

Instructions for use

UroGen ELITe MGB[®] Kit

reagentes para PCR em tempo real do ADN



REF RTS404ING

UDI 08033891487362

CE **IVD**
0123

HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES

| Rev. | Aviso de alteração | Data (dd/mm/aaaa) |
|------|---------------------------------|-------------------|
| 00 | desenvolvimento de novo produto | 13/05/2024 |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |

TABLE OF CONTENT

| | |
|--|-----------|
| 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 ELITe InGenius..... | 9 |
| 10 PROCEDIMENTO ELITe BeGenius | 14 |
| 11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO | 19 |
| 12 REFERÊNCIAS | 32 |
| 13 LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO | 32 |
| 14 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS | 33 |
| 15 SÍMBOLOS..... | 35 |
| 16 NOTIFICAÇÃO PARA OS UTILIZADORES..... | 36 |
| 17 NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA | 36 |
| Appendix A QUICK START GUIDE..... | 37 |

1 UTILIZAÇÃO PREVISTA

O produto **UroGen 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 *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* e *Ureaplasma parvum*, extraído de amostras clínicas.

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

O produto destina-se a ser utilizado como um auxílio no diagnóstico de infeções do trato urogenital em pacientes com suspeita de infeção por *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* ou *Ureaplasma parvum*.

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

2 PRINCÍPIOS DO ENSAIO

O ensaio é uma deteção qualitativa de PCR em tempo real de ADN de *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* e *Ureaplasma parvum* isolado de amostras e amplificado usando o reagente de ensaio **UroGen PCR Mix**, que contém primers e sondas com tecnologia ELITE MGB Kit.

As sondas ELITE MGB Kit são ativadas quando hibridizam com os correspondentes produtos da PCR. **ELITE InGenius** e o **ELITE BeGenius** monitoriza o aumento da fluorescência e calcula o ciclo de limiar (Ct).

Nas sondas ELITE MGB Kit, 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.

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 **UroGen ELITE MGB Kit** fornece o reagente do ensaio **UroGen PCR Mix**, uma PCR Mix otimizada e estabilizada que contém os primers e sondas específicos de:

- *Mycoplasma hominis*, gene **gap**, detetado no Canal **MH**; a sonda é estabilizada por MGB, inativado pelo Eclipse Dark Quencher® e é marcada com corante FAM,
- *Ureaplasma urealyticum*, gene **ureC**, detetado no Canal **UU**; a sonda é estabilizada por MGB, inativado pelo Eclipse Dark Quencher e identificado pelo corante AquaPhluor® 639 (AP639),
- *Ureaplasma parvum*, gene **ureC**, detetado no Canal **UP**; a sonda é estabilizada por MGB, inativado pelo Eclipse Dark Quencher e identificado pelo corante AquaPhluor 593 (AP593),
- Controlo interno (**IC**), específicos da sequência genómica da **beta-globina** humana, detetado no Canal **IC**; a sonda é estabilizada por MGB, inativado pelo Eclipse Dark Quencher e identificado pelo corante AquaPhluor 525 (AP525).

A **UroGen PCR Mix** também contém tampão, cloreto de magnésio, trifosfatos de nucleótido e polimerase de ADN de início a quente

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

O teste de ensaio pode ser efetuado de duas formas diferentes:

- testar a primeira urina da manhã, utilizando como modelo exógeno para o Controlo Interno o **CPE – Controlo Interno** que é adicionado pelo instrumento **ELITE InGenius** ou **ELITE BeGenius** para monitorizar o processo de extração e a eficiência da PCR
- testar amostras de esfregaço cervico-vaginal, utilizando como modelo endógeno de Controlo Interno o ADN genómico humano presente na amostra, para monitorizar a celularidade da amostra, o processo de extração e a eficiência da PCR

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

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

4 MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO

Table 1

| Componente | Descrição | Quantidade | Classificação dos perigos |
|----------------------------------|--|------------|---------------------------|
| UroGen PCR Mix ref. RTS404ING | 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

- Exaustor de fluxo de ar laminar.
- Luvas sem pó de nitrilo descartáveis ou material semelhante.
- Misturador de vórtice.
- Centrífuga de bancada (~3000 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 rosca esterilizados de 2,0 mL (Sarstedt, Alemanha, ref. 72.694.005).
- Tubo com tampa de rosca genérico de 15 mL (Sarstedt, Alemanha, ref. 62.554.502)
- Tubo com tampa de rosca genérico de 50 mL (Sarstedt, Alemanha, ref. 62.547.254)
- Água de qualidade para biologia molecular.

6 OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS

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

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

Table 2

| Instrumentos e software | Produtos e reagentes |
|---|--|
| <p>ELITE InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, ref. INT030)</p> <p>Software ELITE InGenius versão 1.3.0.19 (ou mais recente)</p> <p>UroGen ELITE _PC, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Positive Control</p> <p>UroGen ELITE _NC, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Negative Control</p> <p>UroGen ELITE_U_200_100, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de urina</p> <p>UroGen ELITE_CS_200_100, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostras em esfregaços cervico-vaginais</p> | <p>ELITE InGenius SP200 (EG SpA, ref. INT032SP200)</p> <p>ELITE InGenius SP 200 Consumable Set (EG SpA, ref. INT032CS)</p> <p>ELITE InGeniusPCR 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. CTCPE) para amostras de urina apenas</p> <p>UroGen - ELITE Positive Control (EG SpA, ref. CTR404ING)</p> |
| <p>ELITE BeGenius (EG SpA, ref. INT040)</p> <p>Software ELITE BeGenius versão 2.2.1 (ou mais recente)</p> <p>UroGen ELITE_Be _PC, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Positive Control</p> <p>UroGen ELITE_Be _NC, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Negative Control</p> <p>UroGen ELITE_Be_U_200_100, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de urina</p> <p>UroGen ELITE _Be _CS_200_100, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostras de esfregaços cervico-vaginais</p> | <p>eSWAB® (COPAN Italia S.p.A., ref. 480CE), ou um dispositivo equivalente, apenas para amostras de esfregaços cervico-vaginais</p> |

7 AVISOS E PRECAUÇÕES

Este produto foi concebido para utilização exclusiva in-vitro.

7.1 Avisos e precauções gerais

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

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

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

Nunca deve pipetar soluções com a boca.

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

Lave cuidadosamente as mãos após manusear amostras e reagentes.

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

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

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

Não utilize o produto após a data de validade indicada.

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

Não use reagentes de lotes diferentes.

Não use reagentes de outros fabricantes.

7.2 Avisos e precauções para biologia molecular

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

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

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

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

Os produtos de extração devem ser manuseados de modo a reduzir a dispersão para o ambiente, para evitar a possibilidade de contaminação.

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

7.3 Avisos e precauções específicos para os componentes

Table 3

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

*com congelamento intermédio

8 AMOSTRAS E CONTROLOS

8.1 Amostras

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

Table 4

| Amostra | Requisitos de colheita | Condições de transporte/armazenamento | | | |
|-----------------------------|---------------------------|--|------------|-------------|-------------|
| | | +16 / +26 °C (temperatura ambiente) | +2 / +8 °C | -20 ± 10 °C | -70 ± 15 °C |
| Primeira urina | colhidas sem conservantes | ≤ 24 horas | ≤ 48 horas | ≤ 1 meses | ≤ 1 mês |
| Esfregaços cervico-vaginais | eSwab® (COPAN) | ≤ 48 horas | ≤ 48 horas | ≤ 1 meses | ≤ 1 mês |

A primeira urina da manhã pode ser usada "tal como está" ou a uma concentração de 10 vezes por centrifugação a cerca de 1.000 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 testes de amostras no **ELITE InGenius** e **ELITE BeGenius**, devem ser usados os seguintes Assay Protocols (Protocolos de ensaio). Estes protocolos IVD foram especificamente validados com os kits ELITE MGB Kit e o **ELITE InGenius** ou **ELITE BeGenius** com as matrizes indicadas.

Table 5

| Assay Protocols (Protocolos de ensaio) para kit UroGen ELITE MGB Kit | | | | |
|--|-----------------------|--|------------------------|--|
| Amostra | Instrumento | Nome do Assay Protocol (Protocolo de ensaio) | Relatório | Características |
| Primeira urina | ELITE InGenius | UroGen 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 da PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL |
| | ELITE BeGenius | UroGen ELITE_Be_U_200_100 | Positivo/ /Negativo | Volume inicial de extração: 200 µL Volume de eluição do extraído: 100 µL Internal Control: NÃO Sonicação: NÃO Fator de diluição: 1 Volume da PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL |
| Esfregaços cervico-vaginais | ELITE InGenius | UroGen ELITE_CS_200_100 | Positivo/ /Negativo | Volume inicial de extração: 200 µL Volume de eluição do extraído: 100 µL Internal Control: NÃO Sonicação: NÃO Fator de diluição: 1 Volume da PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL |
| | ELITE BeGenius | UroGen ELITE_Be_CS_200_100 | Positivo/ /Negativo | Volume inicial de extração: 200 µL Volume de eluição do extraído: 100 µL Internal Control: NÃO Sonicação: NÃO Fator de diluição: 1 Volume da PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL |

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

NOTE

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

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

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

8.2 Controlos da PCR

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

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

NOTE

O **ELITE InGenius** e **ELITE BeGenius** permite a geração e o armazenamento e a validação do controlo de PCR para cada lote de reagente de PCR. Os resultados do controlo da PCR expiram após **15 dias** e, nesse momento, é necessário voltar a executar os positive e Negative Controls. Os controlos PCR devem ser executados novamente se ocorrer algum dos seguintes eventos:

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

8.3 Controlos da qualidade

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

9 PROCEDIMENTO ELITE InGenius

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

Table 6

| PASSO 1 | Verificação da prontidão do sistema | |
|---------|-------------------------------------|--|
| PASSO 2 | Preparação da sessão | A) Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair+PCR]) |
| | | B) Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR]) |
| | | C) Execução do Positive Control e Negative Control (apenas PCR) |
| PASSO 3 | Revisão e aprovação de resultados | A) Validação dos resultados de Positive Control e Negative Control |
| | | B) Validação dos resultados da amostra |
| | | C) 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 (**UroGen Positive Control**, **UroGen Negative Control**) estão aprovados e válidos (estado) para o lote de **UroGen PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja controlos de PCR válidos disponíveis para o lote da **UroGen 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 (ver “**8 AMOSTRAS E CONTROLOS page 7**”).

Se o Assay Protocol (Protocolo de 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 kit **UroGen 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 do Positive Control e Negative Control (apenas PCR).

Todos os parâmetros requeridos estão incluídos no Assay Protocol (Protocolo de ensaio) disponível no instrumento e são automaticamente carregados quando o Assay Protocol (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 **UroGen 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 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 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 | Se necessário, 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. |

Table 7 (continued)

| | A. Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair+PCR]) | B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR]) | C. Execução de Controlo positivo e negativo (PCR Only [Apenas PCR]) |
|----|---|--|--|
| 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 "8 AMOSTRAS E CONTROLOS page 7"). | Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "8 AMOSTRAS E CONTROLOS page 7"). | Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "8 AMOSTRAS E CONTROLOS page 7"). 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 (se necessário) e a 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. |
| 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 (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 restante **Positive Control** pode ser removido do instrumento, tapado e guardado a -20 °C ou abaixo. Evite o derrame do **Positive Control**. O **Negative Control** restante deve ser eliminado.

NOTE

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

NOTE

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

9.3 PASSO 3 - Revisão e aprovação dos resultados

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

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

NOTE

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

O **ELITE InGenius** gera os resultados com o kit **UroGen 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 **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 **UroGen ELITE_PC** e **UroGen 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 **MH, UU, UP**) e do Controlo Interno (Canal **IC**) com os parâmetros dos Assay Protocols (Protocolos de ensaio) **UroGen ELITE_U_200_100** e **UroGen ELITE_CS_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 |
|-------------------------|----------|
| UroGen Positive Control | APROVADO |
| 2) Negative Control | Estado |
| UroGen Negative Control | APROVADO |

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

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

Table 9

| Resultado da execução da amostra | Interpretação |
|---|---|
| MH:DNA Detected (MH:ADN Detetado) | Foi detetado ADN de <i>Mycoplasma hominis</i> na amostra. |
| UU:DNA Detected (UU:ADN Detetado) | Foi detetado ADN de <i>Ureaplasma urealyticum</i> na amostra. |
| UP:DNA Detected (UP:ADN Detetado) | Foi detetado ADN de <i>Ureaplasma parvum</i> na amostra. |
| MH:DNA Not Detected or below the LdD (MH:ADN Não detetado ou abaixo de LdD) | Não foi detetado ADN de <i>Mycoplasma hominis</i> na amostra. A amostra é negativa para ADN de <i>Mycoplasma hominis</i> ou a sua concentração está abaixo do limite de deteção do ensaio. |
| UU:DNA Not Detected or below the LdD (MH:ADN Não detetado ou abaixo de LdD) | Não foi detetado ADN de <i>Ureaplasma urealyticum</i> na amostra. A amostra é negativa para ADN de <i>Ureaplasma urealyticum</i> ou a sua concentração está abaixo do limite de deteção do ensaio. |

Table 9 (continued)

| Resultado da execução da amostra | Interpretação |
|---|---|
| UP:DNA Not Detected or below the LdD (MH:ADN Não detetado ou abaixo de LdD) | Não foi detetado ADN de <i>Ureaplasma parvum</i> na amostra. A amostra é negativa para ADN de <i>Ureaplasma parvum</i> ou a sua concentração está abaixo do limite de deteção do ensaio. |
| Invalid-Retest Sample (Inválido-Testar novamente a amostra) | Resultado do ensaio inválido devido a falha do Controlo Interno (p. ex., extração incorreta, transferência de inibidores). O teste deve ser repetido. |

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

Se subsistir volume da eluição suficiente, o eluato pode ser novamente testado (tal como está ou diluído) através de uma execução da amplificação no modo “PCR Only” (Apenas PCR). Se o segundo resultado for inválido, a amostra deve ser novamente testada começando a partir da extração de uma nova amostra utilizando o modo “Extract + PCR” (ver “14 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS page 33”).

As amostras reportadas como “Xxx:DNA Not Detected or below the LoD” (Xxx:ADN Não detetado ou inferior ao LdD) são adequadas para análise, mas o ADN dos alvos não foi detetado. Neste caso, a amostra pode ser negativa para o ADN dos alvos ou o ADN dos alvos 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 seleccionada (SID).
- O “Track Report” (Relatório do track) apresenta os detalhes do resultado pelo Rastreo seleccionado.
- O “Sample Report” (Relatório da amostra) e o “Track Report” (Relatório da calha) podem ser impressos e assinados por pessoal autorizado.

10 PROCEDIMENTO ELITE BeGenius

O procedimento para uso do **kit UroGen 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 do Positive Control e Negative Control (apenas PCR). |

Table 10 (continued)

| | | |
|---------|-----------------------------------|--|
| PASSO 3 | Revisão e aprovação de resultados | A) Validação dos resultados de Positive Control e Negative Control |
| | | B) Validação dos resultados da amostra |
| | | C) 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 “Controls” (Controlos) da página inicial, verifique se os controlos de PCR (**UroGen Positive Control**, **UroGen 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 **UroGen 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 (ver “[8 AMOSTRAS E CONTROLOS page 7](#)”).

Se o Assay Protocol (Protocolo de 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 kit **UroGen 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 Assay Protocols (Protocolo de ensaio) disponível no instrumento e são automaticamente carregados quando o Assay Protocol 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 **UroGen 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 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 um tubo Sarstedt de 2 mL previamente 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. 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 | Se necessário, 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 todos os Racks da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação | Retire os "Racks" de "Lane 1, 2 and 3" (L1, L2, L3) da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação | Retire os "Racks" de "Lane 1, 2 and 3" (L1, L2, L3) da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação |
| 5 | Selecione o "Run mode": "Extract + PCR" (Extrair + PCR). | Selecione o "Run mode": "PCR Only" . | Selecione o "Run mode": "PCR Only" |
| 6 | Carregue as amostras no "Sample Rack". 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". | Carregue os tubos de Positive 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 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. |
| 10 | Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "8 AMOSTRAS E CONTROLOS page 7"). | Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "8 AMOSTRAS E CONTROLOS page 7"). | Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "8 AMOSTRAS E CONTROLOS page 7"). |
| 11 | Selecione "Next" (Próximo) para continuar. | Selecione "Next" (Próximo) para continuar. | Selecione "Next" (Próximo) para continuar. |

Table 11 (continued)

| | A. Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair+PCR]) | B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR]) | C. Execução de Controlo positivo e negativo (PCR Only [Apenas PCR]) |
|----|--|---|---|
| | Nota: Quando forem processadas mais de 12 amostras, repita o procedimento a partir do ponto 6. | | Não aplicável |
| 12 | Carregue 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 (se necessário) 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). |
| 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 Inventory Area (área dos reagentes). | Carregue o "PCR Rack" com a "PCR Cassette" na Inventory Area (área dos reagentes). | Carregue 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.

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 execução, a **PCR Mix** pode ser retirada do instrumento, tapada e armazenada a -20 °C ou abaixo ou pode ser mantida na Cooler Unit 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 **UroGen 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 controlo interno para cada reação e aplica automaticamente os parâmetros do Assay Protocol (Protocolo de ensaio) para gerar curvas de PCR que são então interpretadas sob a forma de resultados.

No final da execução, é automaticamente apresentado o ecrã “Results Display” (Exibição dos resultados). Neste ecrã são mostrados os resultados e informações sobre a execução. A partir deste ecrã é possível aprovar os resultados, imprimir ou guardar os relatórios (“Sample Report” (Relatório da amostra) ou “Track Report” (Relatório do track)). 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 **kit UroGen ELITE MGB Kit** através do seguinte procedimento:

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

NOTE

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

11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

11.1 Limite de detecção (LdD)

O Limite de Detecção (LdD) do ensaio foi determinado para os instrumentos ELITE BeGenius e ELITE InGenius através do teste de um lote de primeira urina da manhã reforçada com materiais de referência de *Mycoplasma hominis* (ZeptoMetrix, US), *Ureaplasma parvum* (ATCC, US) e *Ureaplasma urealyticum* (NCTC, UK). Foi executada a análise de regressão Probit nos resultados, e estimou-se como LdD a concentração correspondente a 95% de probabilidade de um resultado positivo.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Table 12

| Limite de detecção para amostras de urina e ELITE BeGenius | | | |
|--|-----------------------|--|-----------------|
| Agente patogénico | LdD (organismos / mL) | Limites de intervalo de 95% de confiança | |
| | | Limite inferior | Limite superior |
| <i>M. hominis</i> | 223 | 143 | 477 |
| <i>U. parvum</i> | 79 | 54 | 158 |
| <i>U. urealyticum</i> | 152 | 101 | 310 |

O valor do LdD calculado foi verificado testando a primeira urina da manhã ELITE BeGenius e ELITE InGenius, primeira urina da manhã concentrada e esfregaços cervico-vaginais reforçados com material de referência certificado de *M. hominis*, *U. urealyticum* e *U. parvum* à concentração declarada.

Os resultados obtidos confirmaram a alegada concentração para todos os alvos do kit UroGen ELITE MGB Kit com as três matrizes tanto no ELITE BeGenius como no ELITE InGenius.

11.2 Inclusividade: Eficiência de detecção em diferentes estirpes ou isolados

A Inclusividade do ensaio, como eficiência de detecção para diferentes estirpes ou isolados de *M. hominis*, *U. urealyticum* e *U. parvum*, foi avaliada por análise in silico.

A análise mostrou a conservação da sequência e a ausência de mutações significativas. Assim, espera-se uma detecção eficiente para as diferentes estirpes ou isolados.

A inclusividade também foi verificada através da análise de materiais de referência *M. hominis*, *U. urealyticum* e *U. parvum* (ATCC, NCTC, Zeptomatrix e Vircell).

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Table 13

| Material de referência de ADN genómico | | | |
|--|---------|-------------|-------------|
| Amostra | Estirpe | Pos. / Rep. | Resultado |
| <i>M. hominis</i> | ZK-CU2 | 3 / 3 | MH detetado |
| | LBD-4 | 3 / 3 | MH detetado |
| <i>U. parvum</i> | 7 | 3 / 3 | UP detetado |
| <i>U. urealyticum</i> | 960 | 3 / 3 | UU detetado |

Table 14

| Material de referência da cultura bacteriana | | | |
|--|-----------|-------------|-------------|
| Amostra | Estirpe | Pos. / Rep. | Resultado |
| <i>M. hominis</i> | Z317 | 3 / 3 | MH detetado |
| | LBD-4 | 3 / 3 | MH detetado |
| <i>U. parvum</i> | 27 | 3 / 3 | UP detetado |
| <i>U. urealyticum</i> | 354 | 3 / 3 | UU detetado |
| | 960 | 3 / 3 | UU detetado |
| | 960 (CX8) | 3 / 3 | UU detetado |

Todas as amostras foram corretamente detetadas pelo kit UroGen ELITe MGB Kit.

11.3 Interferência entre alvos

A potencial interferência entre alvos do ensaio foi avaliada através de um teste de coamplificação de *M. hominis*, *U. parvum* e *U. urealyticum*.

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

Table 15

| Interferência entre alvos | | | |
|-------------------------------|---|------------------|-----------------------|
| Alvo no teste (cópias baixas) | Alvo interferente em ~10 ⁵ cópias/reação | | |
| | <i>M. hominis</i> | <i>U. parvum</i> | <i>U. urealyticum</i> |
| <i>M. hominis</i> | - | 500 c. / rxn | 500 c. / xn |
| <i>U. parvum</i> | 1.500 c. / rxn | - | 1.500 c. / rxn |
| <i>U. urealyticum</i> | 500 c. / rxn | 500 c. / rxn | - |

O kit UroGen ELITe MGB Kit mostra uma interferência mínima entre os alvos. Apesar desta interferência, um alvo pode ser detetado mesmo quando tem uma concentração cerca de 100 vezes inferior à dos outros na mesma amostra.

11.4 Avaliação da carga bacteriana

A avaliação da carga bacteriana utilizando este ensaio foi implementada através do cálculo de intervalos definidos de valores Ct para cada alvo correspondente à sua concentração logarítmica aproximada nas amostras.

Os intervalos Ct para a avaliação da carga bacteriana para cada alvo utilizando o kit UroGen ELITe MGB Kit são comunicados na tabela seguinte.

Table 16

| Intervalo MH Ct | Intervalo UP Ct | Intervalo UU Ct | Quantidade estimada Registo de organismos / mL |
|-----------------|-----------------|-----------------|---|
| 18,32 - 21,69 | 19,64 - 22,96 | 17,50 - 20,88 | Cerca de 7 |
| 21,70 - 25,07 | 22,97 - 26,30 | 20,89 - 24,27 | Cerca de 6 |
| 25,08 - 28,46 | 26,31 - 29,64 | 24,28 - 27,65 | Cerca de 5 |

Table 16 (continued)

| Intervalo MH Ct | Intervalo UP Ct | Intervalo UU Ct | Quantidade estimada Registro de organismos / mL |
|-----------------|-----------------|-----------------|--|
| 28,47 - 31,84 | 29,65 - 32,97 | 27,66 - 31,04 | Cerca de 4 |
| 31,85 - 35,22 | 32,98 - 36,31 | 31,05 - 34,43 | Cerca de 3 |
| 35,23 - 38,58 | 36,32 - 39,62 | 34,44 - 37,79 | Cerca de 2 |

11.5 Organismos potencialmente interferentes: Reatividade cruzada

A potencial reatividade cruzada de organismos não pretendidos que podem ser encontrados em amostras clínicas foi avaliada para o ensaio através de análise *in silico*. A análise não demonstrou homologias significativas com outros organismos não pretendidos (vírus, bactérias, protozoários e fungos). Por conseguinte, não se espera reatividade cruzada.

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Table 17

| Amostra | Positivo/réplicas | | | | Resultado |
|--------------------------------------|-------------------|-------|-------|-------|-------------------------|
| | MH | CI | UU | UP | |
| <i>Chlamydia trachomatis</i> | 0 / 3 | 3 / 3 | 0 / 3 | 0 / 3 | Sem reatividade cruzada |
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | 0 / 3 | 3 / 3 | 0 / 3 | 0 / 3 | Sem reatividade cruzada |
| <i>Mycoplasma genitalium</i> | 0 / 3 | 3 / 3 | 0 / 3 | 0 / 3 | Sem reatividade cruzada |
| <i>Trichomonas vaginalis</i> | 0 / 3 | 3 / 3 | 0 / 3 | 0 / 3 | Sem reatividade cruzada |
| <i>Treponema pallidum</i> | 0 / 3 | 3 / 3 | 0 / 3 | 0 / 3 | Sem reatividade cruzada |
| <i>Gardnerella vaginalis</i> | 0 / 3 | 3 / 3 | 0 / 3 | 0 / 3 | Sem reatividade cruzada |
| <i>Mobiluncus mulieri</i> | 0 / 3 | 3 / 3 | 0 / 3 | 0 / 3 | Sem reatividade cruzada |
| <i>Bacteroides fragilis</i> | 0 / 3 | 3 / 3 | 0 / 3 | 0 / 3 | Sem reatividade cruzada |
| <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> | 0 / 3 | 3 / 3 | 0 / 3 | 0 / 3 | Sem reatividade cruzada |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> | 0 / 3 | 3 / 3 | 0 / 3 | 0 / 3 | Sem reatividade cruzada |
| <i>Escherichia coli</i> | 0 / 3 | 3 / 3 | 0 / 3 | 0 / 3 | Sem reatividade cruzada |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 0 / 3 | 3 / 3 | 0 / 3 | 0 / 3 | Sem reatividade cruzada |
| <i>Candida albicans</i> | 0 / 3 | 3 / 3 | 0 / 3 | 0 / 3 | Sem reatividade cruzada |
| HSV1 | 0 / 3 | 3 / 3 | 0 / 3 | 0 / 3 | Sem reatividade cruzada |
| HSV2 | 0 / 3 | 3 / 3 | 0 / 3 | 0 / 3 | Sem reatividade cruzada |
| HPV16 | 0 / 3 | 3 / 3 | 0 / 3 | 0 / 3 | Sem reatividade cruzada |

Todos os organismos potencialmente interferentes testados não apresentaram reatividade cruzada para os alvos usando o kit UroGen ELITE MGB Kit.

11.6 Organismos potencialmente interferentes: Inibição

A inibição potencial dos organismos não pretendidos que podem ser encontrados em amostras clínicas foi avaliada para o ensaio através da análise de um painel de organismos não pretendidos (ATCC, Vircell e DSMZ) reforçados com materiais de referência *M. hominis*, *U. urealyticum* e *U. parvum* (Vircell).

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Table 18

| Amostra | Positivos/réplicas | | | | Resultado |
|--------------------------------------|--------------------|-------|-------|-------|-------------------|
| | MH | CI | UU | UP | |
| <i>Chlamydia trachomatis</i> | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | Sem interferência |
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | Sem interferência |
| <i>Mycoplasma genitalium</i> | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | Sem interferência |
| <i>Trichomonas vaginalis</i> | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | Sem interferência |
| <i>Treponema pallidum</i> | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | Sem interferência |
| <i>Gardnerella vaginalis</i> | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | Sem interferência |
| <i>Mobiluncus mulieri</i> | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | Sem interferência |
| <i>Bacteroides fragilis</i> | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | Sem interferência |
| <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | Sem interferência |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | 6 / 6 | Sem interferência |
| <i>Escherichia coli</i> | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | Sem interferência |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | Sem interferência |
| <i>Candida albicans</i> | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | Sem interferência |
| HSV1 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | Sem interferência |
| HSV2 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | Sem interferência |
| HPV16 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | Sem interferência |

Todos os organismos potencialmente interferentes testados revelaram que não há inibição da amplificação do alvo utilizando o kit UroGen ELITE MGB Kit.

11.7 Substâncias potencialmente interferentes: Reatividade cruzada

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Table 19

| Amostra | Pos / Rep | | | | Resultado |
|--------------|-----------|-------|-------|-------|-------------------------|
| | MH | CI | UU | UP | |
| Mucina | 0 / 3 | 3 / 3 | 0 / 3 | 0 / 3 | Sem reatividade cruzada |
| Sangue Total | 0 / 3 | 3 / 3 | 0 / 3 | 0 / 3 | Sem reatividade cruzada |

Table 19 (continued)

| Amostra | Pos / Rep | | | | Resultado |
|------------------|-----------|-------|-------|-------|-------------------------|
| | MH | CI | UU | UP | |
| Sémen | 0 / 3 | 3 / 3 | 0 / 3 | 0 / 3 | Sem reatividade cruzada |
| Urina alcalina | 0 / 3 | 3 / 3 | 0 / 3 | 0 / 3 | Sem reatividade cruzada |
| Urina ácida | 0 / 3 | 3 / 3 | 0 / 3 | 0 / 3 | Sem reatividade cruzada |
| Aciclovir | 0 / 3 | 3 / 3 | 0 / 3 | 0 / 3 | Sem reatividade cruzada |
| Fosfomicina | 0 / 3 | 3 / 3 | 0 / 3 | 0 / 3 | Sem reatividade cruzada |
| Azitromicina | 0 / 3 | 3 / 3 | 0 / 3 | 0 / 3 | Sem reatividade cruzada |
| Clotrimazol | 0 / 3 | 3 / 3 | 0 / 3 | 0 / 3 | Sem reatividade cruzada |
| Óleo de vaselina | 0 / 3 | 3 / 3 | 0 / 3 | 0 / 3 | Sem reatividade cruzada |
| Nonoxinol-9 | 0 / 3 | 3 / 3 | 0 / 3 | 0 / 3 | Sem reatividade cruzada |

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

11.8 Substâncias potencialmente interferentes: Inibição

A inibição potencial das substâncias interferentes (endógenas e exógenas) que pode ser encontrada em amostras clínicas foi avaliada para o ensaio através da análise de um painel de substâncias a concentrações relevantes em amostras da primeira urina da manhã recolhida sem conservantes reforçadas com os alvos.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Table 20

| Amostra | Pos / Rep | | | | Resultado |
|------------------|-----------|-------|-------|-------|-------------------|
| | MH | CI | UU | UP | |
| Mucina | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | Sem interferência |
| Sangue Total | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | Sem interferência |
| Sémen | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | Sem interferência |
| Urina alcalina | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | Sem interferência |
| Urina ácida | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | Sem interferência |
| Aciclovir | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | Sem interferência |
| Fosfomicina | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | Sem interferência |
| Azitromicina | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | Sem interferência |
| Clotrimazol | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | Sem interferência |
| Óleo de vaselina | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | Sem interferência |
| Nonoxinol-9 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | 3 / 3 | Sem interferência |

O teste mostrou que as substâncias testadas não inibem a detecção de alvos usando o kit UroGen ELITE MGB Kit.

11.9 Contaminação cruzada

A possível contaminação cruzada durante a análise foi avaliada para o ensaio testando 60 réplicas de uma amostra negativa da primeira urina da manhã alternada com 60 réplicas de uma amostra positiva da primeira urina da manhã em 5 sessões.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Table 21

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

Neste teste com o kit UroGen ELITE MGB Kit, a contaminação cruzada não foi detetada dentro das sessões nem entre sessões.

11.10 Falha de todo o sistema

A taxa de falha de todo o sistema para o ensaio foi avaliada através do teste de um painel de amostras de primeira urina reforçadas com material de referência certificado de *M. hominis* (Zeptomatrix) a uma concentração de 3x o LdD.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Table 22

| Amostras | N | Positivo | Negativo | Taxa de falha de todo o sistema |
|-------------------------------------|----|----------|----------|---------------------------------|
| Primeira urina reforçada a 3x o LdD | 50 | 50 | 0 | 0% |

Neste teste com o kit UroGen ELITE MGB Kit nenhuma das amostras positivas para *M. hominis* apresentou resultados falsos negativos. Neste teste, a taxa de falha geral do sistema foi igual a 0%.

11.11 Repetibilidade

A Repetibilidade do ensaio foi avaliada no ELITE BeGenius e ELITE InGenius através da análise de um painel de amostras da primeira urina negativas ou reforçadas com material de referência certificado de *M. hominis*, *U. urealyticum* e *U. parvum* (Zeptomatrix, NCTC e ATCC).

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

Table 23

| Repetibilidade intra-sessão do ELITE BeGenius (dia 1) | | | | | | |
|---|------|---|----------|------|------|---------------|
| Amostra | Alvo | N | Ct médio | SD | %CV | %Concordância |
| Neg | MH | 8 | - | - | - | 100% |
| 3x o LdD | | 8 | 36,36 | 0,58 | 1,60 | 100% |
| 10x o LdD | | 8 | 34,57 | 0,40 | 1,16 | 100% |
| Neg | UP | 8 | - | - | - | 100% |
| 3x o LdD | | 8 | 36,65 | 0,70 | 1,91 | 100% |
| 10x o LdD | | 8 | 34,58 | 0,50 | 1,45 | 100% |

Table 23 (continued)

| Repetibilidade intra-sessão do ELITE BeGenius (dia 1) | | | | | | |
|---|------|---|----------|------|------|---------------|
| Amostra | Alvo | N | Ct médio | SD | %CV | %Concordância |
| Neg | UU | 8 | - | - | - | 100% |
| 3x o LdD | | 8 | 34,83 | 0,44 | 1,27 | 100% |
| 10x o LdD | | 8 | 32,75 | 0,33 | 1,00 | 100% |

Table 24

| Repetibilidade intra-sessão do ELITE InGenius (dia 1) | | | | | | |
|---|------|---|----------|------|------|---------------|
| Amostra | Alvo | N | Ct médio | SD | %CV | %Concordância |
| Neg | MH | 8 | - | - | - | 100% |
| 3x o LdD | | 8 | 35,35 | 0,42 | 1,19 | 100% |
| 10x o LdD | | 8 | 33,14 | 0,12 | 0,36 | 100% |
| Neg | UP | 8 | - | - | - | 100% |
| 3x o LdD | | 8 | 36,05 | 0,17 | 0,48 | 100% |
| 10x o LdD | | 8 | 33,99 | 0,24 | 0,70 | 100% |
| Neg | UU | 8 | - | - | - | 100% |
| 3x o LdD | | 8 | 34,14 | 0,61 | 1,79 | 100% |
| 10x o LdD | | 8 | 31,86 | 0,30 | 0,94 | 100% |

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

Table 25

| Repetibilidade inter-sessões do ELITE BeGenius (dia 1 + dia 2) | | | | | | |
|--|------|----|----------|------|------|---------------|
| Amostra | Alvo | N | Ct médio | SD | %CV | %Concordância |
| Neg | MH | 16 | - | - | - | 100% |
| 3x o LdD | | 16 | 36,29 | 0,46 | 1,26 | 100% |
| 10x o LdD | | 16 | 34,45 | 0,39 | 1,14 | 100% |
| Neg | UP | 16 | - | - | - | 100% |
| 3x o LdD | | 16 | 36,57 | 0,59 | 1,62 | 100% |
| 10x o LdD | | 16 | 34,71 | 0,47 | 1,35 | 100% |
| Neg | UU | 16 | - | - | - | 100% |
| 3x o LdD | | 16 | 35,05 | 0,57 | 1,64 | 100% |
| 10x o LdD | | 16 | 32,72 | 0,29 | 0,90 | 100% |

Table 26

| Repetibilidade inter-sessões do ELITE InGenius (dia 1 + dia 2) | | | | | | |
|--|----|----|-------|------|------|------|
| Neg | MH | 16 | - | - | - | 100% |
| 3x o LdD | | 16 | 35,26 | 0,42 | 1,19 | 100% |
| 10x o LdD | | 16 | 33,18 | 0,16 | 0,48 | 100% |
| Neg | UP | 16 | - | - | - | 100% |
| 3x o LdD | | 16 | 36,10 | 0,36 | 1,00 | 100% |
| 10x o LdD | | 16 | 34,05 | 0,28 | 0,81 | 100% |
| Neg | UU | 16 | - | - | - | 100% |
| 3x o LdD | | 16 | 34,28 | 0,59 | 1,74 | 100% |
| 10x o LdD | | 16 | 32,02 | 0,31 | 0,98 | 100% |

No teste de repetibilidade, o kit UroGen ELITE MGB Kit detetou todas as amostras conforme esperado e apresentou uma variabilidade máxima dos valores de Ct do alvo como %CV igual a 1,91%.

11.12 Reprodutibilidade

A reprodutibilidade do ensaio foi avaliada no ELITE BeGenius e ELITE InGenius através da análise de um painel de amostras da primeira urina negativas ou reforçadas com material de referência certificado de *M. hominis*, *U. urealyticum* e *U. parvum* (Zeptomatrix, NCTC e ATCC).

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

Table 27

| Reprodutibilidade interlote ELITE BeGenius | | | | | | |
|--|------|----|----------|------|------|---------------|
| Amostra | Alvo | N | Ct médio | SD | %CV | %Concordância |
| Neg | MH | 48 | - | - | - | 100% |
| 3x o LdD | | 48 | 36,17 | 0,42 | 1,17 | 100% |
| 10x o LdD | | 48 | 34,26 | 0,41 | 1,19 | 100% |
| Neg | UP | 48 | - | - | - | 100% |
| 3x o LdD | | 48 | 36,44 | 0,50 | 1,37 | 100% |
| 10x o LdD | | 48 | 34,60 | 0,40 | 1,15 | 100% |
| Neg | UU | 48 | - | - | - | 100% |
| 3x o LdD | | 48 | 35,04 | 0,54 | 1,53 | 100% |
| 10x o LdD | | 48 | 32,62 | 0,40 | 1,24 | 100% |

Table 28

| Reprodutibilidade interlote ELITE InGenius | | | | | | |
|--|------|----|----------|------|------|---------------|
| Amostra | Alvo | N | Ct médio | SD | %CV | %Concordância |
| Neg | MH | 48 | - | - | - | 100% |
| 3x o LdD | | 48 | 35,05 | 0,51 | 1,46 | 100% |
| 10x o LdD | | 48 | 33,02 | 0,25 | 0,77 | 100% |
| Neg | UP | 48 | - | - | - | 100% |
| 3x o LdD | | 48 | 35,85 | 0,52 | 1,45 | 100% |
| 10x o LdD | | 48 | 33,91 | 0,28 | 0,84 | 100% |
| Neg | UU | 48 | - | - | - | 100% |
| 3x o LdD | | 48 | 34,28 | 0,56 | 1,63 | 100% |
| 10x o LdD | | 48 | 31,99 | 0,28 | 0,89 | 100% |

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

Table 29

| Reprodutibilidade inter-instrumento ELITE BeGenius | | | | | | |
|--|------|----|----------|------|------|---------------|
| Amostra | Alvo | N | Ct médio | SD | %CV | %Concordância |
| Neg | MH | 24 | - | - | - | 100% |
| 3x o LdD | | 24 | 36,04 | 0,63 | 1,74 | 100% |
| 10x o LdD | | 24 | 33,71 | 0,43 | 1,27 | 100% |
| Neg | UP | 24 | - | - | - | 100% |
| 3x o LdD | | 24 | 36,34 | 0,61 | 1,68 | 100% |
| 10x o LdD | | 24 | 34,30 | 0,33 | 0,96 | 100% |
| Neg | UU | 24 | - | - | - | 100% |
| 3x o LdD | | 24 | 35,73 | 0,67 | 1,89 | 100% |
| 10x o LdD | | 24 | 32,92 | 0,38 | 1,14 | 100% |

Table 30

| Reprodutibilidade inter-instrumento ELITE InGenius | | | | | | |
|--|------|----|----------|------|------|---------------|
| Amostra | Alvo | N | Ct médio | SD | %CV | %Concordância |
| Neg | MH | 24 | - | - | - | 100% |
| 3x o LdD | | 24 | 35,18 | 0,40 | 1,15 | 100% |
| 10x o LdD | | 24 | 33,04 | 0,36 | 1,09 | 100% |
| Neg | UP | 24 | - | - | - | 100% |
| 3x o LdD | | 24 | 36,24 | 0,40 | 1,12 | 100% |
| 10x o LdD | | 24 | 34,04 | 0,31 | 0,91 | 100% |
| Neg | UU | 24 | - | - | - | 100% |
| 3x o LdD | | 24 | 34,81 | 0,97 | 2,78 | 100% |
| 10x o LdD | | 24 | 32,12 | 0,35 | 1,08 | 100% |

No teste de reprodutibilidade, o kit UroGen 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%.

11.13 Especificidade do diagnóstico: Confirmação de amostras negativas

A especificidade diagnóstica do ensaio, como confirmação de amostras clínicas negativas, foi avaliada em associação com o ELITE BeGenius através da análise de amostras clínicas da primeira urina colhida sem conservantes, primeira urina da manhã concentrada e esfregaços cervico-vaginais colhidos no kit eSWAB, certificados como negativos para cada alvo.

Dado que o ELITE InGenius tem desempenhos analíticos equivalentes ao ELITE BeGenius, 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 BeGenius também se aplica ao ELITE InGenius.

Os resultados estão resumidos na tabela seguinte.

Table 31

| Primeira urina da manhã negativa | N | Positivo | Negativo | % de especificidade do diagnóstico |
|----------------------------------|-----|----------|----------|------------------------------------|
| <i>M. hominis</i> | 174 | 0 | 174 | 100% |
| <i>U. parvum</i> | 155 | 2 | 153 | 98,7% |
| <i>U. urealyticum</i> | 152 | 1 | 151 | 99,3% |

Table 32

| Primeira urina da manhã concentrada negativa | N | Positivo | Negativo | % de especificidade do diagnóstico |
|--|-----|----------|----------|------------------------------------|
| <i>M. hominis</i> | 176 | 4 | 172 | 97,7% |
| <i>U. parvum</i> | 151 | 0 | 151 | 100% |
| <i>U. urealyticum</i> | 152 | 2 | 150 | 98,7% |

Table 33

| Esfregaço cervico-vaginal negativo | N | Positivo | Negativo | % de especificidade do diagnóstico |
|------------------------------------|-----|----------|----------|------------------------------------|
| <i>M. hominis</i> | 178 | 1 | 177 | 99,4% |
| <i>U. parvum</i> | 149 | 0 | 149 | 100% |
| <i>U. urealyticum</i> | 171 | 2 | 169 | 98,8% |

O valor-limite da Ct de CI está definido para 30 para todas as matrizes.

11.14 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 BeGenius através da análise de amostras clínicas da primeira urina da manhã colhida sem conservantes, primeira urina da manhã concentrada e esfregaços cervico-vaginais, certificados como positivos para cada alvo ou reforçados com materiais de referência.

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

Os resultados estão resumidos na tabela seguinte.

Table 34

| Primeira urina da manhã positiva/ /reforçada | N | Positivo | Negativo | % Sensibilidade de diagnóstico |
|---|----|----------|----------|--------------------------------|
| Positiva para <i>M. hominis</i> | 31 | 31 | 0 | 100% |
| Reforçada para <i>M. hominis</i> | 20 | 20 | 0 | |
| Positiva para <i>U. parvum</i> | 55 | 52 | 3 | 94,5% |
| Positiva para <i>U. urealyticum</i> | 53 | 52 | 1 | 98,1% |

Table 35

| Primeira urina da manhã concentrada positiva/reforçada | N | Positivo | Negativo | % Sensibilidade de diagnóstico |
|--|----|----------|----------|--------------------------------|
| Positiva para <i>M. hominis</i> | 31 | 31 | 0 | 100% |
| Reforçada para <i>M. hominis</i> | 20 | 20 | 0 | |
| Positiva para <i>U. parvum</i> | 54 | 52 | 2 | 96,3% |
| Positiva para <i>U. urealyticum</i> | 53 | 52 | 1 | 98,1% |

Table 36

| Esfregaço cervico-vaginal positivo | N | Positivo | Negativo | % Sensibilidade de diagnóstico |
|-------------------------------------|----|----------|----------|--------------------------------|
| Positiva para <i>M. hominis</i> | 52 | 51 | 1 | 98,1% |
| Positiva para <i>U. parvum</i> | 78 | 73 | 5 | 93,6% |
| Positiva para <i>U. urealyticum</i> | 51 | 48 | 3 | 94,1% |

Para todos os três alvos em todas as matrizes, os resultados acima indicados referem-se a amostras infetadas uma única vez e a amostras infetadas várias vezes. No caso de infecção única, todas as amostras foram corretamente detetadas como positivas e a sensibilidade foi igual a 100%.

11.15 Concordância do método

O desempenho diagnóstico do ensaio, como concordância com o método de referência, foi avaliado com o valor kappa de Cohen.

A comparação dos resultados é resumida nas tabelas seguintes.

Table 37

| | | Primeira urina | | | | | AUC | Kappa de Cohen |
|--------------------------|-----|-----------------------|-----|-----|-------|-------|-----|----------------|
| | | <i>M. hominis</i> | | | | | | |
| | | Método de referência | | | | | | |
| | | Pos | Neg | Tot | | | | |
| Kit UroGen ELITE MGB Kit | Pos | 51 | 0 | 51 | 100% | 1,000 | | |
| | Neg | 0 | 174 | 174 | | | | |
| | Tot | 51 | 174 | 225 | | | | |
| | | <i>U. parvum</i> | | | | | AUC | Kappa de Cohen |
| | | Método de referência | | | | | | |
| | | Pos | Neg | Tot | | | | |
| | | Pos | Neg | Tot | | | | |
| Kit UroGen ELITE MGB Kit | Pos | 52 | 2 | 54 | 97,6% | 0,938 | | |
| | Neg | 3 | 153 | 156 | | | | |
| | Tot | 55 | 155 | 210 | | | | |
| | | <i>U. urealyticum</i> | | | | | AUC | Kappa de Cohen |
| | | Método de referência | | | | | | |
| | | Pos | Neg | Tot | | | | |
| | | Pos | Neg | Tot | | | | |
| Kit UroGen ELITE MGB Kit | Pos | 52 | 1 | 53 | 99,0% | 0,975 | | |
| | Neg | 1 | 151 | 152 | | | | |
| | Tot | 53 | 152 | 205 | | | | |

Table 38

| | | Primeira urina da manhã concentrada | | | | | AUC | Kappa de Cohen |
|----------------------|-----|-------------------------------------|-----|-----|-------|----------------|-----|----------------|
| | | <i>M. hominis</i> | | | | | | |
| | | Método de referência | | | AUC | Kappa de Cohen | | |
| | | Pos | Neg | Tot | | | | |
| UroGen ELITE MGB Kit | Pos | 51 | 4 | 55 | 98,2% | 0,951 | | |
| | Neg | 0 | 172 | 172 | | | | |
| | Tot | 51 | 176 | 227 | | | | |
| | | <i>U. parvum</i> | | | | | AUC | Kappa de Cohen |
| | | Método de referência | | | AUC | Kappa de Cohen | | |
| | | Pos | Neg | Tot | | | | |
| | | UroGen ELITE MGB Kit | Pos | 52 | 0 | 52 | | |
| Neg | 2 | | 151 | 153 | | | | |
| Tot | 54 | | 151 | 205 | | | | |
| | | <i>U. urealyticum</i> | | | | | AUC | Kappa de Cohen |
| | | Método de referência | | | AUC | Kappa de Cohen | | |
| | | Pos | Neg | Tot | | | | |
| | | UroGen ELITE MGB Kit | Pos | 52 | 2 | 54 | | |
| Neg | 1 | | 150 | 151 | | | | |
| Tot | 53 | | 152 | 205 | | | | |

Table 39

| | | Esfregaços cervico-vaginais | | | | | AUC | Kappa de Cohen |
|----------------------|-----|-----------------------------|-----|-----|-------|----------------|-----|----------------|
| | | <i>M. hominis</i> | | | | | | |
| | | Método de referência | | | AUC | Kappa de Cohen | | |
| | | Pos | Neg | Tot | | | | |
| UroGen ELITE MGB Kit | Pos | 51 | 1 | 52 | 99,1% | 0,975 | | |
| | Neg | 1 | 177 | 178 | | | | |
| | Tot | 52 | 178 | 230 | | | | |
| | | <i>U. parvum</i> | | | | | AUC | Kappa de Cohen |
| | | Método de referência | | | AUC | Kappa de Cohen | | |
| | | Pos | Neg | Tot | | | | |
| | | UroGen ELITE MGB Kit | Pos | 73 | 0 | 73 | | |
| Neg | 5 | | 149 | 154 | | | | |
| Tot | 78 | | 149 | 227 | | | | |

Table 39 (continued)

| | | <i>U. urealyticum</i> | | | | |
|----------------------|-----|-----------------------|-----|-----|-------|----------------|
| | | Método de referência | | | AUC | Kappa de Cohen |
| | | Pos | Neg | Tot | | |
| UroGen ELITE MGB Kit | Pos | 48 | 2 | 50 | 97,7% | 0,936 |
| | Neg | 3 | 169 | 172 | | |
| | Tot | 51 | 171 | 222 | | |

O UroGen ELITE MGB Kit gerou uma Área sob a curva (AUC) e um valor kappa de Cohen correspondentes a uma concordância perfeita com os resultados obtidos com o método de referência, para os três alvos e para todas as matrizes.

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 "UroGen ELITE MGB Kit", FTP 404ING.

12 REFERÊNCIAS

- A. Baczynska et al (2004) BMC Microbiology 4: 35, doi: 10.1186/1471-2180-4-35.
 J. A. Robertson et al. (2002) Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 52: 587 - 597, doi: 10.1099/ijls.0.01965-0.
 S. A. Cunningham et al. (2013) Int. J. Bacteriol. 2013: 168742
 J. Maryne et al. (2019) J. Clin. Method 165: doi: 10.1016/j.mimet.2019.105700.
 K. Linnet et al. (2004) Clin. Chem. 50: 732 - 740.
 E. A. Lukhtanov et al. (2007) Nucleic Acids Res. 35: e30

13 LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Utilize este produto apenas com as seguintes amostras clínicas: primeira urina colhida sem conservantes e esfregaço cervico-vaginal.

Atualmente não existem dados disponíveis relativos ao desempenho do produto com outras amostras clínicas: esfregaços uretrais, esfregaços retais, sémen.

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 Positive Control 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 [11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO page 19](#)). Neste caso, o resultado podia 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. 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.

14 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

Table 40

| 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 41

| 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 42

| 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. 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 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 43

| 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 44

| 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 45

| 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> |

15 SÍMBOLOS



Número de catálogo.



Limite máximo da temperatura.



Código de lote.



Prazo de validade (último dia do mês).



Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*.



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



Identificação única de dispositivo



Contém suficiente para "N" testes.



Atenção, consulte as instruções de utilização.



Conteúdo.



Manter afastado da luz solar.



Fabricante.

16 NOTIFICAÇÃO PARA OS UTILIZADORES

Qualquer incidente grave ocorrido relacionado com o dispositivo deve ser comunicado ao fabricante e às autoridades competentes do Estado-Membro em que o utilizador e/ou o doente se encontram localizados. No momento da revisão atual das IDU, não ocorreu nenhum incidente grave ou recolha de segurança com impacto no desempenho do produto e na segurança do dispositivo.

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

17 NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA

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

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

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

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

Appendix A Kit UroGen 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 **UroGen 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 *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* e *Ureaplasma parvum*, extraído de amostras clínicas.

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

O produto destina-se a ser utilizado como um auxílio no diagnóstico de infeções do trato urogenital em pacientes com suspeita de infeção por *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* ou *Ureaplasma parvum*.

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

Sequência amplificada

| Sequência | Gene | Fluoróforo | Canal |
|------------------|--|------------|-------|
| Alvo 1 | <i>Mycoplasma hominis</i> , gene gap | FAM | MH |
| Alvo 2 | <i>Ureaplasma urealyticum</i> , gene ureC | AP639 | UU |
| Alvo 3 | <i>Ureaplasma parvum</i> , gene ureC | AP593 | UP |
| Controlo Interno | Gene beta globina | AP525 | CI |

Matriz validada

| | |
|--|--|
| › Primeira urina (“tal como está” e concentrada) | |
| › Esfregaços cervico-vaginais | |

Conteúdo do Kit e produtos relacionados

| Kit UroGen ELITE MGB Kit (RTS404ING) | UroGen - ELITE Positive Control (CTR404ING) |
|---|--|
|  X 8 |  X 3 |
| UroGen PCR Mix 8 tubos de 280 µL 12 reações por tubo 96 reações por kit 7 ciclos de congelação-descongelação por tubo | UroGen Positive Control 3 tubos de 160 µL 4 reações por tubo 12 reações por kit 4 ciclos de congelação-descongelação |

| Kit UroGen ELITE MGB Kit (RTS404ING) | | UroGen - ELITE Positive Control (CTR404ING) | |
|---|-----------------|--|-----------------|
| 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. › 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. | <ul style="list-style-type: none"> › CPE - Internal Control: CTCPE (apenas para amostras de primeira urina) › eSWAB® (COPAN Italia S.p.A., ref. 480CE), ou um dispositivo equivalente, para amostras de esfregaço cervico-vaginal |
|---|---|

Protocolo ELITE InGenius e ELITE BeGenius

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

Desempenhos ELITE InGenius e ELITE BeGenius

| Matriz | Alvo | Limite de detecção | Sensibilidade | Especificidade | Concordância do método | |
|-------------------------------------|-------------------------------|-----------------------|------------------|--------------------|------------------------|----------------|
| | | | | | AUC | Kappa de Cohen |
| Primeira urina | <i>Mycoplasma hominis</i> | 223 organismo/ /mL | 100% (51/51) | 100% (174/174) | 100% | 1,000 |
| | <i>Ureaplasma urealyticum</i> | 152 organismo/ /mL | 98,1% (52/53) | 99,3% (151/152) | 99,0% | 0,975 |
| | <i>Ureaplasma parvum</i> | 79 organismo/ /mL | 94,5% (52/55) | 98,7% (153/155) | 97,6% | 0,938 |
| Primeira urina da manhã concentrada | <i>Mycoplasma hominis</i> | 223 organismo/ /mL | 100% (51/51) | 97,7% (172/176) | 98,2% | 0,951 |
| | <i>Ureaplasma urealyticum</i> | 152 organismo/ /mL | 98,1% (52/53) | 98,7% (150/152) | 98,5% | 0,962 |
| | <i>Ureaplasma parvum</i> | 79 organismo/ /mL | 96,3% (52/54) | 100% (151/151) | 99,0% | 0,975 |

| Matriz | Alvo | Limite de detecção | Sensibilidade | Especificidade | Concordância do método | |
|-----------------------------|-------------------------------|-----------------------|------------------|--------------------|------------------------|----------------|
| | | | | | AUC | Kappa de Cohen |
| Esfregaços cervico-vaginais | <i>Mycoplasma hominis</i> | 223 organismo/ /mL | 98,1% (51/52) | 99,4% (177/178) | 99,1% | 0,975 |
| | <i>Ureaplasma urealyticum</i> | 152 organismo/ /mL | 94,1% (48/51) | 98,8% (169/171) | 97,7% | 0,936 |
| | <i>Ureaplasma parvum</i> | 79 organismo/ /mL | 93,6% (73/78) | 100% (149/149) | 97,8% | 0,950 |

Preparação da amostra

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

| Tipo de amostra | Condições de transporte/armazenamento | | | |
|--|--|------------|-------------|-------------|
| | +16 / +26 °C (temperatura ambiente) | +2 / +8 °C | -20 ± 10 °C | -70 ± 15 °C |
| Primeira urina (colhida sem conservantes) | ≤ 24 horas | ≤ 48 horas | ≤ 1 mês | ≤ 1 mês |
| Esfregaços cervico-vaginais (eSwab® COPAN) | ≤ 48 horas | ≤ 48 horas | ≤ 1 mês | ≤ 1 mês |

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: UroGen Positive Control e UroGen Negative Control no menu "Controls" (Controlos). Nota: Ambos devem ter sido executados, aprovados e não ter expirado.</p> | <p>3. Descongele os tubos UroGen PCR Mix e CTR CPE (se necessário). Submeta a vórtice suave. Centrifugue durante 5 s.</p> |
|---|--|---|

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

| | | |
|---|--|---|
| 1. Selecione "Perform Run" (Executar) no ecrã tátil | 2. Verifique os volumes de extração: Entrada: "200 µL", eluição: "100 µL" | 3. Leia os códigos de barras das amostras com um leitor de códigos de barras manual ou escreva a identificação da amostra |
| 4. Selecione o "Protocolo de ensaio" de interesse: UroGen ELITE_U_200_100 ou UroGen ELITE_CS_200_100 | 5. Selecione o método "Extract + PCR" (Extrair+PCR) e a posição da amostra: Extraction Tube (Tubo de extração) | 6. Carregue a PCR Mix e o Controlo Interno no Inventory Block (Gestor do reagente) |
| 7. Carregue as PCR Cassettes, os cartuchos de extração ELITE InGenius SP 200 e todos os consumíveis e amostras necessários para serem extraídos | 8. Feche a porta. Iniciar a execução | 9. Visualize, aprove e guarde os resultados |

NOTE

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

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

| | | |
|--|---|---|
| 1. Selecione "Perform Run" (Executar) no ecrã tátil | 2. Verifique os volumes de extração: Entrada: "200 µL", eluição: "100 µL" | 3. Leia os códigos de barras das amostras com um leitor de códigos de barras manual ou escreva a identificação da amostra |
| 4. Selecione o "Protocolo de ensaio" de interesse: UroGen ELITE_U_200_100 ou UroGen ELITE-Cs_200_100 ou UroGen ELITE_PC ou UroGen ELITE_NC | 5. Selecione o método "PCR Only" (Apenas PCR) e a posição da amostra "Elution Tube" (Tubo de eluição) | 6. Carregue a PCR Mix no Inventory Block (Gestor do reagente) |
| 7. Carregar: PCR cassette, Cartucho de extração, Tubo de eluição, Cassete de pontas, Racks do tubo de extração | 8. Feche a porta. Iniciar a execução | 9. Visualize, aprove e guarde os resultados |

Procedimentos ELITE BeGenius

O utilizador é guiado passo a passo pela interface gráfica do utilizador do software ELITE BeGenius® para configurar a execução. Todos os passos: extração, PCR em tempo real e a interpretação dos resultados são realizados automaticamente. Estão disponíveis dois modos operacionais: execução completa (Extract + PCR (Extrair+PCR)) ou PCR Only (Apenas PCR).

Antes da análise

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

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

| | | |
|--|--|--|
| 1. Selecione "Perform Run" (Executar) no ecrã tátil e, a seguir, clique no modo de execução "Extract + PCR" (Extrair+PCR) | 2. Insira o rack de amostras com as amostras com código de barras na Cooler Unit. A leitura do código de barras já se encontra ativada | 3. Verifique os volumes de extração: Entrada: "200 µL", eluato: "100 µL" |
| <p>4. Selecione o "Protocolo de ensaio" de interesse: UroGen ELITE_Be_U_200_100 ou UroGen ELITE_Be_CS_200_100</p> <div style="background-color: #0056b3; color: white; padding: 5px; text-align: center;">NOTE</div> <p>Se for realizada uma segunda extração, repita os passos 2 a 4</p> | 5. Imprima as etiquetas para colocar um código de barras nos tubos de eluição vazios. Carregue os tubos no rack de eluição e insira-o na Cooler Unit | 6. Carregue a PCR Mix e o Controlo Interno 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 "Protocolo de ensaio" de interesse: UroGen ELITE_Be_U_200_100 ou UroGen ELITE_Be_CS_200_100 ou UroGen ELITE_Be_PC ou UroGen ELITE_Be_NC | 5. Carregue a PCR Mix no rack de reagente/eluição e insira-o na Cooler Unit | 6. Carregue o "PCR Rack" com "PCR Cassette" |
| 7. Feche a porta. Iniciar a execução | 8. Visualize, aprove e guarde os resultados | |

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

