ELITechGroup
MOLECULAR DIAGNOSTICS

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

NOTICE of CHANGE dated 14/03/19

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel»
Ref. RTS553ING

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

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

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

PLEASE NOTE

	LA REVISIONE DI QUESTO IFU E' COMPATIBILE ANCHE CON LA VERSIONE PRECEDENTE DEL KIT
	THE REVIEW OF THIS IFU IS ALSO COMPATIBLE WITH THE PREVIOUS VERSION OF THE KIT
	CET IFU MIS A JOUR ANNULE ET REMPLACE ET EST PARFAITEMENT COMPATIBLE AVEC LA VERSION PRECEDENTE DU KIT
	LA REVISIÓN DE ESTE IFU ES COMPATIBLE TAMBIÉN CON LA VERSIÓN ANTERIOR DEL KIT
	A REVISÃO DO ESTE IFU ÉTAMBÉM COMPATÍVEL COM A VERSÃO ANTERIOR DO KIT
	DIE REVIEW VON DIESER IFU IST KOMPATIBLE MIT DER VORIGE VERSION VON DEM TEST-KIT

ELITechGroup
MOLECULAR DIAGNOSTICS

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

Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel

reagente para amplificação em tempo real do ADN

REF RTS553ING

CE 0344

-20°C

ÍNDICE

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

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O produto **«Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel»** faz parte de um ensaio de amplificação de ácidos nucleicos qualitativo que se destina à deteção de ADN de *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae* e *Chlamydophila pneumoniae* em amostras respiratórias (LBA-lavagem broncoalveolar).

O produto destina-se a ser utilizado no diagnóstico de infeções de *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae* e *Chlamydophila pneumoniae* juntamente com os dados clínicos do paciente e outros resultados de testes laboratoriais.

PRINCÍPIOS DO ENSAIO

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

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

- *Legionella pneumophila* (Lpneu), deteteda por uma sonda específica no canal ELITe InGenius "Legio",
- *Mycoplasma pneumonia* (Mpneu), detetetada por uma sonda específica no canal ELITe InGenius "Mpneu",
- *Chlamydophila pneumoniae* (Cpneu), detetada por uma sonda específica no canal ELITe InGenius "Cpneu".

Para além disso, o Controlo Interno (CI) da extração e inibição também é amplificado no cartucho. O Controlo Interno baseia-se no *Streptococcus equi* (Sequi) e é revelado por uma sonda específica com o canal "CI" do ELITe InGenius.

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

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

DESCRIÇÃO DO PRODUTO

O produto **«Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel»** fornece os seguintes componentes:

- **RB primer and probe mix**

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

- **RB buffer mix**

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

- **RB enzyme**

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

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

MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO

Componente	Descrição	Quantidade	Classificação dos perigos
RB primer and probe mix	Mistura de primer/sonda para Lpneu, Mpneu, Cpneu e CI (Sequi) (tampa VIOLETA)	**2 x 90 µL**	-
RB buffer mix	Tampão PCR (tampa LARANJA)	**2 x 750 µL**	-
RB enzyme	PCR Enzyme mix (tampa AMARELA)	**2 x 60 µL**	-

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO

- Câmara de fluxo laminar.
- Luvas de nitrilo sem pó descartáveis ou material semelhante.
- Misturador de vórtice.
- Microcentrífuga de bancada (12.000 - 14.000 RPM).
- Micropipetas e pontas estéreis com filtro de aerossol ou pontas de deslocação positiva estéreis (0,5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Água de grau de biologia molecular.
- Tubo Sarstedt de 2,0 mL contornado e de tampa de rosca (Sarstedt Ref. 72.694.005).

OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS

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

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

- parâmetros para o controlo positivo da amplificação **«RB ELITe_PC»** (ELITechGroup S.p.A.),
- parâmetros para o controlo negativo da amplificação **«RB ELITe_NC»** (ELITechGroup S.p.A.),
- parâmetros para amostras a serem analisadas **«RB ELITe_BAL_200_100»** (ELITechGroup S.p.A.).

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

- cartuchos de extração **«ELITe InGenius® SP 200»** (ELITechGroup S.p.A., ref. INT032SP200),
- consumíveis para extração e amplificação **«ELITe InGenius® SP 200 Consumable Set»** (ELITechGroup S.p.A, ref. INT032CS),
- cartuchos de amplificação **«ELITe InGenius® PCR Cassette»** (ELITechGroup S.p.A, ref. INT035PCR),
- pontas **«300 µL Universal Fit Filter Tips »** (Axygen BioScience Inc., CA, USA, ref. TF-350-L-R-S),
- caixas **«ELITe InGenius® Waste Box»** (ELITechGroup S.p.A, ref. F2102-000).
- Como modelo do controlo interno de extração e inibição, é necessário o produto genérico **«500-Internal Control»** (ELITechGroup S.p.A., ref. IC500). Tem por base Streptococcus equi (S.equi).
- Como positive control da amplificação, é necessário o produto específico **«Respiratory Bacterial-ELITe Positive Control»** (ELITechGroup S.p.A., ref. CTR553ING). Esta é uma solução estabilizada de ADNs plasmídeos.

Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel
reagente para amplificação em tempo real do ADN

REF RTS553ING

AVISOS E PRECAUÇÕES

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

Avisos e precauções gerais

Manuseie e elimine todas as amostras biológicas como se fossem capazes de transmitir agentes infeciosos. Evite o contacto direto com as amostras biológicas. Evite salpicos ou vaporizações. Os materiais que entrarem em contacto com as amostras biológicas devem ser tratados durante, pelo menos, 30 minutos com 3% de hipoclorito de sódio ou em autoclave durante uma hora a 121 °C antes da eliminação.

Manuseie e elimine todos os reagentes e todos os materiais usados na realização do ensaio como se fossem capazes de transmitir agentes infeciosos. Evite o contacto direto com os reagentes. Evite salpicos ou vaporizações. Os resíduos devem ser manuseados e eliminados em conformidade com as normas de segurança adequadas. Os materiais combustíveis descartáveis devem ser incinerados. Os desperdícios líquidos que contenham ácidos ou bases devem ser neutralizados antes da eliminação.

Use vestuário e luvas de proteção adequados e proteja os olhos e o rosto.
Nunca deve pipetar soluções com a boca.
Não coma, beba, fume ou aplique produtos cosméticos nas áreas de trabalho.
Lave cuidadosamente as mãos após manusear amostras e reagentes.
Elimine os reagentes remanescentes e os desperdícios em conformidade com os regulamentos em vigor.
Consulte a versão atual das IFU, disponíveis online.
Leia atentamente todas as instruções fornecidas com o produto antes de efetuar o ensaio.
Durante a realização do ensaio, siga as instruções fornecidas com o produto.
Não utilize o produto após a data de validade indicada.
Use apenas os reagentes fornecidos com o produto e os recomendados pelo fabricante.
Não use reagentes de lotes diferentes.
Não use reagentes de outros fabricantes.

Avisos e precauções para biologia molecular

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

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

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

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

Avisos e precauções específicos para os componentes

- **Primário RB e mistura da sonda**

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

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

- **Enzima RB**

  A enzima RB deve ser guardada a -20 °C.

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

- **Mistura tampão RB**

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

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

AMOSTRAS E CONTROLOS

Amostras

Este produto deve ser utilizado com as seguintes amostras clínicas:

Amostras respiratórias (LBA - lavagem broncoalveolar)

As amostras respiratórias para extração de ácidos nucleicos devem ser colhidas de acordo com as diretrizes laboratoriais e transportadas e armazenadas a +2°/+8 °C durante um período máximo de uma semana, caso contrário, devem ser congeladas e armazenadas a -20 °C durante um período máximo de trinta dias ou a -70 °C durante no máximo um ano, em conformidade com as práticas laboratoriais.

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

Nota: quando a extração de ADN de LBA for realizada com o **ELITe** InGenius e com o **Software ELITe InGenius** versão **1.2** (ou versões equivalentes mais recentes), use os protocolos do ensaio **RB ELITe_BAL_200_100**. Este protocolo processa 200 µL da amostra, adiciona o **500-Internal Control** a 10 µL/extração e elui os ácidos nucleicos em 100 µL.

Controlos de amplificação

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

como positive control da amplificação, utilize o produto **Respiratory Bacterial-ELITe Positive Control** (não fornecido com este kit) em associação com o protocolo **RB ELITe_PC**,

como Controlo de amplificação Negativo, utilize água de qualidade molecular (não fornecida com este kit) em associação com o protocolo **RB ELITe_NC**.

Nota: O sistema **ELITe InGenius** requer resultados aprovados e válidos dos controlos da amplificação para cada lote de reagente de amplificação guardado na respetiva base de dados.
Os resultados do controlo da amplificação, aprovados e guardados na base de dados, irão expirar **após 15 dias**. Na data de fim da validade será necessário fazer uma nova execução dos Positive e Negative Controls em associação com o lote do reagente de amplificação.

Para além disso, os controlos da amplificação devem ser novamente executados quando:
- for iniciado um novo lote de reagentes de amplificação,
- os resultados da análise de controlo da qualidade (ver o parágrafo seguinte) se encontrarem fora da especificação,
- for realizado qualquer serviço de manutenção significativo no instrumento **ELITe InGenius**.

Controlos da qualidade

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

Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel
reagente para amplificação em tempo real do ADN

REF RTS553ING

PROCEDIMENTO

O procedimento para utilização do **Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel** com o sistema **ELITe InGenius** consiste em três passos:
- verificação da prontidão do sistema,
- preparação da sessão,
- revisão e aprovação de resultados.

Verificação da prontidão do sistema

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

Protocolo de ensaio para o Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel			
Nome	**Matriz**	**Relatório**	**Características**
RB ELITe_BAL_200_100	LBA - lavagem broncoalveolar	Positivo/Negativo	Volume inicial de extração: 200 µL Volume de eluição da extração: 100 µL Internal Control: 10 µL Sonicação: NÃO Fator de diluição: 1 Volume de PCR Mix: 15 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 10 µL

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

Preparação da sessão

O produto **Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel** pode ser usado com o sistema **ELITe InGenius** para realizar:

A. Execução integrada (Extract + PCR) (Extrair + PCR),
B. Execução de amplificação (PCR Only) (apenas PCR),
C. Execução de Controlo positivo e negativo da amplificação (Apenas PCR),

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

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

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

A. Execução integrada

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

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

Nota: A enzima RB não deve ser exposta a temperaturas superiores a -20 °C durante mais de 10 minutos.

Após descongelar, é recomendado guardar em gelo ou no bloco de refrigeração

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

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

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

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

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

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

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

Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel
reagente para amplificação em tempo real do ADN

REF RTS553ING

8. Misture por meio de vórtice a baixa velocidade durante 10 segundos três vezes, centrifugue os tubos durante 5 segundos para levar o conteúdo para o fundo e mantenha em gelo;
9. Descongele os tubos **500-Internal Control** para a sessão. Cada tubo é suficiente para 32 extrações. Misture bem, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos antes de qualquer sessão. Misture novamente os conteúdos pipetando para cima e para baixo antes de carregar no instrumento.

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

10. Selecione “Perform Run” (Executar) a partir do ecrã “Home”.
11. Certifique-se de que o “Extraction Input Volume” (Volume inicial de extração) é de 200 µL e que o “Extracted Elute Volume” (Volume de eluição do extraído) é de 100 µL.
12. Para cada Rastreio de interesse preencha a “SampleID” (SID) digitando ou digitalizando o código de barras da amostra.
13. Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) a ser usado na coluna “Assay” (isto é, RB ELITe_BAL_200_100).
14. Certifique-se de que o “Protocol” (Protocolo) apresentado é: “Extract + PCR”(Extrair + PCR).
15. Selecione a posição de carregamento da amostra na coluna “Sample Position”:
    - se for usado um tubo primário, selecione “Tubo primário”,
    - se for usado um tubo secundário, selecione “Tubo sonicador”.

    Selecione “Next” para continuar a preparação.
16. **Carregue o 500-Internal Control e a** Mistura RB PCR no “Inventory Block” (Gestor do reagente) selecionado seguindo as instruções na GUI. Clique no botão “Next” para continuar a preparação.
17. Carregue e verifique os Tip Racks (Suportes de Ponta) na “Inventory Area” (área dos reagentes) selecionada seguindo as instruções na GUI. Clique no botão “Next” para continuar a preparação.
18. Carregue as “PCR Cassettes”, os cartuchos de extração “ELITe InGenius SP 200”, todos os consumíveis necessários e as amostras a serem extraídas nas posições especificadas no passo 15, seguindo as instruções na GUI. Selecione “Next” para continuar a preparação.
19. Feche a porta do instrumento.
20. Pressione “Start” (Iniciar) para iniciar a execução.

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

Nota: No final da execução a restante Amostra extraída deve ser removida do instrumento, tapada, identificada e guardada a -20 °C durante até 30 dias. Evite derramar a Amostra extraída.

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

B. Execução da amplificação

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

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

3. Selecione “Perform Run” (Executar) a partir do ecrã “Home”.
4. Mesmo que não seja efetuada qualquer extração, certifique-se de que o “Extraction Input Volume” (Volume inicial de extração) é de 200 µL e que o “Extracted Elute Volume” (Volume de eluição do extraído) é de 100 µL.
5. Para cada Rastreio de interesse preencha a SID digitando ou digitalizando o código de barras da amostra.
6. Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) a ser usado na coluna “Assay” (isto é, RB ELITe_BAL_200_100).
7. Selecione “PCR Only” (Apenas PCR) na coluna “Protocol” (Protocolo).
8. Certifique-se de que a posição de carregamento da amostra na coluna “Sample Position” (Posição da amostra) é ExtraTube (bottom row)” (TuboExtra [linha inferior]. Selecione “Next” para continuar a preparação.
9. Carregue a RB PCR Mix no “Inventory Block” (Gestor do reagente) selecionado seguindo as instruções na GUI. Selecione “Next” para continuar a preparação.
10. Carregue e verifique os Tip Racks (Suportes de Ponta) na “Inventory Area” (área dos reagentes) selecionada seguindo as instruções na GUI. Selecione “Next” para continuar a preparação.
11. Carregue as “PCR Cassettes” e as amostras de Ácido nucleico extraídas seguindo as instruções na GUI. Selecione “Next” para continuar a preparação.
12. Feche a porta do instrumento.
13. Pressione “Start” (Iniciar) para iniciar a execução.

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

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

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

Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel
reagente para amplificação em tempo real do ADN

REF RTS553ING

C. Execução de amplificação para Controlo Positivo e Controlo Negativo

1. Prepare a mistura de reação completa Mistura RB PCR em volume suficiente para a sessão, tal como descrito no parágrafo A. Execução integrada (do ponto 2 a 8; não descongelar o Controlo Interno).
2. Use o produto **Respiratory Bacterial-ELITe Positive Control** para a amplificação do positive control. Cada tubo é suficiente para 6 sessões. Misture suavemente, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.
3. Transfira pelo menos 50 µL da água de qualidade para biologia molecular para as sessões num tubo Eluição, fornecido com o ELITe InGenius SP 200 Consumable Set.

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

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

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

Nota: Os resultados das execuções de amplificação de Positive Control e Negative Control são usados pelo software do instrumento para preparar os “Gráficos de controlo”. Os resultados dos positive controls e dos negative controls são usados para monitorização dos desempenhos do passo de amplificação. Consulte o manual de utilizador do instrumento para obter mais informações.

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

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

Revisão e aprovação de resultados

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

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

O sistema **ELITe InGenius** gera os resultados com o produto **Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel** através do seguinte procedimento:

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

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

Os sinais de fluorescência emitidos pelas sondas dos genes do alvo ("Legio", "Mpneu", "Cpneu") na reação de amplificação de positive control e do negative control são analisados automaticamente e interpretados pelo software do instrumento com os parâmetros incluídos nos Protocolo de ensaio "RB ELITe_PC" e "RB ELITe_NC".

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

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

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

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

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

B. Validação dos resultados da amostra

Os sinais de fluorescência emitidos pelas sondas dos genes alvo ("Legio", "Mpneu", "Cpneu") e pela sonda do Controlo Interno ("CI") nas reações de amplificação da amostra são analisados automaticamente e interpretados pelo software do instrumento com os parâmetros incluídos no Protocolo de ensaio RB ELITe_BAL_200_100.

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

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

1) Positive Control	**Estado**
RB Positive Control	APROVADO
2) Negative Control	**Estado**
RB Negative Control	APROVADO

Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel
reagente para amplificação em tempo real do ADN

REF RTS553ING

Para cada amostra, o resultado do ensaio é automaticamente interpretado pelo sistema como estabelecido pelo algoritmo ELITe InGenius software e os parâmetros do Assay Protocol (Protocolo de ensaio).
Estão listadas na tabela abaixo as possíveis mensagens de resultado de uma amostra. Os diferentes genes são detetados ou não detetados em combinação.

Resultado da execução da amostra	Interpretação
Legio: DNA Detected (Legio:DNA Detetado)	**Foi detetado ADN de *Legionella pneumophila*** na amostra.
Mpneu: DNA Detected (Mpneu:DNA Detetado)	**Foi detetado ADN de *Mycoplasma pneumoniae*** na amostra.
Cpneu: DNA Detected (Cpneu:DNA Detetado)	**Foi detetado ADN de *Chlamydophila pneumoniae*** na amostra.
Legio: DNA Not Detected or below LoD (Legio:DNA Não detetado ou abaixo de LoD)	**Não foi detetado ADN de *Legionella pneumophila*** na amostra. A amostra é negativa para estes genes ou as respetivas concentrações estão abaixo do Limite de deteção do ensaio.
Mpneu: DNA Not Detected or below LoD (Mpneu:DNA Não detetado ou abaixo de LoD)	**Não foi detetado ADN De *Mycoplasma pneumoniae*** na amostra. A amostra é negativa para este gene ou a sua concentração está abaixo do Limite de deteção do ensaio.
Cpneu: DNA Not Detected or below LoD (Cpneu:DNA Não detetado ou abaixo de LoD)	**Não foi detetado ADN De *Chlamydophila pneumoniae*** na amostra. A amostra é negativa para este gene ou a sua concentração está abaixo do Limite de deteção do ensaio.
Invalid - Retest Sample (Inválido-Testar novamente a amostra).	**Resultado da amostra não válido** devido a falha do Controlo Interno (Extração incorreta ou transferência do inibidor)

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

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

As amostras adequadas para análise mas em que não foi possível detetar ADN de *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae* e *Chlamydophila pneumoniae* são relatadas como: "Not Detected or below LoD" (Não detetado ou abaixo de LoD) Neste caso não pode excluir-se que o ADN está presente a uma concentração abaixo do limite de deteção do ensaio (ver "Características de desempenho").

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

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

C. Elaboração do relatório do resultado da amostra

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

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

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

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

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Limite de deteção (LdD)

O limite de deteção (LdD) deste ensaio usado em combinação com amostras respiratórias e o sistema ELITe InGenius foi verificado testando diluições em série de plasmídeos contendo a sequência alvo para cada agente patogénico do ensaio multiplex (80.000-40.000-20.000-10.000-5.000-2.500-1.250-625-312 cópias/ml).

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

Os LoD são comunicados na tabela seguinte.

Limite de deteção para amostras respiratórias e o ELITe InGenius System (cópias/mL)	
Alvo	**LoD (cópias/mL)**
Mycoplasma pneumoniae (Mpneu)	625
Chlamydophila pneumoniae (Cpneu)	1.250
Legionella pneumophila (Lpneu)	5.000

A sensibilidade analítica também foi analisada por análise de regressão. Foi realizada uma regressão linear em séries de diluições de plasmídeo para calcular o coeficiente de regressão R^2 e o declive. Os valores R^2 dos quatro agentes patogénicos foram superiores a 0,98, o que demonstra a boa linearidade de deteção neste intervalo de diluição.

Repetibilidade

A repetibilidade, como imprecisão intraexecução, deste ensaio em associação com o sistema ELITe InGenius foi testada através da realização de 10 réplicas de uma amostra clínica caracterizada (10xLdD e 3xLdD) para cada agente patogénico, testada por meio de extração e de um processo PCR com o mesmo operador, lotes de reagente, instrumento e no mesmo ambiente.

A análise de dados intraensaio revela uma boa repetibilidade dos resultados com coeficiente de variação inferior a 4% para cada amostra do agente patogénico e para cada concentração (10xLdD e 3xLdD).

É apresentado a seguir um resumo dos resultados.

Repetibilidade do Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel					
Amostra	**Concentração**	**Ct média**	**SD**	**CV%**	**% positivo**
Legio_sample1	10xLoD	30,5	0,2	0,5	100
Legio_sample1	3xLoD	32,5	0,3	0,8	100
Mpneu_sample4	10xLoD	30,6	0,3	0,9	100
Mpneu_sample4	3xLoD	32,6	0,5	1,4	100
Cpneu_sample1	10xLoD	31,1	0,6	1,9	100
Cpneu_sample1	3xLoD	33,7	1,3	3,7	100

Reprodutibilidade

A Capacidade de reprodução, como variabilidade “Lote a lote”, “Instrumento a instrumento” e “Local a local”, deste ensaio em associação com o sistema ELITe InGenius foi realizada com as mesmas amostras e com os mesmos lotes de reagente, mas com operador, hora, instrumento e laboratório diferentes.

A precisão foi expressa com base nas medições estatísticas da imprecisão, como o desvio normal (SD) e o coeficiente de variação (CV%). A análise interensaio demonstrou uma boa reprodutibilidade dos resultados com valores de CV iguais ou menores que 3,0% para cada amostra de agente patogénico e para cada concentração.

Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel
reagente para amplificação em tempo real do ADN

REF RTS553ING

É apresentado a seguir um resumo dos resultados.

Capacidade de reprodução do Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel					
Amostra	**Concentração**	**Ct média**	**SD**	**CV%**	**% positivo**
Legio_sample1	10xLoD	30,4	0,6	2,0	100
Legio_sample1	3xLoD	32,7	0,3	1,0	100
Mpneu_sample4	10xLoD	30,8	0,5	1,7	100
Mpneu_sample4	3xLoD	33,2	1,0	3,0	100
Cpneu_sample1	10xLoD	30,4	0,8	2,7	100
Cpneu_sample1	3xLoD	32,3	0,5	1,6	100

Especificidade analítica dos testes ao Material de referência

A especificidade do Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel em associação com o sistema ELITe InGenius foi avaliada através da realização de uma extração e de um processo de PCR em painéis LPDNA15 e CP.MP16 QCMD.

Este ensaio é capaz de obter a classificação completa do painel QCMD sem ser afetado por reatividade cruzada de condições relacionadas com a amostra ou ácidos nucleicos relacionados ou potencialmente interferentes. A única amostra ausente, CP.MP16-06, é uma amostra detetada pouco frequentemente no contexto académico.

É apresentado a seguir um resumo dos resultados.

Amostra	**Descrição**	**Estado da amostra**	**Valor de Ct**		
			Legio	**Mpneu**	**Cpneu**
LPDNA15-01	*L. pneumophila* sg1	detetado	34,5	neg.	neg.
LPDNA15-02	*L. pneumophila* sg6	detetado	29,6	neg.	neg.
LPDNA15-03	*L. pneumophila* sg1	frequentemente detetado	31,0	neg.	neg.
LPDNA15-04	*L. pneumophila* sg1	frequentemente detetado	27,4	neg.	neg.
LPDNA15-05	*L. longbeachae*	N/A	26,4*	neg.	neg.
LPDNA15-06	*negativo*	negativo	neg.	neg.	neg.
LPDNA15-07	*L. pneumophila* sg1	frequentemente detetado	27,4	neg.	neg.
LPDNA15-08	*L. pneumophila* sg1	frequentemente detetado	30,5	neg.	neg.
LPDNA15-09	*L. pneumophila* sg3	frequentemente detetado	28,6	neg.	neg.
LPDNA15-10	*negativo*	negativo	neg.	neg.	neg.
CP.MP16-02	*M. pneumoniae*	ocasionalmente detetado	neg.	36,8	neg.
CP.MP16-03	*M. pneumoniae*	detetado	neg.	31,1	neg.
CP.MP16-05	*M. pneumoniae*	frequentemente detetado	neg.	27,8	neg.
CP.MP16-06	*C. pneumoniae*	ocasionalmente detetado	neg.	neg.	neg (2/2)
CP.MP16-07	*C. pneumoniae*	frequentemente detetado	neg.	neg.	32,2
CP.MP16-08	*M. pneumoniae*	frequentemente detetado	neg.	29,1	neg.
CP.MP16-09	*negativo*	negativo	neg.	neg.	neg.
CP.MP16-10	*M. pneumoniae*	detetado	neg.	31,3	neg.

*O produto é capaz de detetar igualmente ADN de *Legionella longbeachae;* os desempenhos para este alvo não estão completamente definidos.

A especificidade também foi avaliada através de testes a cerca de 80 amostras clínicas contendo bactérias, parasitas e vírus. Não foram detetados outros patogénicos para além dos esperados.

É apresentado a seguir um resumo dos resultados.

Patogénicos (vírus)	Resultado
Adenovírus	negativo
Astrovírus	negativo
Coronavírus 229	negativo
Coronavírus 43	negativo
Coronavírus 63	negativo
Citomegalovírus	negativo
Enterovírus	negativo
Vírus Epstein-Barr	negativo
Vírus da herpes simples 1	negativo
Vírus da herpes simples 2	negativo
Herpes vírus humano 6	negativo
Herpes vírus humano 7	negativo
Metapneumovírus humano	negativo
Vírus Influenza A	negativo
Vírus Influenza B	negativo
Vírus do sarampo	negativo
Vírus da papeira	negativo
Norovírus G1	negativo
Norovírus G2	negativo
Parainfluenzavírus 1	negativo
Parainfluenzavírus 2	negativo
Parainfluenzavírus 3	negativo
Parainfluenzavírus 4	negativo
Parvovírus B19	negativo
Poliomavírus 1 (BKV)	negativo
Vírus sincicial respiratório A	negativo
Vírus sincicial respiratório B	negativo
Rinovírus	negativo
Rotavirus	negativo
Sapovírus	negativo
Vírus varicela-zoster	negativo

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

Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel
reagente para amplificação em tempo real do ADN

REF RTS553ING

Sensibilidade de diagnóstico: confirmação de amostras positivas

A sensibilidade de diagnóstico do ensaio, como confirmação de amostras clínicas positivas, foi avaliada através de testes a um conjunto de amostras artificiais, criadas através da diluição de ADN dos alvos do material de referência em diferentes amostras negativas.

É reportado na tabela seguinte um resumo dos resultados.

Amostra	N	Positivo	Negativo	Inválido
LBA positiva para *Legionella pneumophila*	30	30	0	0
LBA positiva para *Mycoplasma pneumoniae*	30	30	0	0
LBA positiva para *Chlamydophila pneumoniae*	30	30	0	0

Neste teste, a sensibilidade de diagnóstico foi igual a 100% para *Legionella pneumophila*, 100% para *Mycoplasma pneumoniae* e 100% para *Chlamydophila pneumoniae*.

Especificidade de diagnóstico: confirmação de amostras negativas

A especificidade de diagnóstico do ensaio, como confirmação de amostras clínicas negativas, foi avaliada através de testes a um conjunto de amostras em arquivo provenientes de diferentes pacientes negativos.

É reportado na tabela seguinte um resumo dos resultados.

Amostra	N	Positivo	Negativo	Inválido
LBA negativa para *Legionella pneumophila*	34	0	34	0
LBA negativa para *Mycoplasma pneumoniae*	34	0	34	0
LBA negativa para *Chlamydophila pneumoniae*	34	0	34	0

Neste teste, a especificidade de diagnóstico foi igual a 100% para *Legionella pneumophila*, 100% para *Mycoplasma pneumoniae* e 100% para *Chlamydophila pneumoniae*.

Além disso, as amostras clínicas testaram previamente positivo para outros agentes patogénicos respiratórios (RSV A e B, Influenza A e B, parainfluenza 1,2,3,4, adenovírus, metapneumovírus, enterovírus, coronavírus QC43, 229E, NL63, rinovírus, bocavírus), pneumocystis, HHV7, HSV1, HHV6, EBV e CMV, demostrando a ausência de reatividade cruzada, pois não foram detetados sinais positivos.

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 "Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel", FTP RTS553ING.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Utilize este produto apenas com ADN extraído de amostras clínicas de amostras respiratórias (LBA - lavagem broncoalveolar).

Não existem dados disponíveis relativos a uma inibição causada por fármacos antivirais, antibióticos, quimioterapêuticos ou imunossupressores.

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

Devido à sua elevada sensibilidade analítica, o método de amplificação em Tempo real usado neste produto é sensível a contaminações cruzadas a partir de amostras positivas, dos controlos positivos e dos mesmos produtos de amplificação. Contaminações cruzadas causadas por falsos resultados positivos. O formato do produto é capaz de limitar contaminações cruzadas. No entanto, as contaminações cruzadas podem ser evitadas simplesmente através de boas práticas laboratoriais e do cumprimento destas instruções de utilização.

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

Este produto requer o uso de vestuário e áreas de trabalho que sejam adequados para o processamento de amostras biológicas potencialmente infeciosas e de preparações químicas classificadas como perigosas, para evitar acidentes com consequências potencialmente graves para o utilizador e outras pessoas.

Este produto deve ser manuseado por pessoal qualificado e com formação em técnicas de biologia molecular, como extração, amplificação e deteção de ácidos nucleicos, para evitar resultados incorretos.

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

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

Um resultado negativo obtido com este produto significa que o ADN alvo não foi detetado no ADN extraído da amostra; mas não pode negligenciar-se o facto de o ADN 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.

Potenciais interferências causadas por condições particulares do doente podem causar resultados incorretos.

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

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

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

Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel
reagente para amplificação em tempo real do ADN

REF RTS553ING

RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

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

Reação de Negative Control inválida	
Causas possíveis	**Soluções**
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da Mistura PCR e do controlo negativo. Verifique os volumes da Mistura PCR e do controlo negativo.
Contaminação do Controlo Negativo	Utilize uma nova alíquota de água de grau de biologia molecular.
Contaminação da PCR Mix.	Utilize uma nova alíquota da PCR Mix.
Contaminação da área de extração, de Racks ou do “Inventory Block” (Gestor do reagente).	Limpe as superfícies com detergentes aquosos, lave as batas de laboratório, substitua os tubos de ensaio e as pontas em utilização.
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

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

SÍMBOLOS

REF	Número de catálogo.
	Limite máximo da temperatura.
LOT	Código de lote.
	Prazo de validade (último dia do mês).
CE 0344	Cumprimento dos requisitos da Diretiva Europeia 98/79/CE relativa a dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro*. Certificação publicada pela DEKRA Certification B.V., Holanda.
	Contém suficiente para “N” testes.
	Atenção, consulte as instruções de utilização.
CONT	Conteúdo.
	Manter afastado da luz solar.
	Fabricante.

Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel
reagente para amplificação em tempo real do ADN

REF **RTS553ING**

NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA

Os reagentes de deteção MGB® TaqMan™ são abrangidos por um ou mais dos números de patente dos EUA 6.127.121, 6.485.906, 6.660.845, 6.699.975, 6.727.356, 6.790.945, 6.949.367, 6.972.328, 7.045.610, 7.319.022, 7.368.549, 7.381.818, 7.662.942, 7.671.218, 7.715.989, 7.723.038, 7.759.126, 7.767.834, 7.897.736, 8.008.522, 8.067.177, 8.163.910, 8.389.745, 8.969.003, 8.980.855, 9.056.887, 9.085.800, 9.169.256 e números de patente EP 0819133, 1068358, 1144429, 1232157, 1261616, 1430147, 1781675, 1789587, 1975256, 2714939 bem como pedidos que estejam atualmente pendentes.

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

ELITe MGB® e o logótipo ELITe MGB® estão registados pelo ELITechGroup como marcas comerciais na União Europeia.

ELITe InGenius® é uma marca comercial registada da ELITechGroup.

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