

Instructions for use

MTB EXTRA ELITe MGB® Kit

reagentes para PCR em tempo real do ADN



REF RTS121ING

UDI 08033891487263



HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES

Rev.	Aviso de alteração	Data (dd/mm/aa)
03	Testes adicionais em amostras de expetoração negativas.	02/09/25
02	Utilização alargada no instrumento automatizado e integrado ELITe BeGenius com amostras de lavagem broncoalveolar/broncoaspiração, urina, fluidos cavitários, biopsias e matrizes de aspirado gástrico. Novos gráficos e definição de conteúdos das instruções de utilização.	29/11/24
01	Utilização alargada do instrumento automatizado e integrado ELITe BeGenius e matriz de expetoração.	22/02/24
00	desenvolvimento de novo produto	—

NOTE

A revisão destas instruções de utilização também é compatível com as versões anteriores do kit

ÍNDICE

1 UTILIZAÇÃO PREVISTA	4
2 PRINCÍPIOS DO ENSAIO.....	4
3 DESCRIÇÃO DO PRODUTO	4
4 MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO.....	4
5 MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO.....	5
6 OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS	5
7 AVISOS E PRECAUÇÕES	6
8 AMOSTRAS E CONTROLOS	8
9 PROCEDIMENTO ELITe InGenius	11
10 PROCEDIMENTO do ELITe BeGenius	16
11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO	20
12 REFERÊNCIAS	26
13 LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO	26
14 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS	27
15 SÍMBOLOS.....	30
16 NOTIFICAÇÃO PARA OS UTILIZADORES	30
17 NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA	30
Appendix A QUICK START GUIDE.....	32

1 UTILIZAÇÃO PREVISTA

O produto **MTB EXTRA ELITe MGB® Kit** consiste num dispositivo médico de diagnóstico *in vitro* destinado a ser utilizado por profissionais de saúde como um ensaio de PCR em tempo real de ácidos nucleicos qualitativo para a deteção de ADN do complexo de *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) (*M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. canettii*, *M. microti*, *M. caprae*).

O ensaio é 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 de resultados, usando amostras humanas de expetoração, broncoaspiração (BA), lavagens broncoalveolares (BAL), urina, fluidos cavitários, biopsias e aspirados gástricos previamente liquefeitas, descontaminadas e inativadas.

O produto destina-se a ser utilizado como um auxílio no diagnóstico de infecções do complexo *Mycobacterium tuberculosis*, em combinação com todas as observações clínicas e resultados laboratoriais relevantes, em particular os métodos de cultura para *Mycobacterium*.

2 PRINCÍPIOS DO ENSAIO

O ensaio é uma deteção qualitativa de PCR em tempo real do complexo de *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) isolado de amostras e amplificado usando o reagente de ensaio **MTB EXTRA PCR Mix**, que contém primers e sondas com tecnologia ELITe MGB.

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

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

3 DESCRIÇÃO DO PRODUTO

O **MTB EXTRA ELITe MGB Kit** fornece o reagente do ensaio **MTB EXTRA PCR Mix**, uma mistura de PCR otimizada e estabilizada que contém os primers e sondas específicos de:

- a sequência repetida do **complexo IS6110 MTB**, detetada no Canal **MTB**; a sonda é estabilizada por MGB, inativada pelo Eclipse Dark Quencher® e identificadas pelo corante FAM.
- Internal control (**IC**), específico para a sequência artificial IC2, detetado no Canal **IC**; a sonda é estabilizada por MGB, inativado pelo Eclipse Dark Quencher e identificado pelo corante AquaPhluor® 680 (AP680).

A **MTB EXTRA PCR Mix** também contém tampão, cloreto de magnésio, trifosfatos de nucleótido, os estabilizadores e hot-start DNA Polimerase.

O produto **MTB EXTRA ELITe MGB Kit** contém reagentes suficientes para **96 testes** no **ELITe InGenius** e no **ELITe BeGenius**, com 20 µL usados por reação.

O **MTB EXTRA ELITe MGB Kit** também pode ser usado em associação com instrumentos equivalentes.

4 MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO

Table 1

Componente	Descrição	Quantidade	Classificação dos perigos
MTB EXTRA PCR Mix ref. RTS121ING	Mistura de reagentes para PCR em tempo real em tubo com tampa VERMELHA	8 x 280 µL	-

5 MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO

- Exaustor de fluxo de ar laminar.
- Luvas de nitrilo sem pó descartáveis ou material semelhante.
- Misturador de vórtice.
- Microcentrífuga de bancada (~5.000 RPM).
- Microcentrífuga de bancada (~13.000 RPM).
- Micropipetas e pontas esterilizadas com filtro de aerossóis ou pontas esterilizadas de deslocação positiva (intervalo de volume: 0,5 - 1000 µL).
- Tubos com tampa de rosca esterilizados de 2,0 mL (Sarstedt, Alemanha, ref. 72.694.005).
- Água de qualidade para biologia molecular.

6 OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS

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

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

Table 2

Instrumentos e software	Produto e reagentes
<p>ELITe InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA ref. INT030).</p> <p>Software ELITe InGenius versão 1.3.0.19 (ou mais recente).</p> <p>MTB EXTRA ELITe_PC, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Positive Control.</p> <p>MTB EXTRA ELITe_NC, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Negative Control.</p> <p>MTB EXTRA ELITe_SP_200_100, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de saliva.</p> <p>MTB EXTRA ELITe_BAL_200_100, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostras de lavagem broncoalveolar (BAL) e broncoaspiração (BA)</p> <p>MTB EXTRA ELITe_U_200_100, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de urina.</p> <p>MTB EXTRA ELITe_CL_200_100, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de fluidos cavitários.</p> <p>MTB EXTRA ELITe_B_200_100, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de biopsia.</p> <p>MTB EXTRA ELITe_GA_200_100, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostras de aspirado gástrico.</p>	
<p>ELITe BeGenius (EG SpA, ref. INT040).</p> <p>Software ELITe BeGenius versão 2.3.0 (ou mais recente).</p> <p>MTB EXTRA ELITe_Be_PC, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Positive Control.</p> <p>MTB EXTRA ELITe_Be_NC, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Negative Control.</p> <p>MTB EXTRA ELITe_Be_SP_200_100, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de saliva.</p> <p>MTB EXTRA ELITe_Be_BAL_200_100, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostras de lavagem broncoalveolar (BAL) e broncoaspiração (BA).</p> <p>MTB EXTRA ELITe_Be_U_200_100, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de urina.</p> <p>MTB EXTRA ELITe_Be_CL_200_100, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de fluidos cavitários.</p> <p>MTB EXTRA ELITe_Be_B_200_100, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de biopsia.</p> <p>MTB EXTRA ELITe_Be_GA_200_100, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostras de aspirado gástrico.</p>	<p>MDR/MTB - ELITe Positive Control (EG SpA, ref. ref. CTR120ING).</p> <p>ELITe InGenius SP200 (EG SpA, ref. INT032SP200).</p> <p>Consumíveis ELITe InGenius e ELITe BeGenius (ver instruções de utilização do ELITe InGenius e do ELITe BeGenius)</p>

7 AVISOS E PRECAUÇÕES

Este produto foi concebido para utilização exclusiva in-vitro.

7.1 Avisos e precauções gerais

As amostras clínicas de pacientes com suspeita de tuberculose devem ser manuseadas segundo os regulamentos estatais ou locais em matéria de práticas seguras (ambiente de trabalho e formação dos profissionais).

As amostras clínicas de pacientes com suspeita de tuberculose devem ser inativadas antes da utilização em associação com o instrumento ELITe InGenius e o ELITe InGenius e o ELITe BeGenius.

Manuseie e elimine todas as amostras biológicas como se fossem infeciosas. Evite o contacto direto com as amostras biológicas. Evite salpicos ou vaporizações. Tubos, pontas e outros materiais que entram 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 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 resíduos líquidos que contenham ácidos ou bases devem ser neutralizados antes da eliminação. Não permita que os reagentes de extração entrem em contacto com hipoclorito de sódio (lixívia).

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

Nunca deve pipetar soluções com a boca.

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

Lave cuidadosamente as mãos após manusear amostras e reagentes.

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

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

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

Não utilize o produto após a data de validade indicada.

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

Não use reagentes de lotes diferentes.

Não use reagentes de outros fabricantes.

7.2 Avisos e precauções para biologia molecular

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

São necessárias batas de laboratório, luvas e ferramentas para preparação da sessão de trabalho. É necessário ter disponíveis áreas separadas para o teste de biologia molecular e o teste de cultura microbiológica. Nunca manuseie a cultura líquida ou sólida na área designada para as reações de extração/amplificação.

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

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

Os produtos de extração devem ser manuseados de modo a impedir a sua dispersão no ambiente e a evitar a contaminação da área de trabalho do instrumento.

A PCR Cassette deve ser manuseada com cuidado de modo a evitar a emanação do produto da PCR e a contaminação cruzada.

7.3 Avisos e precauções específicos para os componentes

Table 3

Componente	Temperatura de armazenamento	Utilização a partir da primeira abertura	Ciclos de congelação/ /descongelação	Estabilidade de bordo (ELITe InGenius e ELITe BeGenius)
MTB EXTRA 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

8 AMOSTRAS E CONTROLOS

8.1 Amostras

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

Table 4

Amostra	Requisitos de colheita	Condições de transporte/armazenamento			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Expetoração	liquifeita com uma solução de N-Acetyl L-Cisteína e descontaminada com solução de hidróxido de sódio ⁽²⁾ e em seguida inativada a 95°C durante 30 minutos	≤ 1 hora ⁽¹⁾	≤ 2 dias ⁽²⁾	≤ 1 mês ⁽⁵⁾	≥ 1 mês
Lavagem broncoalveolar (BAL) e broncoaspilação (BA)	liquifeita com uma solução de N-Acetyl L-Cisteína e descontaminada com solução de hidróxido de sódio ⁽²⁾ e em seguida inativada a 95°C durante 30 minutos	≤ 1 hora ⁽¹⁾	≤ 2 dias ⁽²⁾	≤ 1 mês ⁽⁵⁾	≥ 1 mês
Urina	concentrada e descontaminada com solução de hidróxido de sódio ⁽²⁾ e em seguida inativada a 95°C durante 30 minutos	≤ 1 hora ⁽¹⁾	≤ 2 dias ⁽²⁾	≤ 1 mês ⁽⁵⁾	≥ 1 mês

Table 4 (continued)

Amostra	Requisitos de colheita	Condições de transporte/armazenamento			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Fluido cavitário	concentrada e descontaminada com solução de hidróxido de sódio ⁽²⁾ e em seguida inativada a 95°C durante 30 minutos	≤ 1 hora ⁽³⁾	≤ 2 dias ⁽²⁾	≤ 1 mês ⁽⁵⁾	≥ 1 mês
Biópsia	desagregada e descontaminada com solução de hidróxido de sódio ⁽²⁾ e em seguida inativadas a 95°C durante 30 minutos	≤ 1 hora ⁽³⁾	≤ 7 dias ⁽⁴⁾	≤ 1 mês ⁽³⁾	≥ 1 mês
Aspirado gástrico	liquifeita com uma solução de N-Acetyl L-Cisteína e descontaminada com solução de hidróxido de sódio ⁽²⁾ e em seguida inativada a 95°C durante 30 minutos	≤ 1 hora ⁽¹⁾	≤ 2 dias ⁽²⁾	≤ 7 dias ⁽⁴⁾	≥ 1 mês

1) (CLSI MP48 2^a Edição, "Laboratory Detection and Identification of Mycobacteria")

2) (Manual do laboratório de micobacteriologia, Global Laboratory Initiative).

3) (Requisitos da amostra KPNW)

4) (Laboratórios da Mayo Clinic)

5) (Laboratórios ARUP)

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

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

Table 5 Protocolos de ensaio para o MTB EXTRA ELITe MGB Kit

Amostra	Instrumento	Nome do Assay Protocol (Protocolo de ensaio)	Relatório	Características
Expetoração	ELITe InGenius	MTB EXTRA ELITe_SP_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	MTB EXTRA ELITe_Be_SP_200_100		

Table 5 Protocolos de ensaio para o MTB EXTRA ELITe MGB Kit (continued)

Lavagem broncoalveolar (BAL) e broncoaspiração (BA)	ELITe InGenius	MTB EXTRA ELITe_BAL_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	MTB EXTRA ELITe_Be_BAL_200_100		
Urina	ELITe InGenius	MTB EXTRA ELITe_U_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	MTB EXTRA ELITe_Be_U_200_100		
Fluido cavitário	ELITe InGenius	MTB EXTRA ELITe_CF_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	MTB EXTRA ELITe_Be_CF_200_100		
Biópsia	ELITe InGenius	MTB EXTRA ELITe_B_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	MTB EXTRA ELITe_Be_B_200_100		
Aspirado gástrico	ELITe InGenius	MTB EXTRA ELITe_GA_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	MTB EXTRA ELITe_Be_GA_200_100		

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

NOTE

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

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

Consulte [11.4 Substâncias interferentes page 22](#) na [11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO page 20](#) para verificar os dados relativos a substâncias interferentes.

8.2 Controlos da PCR

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

- Para o Positive Control, use o produto **MDR/MTB- ELITe Positive Control** (não fornecido com este kit) com os protocolos de ensaio **MTB EXTRA ELITe_PC** ou **MTB EXTRA ELITe_Be_PC**.
- Para o Negative Control, utilize água de grau biológico molecular (não fornecida com este kit) com os protocolos de ensaio **MTB EXTRA ELITe_NC** ou **MTB EXTRA ELITe_Be_NC**.

NOTE

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

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

8.3 Controlos da qualidade

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

9 PROCEDIMENTO ELITe InGenius

O procedimento para uso do **MTB EXTRA ELITe MGB Kit** com o **ELITe InGenius** é composto por três passos:

Table 6

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

9.1 PASSO 1 - Verificação da disponibilidade do sistema

Antes de iniciar a sessão:

- ligue o **ELITe InGenius** e inicie sessão no modo “CLOSED” (fechado),
- no menu “Controlos” na página inicial, verifique se os controlos de PCR (**Positive Control**, **Negative Control**) estão aprovados e válidos (estado) para o lote de **PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja controlos de PCR

válidos disponíveis para o lote da **PCR Mix** execute os controlos de PCR conforme descrito nas secções seguintes,

- escolher o tipo de execução, seguindo as instruções na Interface Gráfica do Utilizador (GUI) para a preparação da sessão e utilizando os Protocolos de ensaio fornecidos pela EG SpA. (ver “Amostras e Controlos”)

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

9.2 PASSO 2 - Configuração da sessão

O **MTB EXTRA ELITe MGB Kit** pode ser usado no **ELITe InGenius** para realizar:

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

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

NOTE

O **ELITe InGenius** pode ser ligado ao “Laboratory Information System” (Sistema de Informações Laboratoriais - LIS), que permite descargar a informação da sessão. Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

Antes de configurar uma execução:

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

NOTE

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

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

Table 7

	A. Execução da amostra (Extract + PCR) [Extrair+PCR]	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [apenas PCR])	C. Execução do Positive e Negative Control (PCR Only [apenas PCR])
1	Identifique amostras e, se necessário, descongele até à temperatura ambiente. 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.	Não aplicável	Prepare o Negative Control transferindo pelo menos 50 µL de água de grau de biologia molecular para um “Elution tube” (Tubo de eluição), fornecido com o ELITe InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Seleccione “Perform Run” (Executar) a partir do ecrã “Home”.	Seleccione “Perform Run” (Executar) a partir do ecrã “Home”.	Seleccione “Perform Run” (Executar) a partir do ecrã “Home”.

Table 7 (continued)

	A. Execução da amostra (Extract + PCR) [Extrair+PCR]	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [apenas PCR])	C. Execução do Positive e Negative Control (PCR Only [apenas PCR])
4	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição do extraído") é de 100 µL.	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição do extraído") é de 100 µL.	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição do extraído") é de 100 µL.
5	Para cada amostra, atribua um Track e introduza a "SampleID" (SID) digitando ou lendo o código de barras da amostra.	Para cada amostra, atribua um Track e introduza a "SampleID" (SID) digitando ou lendo o código de barras da amostra.	Não aplicável
6	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos")	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos")	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos"). Introduza o número do lote e a data de validade do Positive Control e da água de grau biológico molecular.
7	Certifique-se de que o "Protocol" (Protocolo) apresentado é: "Extract + PCR"(Extrair + PCR).	Selecione "PCR Only" (apenas PCR) na coluna "Protocol".	Certifique-se de que "PCR Only" (Apenas PCR) está selecionado na coluna "Protocol" (Protocolo).
8	Selecione a posição de carregamento da amostra como "Extraction Tube" "(Tubo de extração) na coluna "Sample Position" (Posição da amostra).	Certifique-se de que a posição de carregamento da amostra na coluna "Sample Position" (Posição da amostra) é "Elution Tube (bottom row)" (Tubo de eluição [linha inferior]).	Certifique-se de que a posição de carregamento da amostra na coluna "Sample Position" (Posição da amostra) é "Elution Tube (bottom row)" (Tubo de eluição [linha inferior]).
9	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
10	Carregue a CPE e PCR Mix no "Inventory Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza a CPE e o número de lote, data de validade e o número de reações da PCR Mix para cada tubo.	Carregue a PCR Mix no "Inventory Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza o número de lote, data de validade e o número de reações da PCR Mix para cada tubo.	Carregue a PCR Mix no "Inventory Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza o número de lote, data de validade e o número de reações da PCR Mix para cada tubo.
11	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
12	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.
13	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
14	Carregue a PCR Cassette , os cartuchos de extração ELITe InGenius SP 200 e todos os consumíveis e amostras necessários para serem extraídos	Carregue a PCR Cassette e os tubos de eluição com as amostras extraídas	Carregue os tubos de PCR Cassette , Positive Control e Negative Control.
15	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
16	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
17	Prima "Start" (Iniciar).	Prima "Start" (Iniciar).	Prima "Start" (Iniciar).

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

NOTE

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

NOTE

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

NOTE

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

NOTE

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

NOTE

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

9.3 PASSO 3 - Revisão e aprovação dos resultados

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

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

NOTE

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

O **ELITe InGenius** gera os resultados com o **MTB EXTRA ELITe MGB Kit** através do seguinte procedimento:

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

9.3.1 Validação da amplificação dos resultados de Positive Control e Negative Control

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

Os resultados do Positive Control e do Negative Control, específicos para o lote de reagente de PCR, são guardados na base de dados (controlos). Podem ser visualizados e aprovados pelos utilizadores “Administrator” (Administrador) ou “Analyst” (Analista), seguindo as instruções na GUI.

Os resultados de Positive Control e Negative Control expiram após **15 dias**.

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

NOTE

Se o resultado de Positive Control ou Negative Control não cumprir os critérios de aceitação, é mostrada a mensagem "Failed" no ecrã "Calibration". Neste caso, os resultados não podem ser aprovados e as execuções de tém de Positive Control ou Negative Control têm de ser repetidas.

NOTE

Se o resultado de Positive Control ou Negative Control não for válido e as amostras tiverem sido incluídas na mesma execução, as amostras podem ser aprovadas mas os resultados não são válidos. Neste caso, o controlo(s) falhado e as amostras têm de ser todos repetidos.

9.3.2 Validação dos resultados da amostra

O **ELITe InGenius software** interpreta os resultados do PCR para o alvo (Canal **MTB**) e o Internal Control (Canal **IC**) com os parâmetros do protocolo de ensaio **MTB EXTRA ELITe_SP_200_100**, **MTB EXTRA ELITe_BAL_200_100**, **MTB EXTRA ELITe_U_200_100**, **MTB EXTRA ELITe_CL_200_100**, **MTB EXTRA ELITe_B_200_100** e **MTB EXTRA ELITe GA_200_100**.

Os resultados são mostrados no ecrã "Result Display".

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

Table 8

1) Positive Control	Estado
MTB EXTRA Positive Control	APROVADO
2) Negative Control	Estado
MTB EXTRA Negative Control	APROVADO

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

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

Table 9

Resultado da execução da amostra	Interpretação
MTB: DNA detected (MTB:ADN Detetado).	Foi detetado ADN do complexo MTB na amostra.
MTB: DNA not detected or below the LoD (MTB:ADN Não detetado ou abaixo de LoD).	Não foi detetado ADN do complexo MTB na amostra. A amostra é um negativo válido ou a concentração alvo está abaixo do limite de deteção do ensaio.
Invalid-Retest Sample (Inválido-Testar novamente a amostra).	Resultado do ensaio inválido devido a falha do Internal Control (p. ex., extração incorreta, transferência de inibidores). O teste deve ser repetido.

Amostras reportadas como “Invalid-Retest Sample” (Inválido-Testar novamente a amostra): neste caso, o ADN do Internal Control 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), o que pode causar resultados incorretos. Se subsistir volume da eluição suficiente, o eluato pode ser novamente testado (tal como está ou diluído) através de uma execução da amplificação no modo “PCR Only” (Apenas PCR). Se o segundo resultado for inválido, a amostra deve ser novamente testada começando a partir da extração de uma nova amostra utilizando o modo “Extract + PCR” (ver “[14 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS page 27](#)”).

Amostras reportadas como: "MTB: DNA not detected or below the LoD" (MTB:ADN Não detetado ou abaixo de LoD) são adequadas para análise, mas o ADN do complexo MTB não foi detetado. Neste caso, a amostra pode ser negativa para o ADN do complexo MTB, ou o ADN do alvo está presente a uma concentração abaixo do limite de deteção do ensaio (ver “[11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO page 20](#)”).

NOTE

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

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

9.3.3 Elaboração do relatório do resultado da amostra

- Os resultados da amostra são guardados na base de dados e os relatórios podem ser exportados como “Sample Report” (Relatório da amostra) e “Track Report” (Relatório da calha).
- O “Sample Report” (Relatório da amostra) apresenta os detalhes dos resultados pela amostra selecionada (SID).
- O “Track Report” (Relatório do track) apresenta os detalhes do resultado pelo Rastreio selecionado.
- O “Sample Report” (Relatório da amostra) e o “Track Report” (Relatório da calha) podem ser impressos e assinados por pessoal autorizado.

10 PROCEDIMENTO do ELITe BeGenius

O procedimento para uso do **MTB EXTRA ELITe MGB Kit** com o **ELITe BeGenius** é composto por três passos:

Table 10

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

10.1 PASSO 1 - Verificação da disponibilidade do sistema

Antes de iniciar a sessão:

- - ligue o **ELITe BeGenius** e inicie sessão no modo “CLOSED” (fechado),

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

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

10.2 PASSO 2 - Configuração da sessão

O **MTB EXTRA ELITe MGB Kit** pode ser usado no **ELITe BeGenius** para realizar:

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

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

NOTE

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

Antes de configurar uma execução:

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

NOTE

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

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

Table 11

	A. Execução da amostra (Extract + PCR) [Extrair+PCR]	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [apenas PCR])	C. Execução do Positive e Negative Control (PCR Only [apenas PCR])
1	Identifique amostras e, se necessário, descongele até à temperatura ambiente. Para este ensaio, 200 µL da amostra devem ser transferidos para o tubo Sarstedt de 2mL previamente identificado.	Se necessário, descongele os tubos de eluição contendo os ácidos nucleicos extraídos à temperatura ambiente. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.	Descongele os tubos de Positive Control à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Cada tubo é suficiente para 4 reações.
2	Descongele os tubos de CPE necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Cada tubo é suficiente para 12 extrações.	Não aplicável	Prepare o Negative Control transferindo pelo menos 50 µL de água de grau de biologia molecular para um “Elution tube” (Tubo de eluição), fornecido com o ELITe InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Selecione “ Perform Run ” (Executar) a partir do ecrã “Home”.	Selecione “ Perform Run ” (Executar) a partir do ecrã “Home”	Selecione “ Perform Run ” (Executar) a partir do ecrã “Home”.

Table 11 (continued)

	A. Execução da amostra (Extract + PCR) [Extrair+PCR]	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [apenas PCR])	C. Execução do Positive e Negative Control (PCR Only [apenas PCR])
4	Retire os Suportes da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação.	Retire os "Racks" de "Lane 1, 2 and 3" (L1, L2, L3) da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação.	Retire os "Racks" de "Lane 1, 2 and 3" (L1, L2, L3) da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação.
5	Selecione o "Run mode": " Extract + PCR " (Extrair + PCR).	Selecione o "Run mode": " PCR Only ".	Selecione o "Run mode": " PCR Only ".
6	Carregue as amostras no "Sample Rack" (Suporte de amostras). Quando os tubos secundários "2 mL Tubes" forem carregados, use adaptadores azuis para o "Sample Rack" (Rack da amostra).	Carregue as amostras no "Elution Rack" (Rack de eluição).	Carregue os tubos de Positive Control e Negative Control no "Elution Rack".
7	Insira o "Sample Rack" na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 5" (L5). Se necessário, insira a "Sample ID" (SID) para cada "Position" usada (se os tubos secundários estiverem carregados, sinalize o "2 mL Tube"). Se os tubos secundários não possuírem código de barras, digite manualmente a "Sample ID").	Insira o "Elution Rack" na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 3" (L3). Se necessário, para cada "Position" (Posição), insira a "Sample ID" (Identificação da amostra), a "Sample matrix" (Matriz da amostra), o "Extraction kit" (Kit de extração) e o "Extracted eluate vol." (Volume de eluado extraído).	Insira o "Elution Rack" na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 3" (L3). Se necessário, para cada "Position" (Posição) introduza o "Reagent name" (Nome do reagente) e o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações).
8	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
9	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume de entrada de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição extraído") é de 100 µL	Não aplicável	Não aplicável
10	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").
11	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
	Nota: Quando forem processadas mais de 12 amostras, repita o procedimento a partir do ponto 6.		Não aplicável
12	Coloque os "Elution tubes" (Tubo de eluição) no "Elution Rack" (rack de eluição) (os tubos de eluição podem ser etiquetados com código de barras para melhorar a capacidade de localização).	Não aplicável	Não aplicável
13	Insira o "Elution Rack" na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 3" (L3). Quando mais de 12 amostras forem processadas, repita usando a "Lane 2" (L2).	Não aplicável	Não aplicável
14	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Não aplicável	Não aplicável

Table 11 (continued)

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

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

NOTE

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

NOTE

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

NOTE

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

NOTE

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

NOTE

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

10.3 PASSO 3 - Revisão e aprovação dos resultados

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

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

NOTE

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

O **ELITe BeGenius** gera os resultados com o **MTB EXTRA ELITe MGB Kit** através do seguinte procedimento:

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

NOTE

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

11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

NOTE

Os estudos de características de desempenho realizados com ELITe InGenius foram efetuados com o componente "TB1 PCR Mix" do EG SpA **MDR/MTB ELITe MGB Kit** (Ref. RTS120ING), o qual possui a mesma fórmula que o componente **MTB EXTRA PCR Mix** do EG SpA **MTB EXTRA ELITe MGB Kit** (Ref. RTS121ING). O **MTB EXTRA PCR** foi utilizado para os estudos realizados com ELITe BeGenius; foram utilizadas as mesmas amostras e o mesmo perfil térmico em ambos os instrumentos.

11.1 Limite de deteção (LdD)

O Limite de Deteção (LdD) do ensaio foi determinado com amostras de expetoração no ELITe InGenius usando diluição de *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), material de referência da estirpe H37Ra (ATCC, ref. 25177).

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Table 12 Limite de deteção (CFU/mL) para amostras de expetoração e o ELITe InGenius

Matriz	LoD (CFU / mL)	Limites de intervalo de 95% de confiança	
		Limite inferior	Limite superior
Expetoração	6	4	15

O valor de LdD calculado foi verificado através do teste de expetoração e BAL / BA no ELITe InGenius e ELITe BeGenius, reforçado com material de referência de MTB à concentração declarada (6 CFU/mL), testando 20 réplicas.

O limite de deteção (LoD) do ensaio em associação com o fluido cavitário, a urina e a biópsia foi verificado nos instrumentos ELITe InGenius e ELITe BeGenius, testando 20 réplicas de amostras de matriz e adicionando material de referência certificado para MTB a uma concentração de 20 CFU/mL.

Os resultados de cada matriz são comunicados na tabela seguinte.

Table 13 Limite de deteção com ELITe InGenius e ELITe BeGenius

Amostra	Título
Expetoração	6 CFU / mL
BAL/BA	6 CFU / mL
Urina	20 CFU / mL
Fluido cavitário	20 CFU / mL
Biópsia	20 CFU / mL
Aspirado gástrico	20 CFU / mL

11.2 Inclusividade: Eficiência da deteção

A inclusividade do ensaio, como deteção da espécie de micobactéria incluída no complexo *Mycobacterium tuberculosis* do produto foi avaliada por análise *in silico* das sequências disponíveis na base de dados do nucleótido.

A análise revelou a conservação da sequência e a ausência de mutações significativas na sequência de MTB disponível. Assim, espera-se uma deteção eficiente para as diferentes estirpes e/ou isolados.

A inclusividade também foi verificada através da análise de ADN genómico certificado a partir de amostras clínicas (fornecidas por um laboratório externo) e de ADN de plasmídeo.

Todas as amostras foram corretamente detetadas como positivas para MTB pelo produto no ELITe InGenius.

11.3 Marcadores potencialmente interferentes

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

As regiões escolhidas para hibridização dos primers e sondas fluorescentes foram verificadas em relação ao alinhamento das sequências, incluindo de micobactérias não tuberculosas (NTM) e outros organismos que poderiam estar presentes nas amostras clínicas. As regiões de hibridização revelaram a ausência de homologias significativas e nenhuma potencial interferência.

A ausência de reatividade cruzada com NTM também foi verificada através do teste de um painel de ADN genómico certificado de *M. avium*, *M. gordonaë*, *M. abscessus*, *M. intracellulare*, *M. fortuitum*, *M. kansasii*, *M. xenopi*, *M. chelonae*. Além disso, foi também analisado um painel de ADN genómico certificado de outros organismos potencialmente presentes em amostras de saliva: *Chlamydophila pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae*.

Todos os organismos com potencial de reatividade cruzada foram negativos para o MTB quando testadas pelo MTB EXTRA ELITe MGB Kit.

11.4 Substâncias interferentes

A reatividade cruzada por substâncias potencialmente interferentes que podem ser encontradas nas amostras foi avaliada para o ensaio através da análise de um painel de substâncias às concentrações relevantes. As substâncias testadas foram antibióticos (rifampicina e isoniazida) e componentes da saliva (mucina, sangue humano total).

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Table 14

Substância	Concentração	Resultados corretos
Rifampicina	25 µg/ml	3/3
Isoniazida	50 µg/ml	3/3
Mucina suína	2% w/v (20 mg/ml)	3/3
Sangue total com EDTA	5% v/v	3/3

O teste mostrou que as substâncias testadas não inibem a detecção de alvos usando o MTB EXTRA ELITe MGB Kit.

11.5 Repetibilidade

A repetibilidade do ensaio foi avaliada no ELITe InGenius e ELITe BeGenius através da análise de um painel de saliva negativo ou reforçado com material de referência de *Mycobacterium tuberculosis* (ATCC, ref. 25177).

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

Table 15 Repetibilidade intra-sessão do ELITe InGenius

Amostra	N	MTB			%Concordância
		Média	SD	%CV	
Negativo	8	-	-	-	100%
3x o LdD	8	36,55	0,62	1,71	100%
10x o LdD	8	35,86	0,65	1,81	100%

Table 16 Repetibilidade intra-sessão do ELITe BeGenius

Amostra	N	MTB			%Concordância
		Média	SD	%CV	
Negativo	8	-	-	-	100%
3x o LdD	8	37,53	0,65	1,74	100%
10x o LdD	8	36,54	0,60	1,65	100%

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

Table 17 Repetibilidade inter-instrumento do ELITe InGenius

Amostra	N	MTB			%Concordância
		Média	SD	%CV	
Negativo	16	-	-	-	100%
3x o LdD	16	36,55	0,69	1,89	100%
10x o LdD	16	35,79	0,59	1,64	100%

Table 18 Repetibilidade intra-sessão do ELITe BeGenius

Amostra	N	MTB			%Concordância
		Média	SD	%CV	
Negativo	16	-	-	-	100%
3x o LdD	16	37,49	0,60	1,59	100%
10x o LdD	16	36,61	0,69	1,87	100%

No teste de repetibilidade, o MTB EXTRA ELITe MGB Kit deteta todas as amostras conforme esperado e apresentou uma variabilidade máxima do valor de Ct do alvo como %CV inferior a 5%.

11.6 Reprodutibilidade

A reprodutibilidade do ensaio foi avaliada no ELITe InGenius e ELITe BeGenius através da análise de um painel de amostras de expetoração negativo ou reforçado com material de referência de *Mycobacterium tuberculosis* (ATCC, ref. 25177).

Os resultados da Reprodutibilidade Interlote (dois lotes) são apresentados nas tabelas abaixo.

Table 19 Reprodutibilidade interlote do ELITe InGenius

Amostra	N	MTB			%Concordância
		Média	SD	%CV	
Negativo	8	-	-	-	100%
3x o LdD	8	36,68	0,71	1,94	100%
10x o LdD	8	35,70	0,79	2,21	100%

Table 20 Reprodutibilidade interlote do ELITe BeGenius

Amostra	N	MTB			%Concordância
		Média	SD	%CV	
Negativo	8	-	-	-	100%
3x o LdD	8	37,93	0,71	1,88	100%
10x o LdD	8	36,56	0,55	1,50	100%

A reprodutibilidade inter-instrumento (em dois dias, dois lotes e dois instrumentos) é apresentada nas tabelas abaixo.

Table 21 Reprodutibilidade inter-instrumento do ELITe InGenius

Amostra	N	MTB			%Concordância
		Média	SD	%CV	
Negativo	8	-	-	-	100%
3x o LdD	8	36,50	0,63	1,71	100%
10x o LdD	8	35,91	0,57	1,58	100%

Table 22 Reprodutibilidade inter-instrumento do ELITe BeGenius

Amostra	N	MTB			%Concordância
		Média	SD	%CV	
Negativo	8	-	-	-	100%
3x o LdD	8	37,52	0,39	1,05	100%
10x o LdD	8	36,71	0,43	1,17	100%

No teste de reprodutibilidade, o MTB EXTRA ELITe MGB Kit deteta todas as amostras conforme esperado e apresentou uma variabilidade máxima do valor de Ct do alvo como %CV inferior a 5%.

11.7 Especificidade do diagnóstico: Confirmação de amostras negativas

A especificidade do diagnóstico do ensaio, bem como a confirmação de amostras clínicas negativas foi avaliada em associação com o ELITe InGenius, através da análise de amostras clínicas negativas para MTB testadas por cultura.

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

Os resultados estão resumidos na tabela seguinte.

Table 23 Especificidade do diagnóstico

Amostra	N	Positivo	Negativo	% de especificidade do diagnóstico
Expetoração	52	1	51	98,1%
BAL/BA	40	1	39	97,5%
Urina	20	0	20	100%
Fluido cavitário	40	0	40	100%
Biópsia	40	0	40	100%
Aspirado gástrico	20	0	20	100%

Além disso, para as amostras de expetoração, as amostras negativas para MTB foram também testadas por outro ensaio de diagnóstico molecular com marcação CE-IVD e por microscopia de esfregaço AFB; os resultados são apresentados na tabela seguinte.

Table 24 Especificidade do diagnóstico de amostras de expetoração em comparação com outros ensaios

Amostra	N	Positivo	Negativo	% de especificidade do diagnóstico
Expetoração testada por ensaio de diagnóstico molecular com marcação CE-IVD	52	1	51	98,1%
Expetoração testada por microscopia de esfregaço AFB	58	7	51	89,47%

Os valores limite IC Ct para cada matriz em associação com o ELITe InGenius e ELITe BeGenius são apresentados na tabela seguinte.

Table 25 Valores limite IC Ct

Amostra	Valores limite IC Ct	
	ELITe InGenius	ELITe BeGenius
Expetoração	34	35
BAL/BA	35	35
Urina	35	35
Fluido cavitário	34	34
Biópsia	34	35
Aspirado gástrico	34	34

11.8 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 analisando amostras clínicas certificadas positivas testadas por cultura ou reforçadas com material de referência MTB.

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.

Table 26 Sensibilidade de diagnóstico

Amostra	N	Positivo	Negativo	% de sensibilidade de diagnóstico
Expetoração	50	50	0	100%
BAL/BA	46	42	4	91,3%
Urina	20	16	4	80%
Fluido cavitário	40	39	1	97,5%
Biópsia	42	38	4	90,5%
Aspirado gástrico	22	18	4	81,8%

Além disso, para as amostras de expetoração, as amostras positivas para MTB foram também testadas por outro ensaio de diagnóstico molecular com marcação CE-IVD e por microscopia de esfregaço AFB, os resultados são apresentados na tabela seguinte.

Table 27 Sensibilidade do diagnóstico de amostras de expetoração em comparação com outros ensaios

Amostra	N	Positivo	Negativo	% de sensibilidade de diagnóstico
Expetoração testada com ensaio de diagnóstico molecular com marcação CE-IVD	50	50	0	100%
Expetoração testada com microscopia de esfregaço AFB	44	44	0	100%

NOTE

Os dados e resultados completos dos testes realizados para avaliação das características de desempenho do produto com matrizes e os instrumentos estão registados no Ficheiro técnico do produto MTB EXTRA ELITe MGB Kit, FTP 121ING.

12 REFERÊNCIAS

Thierry D. et al. (1990) Nucleic Acids Res. 18: 188

E. A. Lukhtanov et al. (2007) Nucleic Acids Res. 35: e30

Mycobacteriology laboratory manual (Global Laboratory Initiative, First edition, April 2014).

K. Linnet et al. (2004) Clin. Chem. 50: 732 - 740.

13 LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Utilize este produto apenas com as seguintes amostras clínicas: saliva, lavagens broncoalveolares (BAL), aspirados brônquicos (BA), urina, fluidos cavitários, biopsias e aspirados gástricos liquefeitos, descontaminados e inativados.

Não use este produto com amostras contendo mucina em concentração superior a 2%: a mucina inibe a reação de amplificação de ácidos nucleicos e causa resultados inválidos.

Atualmente não existem dados disponíveis relativos ao desempenho do produto com as seguintes amostras clínicas: líquido cefalorraquidiano (LCR), materiais necróticos, pus, fezes, sangue total.

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

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

Este produto deve ser manuseado por pessoal qualificado e com formação no processamento de amostras biológicas potencialmente 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 equipamento de proteção individual que seja adequado 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 requer o uso de vestuário de laboratório e instrumentos específicos para preparação da sessão de trabalho, para evitar falsos resultados positivos.

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

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

Um resultado negativo obtido com este produto indica que o 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.

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

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

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

Tal como acontece com qualquer outro dispositivo médico de diagnóstico, existe um risco residual de obter resultados inválidos ou errados com este produto. Este risco residual não pode ser eliminado ou ainda mais reduzido. Nalguns casos, este risco residual pode contribuir para decisões erradas com potenciais efeitos perigosos para o doente. No entanto, este risco residual associado à utilização prevista do produto foi ponderado em relação aos potenciais benefícios para o paciente e foi considerado aceitável.

14 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

Table 28

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

Table 29

Reação de Negative Control inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da PCR Mix e do Negative Control. Verifique os volumes da PCR Mix e do Negative Control.
Contaminação do Negative Control.	Não use o Negative Control para mais do que 1 sessão. Utilize uma nova alíquota de água de grau de biologia molecular.
Contaminação da PCR Mix.	Utilize uma nova alíquota da PCR Mix.
Contaminação da área de extração, dos Racks, do Inventory Block (Gestor do reagente) ou da Cooler Unit	Limpe as superfícies com detergentes aquosos, lave as batas de laboratório, substitua os tubos e as pontas utilizadas.
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Table 30

Reação da amostra inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da PCR Mix, do Controlo Interno e da amostra. Verifique os volumes da PCR Mix, do Controlo Interno e da amostra.
Degradação da PCR Mix.	Não use a PCR Mix durante mais de 7 sessões independentes (3 horas cada no bloco de refrigeração da Inventory Area (área dos reagentes) ou na Cooler Unit). Não utilize a PCR Mix durante mais de 3 sessões consecutivas (7 horas no bloco de refrigeração da Inventory Area (área dos reagentes) ou na Cooler Unit). Não deixe a PCR Mix à temperatura ambiente durante mais do que 30 minutos. Utilize uma nova alíquota da PCR Mix.
Degradação do modelo do Controlo Interno.	Utilize uma nova alíquota de Controlo Interno.
Inibição devido a substâncias interferentes na amostra.	Repita a amplificação com uma diluição de 1:2 em água de qualidade para biologia molecular de amostra eluída numa sessão "PCR only". Repita a extração com uma diluição 1:2 em água de grau de biologia molecular da amostra numa sessão "Extract + PCR" (Extrair + PCR).
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Table 31

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

Table 32

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

Table 33

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

15 SÍMBOLOS

REF	Número de catálogo.
	Límite máximo da temperatura.
LOT	Código de lote.
	Prazo de validade (último dia do mês).
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i> .
CE	Cumprimento dos requisitos da Diretiva Europeia 98/79/CE relativa a dispositivos médicos de diagnóstico <i>in vitro</i> .
UDI	Identificação única do dispositivo
	Contém suficiente para "N" testes.
	Consultar as instruções de utilização.
CONT	Conteúdo.
	Manter afastado da luz solar.
	Fabricante.

16 NOTIFICAÇÃO PARA OS UTILIZADORES

Qualquer incidente grave ocorrido relacionado com o dispositivo deve ser comunicado ao fabricante e às autoridades competentes do Estado-Membro em que o utilizador e/ou o paciente se encontram localizados. Para informar a ELITechGroup S. p. A., fabricante deste dispositivo, utilize o seguinte endereço de e-mail: egspa.vigilance@elitechgroup.com..

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

17 NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA

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

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

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

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

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

Appendix A MTB EXTRA ELITe MGB Kit usado em associação com as plataformas Genius series®



CAUTION

Este documento é uma versão simplificada das instruções de utilização oficiais. Consulte o documento completo antes da utilização: www.elitechgroup.com

Utilização prevista

O produto **MTB EXTRA ELITe MGB® Kit** consiste num dispositivo médico de diagnóstico *in vitro* destinado a ser utilizado por profissionais de saúde como um ensaio de PCR em tempo real de ácidos nucleicos qualitativo para a deteção de ADN do complexo de *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) (*M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. canettii*, *M. microti*, *M. caprae*).

O ensaio é 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 de resultados, usando amostras humanas de expetoração, broncoaspiração (BA), lavagens broncoalveolares (BAL), urina, fluidos cavitários, biopsias e aspirados gástricos previamente liquefeitas, descontaminadas e inativadas.

O produto destina-se a ser utilizado como um auxílio no diagnóstico de infecções do complexo *Mycobacterium tuberculosis*, em combinação com todas as observações clínicas e resultados laboratoriais relevantes, em particular os métodos de cultura para *Mycobacterium*.

Sequência amplificada

Objetivo para aplicação qualitativa	Gene	Fluoróforo	Canal
› Alvo	› IS6110	› FAM	MTB
› Internal Control	› Sequência artificial IC2	› AP680	IC

Matriz validada

<ul style="list-style-type: none"> • expetoração • broncoaspiração (BA) / lavagens broncoalveolares lavages (BAL) • urina • fluidos de cavidades • biópsias • aspirados gástricos 	<p>previamente liquefeitos, descontaminados e inativados</p>
---	--

Conteúdo do Kit e produtos relacionados

MTB EXTRA ELITe MGB Kit (RTS121ING)	MDR/MTB - ELITe Positive Control (CTR120ING)
 X 8	 X 3
MTB EXTRA PCR Mix 8 tubos de 280 µL 12 reações por tubo 96 reações por kit 7 ciclos de congelação-descongelação por tubo	TB Positive Control 3 tubos de 160 µL 2 reações por tubo 6 reações por kit 2 ciclos de congelação-descongelação
Prazo de conservação máximo:	24 meses
Temperatura de armazenamento	≤ -20°C

Outros produtos necessários não fornecidos no kit

<ul style="list-style-type: none"> Instrumento ELITe InGenius: INT030. Instrumento ELITe BeGenius: INT040. ELITe InGenius SP 200: INT032SP200. Consumíveis ELITe InGenius e ELITe BeGenius (ver instruções de utilização do ELITe InGenius e do ELITe BeGenius) 	<ul style="list-style-type: none"> CPE - Internal Control: CTRCPE
---	--

Protocolo do ELITe InGenius e do ELITe BeGenius

› Volume da amostra › Volume CPE › Volume de eluição total	200 µL 10 µL 100 µL	› Volume de entrada de PCR eluato › Q—PCR Mix volume › Frequência dos controlos › Frequência da calibração	20 µL 20 µL 15 dias 30 dias
--	---------------------------	---	--------------------------------------

Desempenhos ELITe InGenius e ELITe BeGenius

Matriz	Limite de deteção	Sensibilidade de diagnóstico	Especificidade do diagnóstico
Expetoração	6 CFU / mL	100% 50/50*	98% 47/48*
BAL/BA	6 CFU / mL	91,3% 42/46*	97,5% 39/40*
Urina	20 CFU / mL	80% 16/20*	100% 20/20*
Fluido cavitário	20 CFU / mL	97,5% 39/40*	100% 40/40*

Matriz	Limite de deteção	Sensibilidade de diagnóstico	Especificidade do diagnóstico
Biópsia	20 CFU / mL	90,5% 38/42	100% 40/40*
Aspirado gástrico	20 CFU / mL	81,8% 18/22*	100% 20/20*

*amostras confirmadas/amostras testadas

Preparação da amostra

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

Table 34

Amostra	Requisitos de colheita	Condições de transporte/armazenamento			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Expetoração	liquifeita com uma solução de N-Acetyl L-Cisteína e descontaminada com solução de hidróxido de sódio ⁽²⁾ e em seguida inativada a 95°C durante 30 minutos	≤ 1 hora ⁽¹⁾	≤ 2 dias ⁽²⁾	≤ 1 mês ⁽⁵⁾	≥ 1 mês
Lavagem broncoalveolar (BAL) e broncoaspiração (BA)	liquifeita com uma solução de N-Acetyl L-Cisteína e descontaminada com solução de hidróxido de sódio ⁽²⁾ e em seguida inativada a 95°C durante 30 minutos	≤ 1 hora ⁽¹⁾	≤ 2 dias ⁽²⁾	≤ 1 mês ⁽⁵⁾	≥ 1 mês
Urina	concentrada e descontaminada com solução de hidróxido de sódio ⁽²⁾ e em seguida inativada a 95°C durante 30 minutos	≤ 1 hora ⁽¹⁾	≤ 2 dias ⁽²⁾	≤ 1 mês ⁽⁵⁾	≥ 1 mês
Fluido cavitário	concentrada e descontaminada com solução de hidróxido de sódio ⁽²⁾ e em seguida inativada a 95°C durante 30 minutos	≤ 1 hora ⁽³⁾	≤ 2 dias ⁽²⁾	≤ 1 mês ⁽⁵⁾	≥ 1 mês

Table 34 (continued)

Amostra	Requisitos de colheita	Condições de transporte/armazenamento			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Biópsia	desagregada e descontaminada com solução de hidróxido de sódio ⁽²⁾ e em seguida inativadas a 95°C durante 30 minutos	≤ 1 hora ⁽³⁾	≤ 7 dias ⁽⁴⁾	≤ 1 mês ⁽³⁾	≥ 1 mês
Aspirado gástrico	liquefeita com uma solução de N-Acetyl L-Cisteína e descontaminada com solução de hidróxido de sódio ⁽²⁾ e em seguida inativada a 95°C durante 30 minutos	≤ 1 hora ⁽¹⁾	≤ 2 dias ⁽²⁾	≤ 7 dias ⁽⁴⁾	≥ 1 mês

1) (CLSI MP48 2^a Edição, "Laboratory Detection and Identification of Mycobacteria")

2) (Manual do laboratório de micobacteriologia, Global Laboratory Initiative).

3) (Requisitos da amostra KPNW)

4) (Laboratórios da Mayo Clinic)

5) (Laboratórios ARUP)

Procedimentos ELITe InGenius

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

Antes da análise

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

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

1. Selecione "Perform Run" (Executar) no ecrã tátil	2. Verifique os volumes de extração: Entrada: "200 µL", eluição: "100 µL"	3. Leia os códigos de barras das amostras com um leitor de códigos de barras manual ou escreva a identificação da amostra
4. Selecione o "Assay protocol" (Protocolo de ensaio) de interesse: MTB EXTRA ELITe_SP_200_100 MTB EXTRA ELITe_BAL_200_100 MTB EXTRA ELITe_U_200_100 MTB EXTRA ELITe_CL_200_100 MTB EXTRA ELITe_B_200_100 MTB EXTRA ELITe_GA_200_100	5. Selecione o método "Extract + PCR" (Extract+PCR) e a posição da amostra: Extraction Tube (Tubo de extração)	6. Carregue a PCR Mix e o Controlo Interno no Inventory Block (Gestor do reagente)
7. Carregar: PCR Cassette, Cartucho de extração, Tubo de eluição, Cassete de pontas, Racks do tubo de extração	8. Feche a porta. Iniciar a execução	9. Visualize, aprove e guarde os resultados

NOTE

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

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

1. Selecione "Perform Run" (Executar) no ecrã tátil	2. Verifique os volumes de extração: Entrada: "200 µL", eluição: "100 µL"	3. Leia os códigos de barras das amostras com um leitor de códigos de barras manual ou escreva a identificação da amostra
4. Selecione o "Assay protocol" (Protocolo de ensaio) de interesse: MTB EXTRA ELITe_PC ou MTB EXTRA ELITe_NC ou MTB EXTRA ELITe_SP_200_100 MTB EXTRA ELITe_BAL_200_100 MTB EXTRA ELITe_U_200_100 MTB EXTRA ELITe_CL_200_100 MTB EXTRA ELITe_B_200_100 MTB EXTRA ELITe_GA_200_100	5. Selecione o método "PCR Only" (Apenas PCR) e a posição da amostra "Elution Tube" (Tubo de eluição)	6. Carregue a PCR Mix no Inventory Block (Gestor do reagente)
7. Carregar: Rack de PCR Cassette e suporte de tubos de eluição com o ácido nucleico extraído	8. Feche a porta. Iniciar a execução	9. Visualize, aprove e guarde os resultados

Procedimentos ELITe BeGenius

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

Antes da análise

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

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

1. Selecione "Perform Run" (Executar) no ecrã tátil e, a seguir, clique no modo de execução "Extract + PCR" (Extrair +PCR)	2. Insira o rack de amostras com as amostras com código de barras na Cooler Unit. A leitura do código de barras já se encontra ativada	3. Verifique os volumes de extração: Entrada: "200 µL", eluato: "100 µL"
4. Selecione o "Assay protocol" (Protocolo de ensaio) de interesse: MTB EXTRA ELITe_Be_SP_200_100 MTB EXTRA ELITe_Be_BAL_200_100 MTB EXTRA ELITe_Be_U_200_100 MTB EXTRA ELITe_Be_CL_200_100 MTB EXTRA ELITe_Be_B_200_100 MTB EXTRA ELITe_Be_GA_200_100 Nota: Se for realizada uma segunda extração, repita os passos 2 a 4	5. Imprima as etiquetas para colocar um código de barras nos tubos de eluição vazios. Carregue os tubos no rack de eluição e insira-o na Cooler Unit	6. Carregue a PCR Mix e o Controlo Interno no rack de reagente/eluição e insira-o na Cooler Unit
7. Carregue o "PCR Rack" (Suporte de PCR) com a PCR Cassette e o "Extraction Basket" (Cesto de extração) com os cartuchos de extração "ELITe InGenius SP 200" e os consumíveis de extração necessários	8. Feche a porta. Iniciar a execução	9. Visualize, aprove e guarde os resultados

NOTE

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

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

1. Selecione "Perform Run" (Executar) no ecrã tátil e, a seguir, clique no modo de execução "PCR Only" (Apenas PCR)	2. Carregue os tubos com código de barras do ácido nucleico extraído ou dos controlos no rack de eluição e insira-o na Cooler Unit	3. Verifique os volumes de extração: Entrada: "200 µL", eluato: "100 µL"
4. Selecione o "Assay protocol" (Protocolo de ensaio) de interesse: MTB EXTRA ELITe_Be_PC ou MTB EXTRA ELITe_Be_NC ou: MTB EXTRA ELITe_Be_SP_200_100 MTB EXTRA ELITe_Be_BAL_200_100 MTB EXTRA ELITe_Be_U_200_100 MTB EXTRA ELITe_Be_CL_200_100 MTB EXTRA ELITe_Be_B_200_100 MTB EXTRA ELITe_Be_GA_200_100	5. Carregue a PCR Mix no rack de reagente/eluição e insira-o na Cooler Unit	6. Carregue o "PCR Rack" (suporte de PCR) com a "PCR Cassette"
7. Feche a porta. Iniciar a execução	8. Visualize, aprove e guarde os resultados	

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

