



GI Bacterial PLUS ELITE MGB® Kit

reagentes para PCR em tempo real do ADN

REF RTS502ING



UDI 08033891487447

ÍNDICE

UTILIZAÇÃO PREVISTA	página 1
PRINCÍPIOS DO ENSAIO	página 2
DESCRIÇÃO DO PRODUTO	página 2
MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO	página 2
MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO	página 3
OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS	página 3
AVISOS E PRECAUÇÕES	página 4
AMOSTRAS E CONTROLOS	página 5
PROCEDIMENTO DO ELITE InGenius	página 7
PROCEDIMENTO DO ELITE BeGenius	página 11
CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO	página 14
REFERÊNCIAS	página 24
LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO	página 24
RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS	página 25
SÍMBOLOS	página 28
NOTIFICAÇÃO PARA OS UTILIZADORES	página 29
NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA	página 29
ANEXO: GUIA DE INICIAÇÃO RÁPIDA	página A

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O produto **GI Bacterial PLUS ELITE MGB® Kit** é um 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 qualitativo multiplexado para a deteção e identificação do ADN genómico de *Campylobacter* spp. (**Cam**), *Clostridium difficile* (também conhecido como *Clostridioides difficile*, **Cdif**), incluindo a discriminação do ribotipo 027, *Salmonella* spp. (**Sal**), *Shigella* spp. (**Shi**), *Yersinia enterocolitica* (**Yen**) extraído de amostras clínicas.

O ensaio foi validado em associação com os instrumentos **ELITE InGenius®** e **ELITE BeGenius®**, sistemas automatizados e integrados para a extração, a PCR em tempo real e a interpretação dos resultados, usando amostras de fezes humanas.

O produto destina-se a ser usado como um auxiliar no diagnóstico da infeções bacterianas gastrointestinais em pacientes com suspeita de infeção por *Campylobacter* spp., *Clostridium difficile*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. e *Yersinia enterocolitica*.

GI Bacterial PLUS ELITE MGB® Kit

reagentes para PCR em tempo real do ADN

REF RTS502ING

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

O produto não se destina a ser usado como um auxílio no diagnóstico da febre entérica e não se destina a ser usado como um auxílio na identificação de *Salmonella enterica* serotipo Typhi (também conhecido como *Salmonella typhi*) para a avaliação do estado de portador dos pacientes.

PRINCÍPIOS DO ENSAIO

O ensaio consiste numa PCR em tempo real qualitativa que deteta ADN de *Campylobacter* spp., *Clostridioides difficile*, incluindo a discriminação do ribotipo 027, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. e *Yersinia enterocolitica* isolados de amostras e amplificados usando o reagente de ensaio **GI-B PCR Mix** que contém os primers e as sonda da tecnologia ELITE MGB.

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

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

DESCRIÇÃO DO PRODUTO

O **GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit** fornece os reagentes do ensaio **GI-B PCR Mix**, uma mistura de PCR otimizada e estabilizada que contém os primers e sondas específicos de:

- Gene **16s rRNA** de *Campylobacter* spp., detetado no Canal **Cam**; a sonda é estabilizada por MGB, inativado pelo Eclipse Dark Quencher® e é marcada pelo corante AquaPhluor® 639 (AP639),
- Gene de *Clostridioides difficile* **tcdB**, detetado no Canal **Cdif**; a sonda é estabilizada por MGB, inativado pelo Eclipse Dark Quencher e é marcada com corante FAM,
- Gene de **invA** *Salmonella* spp., detetado no Canal **Sal**; a sonda é estabilizada por MGB, inativado pelo Eclipse Dark Quencher e identificado pelo corante AquaPhluor 690 (AP690),
- Gene de **ipaH** *Shigella* spp., detetado no Canal **Shi**; a sonda é estabilizada por MGB, inativado pelo Eclipse Dark Quencher, e marcado pelo corante AquaPhluor 593 (AP593),
- Gene *Yersinia enterocolitica* **foxA**, detetado no Canal **Yen**; a sonda é estabilizada por MGB, inativado pelo Eclipse Dark Quencher e é marcada pelo corante AquaPhluor 559 (AP559),
- Controlo interno (**IC**), específico para a sequência artificial **IC2**, detetado no Canal **IC**; a sonda é estabilizada por MGB, inativado pelo Eclipse Dark Quencher e identificado pelo corante AquaPhluor 525 (AP525).

A **GI-B PCR Mix** também contém tampão, cloreto de magnésio, trifosfatos de nucleótido e hot-start DNA Polimerase.

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

O **GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit** pode também ser usado em associação com instrumentos equivalentes.

MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO

Componente	Descrição	Quantidade	Classificação dos perigos
GI-B PCR Mix ref. RTS502ING	Mistura de reagentes para PCR em tempo real o tubo com tampa BRANCA	8 x 280 µL	-

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO

- Câmara de fluxo laminar.
- Luvas de nitrilo sem pó descartáveis ou material semelhante.
- Misturador de vórtice.
- Microcentrifuga de bancada (~3.000 RPM).
- Microcentrifuga de bancada (~13.000 RPM).
- Termomisturador.
- Micropipetas e pontas estéreis com filtro de aerossol ou pontas de deslocação positiva estéreis (0,5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Tubos com tampa de parafuso esterilizados de 2,0 mL (Sarstedt, Alemanha, ref. 72.694.005).
- Água de grau de biologia molecular.

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.

Instrumento e software	Produto e reagentes
<p>ELiTe InGenius (ELiTechGroup S.p.A., EG SpA, ref. INT030).</p> <p>ELiTe InGenius Software versão 1.3.0.17 (ou superior).</p> <p>GI Bacterial PLUS ELiTe_PC, protocolo de ensaio (Assay Protocol) com parâmetros para a análise de Positive Control</p> <p>GI Bacterial PLUS ELiTe_NC, protocolo de ensaio com parâmetros para a análise de Negative Control</p> <p>Protocolo de ensaio GI Bacterial PLUS ELiTe_ST_200_100 com parâmetros para análise de amostra nas fezes.</p> <p>ELiTe BeGenius (EG SpA, ref. INT040).</p> <p>ELiTe BeGenius Software versão 2.1.0 (ou superior).</p> <p>GI Bacterial PLUS ELiTe_Be_PC, protocolo de ensaio com parâmetros para a análise de Positive Control.</p> <p>GI Bacterial PLUS ELiTe_Be_NC, protocolo de ensaio com parâmetros para a análise de Negative Control.</p> <p>Protocolo de ensaio GI Bacterial PLUS ELiTe_Be_ST_200_100 com parâmetros para análise de amostra nas fezes.</p>	<p>ELiTe InGenius SP200 (EG SpA, ref. INT032SP200).</p> <p>ELiTe InGenius SP 200 Consumable Set (EG SpA, ref. INT032CS).</p> <p>ELiTe InGenius PCR Cassette (EG SpA, ref. INT035PCR).</p> <p>ELiTe InGenius Waste Box (EG SpA, ref. F2102-000).</p> <p>300 µL Filter Tips Axygen (Corning Life Sciences Inc., ref. TF-350-L-R-S) com o ELiTe InGenius apenas.</p> <p>1000 µL Filter Tips Tecan (Tecan, Switzerland, ref. 30180118) com o ELiTe BeGenius apenas.</p> <p>CPE - Internal Control (EG SpA, ref. CTRCPE).</p> <p>GI Bacterial PLUS - ELiTe Positive Control (EG SpA, ref. CTR502ING).</p> <p>InhibitEX Buffer (QIAGEN GmbH, Alemanha, ref. 19593) ou um dispositivo equivalente.</p> <p>Minutip Flocked Swab® (COPAN Italia S.p.A., Itália, ref. 518CS01) ou um dispositivo equivalente.</p> <p>FecalSwab™ (COPAN Italia S.p.A., Itália, ref. 470CE,) ou um dispositivo equivalente com meio Cary Blair.</p>

AVISOS E PRECAUÇÕES

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

Avisos e precauções gerais

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

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

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

Nunca deve pipetar soluções com a boca.

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

Lave cuidadosamente as mãos após manusear amostras e reagentes.

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

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

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

Não utilize o produto após a data de validade indicada.

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

Não use reagentes de lotes diferentes.

Não use reagentes de outros fabricantes.

Avisos e precauções para biologia molecular

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

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

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

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

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

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

Avisos e precauções específicos para os componentes

GI Bacterial PLUS ELITE MGB® Kit
reagentes para PCR em tempo real do ADN

REF RTS502ING

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

*com congelamento intermédio

AMOSTRAS E CONTROLOS

Amostras

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

Amostra	Requisitos de colheita	Condições de transporte/armazenamento			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ±10 °C	-70 ±15 °C
Fezes nativas	colhidas sem conservantes	≤ 24 horas	≤ 48 horas	≤ 1 mês	≤ 2 mês
Fezes	colhidas em FecalSwab	≤ 48 horas	≤ 5 dias	≤ 1 mês	≤ 2 mês

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.

Siga as instruções descritas de seguida para o pré-tratamento da amostra.

Procedimento de pré-tratamento a partir de fezes nativas colhidas sem conservantes:

- transfira 1 mL de tampão InhibitEX Buffer para um tubo de 2 mL Sarstedt,
- colha a amostra de fezes com uma Minitip Flocked Swab com quebra de 80mm (Copan), colha a amostra de diferentes porções de fezes e elimine o excesso inclinando contra a parede do recipiente,
- insira a zaragatoa no tubo Sarstedt de 2 mL que contém o tampão InhibitEX e rode-a pelo menos 10 vezes, inclinando contra a parede,
- elimine a zaragatoa e feche a tampa do tubo,
- misture por vórtice durante cerca de 60 segundos,
- incube num termomisturador a cerca de 80 °C e a cerca de 800 rpm durante 10 min,
- centrifugue a 10.000x RCF durante 15 segundos,
- transfira cuidadosamente 200 µL do sobrenadante das fezes clarificado para um tubo de extração (para o instrumento ELITE InGenius) ou para um tubo Sarstedt de 2 mL (para o instrumento ELITE BeGenius), tendo o cuidado de não afetar o material fecal sedimentado.

Procedimento de pré-tratamento a partir de fezes nativas colhidas em FecalSwab:

- transfira 500 µL de tampão InhibitEX Buffer para um tubo de 2 mL Sarstedt,
- transfira 500 µL da suspensão da amostra do FecalSwab para o tubo Sarstedt de 2 mL que contém o tampão InhibitEX,
- tape o tubo de forma segura e misture por vórtice durante cerca de 60 segundos,
- incube num termomisturador a cerca de 80 °C e a cerca de 800 rpm durante 10 min,
- centrifugue a 10.000x RCF durante 15 segundos,
- transfira cuidadosamente 200 µL do sobrenadante das fezes clarificado para um tubo de extração (para o instrumento ELITE InGenius) ou para um tubo Sarstedt de 2 mL (para o instrumento ELITE BeGenius), tendo o cuidado de não afetar o material fecal sedimentado.

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

GI Bacterial PLUS ELITE MGB® Kit
reagentes para PCR em tempo real do ADN

REF RTS502ING

Protocolo de ensaio para o GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit				
Amostra	Instrumento	Nome do protocolo de ensaio	Relatório	Características
Fezes nativas ou Fezes colhidas em FecalSwab	ELITE InGenius	GI Bacterial PLUS ELITE_ST_200_100	Positivo / Negativo	Volume de entrada da extração: 200 µL Volume de eluição da extração: 100 µL Internal Control: 10 µL Sonicação: NÃO Fator de diluição: 1 Volume de PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL
	ELITE BeGenius	GI Bacterial PLUS ELITE_Be_ST_200_100		

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

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

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

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

Controlos da PCR

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

- Para o Positive Control, use o produto **GI Bacterial PLUS - ELITE Positive Control** (não fornecido com este kit) com os protocolos de ensaio (Assay Protocols) **GI Bacterial PLUS ELITE_PC** ou **GI Bacterial PLUS ELITE_Be_PC**.
- Para o Negative Control, use água de grau de biologia molecular (não fornecida com este kit) com os protocolos de ensaio (Assay Protocols) **GI Bacterial PLUS ELITE_NC** ou **GI Bacterial PLUS ELITE_Be_NC**.

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

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

Controlos da qualidade

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

PROCEDIMENTO do ELITE InGenius

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

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

PASSO 1 - Verificação da disponibilidade do sistema

Antes de iniciar a sessão:

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

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

PASSO 2 - Configuração da sessão

O **GI PLUS ELite MGB Kit** pode ser usado no **ELITE BeGenius** para realizar:

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

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

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

Antes de configurar uma execução:

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

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

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

	A. Execução da amostra (Extract + PCR [Extraction+PCR])	B. Processamento 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. Pré-trate as amostras de acordo com o procedimento descrito na secção "Amostras e Controlos". 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	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.	n.a.	Prepare o Negative Control transferindo pelo menos 50 µL de água de grau de biologia molecular para um "Elution tube", fornecido com o ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Selecione "Perform Run" a partir do ecrã "Home".	Selecione "Perform Run" a partir do ecrã "Home".	Selecione "Perform Run" a partir do ecrã "Home".
4	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume de entrada de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição extraído") é de 100 µL.	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume de entrada de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição extraído") é de 100 µL.	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume de entrada de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição extraído") é de 100 µL.
5	Para cada amostra, atribua um rastreador e introduza a "SampleID" (SID) digitando ou lendo o código de barras da amostra.	Para cada amostra, atribua um rastreador e introduza a "SampleID" (SID) digitando ou lendo o código de barras da amostra.	n.a.
6	Selecione o Protocolo de Ensaio na coluna "Assay" (ver "Amostras e Controlos").	Selecione o Protocolo de Ensaio na coluna "Assay" (ver "Amostras e Controlos").	Selecione o Protocolo de Ensaio na coluna "Assay" (ver "Amostras e Controlos"). Introduza o número do lote e a data de validade do Positive Control e da água de grau biológico molecular.
7	Certifique-se de que o "Protocol" apresentado é: "Extract + PCR" (Extraction + PCR).	Selecione "PCR Only" (apenas PCR) na coluna "Protocol".	Certifique-se de que "PCR Only" (apenas PCR) está selecionado na coluna "Protocol".
8	Selecione a posição de carregamento da amostra "Extraction Tube" na coluna "Sample Position".	Certifique-se de que a posição de carregamento da amostra na coluna "Sample Position" é "Elution Tube (fila inferior)".	Certifique-se de que a posição de carregamento da amostra na coluna "Sample Position" é "Elution Tube (fila inferior)".
9	Selecione "Next" para continuar.	Selecione "Next" para continuar.	Selecione "Next" para continuar.
10	Carregue a CPE ePCR Mix no "Inventory Block" consultando a "Load List" e introduza o número de lote, data de validade e o número de reações da CPE and PCR Mix para cada tubo.	Carregue a PCR Mix no "Inventory Block" consultando a "Load List" e introduza o número de lote, data de validade e o número de reações da PCR Mix para cada tubo.	Carregue PCR Mix no "Inventory Block" consultando a "Load List" e introduza o número de lote, data de validade e o número de reações da PCR mix para cada tubo.
11	Selecione "Next" para continuar.	Selecione "Next" para continuar.	Selecione "Next" para continuar.
12	Verifique as pontas nos "Tip Racks" na "Inventory Area" e substitua "Tip Racks", se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" na "Inventory Area" e substitua "Tip Racks", se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" na "Inventory Area" e substitua "Tip Racks", se necessário.
13	Selecione "Next" para continuar.	Selecione "Next" para continuar.	Selecione "Next" 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 , o tubo de Eluição com as amostras extraídas	Carregue a PCR Cassette , e os tubos de Positive Control e Negative Control.
15	Selecione "Next" para continuar.	Selecione "Next" para continuar.	Selecione "Next" para continuar.

	A. Execução da amostra (Extract + PCR [Extraction+PCR])	B. Processamento de amostras eluídas (PCR Only [apenas PCR])	C. Execução de Controlo positivo e negativo (PCR Only [apenas PCR])
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 tiver terminado, o **ELITE InGenius** permite aos utilizadores ver, aprovar, guardar os resultados e imprimir e guardar o relatório.

Nota: No final da execução a restante amostra extraída no "Elution tube" deve ser removida do instrumento, tapada, identificada e guardada a -20 ±10 °C durante não mais de um mês, evite derramar a amostra extraída.

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

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

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

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

PASSO 3 - Revisão e aprovação dos resultados

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

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

Nota: O **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 utilizando o **GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit** através do seguinte procedimento:

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

A. Validação dos resultados do Controlo Positivo e Controlo Negativo da amplificação

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

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

Os resultados do positive control e negative control expiram **após 15 dias**.

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

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

Nota: Se o Positive Control ou o Negative Control for inválido e as amostras tiverem sido incluídas na mesma execução, as amostras podem ser aprovadas mas os resultados não estão validados. Neste caso, o Controlo(s) e amostras falhados têm todos de ser repetidos.

B. Validação dos resultados da amostra

O **ELITE InGenius software** interpreta os resultados de PCR para os alvos (canais **Cam**, **Cdif**, **Sal**, **Shi** e **Yen**) e o controlo interno (canal **IC**) com os parâmetros do protocolo de ensaio (**Assay Protocols**) **GI Bacterial PLUS ELITE_ST_200_100**.

Os resultados são mostrados no ecrã "Result Display".

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

1) Positive Control	Estado
GI-B Positive Control	APROVADO
2) Negative Control	Estado
GI-B Negative Control	APROVADO

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

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

Resultado da execução da amostra	Interpretação
Cam: ADN detetado.	O ADN de <i>Campylobacter</i> spp. foi detetado na amostra.
Cdif: ADN detetado.	O ADN de <i>Clostridioides difficile</i> foi detetado na amostra.
Cdif: detetado ADN de um possível ribotipo 027	O ADN de <i>Clostridioides difficile</i>, possível ribotipo 027, foi detetado na amostra.
Sal: ADN detetado.	O ADN de <i>Salmonella</i> spp. foi detetado na amostra.
Shi: ADN detetado.	O ADN de <i>Shigella</i> spp. foi detetado na amostra.
Yen: ADN detetado.	O ADN de <i>Yersinia enterocolitica</i> foi detetado na amostra.
Cam: ADN não detetado ou inferior ao "LoD".	Não foi detetado ADN de <i>Campylobacter</i> na amostra. A amostra é negativa para ADN de <i>Campylobacter</i> spp., ou a sua concentração está abaixo do limite de deteção do ensaio.
Cdif:ADN não detetado ou inferior ao "LoD".	O ADN de <i>Clostridioides difficile</i> não foi detetado na amostra. A amostra é negativa para ADN de <i>Clostridioides difficile</i> , ou a sua concentração está abaixo do limite de deteção do ensaio.
Sal:ADN não detetado ou inferior ao "LoD".	O ADN de <i>Salmonella</i> spp. não foi detetado na amostra. A amostra é negativa para ADN de <i>Salmonella</i> spp., ou a sua concentração está abaixo do limite de deteção do ensaio.
Shi:ADN não detetado ou inferior ao "LoD".	O ADN de <i>Shigella</i> spp. não foi detetado na amostra. A amostra é negativa para ADN de <i>Shigella</i> spp., ou a sua concentração está abaixo do limite de deteção do ensaio.
Yen: ADN não detetado ou inferior ao "LoD".	O ADN de <i>Yersinia enterocolitica</i> não foi detetado na amostra. A amostra é negativa para ADN de <i>Yersinia enterocolitica</i> , ou a sua concentração está abaixo do limite de deteção do ensaio.
Inválido-Volte a testar a amostra.	Resultado do ensaio inválido devido a falha do Controlo Interno (extração incorreta, transferência de inibidores). O teste deve ser repetido.

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

Se 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" (modo "Troubleshooting" (Resolução de problemas)).

As amostras reportadas como "Xxx:DNA Not Detected or below the LoD" são adequadas para análise, mas o ADN dos alvos não foi detetado. Neste caso, a amostra pode ser negativa para ADN dos alvos está presente numa concentração abaixo do limite de deteção do ensaio (ver "Características de desempenho").

Nota: Os resultados obtidos com este ensaio devem ser interpretados em combinação com todas as observações clínicas e resultados laboratoriais relevantes.

Os resultados da execução da Amostra são guardados na base de dados e, se válidos, podem ser aprovados (Exibição dos resultados) pelos utilizadores "Administrador" ou "Analista", seguindo as instruções na GUI. A partir da janela "Result Display" é possível imprimir e guardar os resultados da execução da amostra como "Sample Report" e "Track Report".

C. Elaboração do relatório do resultado da amostra

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

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

O "Track Report" apresenta os detalhes do resultado pelo Rastreo selecionado.

O "Sample Report" e o "Track Report" podem ser impressos e assinados por pessoal autorizado.

PROCEDIMENTO do ELiTe BeGenius

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

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

PASSO 1 - Verificação da disponibilidade do sistema

Antes de iniciar a sessão:

- ligue o **ELiTe BeGenius** e inicie sessão no modo "**CLOSED**",

no menu "Controls" da página inicial, verifique se os controlos de PCR (**GI-B Positive Control**, **GI-B Negative Control**) estão aprovados e válidos (estado) para o lote de **GI-PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja controlos de PCR válidos disponíveis para o lote de **GI-B PCR Mix**, execute os controlos de PCR conforme descrito nas secções seguintes,

- escolha o tipo de execução, seguindo as instruções na Interface Gráfica do Utilizador (GUI) para a preparação da sessão e utilizando os Protocolos de ensaio fornecidos pela EG SpA (consulte "Specimens and Controls").

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

PASSO 2 - Configuração da sessão

O **GI Bacterial PLUS ELiTe MGB Kit** pode ser usado no **ELiTe BeGenius** para realizar:

- Execução da amostra (Extract + PCR [Extraction + PCR]),
- Execução de amostras eluídas (PCR Only [apenas PCR]),
- Execução de Controlo positivo e negativo (PCR Only [apenas PCR]).

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

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

Antes de configurar uma execução:

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

refrigeração.

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

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

	A. Execução da amostra (Extract + PCR [Extraction+PCR])	B. Processamento 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. Pré-trate as amostras de acordo com o procedimento descrito na secção "Specimens and Controls". Para este ensaio, 200 µL da amostra devem ser transferidos para um tubo Sarstedt de 2 mL anteriormente identificado.	Se necessário, 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. Cada tubo é suficiente para 4 reações. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.
2	Descongele os tubos de CPE necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Cada tubo é suficiente para 12 extracções.	n.a.	Como Negative Control , transfira pelo menos 50 µL de água de qualidade para biologia molecular para um "Elution tube", fornecido com o ELiTe InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Selecione " Perform Run " a partir do ecrã "Home".	Selecione " Perform Run " a partir do ecrã "Home".	Selecione " Perform Run " a partir do ecrã "Home".
4	Retire os Suportes da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação.	Retire os "Racks" de "Lane 1, 2 and 3" (L1, L2, L3) da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação.	Retire os "Racks" de "Lane 1, 2 and 3" (L1, L2, L3) da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação.
5	Selecione o "Run mode": " Extract + PCR " (Extraction + 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".	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", insira a "Sample ID", a "Sample matrix", o "Extraction kit" 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" introduza o "Reagent name" 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" para continuar.	Selecione "Next" para continuar.	Selecione "Next" para continuar.
9	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume de entrada de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição extraído") é de 100 µL.	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume de entrada de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição extraído") é de 100 µL.	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume de entrada de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição extraído") é de 100 µL.
10	Selecione o Protocolo de Ensaio na coluna "Assay" (ver "Amostras e Controlos").	Selecione o Protocolo de Ensaio na coluna "Assay" (ver "Amostras e Controlos").	Selecione o Protocolo de Ensaio na coluna "Assay" (ver "Amostras e Controlos").
11	Selecione "Next" para continuar.	Selecione "Next" para continuar.	Selecione "Next" para continuar.
	Nota: Quando forem processadas mais de 12 amostras, repita o procedimento a partir do ponto 6.		-

	A. Execução da amostra (Extract + PCR [Extraction+PCR])	B. Processamento de amostras eluídas (PCR Only [apenas PCR])	C. Execução de Controle positivo e negativo (apenas PCR)
12	Coloque os "Elution tubes" no "Elution Rack" (os tubos de eluição podem ser etiquetados com código de barras para melhorar a capacidade de localização).	n.a.	n.a.
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 "Via 2" (L2).	n.a.	n.a.
14	Selecione "Next" para continuar.	n.a.	n.a.
15	Carregue o CPE e a PJ PCR Mix no "Reagent/Elution Rack".	Carregue a PCR Mix no "Reagent/Elution Rack".	Carregue a PCR Mix no "Reagent/Elution Rack".
16	Insira o "Reagent/Elution Rack" na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2) se estiver disponível, ou na "Lane 1" (L1). Se necessário, para cada reagente de PCR Mix e/ou CPE, insira o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações).	Insira o "Reagent/Elution Rack" na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2) se estiver disponível, ou na "Lane 1" (L1). Se necessário, para cada reagente de PCR Mix, insira o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações).	Insira o "Reagent/Elution Rack" na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2) se estiver disponível, ou na "Lane 1" (L1). Se necessário, para cada reagente de PCR Mix, insira o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações).
17	Selecione "Next" para continuar.	Selecione "Next" para continuar.	Selecione "Next" para continuar.
18	Verifique as pontas nos "Tip Racks" na "Inventory Area" e substitua "Tip Racks", se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" na "Inventory Area" e substitua "Tip Racks", se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" na "Inventory Area" e substitua "Tip Racks", se necessário.
19	Selecione "Next" para continuar.	Selecione "Next" para continuar.	Selecione "Next" para continuar.
20	Coloque o "PCR Basket" com a "PCR Cassette" na área do inventário.	Coloque o "PCR Basket" com a "PCR Cassette" na área do inventário.	Coloque o "PCR Basket" com a "PCR Cassette" na área do inventário.
21	Selecione "Next" para continuar.	Selecione "Next" para continuar.	Selecione "Next" para continuar.
22	Carregue o "Extraction Basket" (cesto de extração) com os cartuchos de extração "ELITE InGenius SP 200" e os consumíveis de extração necessários.	n.a.	n.a.
23	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
24	Prima "Start" (Iniciar).	Prima "Start" (Iniciar).	Prima "Start" (Iniciar).

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

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

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

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

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

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

PASSO 3 - Revisão e aprovação dos resultados

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

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

Nota: O **ELITE BeGenius** pode ser ligado ao "Laboratory Information System" ("Sistema de Informações Laboratoriais" LIS), que permite 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 utilizando o **GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit** através do seguinte procedimento:

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

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

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Limite de deteção (LdD)

O limite de deteção (LdD) do ensaio foi determinado para os instrumentos Elite BeGenius e Elite InGenius, testando amostras de fezes nativas reforçadas com material de referência *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* e *Yersinia enterocolitica* (DSMZ e ZeptoMetrix).

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.

Patogénico	LoD	Limites de intervalo de 95% de confiança	
		Limite inferior	Limite superior
<i>Campylobacter jejuni</i>	72 CFU / mL	56 CFU / mL	115 CFU / mL
<i>Clostridioides difficile</i>	172 CFU / mL	129 CFU / mL	273 CFU / mL
<i>Salmonella enterica</i>	372 CFU / mL	268 CFU / mL	615 CFU / mL
<i>Shigella flexneri</i>	337 CFU / mL	239 CFU / mL	573 CFU / mL
<i>Yersinia enterocolitica</i>	363 CFU / mL	255 CFU / mL	637 CFU / mL

O valor de LdD calculado foi verificado através de testes em amostras de fezes nativas de Elite BeGenius e Elite InGenius e amostras de fezes colhidas em FecalSwab reforçadas com *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* e *Yersinia enterocolitica* à concentração declarada.

Os resultados obtidos confirmaram a alegada concentração para todos os alvos do GI Bacterial PLUS MGB Kit com as duas matrizes tanto no ELITE BeGenius como no ELITE InGenius.

Inclusividade: Eficiência de deteção em diferentes estirpes ou isolados

A Inclusividade do ensaio, como eficiência de deteção para diferentes estirpes ou isolados de *Campylobacter spp.*, *Clostridium difficile*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* e *Yersinia enterocolitica* foi avaliada pela análise *in silico*. A análise revelou a conservação da sequência e a ausência de mutações significativas. Assim, espera-se uma deteção eficiente para as diferentes estirpes ou isolados.

A Inclusividade também foi verificada através da análise de 15 materiais de referência de culturas bacterianas de diferentes marcas (DSMZ e ZeptoMetrix).

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Amostra	Pos./Rep.	Resultado
<i>Campylobacter jejuni</i>	6 / 6	Cam: ADN detetado
<i>Campylobacter coli</i>	6 / 6	Cam: ADN detetado
<i>Campylobacter lari</i>	6 / 6	Cam: ADN detetado
<i>C. difficile</i> 002	6 / 6	Cdif: ADN detetado
<i>C. difficile</i> 078	6 / 6	Cdif: ADN detetado
<i>C. difficile</i> 017	6 / 6	Cdif: ADN detetado
<i>C. difficile</i> 027-1	6 / 6	Cdif: detetado ADN de um possível ribotipo 027
<i>C. difficile</i> 027-2	6 / 6	Cdif: detetado ADN de um possível ribotipo 027
<i>Salmonella enterica</i>	6 / 6	Sal: ADN detetado
<i>Salmonella bongori</i>	6 / 6	Sal: ADN detetado
<i>Shigella flexneri</i>	6 / 6	Shi: ADN detetado
<i>Shigella boydii</i>	6 / 6	Shi: ADN detetado
<i>Shigella sonnei</i>	6 / 6	Shi: ADN detetado
<i>Yersinia enterocolitica</i> subsp. <i>enterocolitica</i>	6 / 6	Yen: ADN detetado
<i>Yersinia enterocolitica</i> subsp. <i>paleartica</i>	6 / 6	Yen: ADN detetado

Todas as amostras foram corretamente pelo GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit.

Interferência entre alvos

A potencial interferência entre os alvos do ensaio foi avaliada através de um teste de co-amplificação de *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* e *Yersinia enterocolitica* (DSMZ e ZeptoMetrix).

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

Alvo no teste (cópias baixas)	Alvo interferente a 2.500.000 CFU/mL				
	<i>Campylobacter</i>	<i>C. difficile</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>	<i>Yersinia</i>
<i>Campylobacter</i>	-	5.000 CFU / mL	5.000 CFU / mL	5.000 CFU / mL	2.500 CFU / mL
<i>C. difficile</i>	2.500 CFU / mL	-	2.500 CFU / mL	5.000 CFU / mL	2.500 CFU / mL
<i>Salmonella</i>	2.500 CFU / mL	5.000 CFU / mL	-	5.000 CFU / mL	2.500 CFU / mL
<i>Shigella</i>	2.500 CFU / mL	2.500 CFU / mL	2.500 CFU / mL	-	2.500 CFU / mL
<i>Yersinia</i>	2.500 CFU / mL	2.500 CFU / mL	2.500 CFU / mL	2.500 CFU / mL	-

O GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit mostra uma interferência mínima entre os alvos. Todos os alvos podem ser detetados mesmo quando são cerca de 1000 vezes inferiores que os outros agentes patogénicos de interesse.

Organismos potencialmente interferentes: Reatividade cruzada

A potencial reatividade cruzada não pretendida de organismos que podem ser encontrados em amostras clínicas de fezes foi avaliada para o ensaio através da análise *in silico*. A análise não mostrou homologia significativa com outros organismos não pretendidos (vírus, bactérias, protozoários e fungos) e, portanto, não se espera reatividade cruzada, exceto para *Escherichia coli* *enteroinvasiva* (EIEC). A região amplificada do gene IPAH, alvo da espécie *Shigella*, é, de facto, comum com a *Escherichia coli* *enteroinvasiva* (EIEC), estando geneticamente relacionadas com a *Shigella* e sendo detetadas por este produto como positivas para *Shigella*.

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Organismo	Positivo/réplicas						Resultado
	Cdif	Cl	Yen	Shi	Cam	Sal	
<i>Aeromonas hydrophila</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Bacteroides fragilis</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Vibrio cholerae</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Helicobacter pylori</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada

Organismo	Positivo/réplicas						Resultado
	Cdif	Cl	Yen	Shi	Cam	Sal	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Escherichia coli</i> 92.0147	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Serratia Marcescens</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Candida albicans</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Citrobacter freundii</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Clostridium nexile</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Proteus mirabilis</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Enterobacter cloacae</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Giardia lamblia</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Cryptosporidium parvum</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Entamoeba histolytica</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Enterovirus	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Adenovirus	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Astrovirus	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Norovirus G1	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Rotavírus	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Sapovirus	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Clostridium disporicum</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada

Todos os organismos potencialmente interferentes testados não apresentaram reatividade cruzada para a amplificação dos alvos usando o GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit.

Organismos potencialmente interferentes: Inibição

A potencial inibição de organismos não pretendidos que podem ser encontrados em amostras clínicas de fezes foi avaliada para o ensaio através da análise de um painel de organismos não pretendidos (ATCC, ZeptoMetrix e DSMZ) reforçados com *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* e *Yersinia enterocolitica* (DSMZ e ZeptoMetrix).

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Organismo	Positivo/réplicas						Resultado
	Cdif	Cl	Yen	Shi	Cam	Sal	
<i>Aeromonas hydrophila</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
<i>Bacteroides fragilis</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
<i>Vibrio cholerae</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência
<i>Helicobacter pylori</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Sem interferência

GI Bacterial PLUS ELite MGB® Kit
reagentes para PCR em tempo real do ADN

REF RTS502ING

Organismo	Positivo/réplicas						Resultado
	Cdif	Cl	Yen	Shi	Cam	Sal	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
<i>Escherichia coli</i> 92.0147	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
<i>Serratia Marcescens</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
<i>Acinetobacter baumannii</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
<i>Candida albicans</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
<i>Citrobacter freundii</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
<i>Clostridium nexile</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
<i>Proteus mirabilis</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
<i>Enterobacter cloacae</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
<i>Giardia lamblia</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
<i>Cryptosporidium parvum</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
<i>Entamoeba histolytica</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
Enterovírus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
Adenovírus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
Astrovírus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
Norovírus G1	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
Rotavírus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
Sapovírus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
<i>Clostridium disporicum</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência

Todos os organismos potencialmente interferentes testados não apresentaram inibição para a amplificação do alvo usando o GI Bacterial PLUS ELite MGB Kit.

Substâncias potencialmente interferentes: Reatividade cruzada

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Substância	Positivo/réplicas						Resultado
	Cdif	Cl	Yen	Shi	Cam	Sal	
Óleo de vaselina	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sem reatividade cruzada
Nonoxynol-9	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sem reatividade cruzada
Subsalicilato de bismuto	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sem reatividade cruzada
Cloridrato de Loperamida	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sem reatividade cruzada
Bisacodyl	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sem reatividade cruzada
Azitromicina	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sem reatividade cruzada
Vancomicina	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sem reatividade cruzada
Metronidazol	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sem reatividade cruzada
Ampicilina	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sem reatividade cruzada
Cefpodoxime	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sem reatividade cruzada
Ciprofloxacina	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sem reatividade cruzada
Hidro cortisona	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sem reatividade cruzada
Carbonato de cálcio	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sem reatividade cruzada
Ácido algínico	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sem reatividade cruzada
Hidróxido de alumínio	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sem reatividade cruzada
Trissilicato de magnésio	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sem reatividade cruzada
Sangue total	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sem reatividade cruzada
Mucina	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sem reatividade cruzada
Ácido palmítico	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sem reatividade cruzada
Ácido esteárico	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Sem reatividade cruzada

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

Substâncias potencialmente interferentes: Inibição

A potencial inibição de substâncias interferentes (endógenas e exógenas) que podem ser encontradas em amostras clínicas de fezes foi avaliada para o ensaio através da análise de um painel de

GI Bacterial PLUS ELite MGB® Kit
reagentes para PCR em tempo real do ADN

REF RTS502ING

substâncias em concentração relevante em amostras com *Campylobacter jejuni*, Clostridioides difficile, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* e *Yersinia enterocolitica* (DSMZ e ZeptoMetrix).

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Substância	Positivo/réplicas						Resultado
	Cdif	Cl	Yen	Shi	Cam	Sal	
Óleo de vaselina	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
Nonoxynol-9	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
Subsalicilato de bismuto	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
Cloridrato de Loperamida	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
Bisacodyl	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
Azitromicina	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
Vancomicina	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
Metronidazol	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
Ampicilina	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
Cefpodoxime	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
Ciprofloxacina	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
Hidro cortisona	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
Carbonato de cálcio	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
Ácido algínico	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
Hidróxido de alumínio	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
Trissilicato de magnésio	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
Sangue total	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
Mucina	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
Ácido palmítico	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência
Ácido esteárico	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Sem interferência

O teste mostrou que as substâncias testadas não inibem a detecção de alvos usando o GI Bacterial PLUS ELite MGB Kit.

Contaminação cruzada

A possível contaminação cruzada durante a análise foi avaliada para o ensaio através do teste de 60 réplicas de uma amostra de fezes negativas alternadas para 60 réplicas da mesma amostra reforçada com *Campylobacter jejuni* (DSMZ) na concentração de 1.000.000 UFC/mL em 5 sessões.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

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

Neste teste com o GI Bacterial PLUS ELite MGB Kit, a contaminação cruzada não foi detetada dentro das sessões nem entre sessões.

Falha de todo o sistema

Toda a taxa de falha do sistema para o ensaio foi avaliada através da análise de 50 diferentes amostras negativas de fezes nativas e 30 amostras de fezes colhidas em FecalSwab reforçadas com *Campylobacter jejuni* (DSMZ) na concentração de 3 vezes o LdD (216 CFU/mL).

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Amostras	N	Positivo	Negativo	Taxa de falha geral do sistema
Fezes nativas reforçadas a 3X LdD	50	49	1	2%
Fezes em FecalSwab reforçadas a 3 vezes o LdD	30	30	0	0%

Neste teste com o GI Bacterial PLUS ELite MGB Kit, 98% das amostras de fezes nativas e 100% das amostras de fezes colhidas em FecalSwab foram confirmadas como positivas. Neste teste, toda a taxa de falha do sistema foi igual a 2% para amostras de fezes nativas e 0% para amostras de fezes colhidas em FecalSwab.

Repetibilidade

A Repetibilidade do ensaio foi avaliada no ELITE BeGenius e ELITE InGenius através da análise de um painel de amostras de fezes nativas ou reforçadas com *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* e *Yersinia enterocolitica* (DSMZ e ZeptoMetrix).

Um exemplo dos resultados da Repetibilidade intra-sessão (em um dia) no ELITE BeGenius são

mostrados na tabela seguinte.

Amostra	Alvo	N	Média	SD	%CV	%Concordância
Neg	Cdif (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD CY		6	-	-	-	100%
3xLoD SS		6	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		6	35,30	0,55	1,55	100%
Neg	Cdif (Tm)	6	58,8	0,19	0,32	100%
3 vezes LdD Cdif		6	-	-	-	100%
Neg	Cam (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD CY		6	32,01	0,39	1,20	100%
3xLoD SS		6	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		6	-	-	-	100%
Neg	Yen (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD CY		6	35,28	0,46	1,30	100%
3xLoD SS		6	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		6	-	-	-	100%
Neg	Sal (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD CY		6	-	-	-	100%
3xLoD SS		6	35,95	1,19	3,31	100%
3 vezes LdD Cdif		6	-	-	-	100%
Neg	Shi (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD CY		6	-	-	-	100%
3xLoD SS		6	35,41	0,24	0,67	100%
3 vezes LdD Cdif		6	-	-	-	100%

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

Amostra	Alvo	N	Média	SD	%CV	%Concordância
Neg	Cdif (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD CY		6	-	-	-	100%
3xLoD SS		6	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		6	34,81	0,25	0,71	100%
Neg	Cdif (Tm)	6	60,0	0,16	0,27	100%
3 vezes LdD Cdif		6	-	-	-	100%
Neg	Cam (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD CY		6	31,34	0,11	0,34	100%
3xLoD SS		6	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		6	-	-	-	100%
Neg	Yen (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD CY		6	35,71	0,30	0,85	100%
3xLoD SS		6	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		6	-	-	-	100%
Neg	Sal (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD CY		6	-	-	-	100%
3xLoD SS		6	35,51	0,59	1,65	100%
3 vezes LdD Cdif		6	-	-	-	100%
Neg	Shi (Ct)	6	-	-	-	100%
3xLoD CY		6	-	-	-	100%
3xLoD SS		6	33,49	0,96	2,87	100%
3 vezes LdD Cdif		6	-	-	-	100%

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

Amostra	Alvo	N	Média	SD	%CV	%Concordância
Neg	Cdif (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD CY		12	-	-	-	100%
3xLoD SS		12	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		12	35,22	0,21	0,60	100%
Neg	Cdif (Tm)	12	59,3	0,26	0,45	100%
3 vezes LdD Cdif		12	-	-	-	100%
Neg	Cam (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD CY		12	32,59	0,38	1,15	100%
3xLoD SS		12	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		12	-	-	-	100%

Amostra	Alvo	N	Média	SD	%CV	%Concordância
Neg	Yen (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD CY		12	34,88	0,40	1,15	100%
3xLoD SS		12	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		12	-	-	-	100%
Neg	Sal (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD CY		12	-	-	-	100%
3xLoD SS		12	35,69	0,93	2,61	100%
3 vezes LdD Cdif		12	-	-	-	100%
Neg	Shi (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD CY		12	-	-	-	100%
3xLoD SS		12	34,47	1,01	2,94	100%
3 vezes LdD Cdif		12	-	-	-	100%

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

Amostra	Alvo	N	Média	SD	%CV	%Concordância
Neg	Cdif (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD CY		12	-	-	-	100%
3xLoD SS		12	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		12	34,81	0,22	0,63	100%
Neg	Cdif (Tm)	12	60,0	0,20	0,33	100%
3 vezes LdD Cdif		12	-	-	-	100%
Neg	Cam (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD CY		12	31,35	0,13	0,42	100%
3xLoD SS		12	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		12	-	-	-	100%
Neg	Yen (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD CY		12	35,79	0,31	0,87	100%
3xLoD SS		12	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		12	-	-	-	100%
Neg	Sal (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD CY		12	-	-	-	100%
3xLoD SS		12	35,52	0,63	1,78	100%
3 vezes LdD Cdif		12	-	-	-	100%
Neg	Shi (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD CY		12	-	-	-	100%
3xLoD SS		12	33,61	0,79	2,35	100%
3 vezes LdD Cdif		12	-	-	-	100%

No teste de repetibilidade, o GI Bacterial PLUS ELite MGB Kit detetou todas as amostras conforme esperado e apresentou uma variabilidade máxima dos valores de Ct do alvo como %CV igual a 3,31%.

Reprodutibilidade

A Reprodutibilidade do ensaio foi avaliada no ELITE BeGenius e ELITE InGenius através da análise de um painel de amostras de fezes nativas ou reforçadas com *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* e *Yersinia enterocolitica* (DSMZ e ZeptoMetrix).

Os resultados da Reprodutibilidade entre lotes (em seis dias e três lotes) no Elite BeGenius são mostrados na tabela abaixo.

Amostra	Alvo	N	Média	SD	%CV	%Concordância
Neg	Cdif (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		36	35,08	0,35	1,01	100%
Neg	Cdif (Tm)	36	59,2	0,33	0,56	100%
3 vezes LdD Cdif		36	-	-	-	100%

Amostra	Alvo	N	Média	SD	%CV	%Concordância
Neg	Cam (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	31,92	0,60	1,87	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Yen (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	34,94	0,47	1,35	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Sal (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	35,71	0,85	2,37	100%
3 vezes LdD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Shi (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	34,61	0,82	2,38	100%
3 vezes LdD Cdif		36	-	-	-	100%

Os resultados da Reprodutibilidade entre lotes (em seis dias e três lotes) no Elite InGenius são mostrados na tabela abaixo.

Amostra	Alvo	N	Média	SD	%CV	%Concordância
Neg	Cdif (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		36	34,83	0,32	0,92	100%
3 vezes LdD Cdif	Cdif (Tm)	36	59,8	0,27	0,45	100%
Neg	Cam (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	31,75	0,66	2,07	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Yen (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	35,73	0,39	1,10	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Sal (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	35,46	0,54	1,51	100%
3 vezes LdD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Shi (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	33,99	0,80	2,36	100%
3 vezes LdD Cdif		36	-	-	-	100%

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

Amostra	Alvo	N	Média	SD	%CV	%Concordância
Neg	Cdif (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		36	34,97	0,33	0,95	100%
3 vezes LdD Cdif	Cdif (Tm)	36	59,1	0,28	0,48	100%
Neg	Cam (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	32,29	0,44	1,36	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		36	-	-	-	100%

Amostra	Alvo	N	Média	SD	%CV	%Concordância
Neg	Yen (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	35,91	0,59	1,64	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Sal (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	36,05	0,81	2,24	100%
3 vezes LdD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Shi (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	34,75	1,29	3,71	100%
3 vezes LdD Cdif		36	-	-	-	100%

Os resultados da Reprodutibilidade Inter-instrumento (em seis dias, três lotes e três instrumentos) no Elite InGenius são mostrados na tabela abaixo.

Amostra	Alvo	N	Média	SD	%CV	%Concordância
Neg	Cdif (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		36	34,68	0,37	1,06	100%
3 vezes LdD Cdif	Cdif (Tm)	36	59,9	0,26	0,44	100%
Neg	Cam (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	31,82	0,38	1,18	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Yen (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	35,67	0,97	2,71	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Sal (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	36,19	1,49	4,11	100%
3 vezes LdD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Shi (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	34,46	0,76	2,21	100%
3 vezes LdD Cdif		36	-	-	-	100%

No teste de Reprodutibilidade, o GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit detetou todas as amostras conforme esperado e apresentou uma variabilidade máxima dos valores de Ct do alvo como %CV igual a 4,11%.

Especificidade do diagnóstico: Confirmação de amostras negativas

A Especificidade de Diagnóstico do ensaio, como confirmação de amostras clínicas negativas, foi avaliada em associação com o ELITE InGenius através da análise de amostras clínicas de fezes recolhidas sem conservantes ou em meio modificado Cary Blair, certificado negativo ou presumivelmente negativo para cada alvo.

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

Os resultados estão resumidos na tabela seguinte.

Fezes negativas testadas para o alvo	N	Positivo	Negativo	% de especificidade do diagnóstico
<i>Campylobacter</i> spp.	267	1	266	99,6%
<i>Clostridium difficile</i>	293	2	291	99,3%
<i>Salmonella</i> spp.	314	2	312	99,4%
<i>Shigella</i> spp.	338	0	338	100%
<i>Yersinia enterocolitica</i>	332	2	330	99,4%

Todas as amostras de fezes foram válidas para a análise. As amostras positivas têm um título muito baixo, próximo do valor do LdD do sistema, ou amostras para as quais não foi possível testar novamente.

A Especificidade de Diagnóstico do GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit em associação com as fezes neste teste foi igual a 99,6% para Cam, 99,3% para Cdif, 99,4% para Sal, 100% para SHI e 99,7% para Yen.

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

Sensibilidade de diagnóstico: Confirmação de amostras positivas

A Sensibilidade de Diagnóstico do ensaio, como confirmação de amostras clínicas positivas, foi avaliada em associação com o ELITE InGenius através da análise de amostras clínicas de fezes colhidas sem conservantes ou em meio Cary-Blair, positivas para cada alvo ou reforçadas com materiais de referência.

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

Os resultados estão resumidos na tabela seguinte.

Fezes positivas/reforçadas	N	Positivo	Negativo	% de sensibilidade de diagnóstico
Positivo para <i>Campylobacter</i> spp.	100	100	0	100%
Positivo para <i>Clostridium difficile</i>	51	49	2	96,3%
Reforçado para <i>Clostridium difficile</i> 027	3	3	0	
Positivo para <i>Salmonella</i> spp.	56	56	0	100%
Positivo para <i>Shigella</i> spp.	31	31	0	100%
Reforçado para <i>Shigella</i>	22	22	0	
Positivo para <i>Yersinia enterocolitica</i>	39	39	0	100%
Reforçado para <i>Yersinia enterocolitica</i>	12	12	0	

A Sensibilidade de Diagnóstico do GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit em associação com as fezes foi igual a 100% para Cam, 96,3% para Cdif, 100% para Sal, 100% para SHI e 100% para Yen.

Nota: Os dados e resultados completos dos testes realizados para avaliação das características de desempenho do produto com matrizes e o instrumento estão registados no Ficheiro técnico do produto "GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit", FTP 502ING.

REFERÊNCIAS

- K. Sen et al. (2018) Appl. Environ. Microbiol. 84
 E. J. Kuijper et al. (2006) Clin Microbiol Infect: 12 (Suppl. 6), 2–18
 U. Gross et al (2018) BMC Genomics 19(1):1-1
 T. Kellner et al. (2019) J. Clin. Microbiol. 57
 V. D. Thiem et al. (2004) J. Clin. Microbiol. 42
 J. Z. Wang et al. (2014) J. Clin. Microbiol. 52
 K. Linnet et al. (2004) Clin. Chem. 50: 732 - 740.
 E. A. Lukhtanov et al. (2007) Nucleic Acids Res. 35: e30

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Use este produto apenas com as seguintes amostras clínicas: fezes nativas ou fezes colhidas em FecalSwab.

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

O produto não se destina a ser utilizado como auxílio no diagnóstico da febre entérica e na identificação de *Salmonella enterica* serotipo Typhi para a avaliação do estado portador dos pacientes.

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

Devido à sua elevada sensibilidade analítica, o método de PCR em tempo real usado neste produto é sensível a contaminação a partir de amostras clínicas positivas, dos controlos positivos e dos produtos de PCR. Contaminação cruzada causada por falsos resultados 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 e áreas que sejam adequadas 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 qualificados 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 ARN alvo não foi detetado no ARN extraído da amostra; no entanto, não pode negligenciar-se o facto de o ARN alvo ter um título mais baixo que o limite de deteção do produto (Ver Características de desempenho). Neste caso, o resultado podia ser um falso negativo.

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

Os resultados obtidos com este produto podem, por vezes, ser inválidos devido a uma falha do Controlo Interno. Neste caso, a amostra deve ser novamente testada, começando pela extração, o que pode

originar um atraso na obtenção dos resultados finais.

Possíveis polimorfismos, inserções ou eliminações na região do ARN visado pelos primers e sondas de produto podem prejudicar a deteção do ADN do alvo.

A região amplificada do gene IPAH é específica para a espécie *Shigella* à exceção da *Escherichia coli* enteroinvasiva (EIEC), estando geneticamente relacionadas com a *Shigella* e sendo detetadas por este produto como positivas para *Shigella*.

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

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

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

RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

Reação de Positive Control inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da PCR Mix e do Positive Control. Verifique os volumes da PCR Mix e do Positive Control.
Degradação da PCR Mix. (Mistura de PCR)	Não use a PCR Mix durante mais de 7 sessões independentes (3 horas cada no bloco de refrigeração da área de inventário ou na unidade de refrigeração). Não utilize a PCR Mix durante mais de 3 sessões consecutivas (7 horas no bloco de refrigeração da área de inventário ou na unidade de refrigeração). Não deixe a PCR Mix à temperatura ambiente durante mais do que 30 minutos. Utilize uma nova alíquota da PCR Mix.
Degradação do Positive Control.	Não use o Positive Control para mais de 4 sessões independentes (3 horas cada na área de extração ou na unidade de refrigeração). Utilize uma nova alíquota de Positive Control.
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Reação de Controlo Negativo inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da PCR Mix e do Controlo Negativo. Verifique os volumes da PCR Mix e do Controlo Negativo.
Contaminação do Negative Control.	Não use o Controlo Negativo para mais do que 1 sessão. Utilize uma nova alíquota de água de grau de biologia molecular.
Contaminação da PCR Mix (Mistura de PCR)	Utilize uma nova alíquota da PCR Mix.
Contaminação da área de extração, dos racks, do bloco de inventário ou da unidade de refrigeração	Limpe as superfícies com detergentes aquosos, lave as batatas de laboratório, substitua os tubos e as pontas utilizadas.
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Reação da amostra inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da PCR Mix, do Controlo Interno e da amostra. Verifique os volumes da PCR Mix do Controlo Interno e da amostra.
Degradação da PCR Mix. (Mistura de PCR)	Não use a PCR Mix durante mais de 7 sessões independentes (3 horas cada no Inventory Area Cool Block ou na Cooler Unit). Não utilize a PCR Mix durante mais de 3 sessões consecutivas (7 horas no Inventory Area Cool Block 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 Controlo Interno.	Utilize uma nova alíquota de Controlo Interno.
Inibição devido a substâncias interferentes na amostra.	Repita a amplificação com uma diluição 1:2 em água de grau de biologia molecular de amostra eluída numa sessão "PCR Only" (apenas PCR). Repita a extração com uma diluição 1:2 em água de grau de biologia molecular da amostra pré-tratada numa sessão "Extract + PCR" (Extração + PCR)
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

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

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

Elevada taxa anómala de resultados positivos na mesma sessão (reações com valores Ct recentes semelhantes)

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

SIMBOLOS

-  Número do catálogo.
-  Limite máximo da temperatura.
-  Código do lote.
-  Usar até (último dia do mês).
-  Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*.
-  Cumprimento dos requisitos da Regulamentos IVDR 2017/746/CE relativo a dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro*. Certificação emitida pela TÜV Süd Product Service GmbH, Alemanha.
-  Identificação única do dispositivo
-  Contém suficiente para "N" testes.
-  Atenção, consulte as instruções de utilização.
-  Conteúdo.
-  Manter afastado da luz solar.
-  Fabricante.

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.

NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA

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

Os reagentes de deteção ELITE MGB® são abrangidos por um ou mais dos números de patente dos EUA 6972339, 7112684, 7319022, 7348146, 7381818, 7541454, 7582739, 7601851, 7671218, 7718374, 7723038, 7759126, 7767834, 7851606, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8569516, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529 e números de patente EP 1430147, 1687609, 1781675, 1789587, 2689031, 2714939, 2736916, 2997161 bem como pedidos que estejam atualmente pendentes.

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

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

GI Bacterial PLUS ELITE MGB® Kit

used in association with Genius series® platforms

Ref: RTS502ING



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

Intended use

The product **GI Bacterial PLUS ELITE MGB® Kit** is an *in vitro* diagnostic medical device intended to be used by healthcare professionals as qualitative multiplex nucleic acids Real-Time PCR assay for the detection and identification of the genomic DNA of *Campylobacter* spp. (Cam), *Clostridium difficile* (also known as *Clostridioides difficile*, Cdif), including discrimination of ribotype 027, *Salmonella* spp. (Sal), *Shigella* spp. (Shi), *Yersinia enterocolitica* (Yen) extracted from clinical specimens.

The assay is validated in association with the **ELITE InGenius®** and **ELITE BeGenius®** instruments, automated and integrated systems for extraction, Real-Time PCR and results interpretation, using human stool specimens. The product is intended for use as an aid in the diagnosis of gastrointestinal bacterial infections in patients suspected of having *Campylobacter* spp., *Clostridium difficile*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. and *Yersinia enterocolitica* infection.

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

The product is not intended for use as an aid in the diagnosis of enteric fever and is not intended for use as an aid in the identification of *Salmonella enterica* serovar Typhi (also known as *Salmonella typhi*) for the assessment of the carrier-status of patients.

Amplified sequence

Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
Target 1	16s rRNA	AP639	Cam
Target 2	tcdB	FAM	Cdif
Target 3	invA	AP690	Sal
Target 4	ipaH	AP593	Shi
Target 5	foxA	AP559	Yen
Internal Control	IC2	AP525	IC

Validated matrix

- › Native stool collected without preservatives
- › Stool collected in Fecal Swab (Modified Cary Blair medium)

Kit content and related products

GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit (RTS502ING)		GI Bacterial PLUS - ELITE Positive Control (CTR502ING)	
	X 8		X 3
GI-B PCR Mix 8 tubes of 280 µL 12 reactions per tube 96 reactions per kit 7 freeze-thaw cycles per tube		GI-B Positive Control 3 tubes of 160 µL 4 reactions per tube 12 reactions per kit 4 freeze-thaw cycles	
Maximum shelf-life:	24 months	Maximum shelf-life	24 months
Storage temperature	≤ -20°C	Storage temperature	≤ -20°C

Other products required not provided in the kit

- | | |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> › ELITE InGenius instrument: INT030. › ELITE BeGenius instrument: INT040. › ELITE InGenius SP 200: INT032SP200. › ELITE InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS. › ELITE InGenius PCR Cassette: INT035PCR. › ELITE InGenius Waste Box: F2102-000. › 300 µL Filter Tips Axigen: TF-350-L-R-S. › 1000 µL Filter Tips Tecan: 30180118. | <ul style="list-style-type: none"> › CPE - Internal Control: CTCPE › InhibitEX Buffer (QIAGEN GmBH, Germany, ref. 19593) or an equivalent device. › Minitip Flocked Swab® (COPAN Italia S.p.A., Italy, ref. 518CS01) or an equivalent device. › FecalSwab™ (COPAN Italia S.p.A., Italy, ref. 470CE,) or an equivalent device. |
|--|---|

ELITE InGenius and ELITE BeGenius Protocol

› Sample volume	200 µL	› Eluate PCR input volume	20 µL
› CPE volume	10 µL	› GI-B PCR Mix volume	20 µL
› Total elution volume	100 µL	› Frequency of controls	15 days

ELITE InGenius and ELITE BeGenius Performances

Matrix	Target	Limit of Detection	Sensitivity	Specificity
Native Stool / Stool collected in FecalSwab	Cam	72 CFU / mL	100% ^(100/100)	99.6% ^(266/267)
	Cdif	172 CFU / mL	96.3% ^(52/54)	99.3 % ^(291/293)
	Sal	372 CFU / mL	100% ^(56/56)	99.4 % ^(312/314)
	Shi	337 CFU / mL	100% ^(53/53)	100 % ^(338/338)
	Yen	363 CFU / mL	100% ^(51/51)	99.4 % ^(330/332)

Sample preparation

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

Sample type	Transport/Storage conditions			
	+16 / +26 °C (room temperature)	+2 / +8 °C	-20 ±10 °C	-70 ±15 °C
Native stool collected without preservatives	≤ 24 hours	≤ 48 hours	≤ 1 month	≤ 2 months
Stool collected in Fecal Swab (Modified CaryBlair medium)	≤ 48 hours	≤ 5 days	≤ 1 month	≤ 2 months

ELITE InGenius Procedures

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

Before analysis

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

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", elution: "100 µL"	3. Scan the sample barcodes with hand-barcode reader or type the sample ID
4. Select the "Assay Protocol" of interest: GI Bacterial PLUS ELITE_ST_200_100	5. Select the method "Extract + PCR" and the sample position: Extraction Tube	6. Load the PCR Mix and the Internal Control in the Inventory Block
7. Load: PCR cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip Cassette, Extraction Tube racks	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results

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

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", elution: "100 µL"	3. Scan the sample barcodes with hand-barcode reader or type the sample ID
4. Select the "Assay Protocol" of interest: GI Bacterial PLUS ELITE_ST_200_100 or GI Bacterial PLUS ELITE_PC or GI Bacterial PLUS ELITE_NC	5. Select the method "PCR Only" and the sample position "Elution Tube"	6. Load the PCR Mix in the Inventory Block
7. Load: PCR cassette rack and the Elution tube rack with the extracted nucleic acid	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results

ELITE BeGenius Procedures

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

Before analysis

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

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «Extract + PCR»	2. Insert the Sample Rack with the barcoded samples in the Cooler Unit. The barcode scan is already active	3. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "100 µL"
4. Select the "Assay Protocol" of interest: GI Bacterial PLUS ELITE_Be_ST_200_100 Note: if a second extraction is performed repeat steps from 2 to 4	5. Print the labels to barcode the empty elution tubes. Load the tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit	6. Load the PCR Mix and the Internal Control in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit
7. Load "PCR Basket" with "PCR Cassette" and the "Extraction Basket" with the "ELITE InGenius SP 200" extraction cartridges and the required extraction consumables	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «PCR Only»	2. Load the extracted nucleic acid or controls barcoded tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit	3. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "100 µL"
4. Select the "Assay Protocol" of interest: GI Bacterial PLUS ELITE_Be_ST_200_100 or GI Bacterial PLUS ELITE_Be_PC or GI Bacterial PLUS ELITE_Be_NC	5. Load the PCR-Mix in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit	6. Load "PCR Basket" with "PCR Cassette"
7. Close the door. Start the run	8. View, approve and store the results	