
Amostra	Pos. / Rep.	Mycoplasma genitalium			%Concordância
		Ct médio	SD	%CV	
Negativo	0 / 16	-	-	-	100%
3 X LdD	16 / 16	35,67	0,05	1,94	100%
10 X LdD	16/16	33,25	0,23	0,69	100%

No teste de Reprodutibilidade, o Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit detetou todas as amostras conforme esperado e apresentou uma variabilidade máxima dos valores de Ct do alvo como %CV igual a 2,31%.

Sensibilidade de diagnóstico: confirmação de amostras positivas

A Sensibilidade de Diagnóstico do ensaio, como confirmação de amostras clínicas positivas, foi avaliada em associação com o ELITE InGenius através da análise de amostras clínicas da primeira urina da manhã recolhida sem conservantes reforçadas com materiais de referência.

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

Os resultados estão resumidos na tabela seguinte.

Amostras	N	positivo	negativo	% Sensibilidade de diagnóstico
Primeira urina com <i>M. genitalium</i> positivo	13	13	0	100%
Primeira urina fortificada por <i>M. genitalium</i>	20	20	0	100%

A Sensibilidade de Diagnóstico do Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit em associação com a primeira urina da manhã foi igual a 100% para *Mycoplasma genitalium*.

Especificidade de diagnóstico: confirmação de amostras negativas

A especificidade de diagnóstico do ensaio, como confirmação de amostras clínicas negativas, foi avaliada em associação com o ELITE InGenius através da análise de amostras clínicas da primeira urina da manhã recolhidas sem conservantes, certificadas como sendo negativas ou presumivelmente negativas.

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 do diagnóstico do ensaio obtida em associação com o ELITE InGenius também se aplica ao ELITE BeGenius.

Os resultados estão resumidos na tabela seguinte.

Amostras	N	positivo	negativo	% de especificidade do diagnóstico
Primeira urina com <i>M. Genitalium</i> negativo	30	0	30	100%

Todas as amostras da primeira urina da manhã foram válidas para análise. A Especificidade de Diagnóstico do Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit em associação com a primeira urina da manhã neste teste foi igual a 100% para *Mycoplasma genitalium*.

O valor-limite da Ct de CI está definido para 32.

Confirmação de amostras positivas para MG resistente a antibióticos

A Sensibilidade de Diagnóstico para Sensibilidade a Antibióticos do ensaio, como confirmação de amostras positivas de *Mycoplasma genitalium* sensíveis a antibióticos foi avaliada, em associação com o ELITE InGenius através da análise de amostras clínicas da primeira urina da manhã colhida sem conservantes, positivas e reforçadas com materiais de referência.

Os resultados estão resumidos na tabela seguinte.

Amostras	N	positivo	resistente	sensível
Primeira urina com <i>M. genitalium</i> positivo resistente	6	6	6	0
Primeira urina fortificada por <i>M. genitalium</i> resistente	24	24	24	0

Todas as amostras positivas de *Mycoplasma genitalium* resistentes a antibióticos apresentaram resultados positivos e possivelmente resistentes com o Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit. Neste teste, a Sensibilidade de Diagnóstico para Resistência aos Antibióticos do Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit foi equivalente a 100%.

Confirmação de amostras MG-positivo sensíveis a antibióticos

A Especificidade de Diagnóstico para Sensibilidade a Antibióticos do ensaio, como confirmação de amostras positivas de *Mycoplasma genitalium* sensíveis a antibióticos foi avaliada, em associação com o ELITE InGenius através da análise de amostras clínicas da primeira urina da manhã colhida sem conservantes, positivas e reforçadas com materiais de referência.

Os resultados estão resumidos na tabela seguinte.

Amostras	N	positivo	resistente	sensível
Primeira urina com <i>M. genitalium</i> positivo sensível	4	4	0	4
Primeira urina fortificada por <i>M. genitalium</i> sensível	20	20	0	20

Todas as amostras positivas de *Mycoplasma genitalium* resistentes a antibióticos apresentaram resultados positivos e possivelmente sensíveis com o Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit. Neste teste, a Especificidade de Diagnóstico para sensibilidade a Antibióticos do Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit foi equivalente a 100%.

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 "Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit", FTP RTS401ING-48.

REFERÊNCIAS

- Twin J. et al. (2012) PLoS ONE Vol. 7, Edição 4
Nijhuis R.H.T. et al J. Antimicrob. Chemother.(2015), 70: 2515-2518
E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e30
G. L. Murray et al. (2019) J. Appl. Microbiol. 127(4):1219-1223
A. Guschin et al. (2015) BMC Infect Dis. 15:40.
R. Palich et al. (2021) Sex. Transm. Dis. 48(11):e163-e164.
K. Linnet et al. (2004) Clin. Chem. 50: 732 - 740.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Use este produto apenas com as seguintes amostras clínicas: primeira urina da manhã.

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

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

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

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

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

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

Para evitar resultados incorretos, este produto deve ser manuseado por profissionais, 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 alvo não foi detetado no ADN extraído da amostra; no entanto, não pode negligenciar-se o facto de o ARN alvo ter um título mais baixo que o limite de deteção do produto (Ver Características de desempenho). Neste caso, o resultado podia ser um falso negativo.

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

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

Os resultados obtidos com este produto sobre a possível resistência aos macrolídeos de *Mycoplasma genitalium* estão limitados à deteção das principais mutações como indicado na Secção "Características de desempenho". Outras mutações não detetadas por este produto podem estar associadas à resistência a Macrólidos. Por outro lado, podem ser detetadas mutações silenciosas por este produto, mas não estão associadas à resistência a Macrólidos. Por isso, é necessário um teste de suscetibilidade antimicrobiana fenotípica para confirmar a suscetibilidade ou resistência a macrólidos.

Possíveis polimorfismos, inserções ou eliminações na região do ARN 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. Nalguns 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.

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 da PCR Mix.	Não use a PCR Mix durante mais de 7 sessões independentes (3 horas cada no bloco de refrigeração da área dos reagentes ou na Cooler Unit). Não utilize a PCR Mix durante mais de 3 sessões consecutivas (7 horas na Área dos reagentes, Bloco de frio 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 Positive Control.	Não use o Positive Control para mais de 4 sessões independentes (3 horas cada na área de extração ou na Cooler Unit). Utilize uma nova alíquota de Positive Control.
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

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 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.

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 durante mais de 7 sessões independentes (3 horas cada no bloco de refrigeração da área dos reagentes ou na Cooler Unit). Não use a PCR Mix durante mais de 3 sessões consecutivas (7 horas no bloco de frio da área dos reagentes ou na Cooler Unit). Não deixe a PCR Mix à temperatura ambiente durante mais do que 30 minutos. Prepare uma nova alíquota da PCR Mix.
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 1:3 em água de grau de biologia molecular de amostra eluída numa sessão "PCR Only" (apenas PCR). Repita a extração com uma diluição 1:3 em água de grau de biologia molecular da amostra numa sessão "Extract + PCR" (Extract+ PCR).
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

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.

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).

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

SÍMBOLOS

-  Número de catálogo.
-  Limite máximo da temperatura.
-  Código de lote.
-  Prazo de validade (último dia do mês).
-  Dispositivo médico de 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.
-  Atenção, consulte as instruções de utilização.
-  Conteúdo.
-  Manter afastado da luz solar.
-  Fabricante.

Macrolide-R/MG ELITe MGB® Kit
reagente para amplificação em tempo real do
ADN

REF RTS401ING-48

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

Os reagentes de deteção ELITe MGB® são abrangidos por um ou mais dos números de patente dos 7319022, 7348146, 7381818, 7541454, 7671218, 7718374, 7723038, 7759126, 7767834, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529 e números de patente EP 1687609, 1781675, 1789587, 2689031, 2714939, 2736916, 2997161 bem como pedidos que estejam atualmente pendentes.

As tecnologias ELITe InGenius® e ELITe BeGenius® estão protegidas por patentes e aplicações pendentes.

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

MGB®, Eclipse Dark Quencher®, AquaPhluor®, ELITe MGB®, o logotipo ELITe MGB®, ELITe InGenius® e ELITe BeGenius® são marcas comerciais registadas da ELITechGroup na União Europeia.

Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit

used in association with Genius series® platforms

Ref: RTS401ING-48



⚠ Caution, this document is a simplified version of the official instruction for use. This document is available only in English. Please refer to the complete document before use: www.elitechgroup.com

Intended use

The product **Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit** is an in vitro diagnostic medical device intended to be used by healthcare professionals as a qualitative nucleic acids Real-Time PCR assay for the detection of the DNA of *Mycoplasma genitalium* and for identification of main Macrolide resistance associated mutations.

The assay is validated in association with the **ELITE InGenius®** and **ELITE BeGenius®** instruments, automated and integrated systems for extraction, Real-Time PCR and results interpretation, using human specimens of first void urine collected without preservatives.

The product is intended for use as an aid in the diagnosis of uro-genital tract infections, in conjunction with other laboratory test results and clinical data.

The results must be interpreted in combination with all relevant clinical observations and laboratory outcomes.

Amplified sequence

Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
Target 1	23S rRNA	AP525	MG
Internal Control	IC2	AP680	IC

Validated matrix

- › first void urine collected without preservatives

Kit content and related products

Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit (RTS401ING-48)	Macrolide-R/MG – ELITE Positive Control (CTR401ING)
 X 4	 X 3
R/MG PCR Mix 4 tubes of 280 µL 12 reactions per tube 48 reactions per kit 7 freeze-thaw cycles per tube	R/MG Positive Control 3 tubes of 160 µL 4 reactions per tube 12 reactions per kit 4 freeze-thaw cycles
Maximum shelf-life: 24 months	Maximum shelf-life: 24 months
Storage temperature: ≤ -20°C	Storage temperature: ≤ -20°C

Other products required not provided in the kit

- | | |
|--|--|
| › ELITE InGenius instrument: INT030. | › ELITE InGenius Waste Box: F2102-000. |
| › ELITE BeGenius instrument: INT040. | › 300 µL Filter Tips Axigen: TF-350-L-R-S. |
| › ELITE InGenius SP 200: INT032SP200. | › 1000 µL Filter Tips Tecan: 30180118. |
| › ELITE InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS. | › CPE - Internal Control: CTCPE. |
| › ELITE InGenius PCR Cassette: INT035PCR. | |

ELITE InGenius and ELITE BeGenius protocol

› Sample volume	200 µL	› Eluate PCR input volume	20 µL
› CPE volume	10 µL	› R/MG PCR Mix volume	20 µL
› Total elution volume	100 µL	› Frequency of controls	15 days

ELITe InGenius and ELITe BeGenius Performances

Matrix	Target	Limit of Detection	antibiotic-resistant Sensitivity in MG positive samples	antibiotic-resistant Specificity in MG positive samples	Specificity
first void urine collected without preservatives	MG	247 organisms / mL	100% ^(30/30)	100% ^(24/24)	100% ^(30/30)

Sample preparation

This product is intended for use on the **ELITe InGenius** and **ELITe BeGenius** with the following clinical specimens identified according to laboratory guidelines, and collected, transported, and stored under the following conditions.

Sample type	Transport/Storage conditions			
	+16 / +26 °C (room temperature)	+2 / +8 °C*	-20 ±10 °C	-70 ±15 °C
first void urine collected without preservatives	≤ 5 days	≤ 5 days	≤ 2 months	≤ 2 years

* Reference: G. L. Murray et al

ELITe InGenius Procedures

The user is guided step-by-step by the Graphic User Interface of ELITe InGenius software to setup the run. All the steps: extraction, Real-Time PCR and result interpretation are automatically performed. Two operational modes are available: complete run (Extract + PCR) or PCR Only.

Before analysis

- Switch on ELITe InGenius. Log in with username and password. Select the mode "CLOSED".
- Verify controls: **R_MG Positive Control** and **R_MG Negative Control** in the "Controls" menu. *Note: Both must have been run, approved and not expired.*
- Thaw the **R/MG PCR Mix** and the **CTRPE** tubes. Vortex gently. Spin down 5 sec.

Procedure 1 - Complete run: Extract + PCR (e.g., samples)

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", elution: "100 µL"	3. Scan the sample barcodes with hand-barcode reader or type the sample ID
4. Select the "Assay Protocol" of interest: R_MG ELITe_U_200_100	5. Select the method "Extract + PCR" and the sample position: Extraction Tube	6. Load the PCR Mix and the Internal Control in the Inventory Block
7. Load: PCR Cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip Cassette, Extraction Tube racks	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results

Note: If an Extract Only mode is needed, refer to the instrument user's manual for procedure.

Procedure 2: PCR Only (e.g., eluates, controls)

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", elution: "100 µL"	3. Scan the sample barcodes with hand-barcode reader or type the sample ID
4. Select the "Assay Protocol" of interest: R_MG ELITe_U_200_100 or R_MG ELITe_PC or R_MG ELITe_NC	5. Select the method "PCR Only" and the sample position "Elution Tube"	6. Load the PCR Mix in the Inventory Block
7. Load: PCR Cassette rack and the Elution tube rack with the extracted nucleic acid	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results

ELITE BeGenius Procedures

The user is guided step-by-step by the Graphic User Interface of ELITE BeGenius software to setup the run. All the steps: extraction, Real-Time PCR and result interpretation are automatically performed. Two operational modes are available: complete run (Extract+PCR) or PCR Only .

Before analysis

- | | | |
|---|--|--|
| 1. Switch on ELITE BeGenius. Log in with username and password. Select the mode "CLOSED". | 2. Verify controls R_MG Positive Control and R_MG Negative Control in the "Controls" menu. <i>Note: Both must have been run, approved and not expired.</i> | 3. Thaw the R/MG PCR Mix and the CTRCPE tubes. Vortex gently. Spin down 5 sec. |
|---|--|--|

Procedure 1 - Complete run: Extract + PCR (e.g., samples)

- | | | |
|---|---|---|
| 1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «Extract +PCR» | 2. Insert the Sample Rack with the barcoded samples in the Cooler Unit. The barcode scan is already active | 3. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "100 µL" |
| 4. Select the "Assay Protocol" of interest: R_MG ELITE_Be_U_200_100
Note: if a second extraction is performed repeat steps from 2 to 4 | 5. Print the labels to barcode the empty elution tubes. Load the tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit | 6. Load the PCR Mix and the Internal Control in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit |
| 7. Load "PCR Rack" with "PCR Cassette" and the "Extraction Rack" with the "ELITE InGenius SP 200" extraction cartridges and the required extraction consumables | 8. Close the door. Start the run | 9. View, approve and store the results |

Note: If an Extract Only mode is needed, refer to the instrument user's manual for procedure.

Procedure 2: PCR Only (e.g., eluates, controls)

- | | | |
|---|---|---|
| 1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «PCR Only» | 2. Load the extracted nucleic acid or controls barcoded tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit" | 3. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "100 µL" |
| 4. Select the "Assay Protocol" of interest: R_MG ELITE_Be_U_200_100 or R_MG ELITE_Be_PC or R_MG ELITE_Be_NC | 5. Load the PCR-Mix in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit | 6. Load "PCR Rack" with "PCR Cassette" |
| 7. Close the door. Start the run | 8. View, approve and store the results | |